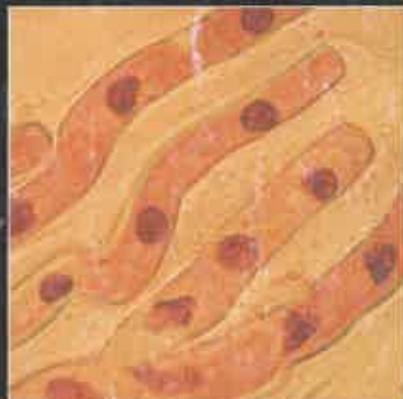


ISSN 1659-0082

# Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

Diciembre 2002

No. 66



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

# Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

- En congruencia con el lema institucional del CATIE de *producir conservando, conservar produciendo*, esta revista tiene como objetivo contribuir con el desarrollo de sistemas agrícolas y forestales sostenibles, la conservación de los recursos naturales, y la protección de la salud de los agricultores y los consumidores.
- Constituye un foro de discusión, así como un instrumento para la difusión de los resultados de investigación, experiencias prácticas y transferencia de tecnologías en los campos de la protección vegetal y la agroecología, con énfasis en la región neotropical.
- Cuenta con una sólida trayectoria, pues se publica de manera ininterrumpida y puntual, en forma trimestral (en marzo, junio, setiembre y diciembre) desde setiembre de 1986. Hasta marzo de 2002 se denominó *Manejo Integrado de Plagas*.
- Tiene un contenido versátil, ya que además de artículos científicos incluye textos de formato diverso (hojas técnicas, boletines, secciones especializadas, reseñas bibliográficas y anuncios de eventos), para así estimular la formación de redes de colaboración en el ámbito continental, en investigación, transferencia de tecnología, enseñanza y cooperación técnica, para contribuir así al desarrollo social y económico de los países de América Latina y el Caribe.
- Está indizada en bases de datos prestigiosas, como CAB, AGRIS y AGROAMBIENTE (CAB/NAL), y además aparece en foros electrónicos especializados.
- Para garantizar su idoneidad, cada trabajo es revisado por al menos dos expertos en el tema de pertinencia, y dicho proceso es complementado con el arbitraje del Comité Editorial. Asimismo, se cuenta con un *Comité Editorial Internacional*, integrado por científicos de renombre mundial, que supervisa la calidad técnica de la revista y hace recomendaciones sobre políticas, contenido, formato, etc.
- Las ideas y opiniones contenidas en los artículos publicados son responsabilidad exclusiva de los autores y no reflejan necesariamente las del CATIE o de los patrocinadores de la revista.
- Sus costos de producción son cubiertos con aportes directos del CATIE, de la *Autoridad Sueca para el Desarrollo Internacional (ASDI)*, del *Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (USDA/FAS/ICD/RSED)*, de los suscriptores, y de los patrocinadores comerciales o filantrópicos mencionados en la contraportada de la revista.
- Los idiomas exclusivos de publicación son español y portugués; solamente en casos muy calificados se aceptan artículos en inglés. Las *instrucciones para los autores* aparecen en las últimas páginas de la revista. En caso de duda, se puede consultar un número reciente, o contactar a la Editora.
- Los materiales contenidos en la revista pueden ser citados o reproducidos, siempre y cuando se mencione la fuente.
- El valor de la suscripción anual es de US\$ 20 (América Central), \$ 25 (resto de América Latina, el Caribe, Asia y África), \$ 35 (otros países) y \$ 12 (estudiantes), e incluye el costo del correo aéreo. La versión electrónica (internet) cuesta \$ 10.

## Comité Editorial

Dr. Luko Hilje, *Director*  
Dr. Reinhold Muschler  
Dra. Vera Sánchez  
M.Sc. Nelly Vásquez  
Dr. Joseph Saunders, *Miembro honorario*  
M.Sc. Gabriela Gitli, *Editora*

## Comité Internacional

Dr. Terence Albrecht  
(USDA/FAS, Washington)  
Dr. Miguel Altieri  
(Universidad de California, Berkeley)  
Dra. Ann Braun  
(PAIDEA Resources, Nueva Zelandia)  
Dr. Steve R. Gliessman  
(Universidad de California, Santa Cruz)  
Dr. Michael E. Irwin  
(Universidad de Illinois, Champaign)  
Dr. Kevin Walker  
(IICA, Costa Rica)

**Dirección:** Luko Hilje

**Editora:** Gabriela Gitli

**Diseño y diagramación:** Silvia Francis Salazar

**Revisión bibliográfica:** Rigoberto Aguilar

**Secretaria:** Yorlene Pérez

**Versión electrónica:** Guisselle Brenes

La producción y administración de esta revista depende del Área de Comunicación, en la Unidad Técnica de Apoyo.

## Tiraje y Distribución:

1150 ejemplares. Se envía en canje por publicaciones que sean de interés para las actividades que realiza el CATIE.

## Correspondencia

Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología  
CATIE

7170 Turrialba, Costa Rica

Tel (506) 558 2633/556 6431

Fax: (506) 556 6282/556 1533

Correo electrónico: ggilti@catie.ac.cr o cicmip@catie.ac.cr

## Fecha de inicio y periodicidad:

No 1, setiembre, 1986

Trimestral (marzo, junio, setiembre, diciembre).



**Portada:** El estudio de organismos entomopatógenos cada vez cobra una mayor importancia en el manejo integrado de plagas. Las fotos que ilustran la portada provienen de un proyecto cuyo objetivo es investigar la diversidad y la dinámica de los hongos Entomophthorales en Brasil, sus interrelaciones e incidencia sobre las poblaciones de insectos que atacan diversos cultivos agrícolas, pastos naturales y otros sustratos. En las fotos de los recuadros aparecen (en el orden usual), un ortóptero infectado con *Entomophaga* sp., *Erynia* sp. en una imagen al microscopio, y un díptero infectado por *Entomophthora* sp. En primer plano aparece un fragmento de *Entomophaga* sp. (Fotos: Saúl E. Méndez)

# Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

No. 66

Diciembre 2002



## BIOGRAFÍA

- Bob Hart: pionero de la agroecología en Latinoamérica** .....1-3  
Raúl Moreno

## FORO

- Insecticidas vegetales: una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas** .....4-12  
Gonzalo Silva A., Angel Lagunes T., J. Concepción Rodríguez M., Daniel Rodríguez L.

## ARTICULOS CIENTÍFICOS

- Reproducción masiva de *Verticillium sp.*, hiperparásito de la roya del café, *Hemileia vastatrix*** .....13-19  
Evelyn M. Canjura Saravia, Vera Sánchez Garita, Ulrike Krauss, Eduardo Somarriba

- Prospección de hongos Entomofthorales para el control natural de insectos en Bahía, Brasil** .....20-30  
Saúl Edgardo Méndez, Richard A. Humber, Donald Wilson Roberts, Adriano Lage Freitas, Livia Santos Lima, Georgia Botelho Silva, Cristiana Silva de Almeida, Erica Fontes Nunes

- Evidencia de que *Nephelium lappaceum* no es hospedante de tres especies de mosca de la fruta (Tephritidae) en Honduras** .....31-35  
L. Vásquez, K. Sponagel, F. Díaz, J. Jiménez, E. Ostmark, M. Romero

- Malezas hospedantes de geminivirus en campos de frijol en Cuba** .....36-38  
Javier Smpedro Romero, Miguel González Bez, Nelson Pérez Betancourt, Estrella Pérez Espinosa

- Cultivos asociados y uso de arroyo para el manejo de *Bemisia tabaci* y el virus del mosaico dorado en frijol**.....39-44  
Miguel González Bez, José Muñoz Cuenca, Evelio García Sánchez

- Actividad *in vivo* de *Trichoderma harzianum* sobre *Sclerotium rolfsii* en plántulas de tomate** .....45-48  
Reynaldo Alonso Reyes, Beatriz Barranco Martínez, Graciela García Rivero, Gilda Jiménez Montejo

- Silenciamiento de genes virales: el contraataque de las plantas frente a infecciones de virus fitopatógenos** .....49-61  
Juan Jovel, Pilar Ramírez

- Diseminación del banano en Latinoamérica y el Caribe y su relación con la presencia de *Radopholus similis*** .....62-75  
Douglas H. Marín, Turner B. Sutton, Kenneth R. Barker

- Nematodos que atacan cultivos ornamentales** .....76-81  
Noel Ortuño, Rolando Oros

## EXPERIENCIAS

- Avances del control biológico de *Bemisia tabaci* en la región neotropical**.....82-95  
Luis L. Vázquez Moreno

## NOTA TÉCNICA

- Efecto de la cal y la urea en el manejo del moko de las musáceas** .....96-100  
Gabriel Núñez, Verónica Guevara, David Monterroso

- Identificación de *Acidovorax avenae citrulli* en semillas de sandía en Nicaragua**.....101-104  
Mercedes Muñoz, David Monterroso

## HOJA TÉCNICA

- Mancha bacteriana del fruto de melón y sandía: Manejo integrado de una emergencia**.....105-110  
Floribeth Mora-Umaña, Carlos Manuel Araya

## BOLETINES

- Mosca Blanca al Día** .....112  
**Plagas Forestales Neotropicales** .....114  
**Control Biológico de Malezas** .....116

## SECCIONES ESPECIALES

- Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos**  
**Manejo de insectos mediante parasitoides**.....118  
Manuel Carballo

- SECCION INFORMATIVA** .....123

## 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, Paraguay, 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**  
Tannia Ammour

**Administración y Finanzas**  
Viviana Sánchez

## 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)  
321-3651  
Telefax: (57) 63218738  
Correo electrónico:  
catiecolumbia@utp.edu.co

**COSTA RICA**  
Edificio de la FAO,  
Sabana Sur, 500 metros  
al oeste del Ministerio de  
Agricultura carretera a  
Escazú, San José,  
Costa Rica  
Telefax: (506) 296-5816

**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\_sv@integra.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)  
3112100807/149967  
Fax: (52) 311 2148850  
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:  
catienicaragua@tmx.com.ni

**PANAMA**  
Apartado Postal 87-4280  
Zona 7  
Edificio Balboa Plaza  
1er. Piso Oficina 2-10  
Avenida Balboa  
Tel. (507)  
2634230/2634733  
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@licard.org

*Suscríbese a  
la Revista*

# Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

*Si desea recibir información actualizada sobre plagas agrícolas y forestales, MIP, agroecología, agricultura orgánica y otras alternativas de producción agrícola sostenible generadas 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, y avances de investigación, entre otros



Más de 16 años de trayectoria y 65 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

Suscripción	1 año	2 años	Números sueltos
América Central	US\$20	US\$40	US \$5
Resto de América Latina y el Caribe	US\$25	US\$50	US \$6
Norte América, Europa, Africa y Asia	US\$35	US\$70	US \$7
Suscripción electrónica	US\$10	US\$20	

## Augurios para un nuevo año

Este año ha sido auspicioso para nuestra Revista, especialmente por la ampliación de su cobertura temática, en respuesta a las incesantes necesidades y demandas de los sectores productivos, tanto agrícola como forestal, de nuestro continente. El cambio de nombre por el de *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* es un fiel reflejo de ese compromiso del CATIE con los países de la región.

En la misma tradición de los anteriores, este número es una rica colección de nuevos hallazgos científicos, conocimientos, opiniones, enfoques, percepciones, labores de redes, etc., que cada día contribuyen a cimentar mejor un movimiento renovador en la agricultura del continente, enmarcado en el paradigma y las prácticas del desarrollo sostenible. Pero, sin duda, aún falta mucho camino que recorrer. Es por eso que el CATIE, orgulloso de coadyuvar en este proceso, les invita una vez más a ser partícipes de dicho movimiento.

Desde la óptica de la Revista, hay muchas maneras de hacerlo: como autor, revisor, editor de boletines o secciones especiales, informante o lector. Pero, primero que todo, convirtiendo a esta Revista en una verdadera herramienta en el trabajo científico-técnico cotidiano, para hacer posible ese gran anhelo que es el desarrollo de sistemas de producción realmente sostenibles, donde primen la racionalidad económica, la conservación ambiental y la equidad social.

Al cerrar este año deseamos salud y paz espiritual a todos nuestros lectores y colaboradores, y les invitamos a sumarse con mayor ahínco a estos esfuerzos. Porque, en realidad, esta Revista es de ustedes, con el fin último de ayudar a los productores de nuestro continente, quienes tanto lo necesitan y lo merecen.



Dr. Luko Hilje  
Director

Revista *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*



## Bob Hart: pionero de la agroecología en Latinoamérica

Raúl Moreno<sup>1</sup>

**E**scribir acerca de un científico que fue también amigo no es tarea fácil. Los sentimientos de amistad y el aprecio por el ser humano pueden alterar el juicio justo acerca de su contribución a la ciencia y a la enseñanza. El tiempo es otro factor que afecta los juicios. En lo positivo, el tiempo aporta madurez y perspectiva. Por otro lado, cuando la contribución científica y académica de un hombre es producto de la inquietud juvenil y la protesta social de años pasados, es difícil relatar hechos sin reconstruir escenarios idos, difíciles de comprender para aquellos que no estuvieron presentes o para aquellos que nunca quisieron verlos.

Esta nota acerca de Bob Hart se centra en su época de técnico y profesor en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), durante la década de los años setenta. La labor en vida de Bob se proyectó mucho más allá de Turrialba, pero creo que fue en su primer período como miembro del equipo de Investigación en Sistemas de Producción de Cultivos Tropicales del CATIE<sup>2</sup>, cuando maduró sus ideas y contribuyó en forma más significativa al entendimiento de las relaciones entre los procesos biológicos y sociales de la producción agrícola en el trópico americano.

Al contrario de la mayoría de los técnicos que trabajaban en Turrialba, formados en la rigidez de las ciencias agronómicas y pecuarias con propósitos productivistas, Bob provenía de la academia, con fuerte formación en ciencias básicas, cuando llegó para integrarse como estudiante graduado al CATIE de aquel entonces. Durante

sus estudios, había profundizado en la ecología como ciencia básica.

A quienes éramos jóvenes en aquel entonces nos correspondía el trabajo más duro en la estación experimental de Turrialba y por lo tanto nos tocó apoyar a Bob en la fase de campo de su tesis doctoral. Ahí nos dimos cuenta de que su fuerte eran los conceptos. Su capacidad como agrónomo no la desarrollaría sino hasta varios años más tarde, producto de sus deseos de aprender con los mejores profesores que se podían encontrar en aquel entonces – los campesinos pobres hondureños.

Bob dejó Turrialba después de finalizar su trabajo práctico de tesis. Después de rendir los exámenes del doctorado, se reintegró al CATIE como agrónomo residente en Yojoa, Honduras. Fue en ese lugar, en la tranquilidad del campo, en contacto diario con los campesinos y con las dificultades de las instituciones nacionales, donde Bob se formó como experto en agroecosistemas. Discusiones hasta la madrugada con sus colegas del CATIE y de Honduras, su contacto de amistad y trabajo con Jack Ewel, muchos viajes internacionales y principalmente su formación básica como ecólogo de cultivos, terminaron de formarlo para el futuro próximo como uno de los máximos exponentes del enfoque de sistemas aplicado al desarrollo de la agricultura tropical.

Después de su experiencia hondureña y de regreso a la sede de Turrialba, Bob logró lo que muchos nunca logramos. Combinó con facilidad la enseñanza de postgrado con sus labores como técnico en el equipo del CATIE

<sup>1</sup> Líder del Proyecto SETEDER, CATIE, Costa Rica. rmoreno@catie.ac.cr

<sup>2</sup> El equipo original estaba formado por: Rufo Bazán, Jorge Soria, Gilberto Pérez, José Fargas, Nicolás Mateo, Raúl Moreno, Warren Forsythe, Arnoldo Barrantes y Antonio Pinchinat. Pronto se integraron Carlos Burgos, Luis Navarro, Joseph Saunders, Miguel Holle, Robert Hart, Washington Bejarano, Andrew King, Anfbal Palencia, Roberto Arias Milla, José Arze, Donald Kass, Germán Escobar y varios otros que llegaron más tarde.

de Investigación en Sistemas de Producción para Pequeños Agricultores de América Central. Producto del tiempo que dedicó a la formación de estudiantes graduados es su publicación mas conocida y solicitada hasta hoy "Agroecosistemas. Conceptos Básicos" que ha sido reimpressa en numerosas ocasiones. Hasta hace pocos años guardé entre mis archivos la primera versión mimeografiada (así se reproducía el material escrito en aquel entonces), pues fue mi esposa quien ayudó a Bob con la dactilografía. Mis cambios de países y sedes de trabajo terminaron con esa versión original en la bodega de algún barco carguero.

La pregunta para aquellos que no vivieron esa época es por qué la obra de Bob es importante. Para responder en forma resumida, es preciso reconstruir un escenario pasado. En aquel entonces, los recursos y la atención hacia la investigación y el desarrollo agrícola se concentraban en un enfoque por cultivos específicos o por disciplinas del conocimiento. Este enfoque estaba bien representado por la mayoría de las acciones de los Centros Internacionales. Se pensaba que estas organizaciones, manejadas totalmente con recursos y mayoritariamente por técnicos de países desarrollados, aportarían la solución a los problemas de la producción y consecuentemente del desarrollo agrícola.

Aunque ya se oían algunas criticas, los efectos positivos de la Revolución Verde respaldaban la dedicación de recursos y atención hacia estos enfoques de tipo más bien reduccionista. Los sistemas de extensión agrícola de los países subdesarrollados también estaban bajo la influencia de los enfoques reduccionistas y trabajaban bajo un esquema de transferencia de tecnología en forma de paquetes alrededor de alguna especie como maíz o frijol. Sin embargo, quienes trabajábamos con agricultores pobres e institucionalmente no estábamos bajo la influencia directa de estos enfoques, veíamos muy difícil la solución a los problemas de pobreza y desarrollo agrícola siguiendo un enfoque reduccionista.

Todos los días nos enfrentábamos con agricultores que manejaban sus fincas o unidades de producción como un todo compuesto de partes interdependientes, ninguna de las cuales podía descuidarse a menos que se pusiera en peligro el funcionamiento de otra parte o de toda la finca. Más aun, las consideraciones sociales y económicas eran mucho más importantes que las puramente tecnológicas como determinantes de la actividad agrícola. La no-adopción de la tecnología desarrollada en los Centros Internacionales y otras organizaciones similares, se debía más a la falta de concordancia entre los requisitos de la nueva tecnología y la estructura y funcionamiento

de la unidad de producción tradicional tropical que a características propias de la tecnología misma.

Sin embargo, a pesar de que nuestras observaciones y evidencias demostraban que nuestras ideas en pro de un enfoque más integral para el desarrollo agrícola y contrarias al reduccionismo eran correctas, nos faltaban formas adecuadas para plantearlas. Esto también atrasaba nuestro aporte de una fuerte base conceptual de tipo teórico que apoyara las acciones de investigación en fincas que llevábamos a cabo con los agricultores, a través de toda el área centroamericana.

Para explicarnos el funcionamiento de las pequeñas unidades de producción tropical y formular las hipótesis necesarias para respaldar este enfoque diferente para la investigación y el desarrollo agrícola, recurrimos a la información disponible acerca de la teoría de sistemas desde el punto de vista filosófico, experiencias documentadas de las Filipinas, antigua literatura inglesa y belga con información africana de agricultura migratoria, los textos del profesor Ruthenberg, las experiencias de Sudamérica con cultivos perennes y las ideas de Pablo Alvim, etc. Esa literatura y nuestras extensas experiencias de campo, nos ayudaron a formular las primeras teorías y modelos conceptuales acerca de sistemas de producción agrícola de pequeños agricultores en el trópico. Por otro lado, estaba toda la información ecológica, más cerca de las ciencias básicas, que si bien es cierto comprendíamos y consultábamos, no podíamos integrar a nuestras hipótesis incipientes, por falta de formación académica en ese campo por parte de la mayoría de los técnicos de Turrialba.

La contribución mas importante de Bob Hart a la agricultura tropical consistió en combinar los conceptos de sistemas de producción agrícola desarrollados por el equipo de Turrialba, con los conceptos de flujos de energía e información entre componentes de un ecosistema que constituían el centro de la visión de algunos ecólogos. Con esta combinación, Bob estableció la base conceptual de lo que se conoce ahora como Agroecología. Para él era más sencillo que para nosotros, pues pertenecía por igual al mundo de la agronomía como al mundo de la ecología. Podía combinar los conceptos derivados de la práctica de la agricultura con aquellos derivados del estudio de los ecosistemas naturales. En otras palabras, combinó la técnica y el arte de la agricultura con la ciencia y la teoría ecológica.

Gracias a Bob, el equipo de Turrialba primero y después muchos otros en diversos lugares del mundo, contaron con una forma más fácil para planear intervenciones, diagnosticar situaciones de producción y explicar los resultados del trabajo con agricultores.

Como siempre ocurre, sus formas de representar realidades no fueron en un comienzo apreciadas en su real magnitud, pero pronto vendría el reconocimiento. Cuando se gana una batalla – en este caso puramente intelectual - todos son triunfadores. Después de las ideas del equipo de Turrialba y de Bob, que siempre consideraron al ambiente y a los recursos naturales como fundamentales para la supervivencia del hombre en la Tierra, los términos Agroecología y Agroecosistema han sido utilizados por diferentes sectores, principalmente ambientalistas preocupados por la agricultura. Los conceptos alrededor de la participación campesina, que fueron planteados como requisitos básicos para el desarrollo de tecnología apropiada también en esas épocas, ahora son parte integral de la mayoría de las acciones en pro del desarrollo rural en el ámbito mundial.

El reconocimiento internacional para el equipo de sistemas de Turrialba y las ideas que Bob expresaba tan bien, en lugar de ser aprovechadas para beneficio de América Central, se volvieron en contra de sus creadores y las nuevas administraciones del CATIE propiciaron la salida de todo un equipo del pensamiento y la acción, entre ellos la de Bob. Este equipo, en cuanto a su contribución al desarrollo de nuevas ideas, solo puede ser comparado con los “grandes históricos” de Turrialba, como Jorge León, Jorge Soria, Pablo de Tarso Alvim, Leslie Holdridge, Frederick Hardy, Jorge de Alba, Carl Moh y tantos otros quienes, a diferencia del equipo de Sistemas de Producción, se destacaron por su contribución individual antes que grupal.

Las ideas expresadas inicialmente por Bob han recorrido toda América y hoy el concepto básico de interacciones entre las plantas cultivadas y entre estas plantas y el ambiente, son parte integral y común de muchos programas de enseñanza e investigación en agricultura. Las ideas básicas acerca de las interacciones entre plantas y entre éstas y su ambiente preceden a Bob. Su principal aporte fue avanzar en estas relaciones incluyendo al hombre como un componente más que modificaba estas relaciones. Bob y sus escritos se proyectaron mucho más allá de lo esperado. Los pocos técnicos que sobrevivieron a las purgas institucionales se encargaron de mantener en la escuela para graduados del CATIE las enseñanzas aprendidas con tanto esfuerzo. Estas virtualmente desaparecieron cuando el CATIE se convirtió en una organización más bien de tipo ambiental, sin proposiciones claras para el desarrollo rural.

No quiero dejar en este escrito la impresión de Bob como un excelente científico solamente. Era además un

excelente amigo, padre para Sarah y esposo para Juanita. Como todos los hombres inteligentes era humilde y como todos los que tienen confianza en sí mismos se reía de sus propias limitaciones y errores. En una conferencia en Colombia, de pie frente de un auditorio formal y expectante dijo: “Yo en la vida me he equivocado mucho, sin embargo, me han invitado a muchas conferencias. Estoy comenzando a sospechar que las invitaciones se deben a que otros no desean repetir mis errores”. El auditorio rió mucho, mientras quienes lo conocíamos sabíamos que él creía sinceramente en sus palabras.

Durante su trabajo con agricultores en Honduras y para cooperar con los entomólogos, colgó una trampa de luz en una finca para capturar insectos nocturnos como parte de un trabajo regional de estudio de ciclos de vida de insectos. Ese fue un año muy seco y los agricultores se acercaron en grupo para pedirle a Bob que quitara esa trampa, pues en su intuición atribuían a la luz nocturna la falta de lluvias. Viendo que en ese atardecer el cielo estaba despejado de nubes, Bob quitó la lámpara a fin de demostrar a los agricultores que no existía relación alguna entre la luz nocturna de una lámpara y la sequía. Esa misma noche llovió copiosamente, después de casi un mes de sequía. Bob muy serio nos aseguró que definitivamente los agricultores sabían más que él acerca de la influencia de la luz de neón sobre el clima. Nunca más se pudo instalar una trampa de luz en ese lugar. Como éstas, son muchas las anécdotas que se pueden recordar de Bob.

Siempre me siento feliz de recordar a Bob más como excelente persona que como científico notable, pues el primero es requisito fundamental para el segundo. No existen verdaderos científicos o pensadores que no sean intelectualmente generosos. Los egoístas se blanquean y desaparecen con el tiempo. Eso nunca le ocurrió a Bob. Su modestia le permitió aprender nuevas disciplinas e incorporarse después activamente al mundo cibernético. Los verdaderos hombres de bien son humildes y tal como Bob, nunca miran a nadie como un inferior. Solo miran hacia abajo para recoger al caído. De ello son testigos los muchos agricultores pobres y trabajadores del campo que tuvieron la suerte de trabajar con él.

Regados por el mundo y a través de la Internet, sus antiguos compañeros de trabajo nos enteramos de su muerte el día 31 de Octubre de 1999. Algunos nos aliviarnos, pues Bob había dejado de sufrir esa larga enfermedad. Otros miramos al pasado para recordar una vez más al amigo que se había ido físicamente. Unos pocos recordamos las estrofas de “Gracias a la vida”, la canción favorita de Bob.

## Insecticidas vegetales: una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas

Gonzalo Silva A<sup>1</sup>  
Angel Lagunes T<sup>2</sup>  
J. Concepción Rodríguez M<sup>3</sup>  
Daniel Rodríguez L<sup>4</sup>

**RESUMEN.** Por sus ventajas ecológicas, el uso de insecticidas de origen vegetal en el manejo de plagas ha ido incrementando. Sin embargo, existe una serie de problemas y creencias equivocadas que impiden una mejor aceptación de estos productos por parte del agricultor. Además, encaran lentos, problemáticos y desventajosos procesos de comercialización y registro, a pesar de tener un alto potencial para formar parte del manejo integrado de plagas como una estrategia de bajo riesgo. En este manuscrito se analizan el estado actual, ventajas y desventajas, junto con todos aquellos factores que no han permitido que este tipo de insecticidas no posea una mayor relevancia en el manejo de plagas.

**Palabras Clave:** Fitoinsecticidas, Plaguicidas naturales, Manejo integrado de plagas.

**ABSTRACT. Vegetable Insecticides: A New-Old Option in Pest Management.** Owing to its ecological advantages, the use of botanical insecticides in pest management has been increasing. However, some problems and misconceptions prevent better acceptance of these products by farmers. In addition, they face lengthy, cumbersome and disadvantageous registration and sale processes, despite their high potential to belong to low-risk pest management. This paper discusses the current status, advantages, disadvantages and the factors that prevent this type of insecticides from increasing their relevance in pest management.

**Key words:** Botanical insecticides, Natural pesticides, Integrated pest management.

### Introducción

En los años 40 aparecieron en el mercado los insecticidas organosintéticos, tales como el DDT, paratión, aldicarb, malatión y dimetoato, entre otros; mismos que, por su alta eficacia biológica y bajo costo, reemplazaron a los de origen vegetal (Casida y Quistad 1998). En consecuencia, se pensó que los problemas de pérdidas de cosechas a causa de insectos plaga eran cosa del pasado, y la entomología agrícola no sería más que un entretenimiento para quienes quisieran dedicarse a ella.

Aunque si bien es cierto que el impacto de los insecticidas sobre el avance de la agricultura es compa-

rable solo con el de los antibióticos en la medicina moderna, su uso irracional ha provocado una serie de problemas, como la contaminación del ambiente, los residuos en los alimentos, la aparición de plagas secundarias y la resistencia a los insecticidas. Debido a estos problemas, hoy en día se está presentando lo que se podría denominar como "una segunda época" en el uso de los insecticidas de origen vegetal para el manejo de plagas. Así, se ha vuelto a utilizar insecticidas vegetales como rotenona (*Lonchocarpus* spp., Fabaceae), riania (*Ryania speciosa*, Flacourtiaceae), tabaco (*Nicotiana tabacum*, Solanaceae), piretro

<sup>1</sup> Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Casilla 537, Chillán, Chile. gosilva@udec.cl

<sup>2</sup> Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, 56230, Montecillo, Texcoco, México. alagunes@colpos.colpos.mx

<sup>3</sup> Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, 56230, Montecillo, Texcoco, México. concho@colpos.colpos.mx

<sup>4</sup> Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana, Córdoba, México. darola@correoweb.com

(*Tanacetum cinerariaefolium*, Compositae), nim (*Azadirachta indica*; Meliaceae), cuasia (*Quassia amara*, Simaroubaceae) e higuerilla (*Ricinus communis*, Euphorbiaceae), pero, lamentablemente, otra vez se está cayendo en una especie de triunfalismo que podría conducir nuevamente al colapso (Gaugler 1997, Isman, 1997, Menn y Hall 1999, Rodríguez 2000). Es común encontrar en América Latina manuales o folletos que recomiendan el uso de insecticidas vegetales sin haber sido validados científicamente. Además, en muchos casos, el uso de insecticidas botánicos está respaldado por investigaciones parciales, a muy pequeña escala o de dudosa calidad. Por último, hay quienes sostienen que, por tratarse de sustancias naturales, estas son inocuas para el ser humano. Sin lugar a dudas, lo anterior contrasta con la fuerza y vehemencia con las que algunos critican los insecticidas organosintéticos, a la vez que no existe una regulación específica sobre lo que se publica, e inclusive a veces se vende, si lleva el "apellido" natural. No es lógico que no se diferencie entre lo publicado por una universidad u organismo internacional de investigación y lo que publican agrupaciones de campesinos, pequeñas organizaciones e incluso grupos ecologistas, que no siempre tiene toda la rigurosidad necesaria.

Tomando en cuenta lo anterior, los objetivos de este artículo consisten en ordenar algunas de estas ideas, aclarar algunos conceptos y hacer un análisis del estado actual y las perspectivas de los insecticidas vegetales como una parte más del manejo integrado de plagas con estrategias de bajo riesgo.

### ¿Todo lo natural es bueno?

Es un gran error considerar los productos de origen vegetal y, por ende, los insecticidas vegetales como productos inocuos. Existe una gran cantidad de productos vegetales que son muy tóxicos; basta recordar que Sócrates fue condenado a muerte por ingesta de cicuta (*Cicuta* spp.), un extracto acuoso muy venenoso de esta planta.

En su libro *Plants that Poison*, Schmutz y Breazeale (1986) enumeran alrededor de 120 especies de plantas que contienen alguna sustancia tóxica para el ser humano, mencionando incluso especies tan comunes como el almendro, el frijol, el ajo, la fresa y el manzano. En consecuencia, no se debe olvidar que el potencial tóxico de una molécula se debe a la naturaleza de su estructura química y no a su origen (Coats 1994). Además, como dijo Paracelso en 1564, la diferencia entre lo que mata y lo que cura es la dosis. Por

lo tanto, se debe tener sumo cuidado cuando se hacen recomendaciones sobre el uso de insecticidas vegetales elaborados por el propio agricultor.

### ¿Insecticidas?

Por definición, un insecticida es aquella sustancia o mezcla de sustancias que ejercen su acción biocida debido a la naturaleza de su estructura química (Ware 1994). Por ejemplo, si matamos un insecto para nuestra colección entomológica usando frascos con cianuro de potasio podemos decir que esta sustancia tiene efecto insecticida. Sin embargo, no podemos decir lo mismo del agua cuando las gotas de lluvia matan áfidos o moscas blancas, ya que su mortalidad no se atribuye a las características de la estructura química del agua.

La mayoría de las especies de plantas que se utilizan en la protección vegetal, exhiben un efecto insectistático más que insecticida (Rodríguez 1996a). Es decir, inhiben el desarrollo y comportamiento de los insectos en lugar de matarlos directamente por sus propiedades tóxicas. Sin embargo, no se puede olvidar que algunas sustancias vegetales sí provocan un efecto insecticida, como sucede con las piretrinas, la nicotina o la rotenona (Izuru 1970). Según Coats (1994), los compuestos naturales, en general, tienen un efecto protector que principalmente se debe a repelencia, disuasivo de la alimentación u oviposición y regulador del crecimiento. Además, Metcalf y Metcalf (1992) señalan el efecto confusor o disruptor, los cuales consisten en "contaminar" el medio con estímulos químicos de diferente naturaleza, de modo que el insecto no pueda identificar el aleloquímico característico del huésped vegetal en que se alimenta o reproduce. Por lo tanto, debemos considerar a todos aquellos compuestos que sabemos que su efecto es insectistático como preventivos más que como curativos (Rodríguez 1993). Encontramos un ejemplo de lo anterior en el caso de los granos almacenados, donde una vez que el insecto ya penetró el grano, ningún polvo vegetal de probada eficacia protectora tendrá efecto (Lagunes y Rodríguez 1989).

### Metodologías de evaluación

Es un error considerar la mortalidad como el único parámetro de eficacia biológica pues, como ya se mencionó, esta no necesariamente constituye el principal efecto (Metcalf y Metcalf 1992, Coats 1994). El uso de metodologías de evaluación bajo condiciones de laboratorio constituyen el primer paso en la obtención de

nuevas plantas para el control de plagas. Por esto, se debe ser lo más riguroso posible, pues la posibilidad de catalogar a una planta como carente de propiedades insecticidas a causa de una metodología equivocada puede producir la pérdida de una nueva alternativa de control. Es frecuente encontrar errores como el no hacer separación de insectos de prueba por edad, tamaño o sexo, lo cual conduce a enormes imprecisiones en la percepción del potencial real de los tratamientos. Además, Asher (1987) señala que, para apoyar el uso de insecticidas vegetales, siempre se deben realizar rigurosos experimentos de campo y no emitir recomendaciones derivadas exclusivamente de estudios de laboratorio. Numerosos compuestos funcionan mucho mejor en placas, vasos, discos u hojas solas, que en el campo sobre huertos, plantas completas, y bajo la incidencia de condiciones ambientales desfavorables. También Simmonds *et al.* (1992), indican que, en promedio, de diez plantas que muestran excelentes resultados en laboratorio, sólo dos manifiestan una eficacia biológica aceptable en condiciones de campo. Por esto, a pesar de la innegable importancia de los estudios de laboratorio en el desarrollo de este tipo de tecnología, no es viable recomendar el uso de una planta sin que exista la investigación de campo respectiva. Además, la investigación debería realizarse durante varios ciclos productivos; considerar todas las opciones de uso de la planta, como pulverización, extractos acuosos y alcohólicos; su acción sobre varios tipos de insectos, como masticadores, picador-chupador, móviles o estacionarios, de campo o almacén y, por supuesto, el impacto sobre los insectos benéficos. No se debe olvidar que el objetivo de toda investigación es que otra persona pueda repetirla y obtener resultados similares.

### ¿Cuáles plantas utilizar?

Son muchas las publicaciones que hacen listados de plantas con propiedades insecticidas. Por ejemplo, Heal *et al.* (1950) documentan aproximadamente 2 500 plantas, de 247 familias botánicas, con propiedades insecticidas; Secoy y Smith (1983) enumeran 664 plantas de un total de 135; Simmonds *et al.* (1992) consignan 278 plantas de 58 familias como de un alto poder insecticida.

Para ser usada en forma extensiva, no basta con que una planta sea considerada promisoriosa o con demostradas propiedades insecticidas. Además, se debe hacer análisis de riesgos para el medio ambiente y la

salud. Por ejemplo, no es conveniente recomendar el uso de plantas que estén en vías de extinción, que sean difíciles de encontrar o cuya utilización implique alteraciones importantes a la densidad en que se encuentran en la naturaleza (Lagunes 1994). A continuación, se enumeran las características que debe tener la planta insecticida ideal (Ahmed y Grainge 1986, Rodríguez 1993), con la finalidad de aprovecharla al máximo, sin deteriorar el ecosistema:

1. Ser perenne.
2. Estar ampliamente distribuida y en grandes cantidades en la naturaleza, o que se pueda cultivar.
3. Usar órganos renovables de la planta (hojas, flores o frutos).
4. No ser destruida cada vez que se necesite recolectar material (evitar el uso de raíces y cortezas).
5. Requerir poco espacio, manejo, agua y fertilización.
6. Tener usos complementarios (como medicinales).
7. No tener un alto valor económico.
8. Ser eficaz en bajas dosis.

### Estacionalidad de la planta y de la plaga

Rodríguez (1996a) indica que las plantas son laboratorios naturales, donde se biosintetiza una gran cantidad de sustancias químicas, entre las que se encuentran las que producen el efecto protector, las cuales generalmente forman parte del llamado "metabolismo secundario" (Schoonhoven 1982).

En las plantas son frecuentes los metabolitos secundarios con funciones defensivas contra insectos, tales como los alcaloides, los aminoácidos no proteicos, los esteroides, fenoles, flavonoides, glicósidos, glucosinolatos, quinonas, taninos y terpenoides (Valencia 1995). En un principio, a muchos de estos compuestos no se les asignaba papel alguno en el metabolismo, pero Swain (1977) indica que constituyen señales químicas importantes del ecosistema y existe variación en cuanto a la concentración de los compuestos secundarios que los individuos de una población expresan. Además, el mismo autor señala que no hay un patrón de máxima producción, ni órganos especiales de almacenamiento de metabolitos secundarios. Sin embargo, Valencia (1995) indica que las mayores concentraciones de este tipo de compuestos normalmente se encuentran en las flores y semillas, por lo que debe privilegiarse el uso de estos órganos.

El problema surge cuando la presencia de la pla-

ga no coincide con la disponibilidad de la planta en forma natural, ya sea porque la planta es anual o porque la plaga tiene un ciclo diferente. Una buena alternativa podría ser almacenar las partes vegetales de interés hasta que sea necesario utilizarlas. Lamentablemente, muchos de estos compuestos disminuyen su concentración en el tiempo, por lo que resulta conveniente estudiar el efecto de almacenaje sobre la efectividad biológica de la planta en cuestión y, en consecuencia, determinar la viabilidad del uso de plantas que hayan sido almacenadas durante un tiempo determinado. Uno de los pocos estudios sobre el tema fue realizado por Hernández *et al.* (1999), quienes probaron 12 polvos de plantas recién pulverizadas y con 10 meses de almacenamiento para el control de *Sitophilis zeamais*, encontrando valores de control menores con los polvos de mayor data, situación que confirma la afirmación anterior.

### **Monocultivo de plantas con propiedades insecticidas**

Una opción válida para la obtención de material vegetal es su cultivo comercial, tal como se hace actualmente con el nim y el piretro. De esta manera, se abre la posibilidad de desarrollar variedades con mayores rendimientos del ingrediente activo (Asher 1987). Sin embargo, esta práctica conduce al monocultivo y en consecuencia la biodiversidad del agroecosistema se reduce sensiblemente (Altieri 1993). Lo anterior provoca un aumento en la densidad de aquellas especies de insectos que han coevolucionado con la planta en cuestión, y puede "obligar" al agricultor a usar insecticidas convencionales o bien, a buscar una planta insecticida para controlar las plagas de la planta insecticida cultivada. Un ejemplo de lo último se observa en el cultivo comercial, con fines medicinales, de la Hierba de San Juan (*Hypericum perforatum*; Hypericaceae), en Chile. Cuando se observa esta planta en su habitat natural, rara vez se advierte la presencia de plagas o enfermedades, pero cuando se cultiva en forma extensiva el ataque de *Chrysolina* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) y de algunas enfermedades fungosas pueden provocar la pérdida completa del cultivo, que en varias oportunidades han obligado a los agricultores a aplicar plaguicidas organosintéticos para salvar la planta y poder producir la próxima temporada.

El establecimiento de cultivos con plantas insecticidas constituye una opción viable para las empresas que se dedican a la comercialización de este tipo de

productos. Sin embargo, con frecuencia se encuentran problemas logísticos para obtener el material necesario para satisfacer la demanda. Existen especies vegetales difíciles de cultivar o no existen en suficiente cantidad. Un ejemplo es la India, donde hay 25 millones de árboles de nim, y como la mayoría de ellos forma parte de parques y jardines, la gente cosecha los frutos y los vende a las empresas, sin que aún así se satisfaga completamente la demanda (Isman 1997).

Ahmed y Grainge (1985, 1986) señalan que el cultivo de plantas insecticidas constituye una buena forma de desarrollo rural y evita que las alternativas naturales sean agresivas al medio ambiente, como sucedió hace algunos años en Chile con la ya mencionada hierba de San Juan, donde los agricultores recorrían montes y bosques con el afán de coleccionar grandes cantidades de esta planta abatiendo su densidad natural.

### **Objetivos de investigación**

La investigación sobre insecticidas vegetales puede tener dos vertientes: una es la de la agricultura de subsistencia, que procura buscar la independencia del agricultor, proporcionándole alternativas de combate de plagas mediante el uso de plantas de su mismo medio; la otra consiste en buscar entre las plantas silvestres nuevas moléculas con propiedades insecticidas con el potencial de originar una nueva familia de insecticidas que pudiesen llegar a sintetizarse en laboratorios, como ha ocurrido con los piretroides y los carbamatos, que son derivados sintéticos de moléculas aisladas de plantas como piretro, (*T. cinerariaefolium*) y el haba de calabar (*Physostigma venenosum*), respectivamente.

Un ejemplo de esta última línea de investigación es que en 1995 se aislaron de *Calceolaria andina* (Scrophulariaceae), una planta que crece en los Andes de Chile, dos compuestos identificados como RDBI (Resistance Defeating Botanical Insecticides), los cuales han demostrado tener un gran efecto biocida sobre moscas blancas, áfidos y ácaros fitófagos resistentes a los insecticidas convencionales. Además, su costo de producción es bastante bajo (Khambay *et al.* 1999, Anónimo 2000), por lo que seguramente en un futuro cercano darán lugar a una nueva familia de insecticidas organosintéticos, obtenidos a partir de compuestos naturales.

### ¿Sólo agricultura de subsistencia?

En la agricultura de subsistencia, el uso de extractos y plantas pulverizadas obtenidos de plantas del mismo agroecosistema, constituye una opción muy útil para agricultores de escasos recursos económicos que cuentan con superficies de terreno muy pequeñas. Desgraciadamente, este mismo enfoque no se puede aplicar a grandes productores o empresas con elevada demanda de productos para la protección vegetal.

Por ejemplo, la industria azucarera de Chile (IANSA), que cultiva alrededor de 50,000 hectáreas de remolacha azucarera. Para el control de *Myzus persicae* Sulzer se recomienda el uso de extracto de ajo al 1%, con un gasto de 200 litros de agua por hectárea. Si dicha empresa deseara combatir esta plaga con este insecticida, con un promedio tres aplicaciones, en total se requerirían 30,000 litros de extracto de ajo al 1%. En el mercado chileno el ajo tiene un costo aproximado de US\$2 por kilogramo, por lo que esta práctica tendría un costo de US\$4 por hectárea, lo cual generaría una erogación total por temporada de US\$600,000. Si se utilizara dimetoato, a razón de 0.2 l/ha, costaría aproximadamente US\$381 000. En consecuencia, los costos de control con extracto de ajo se elevarían en un 54% y seguramente no se podrían sufragar. Seguramente una mejor opción para este tipo de agricultura sería comprar los insecticidas vegetales formulados comercialmente, que en este caso podrían ser Biocrack® (Berni Labs, México) o Garlic Barrier® (Garlic Research Lab, USA).

En contraposición, la agricultura orgánica constituye un mercado muy demandante de insecticidas vegetales, debido a la imposibilidad de utilizar agroquímicos convencionales (Rodríguez 1997, Geier 1999). Actualmente, el mercado se encuentra en expansión y por lo general tiene altas tasas de retorno, por lo que constituye un “nicho” muy importante para atender. Desdichadamente, es común que algunas personas conceptúan la agricultura orgánica como un sistema de producción que difiere de la agricultura convencional solamente por la ausencia de agroquímicos sintéticos. Este error puede provocar que el agricultor, al no ver los resultados esperados, pierda la confianza y reafirme su preferencia por los insecticidas sintéticos (Arauz 1996).

### Resistencia

La mayoría de los insecticidas vegetales son extractos constituidos por un grupo de ingredientes activos de

diversa naturaleza química (Simmonds *et al.* 1992, Coats 1994, Isman 1997). Desde el punto de vista de la resistencia, una de las desventajas que, según Isman (1997), presentan los insecticidas vegetales, la inestabilidad, juega en este caso a nuestro favor, pues como hay poca probabilidad de que dos extractos sean siempre iguales, la presión de selección sobre la plaga no será siempre la misma. Esto se debe a que aunque se trate de los mismos elementos, no siempre estarán en las mismas concentraciones. En general, los insectos tardan más en desarrollar la resistencia a una mezcla de ingredientes activos naturales que a cualesquiera de sus componentes por separado. Esto puede deberse a que es más difícil destoxificar un complejo de sustancias que una sola molécula (Isman 1997). Por ejemplo, Feng e Isman (1995) señalan que en una evaluación de laboratorio, al aplicarse al áfido *M. persicae* azadiractina sola, en 35 generaciones este fue capaz de desarrollar un nivel de resistencia nueve veces superior al de la raza inicial. En cambio, con el extracto de nim (que contenía la misma concentración de azadiractina) en el mismo período no mostró indicios de resistencia.

### Registro

Isman (1997) indica que el registro constituye una de las principales barreras para la comercialización de los insecticidas vegetales, debido a la gran cantidad de requerimientos —a menudo innecesarios, puesto que fueron pensados para insecticidas organosintéticos— que generalmente deben cumplir. En cambio, McClintock (1999) señala que en EE.UU el que un insecticida sea clasificado como plaguicida bioquímico (como lo son los insecticidas vegetales) constituye una ventaja, pues se necesita una menor cantidad de requisitos para su registro.

En América Latina, lamentablemente, la mayoría de las legislaciones no están preparadas para registrar este tipo de productos. Como ejemplo podemos mencionar los largos y tortuosos procesos de registro que han tenido que enfrentar en México los insecticidas Biocrack® (extracto de ajo) de Berni Labs y el Protector de Granos® (polvo de follaje y semilla de nim) de Fitorgánica Mexicana. Para julio del 2001, esta empresa llevaba dos años en proceso de registro, mientras que, en el mismo simposio, el director de Berni Labs señaló haber obtenido el registro para su producto después de siete años de iniciar sus actividades. Anderson y Milewski (1999) indican que si bien es

cierto que las regulaciones que hay al respecto no están del todo definidas, debe crearse una legislación especial que aborde el registro de este tipo de agroquímicos. Otro problema que Isman (1997) señala es el costo de los estudios para registrar una nueva sustancia, mismo que puede superar los US\$ 250 000 e incluso alcanzar los US\$ 2 millones. Considerando que los insecticidas vegetales son producidos generalmente por pequeñas y medianas compañías, los costos de registro son con frecuencia prohibitivos. Una solución podría consistir en otorgar el registro de insecticidas vegetales con base a estudios de eficacia biológica y análisis básicos de riesgos a la salud humana y al ambiente.

Otro problema presentado en el momento del registro, es que los insecticidas vegetales son, por lo general, sustancias que no han sido estandarizadas en cuanto a su calidad (Isman 1997). Esto se debe a que la concentración del o los ingredientes activos varían de acuerdo con la procedencia del material del que fueron obtenidos. Sin lugar a dudas, esta es una desventaja importante, pues una de las características de los insecticidas organosintéticos es que sin importar cuándo y dónde se les compre estos serán siempre iguales.

Por último, ante la complejidad legal que representa este tipo de compuestos, los gobiernos deben contar con cuerpos legales dinámicos que se vayan mejorando constantemente para adaptarse a las necesidades y retos del control moderno de plagas.

### **Comercialización**

El tema de los insecticidas vegetales no es nuevo y desde hace ya mucho tiempo se han usado en grandes cantidades. Isman (1997) señala que, en 1947, EE.UU llegó a importar más de 6,700 toneladas de *Derris* y, para 1990, se registró la importación de 350 toneladas de piretro. Este mismo autor señala que los insecticidas vegetales constituyen un 1% del mercado mundial, pero que anualmente las ventas aumentan entre un 10 y un 15%, siendo su principal uso en parques y jardines.

Se estima que dentro de cinco años los insecticidas vegetales deberán capturar cerca del 25% de este mercado (Menn y Hall 1999). De acuerdo con Gaugler (1997), el principal problema en la comercialización de los bioplaguicidas es que se les pone en desventaja al comercializarlos usando el mismo modelo de los insecticidas organosintéticos, ya que en realidad

difieren sustancialmente de estos en cuanto a su disponibilidad, nivel y estabilidad de la efectividad biológica. Asher (1987) señala que otro de los inconvenientes presentados por la mayoría de los insecticidas vegetales es que por lo general ejercen controles moderados o bajos, lo cual difiere con las expectativas de los agricultores sobre los insecticidas en general. Sin embargo, las aparentes desventajas se compensan con los mayores estándares de seguridad, además de la menor toxicidad y acumulación en el medio ambiente que generalmente presentan este tipo de compuestos y que debe ser la base de un modelo propio de comercialización (Gaugler 1997).

### **Divulgación**

La divulgación y la extensión son de mucha importancia en lo que se refiere al uso correcto de los insecticidas vegetales. Rodríguez (1993) señala que la gran mayoría de las plantas plaguicidas no se han popularizado totalmente debido a la falta de programas adecuados de extensión y capacitación. Asher (1987) hace una retrospectiva sobre los artículos revisados en las recopilaciones de Vigneron (1978) y Koul (1982), en donde de 300 artículos, un 7% fue publicado antes de 1958, un 8% durante 1950-59, un 40% entre 1960-69 y un 45% entre 1970-78. Como se puede apreciar, el número de artículos publicados aumenta progresivamente. Según Bustamante (1999), la situación se complica debido a que se divulgan recomendaciones de uso que no han sido debidamente validadas o bien, a que se promueve el uso de insecticidas vegetales por parte de personas que nunca los han evaluado en el campo o cuya evaluación es de dudosa calidad. Considerando que las condiciones ambientales cambian de lugar a lugar y que la concentración de ingrediente activo que una planta expresa depende de una compleja interacción de factores, el uso de plantas para controlar insectos debe estar respaldado por investigaciones locales de campo. Tampoco es extraño encontrar en la literatura artículos que derivan conclusiones generales a partir de estudios parciales. Por ejemplo, algunas veces concluyen que las plantas de la familia Rutaceae no tienen propiedades insecticidas, cuando solo han evaluado una o dos especies de dicha familia en una localidad dada. O bien, señalan que matan coleópteros, por ejemplo, sin señalar especies puntuales o cultivos afectados. También es importante indicar que las recomendaciones de uso deben ser precisas y evitar el uso de unidades de medida ambiguas como "un puño"

o "un par de tallos", porque pueden confundir al agricultor y dificultar la obtención los resultados esperados.

### Perspectivas

Los insecticidas vegetales constituyen una "vieja nueva opción" que algunos autores como Simmonds *et al.* (1992), clasifican hoy como la cuarta generación de insecticidas. Para Rodríguez (1996b), se trata de un método biorracional de fitoprotección que permite la sostenibilidad de los agroecosistemas. Isman (1999) señala que dentro de 10 a 15 años, estos compuestos probablemente representarán cerca del 50% del mercado total de insecticidas. Sin embargo, aunque los insecticidas vegetales constituyen opciones muy ventajosas desde el punto de vista ecológico, sería utópico llegar a pensar que van a reemplazar completamente a los insecticidas organosintéticos. Lamentablemente, quienes se oponen al uso de plaguicidas convencionales, rara vez ofrecen soluciones económicamente viables (Arauz 1996).

Pedigo (1999) señala que el manejo integrado de plagas constituye la primera etapa del desarrollo de una agricultura racional que mantenga los niveles de calidad de vida y del ambiente. Además la sostenibilidad, o racionalidad, de la agricultura no implica necesariamente la eliminación de los plaguicidas como opción de manejo, pero pone énfasis en el uso de opciones de bajo riesgo (Arauz 1996).

En 1989, Jacobson indicaba que, de acuerdo con los estudios realizados hasta la fecha, las familias botánicas más prometedoras para su uso en el control de plagas son: Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Annonaceae, Labiatae y Canellaceae. Sin embargo, hoy en día se encuentran en desarrollo una serie de insecticidas vegetales, de otras familias, como los obtenidos a partir de semillas de *Annona muricata*, *Annona triloba*, *Melia volkensii* y *Nicotiana glauca*. Además, se han obtenido resultados muy prometedores con extractos de las raíces de *Tagetes* spp., extractos foliares de *Ginkgo biloba*, semillas de *Vitis vinifera* y *Lupinus* spp., que en un futuro cercano podrían constituir herramientas nuevas y muy útiles para el control de plagas (Isman 1999). Sin lugar a dudas, la especie que ha presentado un mayor desarrollo en los últimos años ha sido el nim (*Azadirachta indica*; Meliaceae). Rodríguez (2000) señala que sus semillas tienen compuestos que actúan contra más de 200 especies de insectos de los órdenes

Coleoptera, Diptera, Homoptera, Hymenoptera y Lepidoptera, además de tres especies de ácaros, cinco especies de nematodos y una especie de crustáceo. Los formulados comerciales ya se pueden encontrar en el mercado con nombres como Neem Gold®, Neemazal®, Econeem®, Neemark®, Neemcure® y Azatin®, entre otros, en países como Estados Unidos, India, Alemania y varios países de América Latina (Walter 1999). Además de ser de baja toxicidad para mamíferos, los compuestos obtenidos de esta planta no tienen impacto negativo sobre los insectos benéficos (Schmutterer 1990, Rodríguez y Rodríguez 1994). Otra planta que ha mostrado resultados muy prometedores es Hombre Grande (*Quassia amara*; Simaroubaceae), con la cual Mancebo *et al.* (2000 a y b), utilizando extractos, ha obtenido elevados niveles de fagodifusión en una plaga forestal conocida como el barrenador de las meliaceas (*Hypsipyla grandella* (Zeller)) (Lepidoptera: Pyralidae). Lo anterior nos lleva a pensar que en el corto plazo estas últimas dos plantas se desarrollarán aún más, dados sus buenos resultados tanto en laboratorio como en el campo. Además, no debemos olvidar que se ha experimentado con un número muy reducido de plantas de las 250.000 que existen en el planeta (Valencia 1995). Por lo tanto, no será de extrañar que en el futuro aparezcan nuevas plantas con propiedades insecticidas, con nuevos modos de acción, que nos permitirán ampliar nuestro "arsenal" de opciones de bajo riesgo para el control de plagas. Los insecticidas vegetales presentan además la ventaja de ser compatibles con otras opciones de bajo riesgo aceptables en el control de insectos, tales como feromonas, aceites, jabones, entomopatógenos, depredadores y parasitoides, entre otros, lo que aumenta enormemente sus posibilidades de integración a los diferentes programas de manejo (Rodríguez 1996a).

Sin lugar a dudas, las perspectivas para el uso de estos insecticidas vegetales son muy prometedoras. Su participación relativa en el mercado irá aumentando paulatinamente y se perfeccionarán los métodos de búsqueda e identificación de compuestos vegetales que darán origen a nuevas familias de insecticidas mucho menos agresivas con el ambiente.

### Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr Cesáreo Rodríguez Hernández por las sugerencias y comentarios realizados durante la elaboración del presente manuscrito.

## Literatura citada

- Ahmed, S; Grainge, M. 1985. The use of indigenous plant resources in rural development: Potential of the neem tree. *Inter. J. Devel. Tech.* 3:123-130.
- Ahmed, S; Grainge, M. 1986. Potential of the Neem tree (*Azadirachta indica*) for pest control and rural development. *Economic Botany* 40(2):201-209.
- Altieri, MA. 1993. Designing and Improving pests managements systems for subsistence farmers. *In: Altieri, MA (Ed) Crop protection strategies for subsistence farmers.* Westview Press Inc. Boulder. US. p. 1-20.
- Anderson, JL; Milewski E. 1999. Regulation of plant-pesticides: current status. *In: Kennedy, G; Sutton TB (Eds) Emerging technologies for integrated pest management.* APS Press. St. Paul. Minnesota. US. p. 154-162pp.
- Anónimo. 2000. Resistance defeating botanical insecticides. Success stories.[En línea]. Disponible en [http://www.btg.co.uk/success\\_stories/rdbi.html](http://www.btg.co.uk/success_stories/rdbi.html) (Revisado el 13 de Diciembre del 2000).
- Arauz CL. 1996. La protección de cultivos en la agricultura sostenible: perspectivas para Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 41:29-36.
- Asher, KRS. 1987. Plant-derived insect antifeedants: problems and prospects. *Inter. Pest. Control* 21(6):131-133.
- Bustamante, M. 1999. Plaguicidas botánicos; una mentira o una alternativa para el pequeño agricultor. *In: Rodríguez H. C. (Editor) Memoria V Simposio nacional sobre sustancias vegetales y minerales para el combate de plagas.* Aguascalientes. Aguascalientes. MX. p. 61-69.
- Casida, J; Quistad, G. 1998. Golden age of insecticide research: Past, Present, or future? *Ann. Rev. Entomol* 43:1-16.
- Coats, JR. 1994. Risks from natural versus synthetic insecticides. *Annu. Rev. Entomol.* 39:489-515.
- Feng, R; Isman, MB. 1995. Selection for resistance to azadirachtin in the green peach aphid *Myzus persicae*. *Experientia* 51:831-833.
- Gaugler, R. 1997. Alternative paradigms for comercializing biopesticides *Phytoparasitica* 25(3):179-182.
- Geier, B. 1999. La agricultura orgánica en el mundo; Una alternativa para alcanzar un 100% de reducción en el uso de pesticidas *In: Céspedes, M; Pérez, C (Eds.) Seminario internacional "Producción Orgánica: un desafío para el 2000"* p 12-21.
- Heal, R; Rogers, E; Wallace, RT; Starnes, O. 1950. A survey of plants for insecticidal activity. *Lloydia* 13(2):89-162.
- Hernandez, M; Pérez, E; Villar, C; Delgadillo, A; Tiscareño, M; Juárez, B; Jasso, Y. 1999. Polvos vegetales de plantas silvestres para el control del gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* Motsh., en maíz almacenado. *In: Rodríguez, C. (Ed) Memorias del V Simposio Nacional sobre sustancias vegetales y minerales en el combate de plagas.* Aguascalientes. MX. p. 101-105.
- Isman, BM. 1997. Neem and other botanical insecticides: barriers to comercialization. *Phytoparasitica* 25(4):339-344.
- Isman, BM. 1999. Neem and related natural products. *In: Hall, F; Menn, JJ (Eds) Methods in Biotechnology, Vol 5: Biopesticides: Use and Delivery.* Humana Press, Totowa . N.J. USA. p. 139-153.
- Izuru, Y. 1970. Mode of action of pyrethroids, nicotinoids and rotenoids. *Annu. Rev. Entomol.* 15:257-272.
- Jacobson, M. 1989. Botanical Pesticides Past, Present and Future. *In: Arnason, J; Philogéne, BJR; Morand, P (Eds) Insecticides of plant origin.* American Chemical Society, Washington, D.C. US. p. 2-10.
- Khambay, B; Batty, D; Cahill, M; Denholm, I; Mead-Briggs, M; Vinall, S; Niemeyer, H; Simmonds, M. 1999. Isolation, Characterization, and biological activity of Naphtoquinones from *Calceolaria andina* L. *J. Agric. Food Chem.* 47(2):770-775
- Lagunes, TA; Rodríguez, HC. 1989. Búsqueda de la tecnología apropiada para el combate de plagas del maíz almacenado en condiciones rústicas. CONACYT, Colegio de Postgraduados. p 150.
- Lagunes, TA. 1994. Extractos de polvos vegetales, y polvos minerales para el combate de plagas del maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia. Memoria, Colegio de Postgraduados, USAID, CONACYT, BORUCONSA. Montecillo, México 31 p.
- Mancebo, F, Hilje, L; Mora, G; Salazar, R. 2000a. Antifeedant activity of *Quassia amara* (Simaroubaceae) extracts on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera:Pyralidae) larvae. *Crop Protection* 19:301-305.
- Mancebo, F, Hilje, L; Mora, G; Salazar, R. 2000b. Efecto de extractos vegetales sobre larvas de *Hypsipyla grandella*. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 55:12-23.
- Menn, J; Hall, F. 1999. Biopesticides present status and future prospects *In: Hall, F; Menn, JJ (Eds) Methods in Biotechnology, Vol 5: Biopesticides: Use and Delivery.* Humana Press, Totowa . N.J. US. p. 1-10.
- McClintock, JT. 1999. The federal registration process and requirements for the United States. *In: Hall, F; Menn JJ (Eds) Methods in Biotechnology, Vol 5: Biopesticides: Use and Delivery.* Humana Press, Totowa . N.J. US. p. 415-441.
- Metcalfe, RL; Metcalfe, ER. 1992. Plant kairomones in insect ecology and control. Chapman and Hall. New York. US. p. 169.
- Pedigo, L. 1999. *Entomology and pest management.* 3<sup>rd</sup> ed. Prentice Hall Inc, Nupper Saddle River, NJ. US. p. 691.
- Rodríguez, HC. 1993. Fitoinsecticidas en el combate de insectos *In: "Bases prácticas de la agroecología en el desarrollo centroamericano". Modulo II: Manejo de plagas en el sistema de producción orgánica.* San Martín Zapotitlan, Retalhuelu. GT. p. 112-125.
- Rodríguez, HC. 1996a. Extensión y capacitación en el uso de plaguicidas botánicos. *In: Memoria I Taller latinoamericano sobre bioplaguicidas ¿Mito, Placebos o una alternativa en la agricultura sostenible?. Escuela Panamericana de Agricultura.* El Zamorano. HN. p. 1-6.
- Rodríguez, HC. 1996b. Plantas insecticidas: Un método sostenible de fitoprotección. *In: Memorias II Simposio Internacional y III Reunión nacional sobre Agricultura sostenible: Una contribución al desarrollo agrícola integral.* Montecillo. MX. p. 233-238.
- Rodríguez, HC. 1997. Insecticidas vegetales y agricultura orgánica. *In: Evento de aprobación en certificación de agricultura orgánica.* Colegio de Postgraduados. Montecillo, MX. p. 162-179.
- Rodríguez, HC. 2000. Plantas contra plagas; Potencial práctico de ajo, anona, nim, chile y tabaco. Red de alternativas sobre plaguicidas y alternativas en México (RAPAM). Texcoco. MX. 134 p.
- Rodríguez, LD; Rodríguez, S. 1994. El árbol Nim; Una revisión de literatura como introducción a su conocimiento. Colegio de Postgraduados. Campus Córdoba. MX. 69 p.
- Secoy, DM; Smith, AE. 1983. Use of Plants in control of agricultural and domestic pests. *Economic Botany* 37(1):28-57.

- Simmonds, MS; Evans, HC; Blaney, WM. 1992. Pesticides for the year 2000: mycochemicals and botanicals. *In*: Aziz A, S.A. Kadir and H. Barkov (Editors). Pest Management and the environment in 2000. CAB International. Wallingford. Oxon. UK. p. 127-164.
- Schmutterer, H. 1990. Properties and potencial of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annu. Rev. Entomol.* 35:271-97.
- Schmutz, E; Breazeale, L. 1986. Plants that poison. Northland press. Flagstaff. Arizona. US. p. 241.
- Schoonhoven, LM. 1982. Biological aspects of antifeedants. *Ent. Exp. & appl.* 31:57-69.
- Swain, T. 1977. Secondary compounds as protective agents. *Ann. Rev. Physiol.* 28:479-501.
- Valencia, C. 1995. Fundamentos de Fitoquímica. Editorial Trillas. México DF. MX. 235 p.
- Vandermeer, J. 1996. El conocimiento ecológico y la complejidad para el Manejo Integrado de Plagas, en el mundo postmoderno. *Revista Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 41:37-44
- Ware, G. 1994. The pesticide Book. Thomson Publications. San Francisco. US. 356 p.
- Walter, J. 1999. Commercial experience with neem products. *In*: Hall and Menn (Eds). *Biopesticides: Use and Delivery*. Humana Press Inc, Totowa, NJ. USA. p. 155-170.

## Reproducción masiva de *Verticillium* sp., hiperparásito de la roya del café, *Hemileia vastatrix*<sup>1</sup>

Evelyn M. Canjura-Saravia<sup>2</sup>  
Vera Sánchez-Garita<sup>3</sup>  
Ulrike Krauss<sup>3</sup>  
Eduardo Somarriba<sup>4</sup>

**RESUMEN.** El objetivo de esta investigación fue desarrollar un método eficiente y práctico para la reproducción masiva de cepas de *Verticillium* sp. con alto potencial como hiperparásitos de *Hemileia vastatrix* y probar la acción hiperparasítica de las cepas en plantas que crecen en macetas en ambiente natural. Se empleó un sustrato a base de melaza y levadura para la reproducción, donde se varió la cantidad de melaza (120, 80, 40 y 8 g/l), con y sin adición de uredosporas de roya en el medio. Para tres cepas de *Verticillium* sp., se alcanzaron concentraciones entre  $2.3 \times 10^6$  y  $5.5 \times 10^9$  conidias/ml. La mejor cantidad de melaza fue de 8 g de melaza/l en ausencia de uredosporas de roya, porque concentraciones más altas no mejoraron la reproducción. No se pudo establecer qué combinación de ingredientes sería la ideal para la reproducción masiva de la cuarta cepa, debido a su lenta reproducción.

En las macetas se evaluó la capacidad hiperparasítica de las cuatro cepas, para lo cual se realizaron tres asperciones de cinco combinaciones de dichas cepas en plantas de café afectadas por roya. A pesar de que estadísticamente fue posible determinar la mejor combinación de cepas, en términos reales no se pudo establecer cuál fue la mejor, porque la incidencia de *Verticillium* sp. se generalizó en todo el ensayo, inclusive en el testigo.

**Palabras clave:** Control biológico, curvas de crecimiento, fermentación, fermentadores artesanales, *Hemileia vastatrix*, hiperparasitismo, melaza, reproducción masiva, roya del café, *Verticillium* sp.

**ABSTRACT.** The objective of this investigation was to develop an efficient and practical method for the massive production of strains of *Verticillium* sp. with high potential as hyperparasites of *Hemileia vastatrix* and to prove the hyperparasitic action of the strains in the field. The media for the production contained molasses, yeast and distilled water, with different quantities of molasses (120, 80, 40 and 8 g/l), with and without addition of rust uredospores in the media. For three *Verticillium* strains, final spore concentrations of  $2.3 \times 10^6$  y  $5.5 \times 10^9$  conidia/ml were reached. The best combination of ingredients was 8 g of melaza/l in the absence of rust uredospores because higher concentrations did not improve production. It could not be determined what combination of ingredients it would be the ideal for the massive production of the fourth strain due to its slow reproduction.

The hyperparasitic capacity of the four strains was evaluated. Three applications of five mixtures of strains in coffee plants affected by rust were administered. Although statistically it was possible to determine the best mixture of strains, in real terms, the best could not be determined because the incidence of *Verticillium* sp. equilibrated across treatments, including the control.

**Key words:** Biological control, coffee rust, cottage industry fermentors, fermentation, growth curves, *Hemileia vastatrix*, hyperparasitism, massive production, molasses, *Verticillium* sp.

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

<sup>2</sup> Universidad Centroamericana José Simeón Cañas, San Salvador, El Salvador. ecanjura@telesal.net. Tel: (503) 229-3827.

<sup>3</sup> CATIE, Área de Agricultura Ecológica, 7170, Turrialba, Costa Rica.

<sup>4</sup> CATIE, Área de Agroforestería, 7170, Turrialba, Costa Rica.

## Introducción

El cultivo del café es uno de los más importantes en el mercado internacional y representa para los países centroamericanos una fuente importante de divisas y trabajo (Jiménez 1997, Castellón 1999). La roya del café (*Hemileia vastatrix* Berkeley y Broom) es una de las enfermedades que causa mayores pérdidas en el rendimiento de este cultivo. Para su control, se han considerado una serie de estrategias, como el control químico, la resistencia genética, el control biológico, el control cultural y el manejo integrado. El control químico ha sido eficaz para el manejo de la roya; sin embargo, la contaminación del ambiente, así como el alto costo de las aplicaciones y el riesgo de desarrollo de resistencia, han provocado que esta estrategia no se considere como la solución ideal al problema (Javed 1987, López *et al.* 1990, Becker 1991).

El hongo *Verticillium* sp. es uno de los hiperparásitos más comunes de la roya del café, se presenta en los cafetales en forma natural y podría ser un buen candidato para el control biológico de la roya. Sin embargo, no se ha logrado una reproducción masiva que permita obtener estructuras de reproducción en corto tiempo y a bajo costo (Leguizamón *et al.* 1989, Monzón 1992, Rivas *et al.* 1996).

El presente estudio tuvo como objetivo principal desarrollar un método eficiente, práctico y barato para la reproducción masiva de cepas de *Verticillium* sp. Otros objetivos fueron cuantificar la producción de diferentes tipos de esporas, como conidias y clamidosporas de *Verticillium* sp., en un fermentador artesanal; evaluar diferentes concentraciones de melaza y el efecto de uredosporas de roya en un fermentador artesanal para obtener mayor concentración de estructuras de reproducción de *Verticillium* sp. en el menor tiempo posible; y evaluar la capacidad hiperparasítica de cuatro cepas de *Verticillium* sp. sobre el patógeno.

## Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo en el invernadero, el campo y el Laboratorio de Fitopatología del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), localizado en Turrialba, Provincia de Cartago, Costa Rica, situado a 640 msnm, 9°55'21" N y 83°39'40" W. La temperatura promedio anual es de 21.7°C; la precipitación de 2,479 mm y la humedad relativa 87%. Las condiciones micrometeorológicas dentro del ensayo en macetas, se midieron con un hidrotérgrafo, para temperatura y humedad relativa; y con un densíome-

tro, para la sombra. Los datos fueron de 23.8 °C, 80.4 % y 81.8 %, respectivamente.

## Evaluación de la producción de conidias y clamidosporas de *V. lecanii* en un fermentador artesanal

Se evaluó en un fermentador artesanal la reproducción masiva de cuatro cepas de *Verticillium* sp. (CATIE, Guayabo, Pejibaye y Tuis), en un sustrato a base de 80 g de melaza y 5 g de levadura en un litro de agua destilada, con crecimientos de una, dos y tres semanas. El mejor resultado obtenido en esta prueba (concentraciones entre  $7.25 \times 10^6$  y  $1.42 \times 10^8$  conidias/ml al cabo de 15 días) se usó para evaluar el crecimiento de cuatro cepas, utilizando como sustrato igual cantidad de levadura (5 g) (marca Fleischman, Costa Rica), cuatro concentraciones de melaza de caña proveniente del Ingenio Atirro, ubicado en Turrialba (120, 80, 40 y 8 g/l). Así mismo, se evaluó el efecto de uredosporas de roya ( $1 \times 10^4$  uredosporas/ml) sobre la producción de conidias, durante un período de 10 días.

El experimento tuvo un Diseño Completamente al Azar, con tratamientos en arreglo factorial ( $4 \times 4 \times 2$ ), con el resultado de 32 combinaciones con una repetición. Las variables de respuesta fueron la concentración de conidias y clamidosporas de *Verticillium* sp. Mediante el programa Sigma Plot, con los datos obtenidos se construyeron 32 curvas de crecimiento con tendencia sigmoideal del tipo Gompertz de cuatro parámetros. La ecuación que describe la curva es:  $Y = A + C \cdot \exp(-\exp(-B \cdot (X - M)))$  y los parámetros evaluados fueron: nivel final de conidias (C), tiempo (días) del punto de inflexión (M) y una medida de la pendiente en el punto de inflexión (B). El nivel inicial de conidias fue en promedio entre  $10^3$  y  $10^4$  conidias/ml, pero se consideró como cero ( $A=0$ ) debido a que una concentración menor de  $1 \times 10^4$  conidias/ml no se detecta con el hematocímetro. Los parámetros se compararon mediante el análisis de varianza y de esa manera se evaluó el efecto de cada uno de los tratamientos. Luego, se realizó la prueba de Tukey para separar las diferencias de medias de los parámetros de las curvas. El parámetro C se transformó por  $y' = \log(y)$  para obtener una distribución normal.

## Evaluación de la capacidad hiperparasítica de cuatro cepas de *Verticillium* sp. sobre pústulas de *H. vastatrix*

Se expusieron plantas de café sanas de la variedad Caterra sembradas en macetas, de 14 meses de edad, al

inóculo natural de roya presente en una plantación de café orgánico del CATIE; las plantas permanecieron desde el mes de diciembre de 1999, hasta el mes de Julio del 2000. Cuando se observaron las primeras lesiones de roya, se hicieron 3 aspersiones (una cada 15 días) de cinco mezclas de cepas de *Verticillium* sp. (Mezcla 1: cepas de Tuis, CATIE y Pejibaye; Mezcla 2: cepas de Tuis, CATIE y Guayabo; Mezcla 3: cepas de Tuis, Pejibaye y Guayabo; Mezcla 4: cepas de CATIE, Pejibaye y Guayabo; Mezcla 5: aplicación de las cuatro cepas). La mezcla de cepas se realizó con la finalidad de determinar cuál o cuáles combinaciones de cepas realizaron la mejor acción hiperparasítica y, además, identificar cuál cepa, de entre las que conformaron las mejores mezclas, fue la que influyó en dicha acción.

El hiperparásito se aplicó a una concentración total de  $1 \times 10^6$  conidias/ml con iguales proporciones de cada cepa. Se usaron cinco plantas por tratamiento, incluyendo el testigo absoluto. En cada planta se seleccionaron cinco hojas al azar que presentaban por lo menos una lesión clorótica pequeña (estado inicial de la roya) para evaluar la incidencia del hiperparásito.

Se empleó un Diseño de Bloques al Azar con cinco repeticiones por cada tratamiento, con parcelas subdivididas en el tiempo. Las variables de respuesta fueron: número de hojas con roya (NHR), número de hojas con roya y *Verticillium* sp. (NOV), número de pústulas (NP), y número de pústulas hiperparasitadas (NPV) en el total de hojas seleccionadas. Se calculó la incidencia de *Verticillium* sp. en hojas con pústulas (NHRV/NR) y la incidencia en pústulas (NPV/NP) (Monzón 1992). A los datos obtenidos se les hizo análisis de varianza para determinar si hubo diferencias significativas entre tratamientos, y la prueba de Tukey para separar las medias de los tratamientos evaluados.

## Resultados y discusión

### Cantidad de inóculo inicial de *Verticillium* sp. para usar el fermentador

Las mayores concentraciones de conidias/ml obtenidas en el fermentador se lograron cuando se utilizaron crecimientos de dos y tres semanas. Las concentraciones fueron  $1 \times 10^6$  conidias/ml (cepa de Pejibaye),  $1 \times 10^7$  conidias/ml (cepas de CATIE y Guayabo) y  $1 \times 10^8$  co-

nidias/ml (cepa de Tuis). Se eligió el crecimiento de dos semanas para las siguientes pruebas.

### Reproducción masiva de cuatro cepas de *Verticillium* sp. en diferentes concentraciones de melaza y en presencia de uredosporas de roya en el fermentador

Con base en estudios realizados con *Trichoderma* spp., donde se reprodujo en forma masiva clamidosporas y conidias en un medio a base de melaza (Lewis y Papavizas 1983, Hebbar y Lumsden 1999), se planteó en la metodología la evaluación de clamidosporas; sin embargo, a lo largo del proceso, ninguna de las cepas las produjo, por lo que el análisis se basó únicamente en la evaluación de la concentración de conidias.

El comportamiento de los parámetros de la curva Gompertz para medir el efecto de la melaza y las uredosporas de roya en cada una de las cepas estudiadas dio los resultados siguientes.

### Nivel final de conidias

Hubo diferencia significativa entre las distintas cepas evaluadas ( $P=0.0029$ ) y entre las dosis de melaza ( $P=0.0277$ ). Las interacciones entre las cepas y las diferentes dosis de melaza ( $P=0.0077$ ), así como también la interacción de las cepas con uredosporas de roya ( $P=0.0381$ ) fueron significativas; mientras que la interacción de los tres factores (cepa, melaza y uredosporas) resultó no significativa ( $P=0.061$ ). Al final del periodo de evaluación, las cepas en estudio presentaron una concentración de conidias/ml distinta. Esta diferencia pudo deberse al efecto de la melaza o a la presencia o ausencia de uredosporas de roya en el sustrato o a características genéticas propias de cada una de las cepas. Por esta razón, se analizó de forma general de ese factor, y luego se analizaron los factores melaza y uredosporas de roya independientemente para cada una de las cepas.

Por medio de la separación de medias, mediante la prueba de Tukey, se observó que las cepas de Guayabo y Pejibaye fueron significativamente diferentes, siendo la primera la que reflejó el mayor nivel final de conidias ( $5.45 \times 10^9$  conidias/ml) y la última el valor más bajo ( $2.27 \times 10^6$  conidias/ml) (Cuadro 1). Las concentraciones finales de conidias de las cepas de Tuis y CATIE se mantuvieron en niveles intermedios, presentando concentraciones de  $1.06 \times 10^9$  conidias/ml y de  $3.73 \times 10^6$  conidias/ml, respectivamente (Figura 1).

**Cuadro 1.** Separación de medias del nivel final de conidias/ml (C) mediante la prueba Tukey, con datos transformados (para C)(Media  $\bar{t}$ ) para cuatro cepas de *Verticillium* sp.

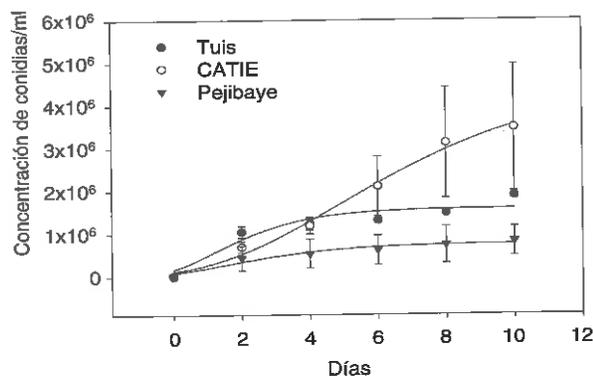
CEPAS	Nivel final de conidias/ml		N
	Media	Media $\bar{t}$	
Guayabo	5.45x10 <sup>9</sup>	16.14 a	16
Tuis	1.06x10 <sup>9</sup>	15.18 ab	16
CATIE	3.73x10 <sup>9</sup>	14.71 b	16
Pejibaye	2.27x10 <sup>9</sup>	13.77 b	16

$\bar{t} = \log(Y)$

N = Número de observaciones.

$\alpha = 0.05$ , datos con la misma letra no difieren significativamente.

Para las cepas de CATIE, Pejibaye y Tuis, tanto el efecto de la melaza como el de la presencia y ausencia de uredosporas de roya en la concentración final de conidias/ml (datos transformados, Log Y) no resultaron significativos ( $0,365 < P < 0,517$ ). Del mismo modo, la interacción entre estos dos factores tampoco resultó significativa. Es decir, que con cualquier dosis de melaza que se empleó en este estudio en presencia o ausencia de uredosporas de roya, la producción de conidias de estas cepas no aumentó ni disminuyó. Sin embargo, para la cepa de Guayabo tanto la melaza como la presencia o ausencia de uredosporas fueron significativos ( $P=0,0097$  y  $P=0,0281$ , respectivamente).



**Figura 1.** Promedio de la concentración de conidias/ml de las cepas CATIE, Pejibaye y Tuis obtenidas en fermentadores artesanales con 4 dosis (8, 40, 80 y 120 gm) de melaza/l en presencia y ausencia de uredosporas de roya, durante un período de 10 días.

La interacción de la concentración de melaza con la presencia o ausencia de uredosporas de roya fue significativa ( $P=0.0042$ ). La separación de medias del nivel final de conidias reveló que la combinación dosis tres de melaza (40 g/l), en ausencia de uredosporas de roya, fue la única que difirió del resto de combinaciones y fue, a su vez, la que presentó el mayor nivel final estimado de conidias ( $4.32 \times 10^{10}$  conidias/ml). Es-

ta diferencia se puede considerar muy importante, pues con ninguna otra combinación de factores se obtuvo una concentración tan alta. En este sentido, la adición de uredosporas para las otras combinaciones no incrementó la concentración de conidias, como se esperaba en este estudio (Da Silva y Feraz 1978).

Es importante anotar que la concentración de conidias/ml alcanzada por las cepas de Guayabo y Tuis no se había logrado obtener antes en medio líquido. Únicamente se había reportado un máximo de  $10^5$  conidias/ml en caldo Sabouraud dextrosa (Vélez y Rosillo 1995). Hebbar y Lumsden (1999) lograron, en un fermentador artesanal, donde se empleó la misma cantidad de melaza de caña (80 g/l), aproximadamente de  $10^6$  a  $10^7$  clamidosporas/ml de *Trichoderma* spp., lo que coincide con lo obtenido con las cepas de *Verticillium* sp. en esta investigación para esa misma dosis.

#### Tiempo en días del punto de inflexión

El análisis de varianza del tiempo (días) del punto de inflexión, indicó que hubo diferencia significativa entre las cepas estudiadas ( $P=0.0249$ ), en la interacción de las cepas con las dosis de melaza ( $P=0.0178$ ), y la interacción de cepas con presencia o ausencia de uredosporas de roya ( $P=0.0381$ ). También resultó significativa la interacción de los tres factores (cepa, dosis de melaza y presencia o ausencia de uredosporas de roya) ( $P=0.0049$ ). La separación de medias del tiempo del punto de inflexión mediante la prueba de Tukey demostró que la cepa de Guayabo (19.4 días) difirió en forma muy acentuada de las cepas de Pejibaye (3.9 días) y CATIE (3.4 días), pues tardó más tiempo para llegar al punto de inflexión. La cepa de Tuis demoró 10.2 días para alcanzar el punto de inflexión, el cual representó un tiempo intermedio entre las demás cepas. No se observó diferencia entre las cepas de Pejibaye y CATIE, lo cual mostró que ambas requirieron un tiempo similar para llegar al punto de inflexión.

Las cepas de Guayabo y Tuis demoraron mucho más tiempo que el resto de las cepas en alcanzar el punto de inflexión en las curvas de crecimiento, pero esa demora se compensa con el alto nivel de conidias que se puede obtener con dichas cepas, de tal modo que se puede considerar su reproducción masiva para un posible control biológico de la roya (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Separación de medias del tiempo (días) del punto de inflexión (M) mediante la prueba Tukey para cuatro cepas de *Verticillium* sp.

CEPAS	Media del tiempo (días) del punto de inflexión	N
Guayabo	19.6 a	16
Tuis	10.2 ab	16
CATIE	3.4 b	16
Pejibaye	3.9 b	16

N = Número de observaciones.

$\alpha = 0.05$ , datos con la misma letra no difieren significativamente.

Los análisis de varianza del tiempo del punto de inflexión para las cepas de CATIE, Pejibaye y Tuis indicaron que el factor melaza no fue significativo ( $0.247 < P < 0.458$ ), como tampoco lo fue el factor uredosporas de roya ( $0.250 < P < 0.973$ ). La interacción de la concentración de melaza con la presencia o ausencia de uredosporas tampoco fue significativa ( $0.594 < P < 0.758$ ). Es decir, dichas cepas demoraron lo mismo para alcanzar el punto de inflexión tanto al emplear dosis de melaza altas como al utilizar dosis más bajas, con uredosporas de roya presentes o ausentes. El tiempo promedio para alcanzar dicho punto fue de 3,4 días.

En el caso de la cepa de Guayabo, el análisis de varianza del tiempo del punto de inflexión reveló que hubo diferencia significativa del factor melaza ( $P=0.0328$ ), pero no fue así con el factor uredosporas de roya ( $P=0.081$ ). Sin embargo, la interacción de los dos factores sí fue significativa ( $P=0.0251$ ), lo cual indica que existió un comportamiento diferente de la cepa ante las distintas dosis de melaza, dependiendo de la presencia de uredosporas en el medio.

La separación de medias del tiempo del punto de inflexión (Tukey) para la interacción de las diferentes dosis de melaza, y la presencia y ausencia de uredosporas de roya, mostraron que al emplear 40 g/l de melaza sin adición de uredosporas de roya se estimó un tiempo de 118,3 días para alcanzar el punto de inflexión, el cual se encuentra muy lejos del intervalo de observación. Esto se puede explicar si se considera

que fueron pocas las replicaciones en el ensayo (únicamente dos) y demasiada la variación en los datos observados para esa combinación de factores, y los estimados de parámetros se encontraron fuera del periodo de observación de 18 días máximo.

Los demás puntos de inflexión no mostraron diferencias significativas a través del tiempo.

#### **Medida de la pendiente en el punto de inflexión**

El análisis de varianza del parámetro B, medida de la pendiente en el punto de inflexión, no mostró diferencias significativas entre las cepas estudiadas ( $P=0,996$ ), ni interacción entre las mismas con las dosis de melaza ( $P=0,685$ ), ni la presencia de uredosporas de roya ( $P=0.645$ ). Por lo tanto, todas las cepas llegaron al punto de inflexión con una tasa de incremento similar, y este fenómeno se dio independientemente de las diferentes dosis de melaza empleadas, así como de la presencia o ausencia de uredosporas de roya.

En todos los parámetros, la mejor combinación para la reproducción de las cepas de CATIE, Pejibaye y Tuis resultó cuando la melaza fue mínima (8 g/l) sin presencia de uredosporas. La combinación de los factores descritos también resultó beneficiosa al utilizar menos material (menos melaza) para preparar el sustrato, lo cual evita tener que colectar la roya en el campo para adicionarla al medio; así, se reducen los costos.

Para el caso específico de la cepa de Guayabo, la mejor dosis de melaza para su reproducción fue la de 40 g/l, las dosis mayores o menores no permitieron un incremento en la producción de conidias/ml. La adición de uredosporas de roya tampoco permitió el incremento en la producción.

En forma general, se pudo notar que para todas las cepas la adición de uredosporas al medio no estimuló la mayor producción de conidias al final del periodo. Este resultado difiere de lo reportado por Da Silva y Ferraz (1978), quienes observaron mayor producción de conidias de *Verticillium hemileiae* al adicionar al medio de cultivo uredosporas de roya. Dicha adición tampoco aceleró el tiempo del punto de inflexión o la tasa de crecimiento en el presente estudio.

#### **Evaluación del efecto hiperparasítico de cuatro cepas de *Verticillium* sp. sobre *H. vastatrix***

##### **Desarrollo de la enfermedad**

El desarrollo de la enfermedad presentó un comportamiento típico de las enfermedades de ciclo múltiple

(caso de la roya del café), en las que al inicio se observa un incremento lento, que luego se acelera con el consecuente aumento de lesiones nuevas. Finalmente, se presenta un descenso del incremento en la medida que el tejido de las hojas afectadas se va agotando (Castaño-Zapata 1994).

Entre los factores que favorecieron el incremento de la enfermedad se encuentran la temperatura y la densidad de sombra durante el período de evaluación. La temperatura óptima para la germinación de uredosporas oscila entre los 21 y 25°C, y la temperatura promedio durante el ensayo fue de 22-22.5°C, durante el mes de julio y agosto, respectivamente. La densidad de sombra reportada en el ensayo fue de 81,77% lo que también pudo favorecer el incremento de la enfermedad, pues la sombra es una condición propicia para su desarrollo (Cadena 1982).

### Actividad hiperparasítica

#### *Hojas con pústulas*

Se observaron diferencias significativas en la presencia de hojas con pústulas entre los tratamientos ( $P=0,0002$ ) y en los tratamientos frente a las evaluaciones ( $P=0,0001$ ) (el número de pústulas fue en aumento a medida que transcurrió el tiempo). No obstante, a pesar de haber encontrado diferencias significativas en los tratamientos, no se pudo establecer si las combinaciones de cepas de *Verticillium* sp. empleadas en el experimento tuvieron efecto sobre la mayor presencia de hojas con pústulas, ya que hubo una serie de factores que afectaron la evaluación; por ejemplo, no se pudo garantizar que las plantas estuvieran completamente libres de *Verticillium* sp. después de exponerlas en la plantación de café orgánico de CATIE afectada por roya, en la fase inicial del experimento, antes del inicio de la evaluación. Esta plantación presentaba *Verticillium* sp. en forma natural, y a pesar de que se aseguró que las plantas utilizadas en el ensayo no tuvieran pústulas de roya con el micelio blanco característico del hiperparásito, antes de la aplicación de los tratamientos, algunas conidias pudieron quedar presentes sobre la superficie de las hojas, lo cual permitió su dispersión.

Por otro lado, las plantas evaluadas se colocaron a una distancia de 60 cm entre sí, lo que permitió que los tratamientos o combinaciones de cepas del hiperparásito se mezclaran e incluso infectaran el testigo; este efecto fue posible debido a que *Verticillium* sp. se dispersa fácilmente entre una planta y otra, lo cual se fa-

cilitó por la poca distancia entre ellas. Alarcón y Carrión (1994) observaron que plantas de café sembradas en hileras a dos metros entre sí y tres metros entre hileras, tratadas con dos inoculaciones al año con *Verticillium* sp., también presentaron mezclas dentro del ensayo.

#### *Incidencia de Verticillium sp. en las pústulas*

No hubo diferencias significativas en la incidencia del hiperparásito en pústulas entre los tratamientos ( $P=0,19$ ); solamente hubo diferencias significativas entre los tratamientos frente a las evaluaciones ( $P=0,0001$ ). Esto significa que estadísticamente todos los tratamientos produjeron una incidencia en las pústulas de roya similar en todas las hojas evaluadas; es decir, el nivel de hiperparasitismo no varió con ninguna mezcla de cepas aplicadas o con respecto al testigo, donde no se aplicó ningún hiperparásito, y esta incidencia fue incrementando a medida que transcurrió el tiempo.

Hay que tomar en cuenta que el ensayo se vio afectado por una posible presencia de *Verticillium* sp. cuando se expusieron las plantas en la plantación de café orgánico de CATIE. Asimismo, hubo proximidad de las plantas dentro del ensayo, lo que pudo ocasionar una mezcla de los tratamientos e infectar el testigo (como en el caso de la presencia de *Verticillium* sp. en hojas con pústulas).

La incidencia de *Verticillium* sp. en el total de las pústulas fue bajo ( $\leq 10,5\%$ ). Es posible interpretar la baja incidencia como un efecto adverso de la humedad relativa, pues se necesita entre 99 y 95% de la misma para completar el hiperparasitismo (Eskes *et al.* 1987). Durante el período de estudio, se observó una humedad relativa promedio mensual fuera del ensayo de entre 88.1 y 88.5 % para los meses de julio y agosto, respectivamente (cuando se realizó el estudio), y dentro del ensayo fue de 80.4%. La temperatura fue óptima para el hiperparásito durante el período de evaluación, tanto fuera del ensayo como dentro de él, ya que *Verticillium* sp. se desarrolla bien entre los 20 y 25 °C (Hall 1981).

Tanto *H. Vastatrix* como *Verticillium* sp. encontraron condiciones favorables de temperatura; sin embargo, el incremento en el número de pústulas de roya en las hojas evaluadas fue mucho más acelerado que el incremento de la incidencia de *Verticillium* sp. sobre dichas pústulas (Fig. 2).

Un caso similar se presentó en un estudio realizado por Monzón (1992), en Nicaragua, en el que también se evaluó la incidencia de *Verticillium* sp. Tanto en las hojas como en el total de pústulas se observó un

hiperparasitismo menor del 14% y uno de los factores que influyeron en la baja incidencia fue la baja humedad. Como este artículo señala, los niveles de hiperparasitismo alcanzados no superaron el 10,5%, y las condiciones de humedad fueron, como se discutió anteriormente, adversas.

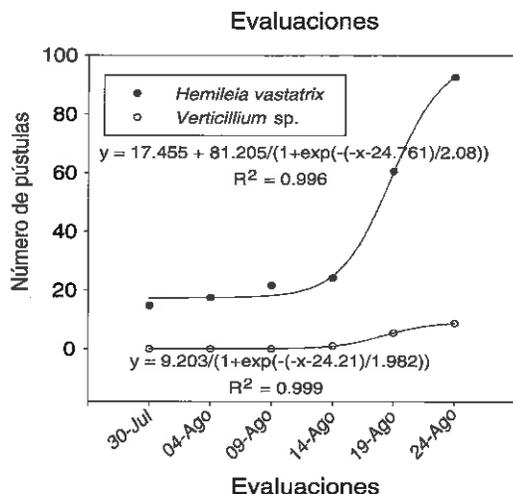


Figura 2. Curvas de mejor ajuste para el desarrollo de *H. vastatrix* y de *Verticillium* sp. durante el periodo del 30 de julio al 24 de agosto de 2000.

## Conclusiones

Las cepas de *Verticillium* sp. produjeron satisfactoriamente conidias en los fermentadores artesanales. No se observó la presencia de clamidosporas en el fermentador, lo cual podría sugerir que las cepas corresponden a la especie *Verticillium lecanii*. La reducción de la concentración de melaza no afectó la producción final de conidias de las cepas de CATIE, Pejibaye y Tuis; por lo tanto, se puede usar la dosis más baja (8 g/l). La presencia de uredosporas de roya no mejoró la concentración final de conidias de dichas cepas, por lo que no se justificó su uso en los fermentadores. Para la cepa de Guayabo, no se pudo definir el efecto de la concentración de melaza ni de la presencia de uredosporas de roya en el sustrato. Para la fase de campo, las condiciones del ensayo en macetas y con inóculo natural de roya no permitieron determinar la capacidad hiperparasítica de las cepas de *Verticillium* sp.

## Agradecimientos

A DANIDA por financiar este estudio; al Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), por el invaluable apoyo brindado para la realización de esta investigación. A la Licda. Lorena Orozco por su invaluable aporte en la revisión del documento.

## Literatura citada

- Alarcón, R; Carrión, G. 1994. Uso de *Verticillium lecanii* en cafetales como control biológico de la roya del café. *Fitopatología* 29 (1): 82-85.
- Becker R, S. 1991. El sistema *Coffea* spp y *Hemileia vastatrix*. In *La Roya de Café: Conocimiento y Control*. 1991., Eschborn, DE, GTZ 281 p.
- Cadena G, G. 1982. Biología de *Hemileia vastatrix* Berk. y Br. *Roya del café Hemileia vastatrix* Berk. y Br. Manizales, CO. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. p. 1-26.
- Castaño-Zapata, J. 1994. Principios básicos de fitopatología. 2 ed. Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. Publicación DPV-EAP No. 596. p. 69-91.
- Castellón B, JU. 1999. Uso de abonos orgánicos y sombra para almacigos de café orgánico. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, CATIE. 69 p.
- Da Silva R., R; Ferraz, S. 1978. Efeito da temperatura o crescimento e esporulação "in vitro" de *Verticillium hemileiae*. 6 Congreso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras. Riberão Preto, São Paulo. Resumos. p. 38-39.
- Eskes, AB; Mendes, MD; Robbs, CF. GAMS, W. 1987. Studies on the hiperparasitism of *Hemileia vastatrix* by *Verticillium* spp. In Congreso Paulista de Fitopatología, 10 Piracicaba S.P. Resúmenes. Grupo Paulista de Fitopatología.
- Hall, RA. 1981. The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. In *Microbial Control of Pests and Plant Diseases*. Ed. HD Burguer. London, Academic Press. p. 483-498.
- Hebbar, PK; Lumsden, RD. 1999. Formulation and fermentation of biocontrol agents of cacao fungal pathogens: example of *Trichoderma* species. In *Research Methodology in Biocontrol of Plant Diseases: with special reference to fungal diseases of cocoa*. Workshop Manual. Ed. U Krauss; P Hebbar. Turrialba, CR, CATIE. p. 63-68.
- Javed Z, J. 1987. Epidemiología y control de la roya del café en Centroamérica. Plagas y enfermedades de carácter epidémico en cultivos frutales de la región centroamericana. CATIE, CR. Serie Técnica. Informe técnico no. 110. p. 17-26.
- Jiménez C, A. 1997. Aporte de la caficultura al desarrollo de América Latina. In *Memorias XVIII Simposio Latinoamericano de Caficultura*. San José, CR. IICA, PROMECAFE p. 3-11.
- Leguizamón C, J; Vélez A, P; González C, A. 1989. Efecto de extractos metabólicos de *Verticillium lecanii* sobre *Hemileia vastatrix*. *Cenicafé* 40 (2): 31-39.
- Lewis, JA; Papavizas, GC. 1983. Production of chlamydoconidia and conidia by *Trichoderma* spp. in liquid and solid growth media. *Soil Biology & Biochemistry* 15 (3): 351-357.
- López A., R; Chamorro T, G; Gallo C., A. 1990. Aspectos económicos de la roya del café. In *50 años de CENICAFE 1938-1988. Conferencias conmemorativas*. Chinchiná, CO. p. 91-96.
- Monzón, JA. 1992. Distribución de *Verticillium* sp. en tres zonas cafetaleras de Nicaragua y evaluación de dos aislamientos del hongo como agente de control biológico de la roya (*Hemileia vastatrix*) del café (*Coffea arabica* L.). Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, CATIE. 66 p.
- Rivas Z, S; Leguizamón, C; Ponce D, C. 1996. Estudio histológico, anatómico y morfológico de *Verticillium lecanii* y *Talaromyces wortmannii* con *Hemileia vastatrix*. *Cenicafé* 47 (1): 16-31.
- Vélez A, PE; Rosillo G, AG. 1995. Evaluación del antagonismo del hongo *Verticillium lecanii*, sobre *Hemileia vastatrix*, en condiciones de invernadero y de campo. *Cenicafé* 46 (1): 45-55.

# Prospección de hongos Entomophthorales para el control natural de insectos en Bahía, Brasil<sup>1</sup>

Saúl Edgardo Méndez Sánchez<sup>2</sup>  
Richard A. Humber<sup>3</sup>  
Donald Willson Roberts<sup>4</sup>  
Adriano Lage Freitas<sup>5</sup>  
Livia Santos Lima<sup>6</sup>  
Georgia Botelho Silva<sup>6</sup>  
Cristiana Silva de Almeida<sup>6</sup>  
Erica Fontes Nunes<sup>7</sup>

**RESUMEN.** El proyecto tiene como objetivos investigar la diversidad de hongos Entomophthorales al sur del estado de Bahía, lo que incluye estudios enzoóticos y epizooticos sobre la dinámica de las entomophthoromicosis y sus interrelaciones e incidencias sobre las poblaciones de insectos, y su caracterización morfológica y distribución geográfica sobre diversos cultivos agrícolas, pastos naturales y otros sustratos. El proyecto objetiva también el estudio de los Entomophthorales sobre insectos de importancia médica y médica-veterinaria. El trabajo está siendo conducido de manera ordenada y secuencial, y los patógenos y sus huéspedes identificados macro y microscópicamente junto con los datos biométricos de las principales estructuras del hongo. Los resultados son importantes para la región y confirman la presencia de *Erynia dipterigena* sobre Diptera: Calliphoridae, Sarcophagidae, Dolichopodidae y Sciaridae. *Entomophthora muscae* presente sobre Diptera: Muscidae; *Conidiobolus* sp. sobre Diptera: Psychodidae, *Telmatoscopus albipunctatus*; *Entomophaga tipulae* sobre Diptera: Tipulidae y *Entomophaga tipulae* o *Entomophaga domestica* sobre Diptera: Culicidae/ género Anópheles; *Erynia myrmecophaga* sobre Hymenoptera: Formicidae *Paratrechina* sp. También se identificó *Conidiobolus* sp. sobre Hemiptera/Subord. Homoptera: Cicadellidae y Cercopidae; *Batkoa apiculata* sobre Coleoptera: Lagriidae *Lagria villosa*; *Entomophaga aulicae* sobre Lepidoptera, adulto no identificado, y *Entomophaga*, complejo *E. Grylli*, sobre Orthopteros: Acrididae *Rhammatocerus brasiliensis*, *Rhammatocerus brunneri*, *Abracris dilecta*, *Abracris flavolineata*, y sobre una especie no identificada de la subfamilia Ommatolampinae. El material biológico recogido demuestra la eficacia de estos patógenos en el control natural de las poblaciones de insectos durante el desarrollo del proyecto (mayo de 1998 a mayo del 2002). Las medias mensuales de temperatura y humedad relativa en la región variaron entre 20,5 a 25,0 °C y 82,0 a 89,9%, respectivamente: condiciones ideales para el desarrollo de las entomophthoromicosis.

**Palabras clave:** Entomophthorales, Epizootias, Caracterización, Identificación, Distribución geográfica, Incidencia.

## **ABSTRACT. Prospecting Entomophthoralean fungi for the natural control of insects in Bahia, Brazil.**

Research on Entomophthorales fungi in southern Bahia State, Brazil included enzootic and epizootic studies on the dynamics of entomophthoromycosis and their interrelation with insect populations of various insect orders, geographical distribution and incidence on crops, natural grasses and other substrates. The study of the Entomophthorales is also object of this investigation on insects of medical importance and medical veterinary medicine. This work is being conducted in an orderly and sequential manner, and the pathogens are identified

<sup>1</sup> Proyecto de Investigación Básica Regional financiado por la Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC/ Bahia.

<sup>2</sup> Profesor Investigador, Autor y Cordinador del Proyecto/Universidade Estadual de Santa Cruz, Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, DCAA. Bahia, Brasil. saul@uesc.br

<sup>3</sup> Profesor Investigador, USDA-ARS, Plant Protection Research Unit, Ithaca, EEUU. rah3@cornell.edu

<sup>4</sup> Profesor Investigador, Utah State University, Department of Biology, Logan, EEUU. dwroberts@biology.usu.edu

<sup>5</sup> Becario de Iniciación Científica, DCB – Programa PIBIC/ CNPq.

<sup>6</sup> Becarias de Iniciación Científica, DCAA/ DCB – Programa PROIIC.

<sup>7</sup> Voluntaria de Iniciación Científica, DCB – Programa PROIIC/ UESC.

microscopically together with the biometric data of the structure of the fungi. The results are important for the region as they confirm the presence of *Erynia dipterigena* on Diptera: Calliphoridae, Sarcophagidae, Dolichopodidae and Sciaridae. *Entomophthora muscae* was present on Diptera muscid flies; *Conidiobolus* sp. on Diptera-Psychodidae *Telmatoscopus albipunctatus*; *Entomophaga tipulae* on Diptera-Tipulidae and *Entomophaga tipulae* or *Entomophaga domestica* on Diptera-Culicidae/genera Anopheles. *Erynia myrmecophaga* on Hymenoptera-Formicidae *Paratrechina* sp. We also identified *Conidiobolus* sp. on Hemiptera/ Subord. Homoptera: Cicadellidae y Cercopidae; *Batkoa apiculata* on Coleoptera-Lagriidae *Lagria villosa*; *Entomophaga aulicae* on Lepidopteran unidentified adults and *Entomophaga* complex *E.grylli* on Orthoptera-Acrididae *Rhammatocerus brasiliensis*, *Rhammatocerus brunneri*, *Abracris dilecta*, *Abracris flavolineata*, and on one unidentified species of the Ommatolampinae subfamily. The biological material collected in the region demonstrates the effectiveness of these pathogens in the natural control of these insect populations during the project (may 1998 to may 2002). Mean monthly temperature and relative humidity in the region varied from 20.5 to 25.0 °C and 82.0 to 88.8 % respectively; that is, ideal conditions for the development of entomophthoromycosis.

**Key words:** Entomophthorales, Epizootics, Characterization, Identification, Geographical distribution, Incidence.

## Introducción

Dentro del orden Entomophthorales, hay muchas especies patógenas para la clase insecta, las cuales ejercen una reducción natural de las poblaciones de insectos y ácaros fitófagos (Boucias y Pendlan 1998). Se trata de un grupo particularmente especial de entomopatógenos de gran difusión geográfica, elevado grado de virulencia y variabilidad de formas y estructuras —comparado con los Deuteromycetes, Ascomycetes y Basidiomycetes— entre otras características específicas que los ubican dentro de un grupo bastante complejo y discutido de microorganismos entomopatogénicos.

Las dificultades y exigencias de crecimiento en medios de cultivo artificial limitan los avances científicos y los estudios aplicados de muchas especies con elevado potencial de virulencia natural. Se requieren modernos laboratorios de patología de insectos, propios para el desarrollo de actividades técnico-científicas más aplicadas, así como la necesidad de valorar las investigaciones básicas en provecho de un mejor conocimiento y utilización de los patógenos Entomophthorales en programas de manejo integrado de plagas (MIP).

En Brasil, como en otros países, los trabajos con hongos Entomophthorales han tenido un gradual y sensible aumento en los últimos años y existe un gran interés, por parte de algunos investigadores de instituciones de investigación y de enseñanza superior, por desarrollar proyectos sobre estudios básicos y aplicados, así como por la formación específica de grupos de trabajo.

La región sur del estado de Bahía es altamente diversificada y en sus dominios agroecológicos predomi-

nan el trópico húmedo, el trópico sub-húmedo y el trópico semi-árido, donde abundan los desafíos para la producción agrícola y se busca, a través de las acciones de investigación y extensión, optimizar los recursos y fortalecer el sistema de producción para los nuevos y complejos mercados agrícolas. Para ello, resulta de vital importancia la protección de los cultivos de las llamadas “plagas de insectos”, utilizando métodos de control eficaces que no contaminen ni perjudiquen los alimentos producidos, el medio ambiente y su entorno natural.

Las prospecciones abarcan tres áreas representativas al sur del estado de Bahía; una, comprendida dentro de una faja de vegetación bastante homogénea, de aproximadamente 28 km, se extiende desde el municipio de Ilhéus hasta el municipio de Itabuna; otra, menos representativa, de 51 Km, desde Ilhéus hasta el municipio de Una; y otra que comprende parte de los municipios de Eunápolis y Porto Seguro, más al sur. Gran parte de la faja de vegetación se hace acompañar en todo su trayecto por las proximidades del cauce del Río Cachoeira, áreas de foresta tropical húmeda (Mata Atlântica-The Brazilian Atlantic Rain Forest), y una pequeña área litoral al nivel del mar. En principio, el proyecto sigue una línea básica de investigación y, entre otros objetivos, pretende detectar y mapear los Entomophthorales autóctonos de la región sur Bahiana; conocer hasta que punto llegan a constituir enzootias o epizootias, y cuál es el porcentaje de control natural eficaz que ejercen sobre las poblaciones de insectos perjudiciales a los cultivos. Lo anterior podría, en un futuro, ayudar a establecer de

programas de MIP mejor orientados dentro de un marco de protección vegetal y ambiental, reduciendo el uso y el número de aplicaciones de insecticidas químico-sintéticas; dirigidos hacia una economía agrícola moderna y autosustentada, capaz de reducir los costos de producción, a la vez que proveen alimentos más saludables y de mejor calidad. De la misma forma, la detección de los patógenos Entomophthorales controladores de insectos de interés médico y veterinario es de vital importancia para el sistema de salud de la región, la cual presenta un escaso saneamiento básico y en algunos casos llega a ser hasta inexistente, y donde los insectos encuentran medios propicios de proliferación y en consecuencia traen consigo graves enfermedades a la población.

### Materiales y métodos

Se tomó como punto de referencia el Campus de la Universidad Estatal de Santa Cruz, en el km 16 de la carretera BR-415, la cual conecta los municipios de Ilhéus e Itabuna y la carretera BA-001 en dirección al municipio de Una, así como otros municipios más al sur de Bahía. Allí, onde fueron realizadas una serie de prospecciones semanales durante 4 años de investigaciones. Las prospecciones se limitaron a pequeñas propiedades agrícolas, cacaotales y áreas de bosque tropical húmedo (Mata Atlântica), entre otras.

Los cadáveres de insectos con características de muerte asociada a una patología por entomophthoromosis fueron recogidos junto con una muestra de la planta huésped a la cual suelen estar adheridos, y colocados en recipientes ventilados, según la metodología establecida por Keller (1987). En seguida, fueron transportados al laboratorio de entomología, donde pasaron por un proceso macro y microscópico de análisis de identificación del patógeno y sus respectivos huéspedes (Aruta 1984, Sánchez y Santiago-Álvarez 1998, Sánchez 1995). Además del análisis físico e interno de los cadáveres y del reconocimiento estructural de los microorganismos en estudio, como paso final se procedió a la medición biométrica de las principales estructuras encontradas, con la finalidad de confirmar los géneros y las especies probables (Humber 1981b, Humber 1997, Papierok y Hajek 1997).

El material biológico pasó por un análisis de laboratorio que no superó las 72 horas, evitando de esta forma el comprometimiento de las propiedades naturales de las muestras y el posible enmascaramiento por algún microorganismo saprófito invasor.

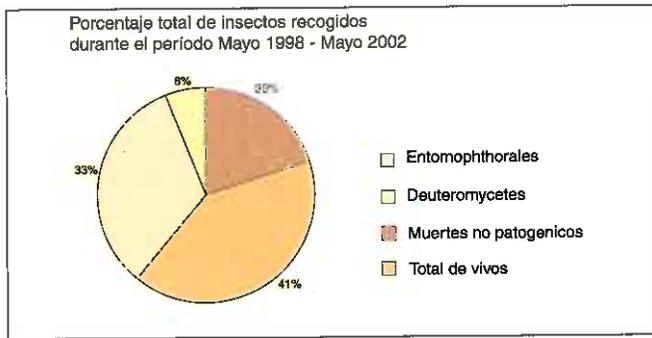
Con el objetivo de promover la proyección conidial (conidias primarias y secundarias) por períodos de tiempo variables y fuera del alcance de la luz natural y artificial, se pusieron en práctica los procesos metodológicos de las llamadas cámaras húmedas (Papierok 1989, Keller 1993, Sánchez y Santiago-Álvarez 1994).

Seguidamente, las conidias primarias proyectadas fueron teñidas con LPAO (Lactofenol-Aceto-Orceína) en dos proporciones, 1:1 y 2:1, según Romeis (1968), citado por Keller (1987), para detectar la presencia y el número de núcleos por conidia. Las mejores preparaciones fueron selladas, referenciadas y guardadas en lamineros especiales para posteriores análisis y para la colección didáctica-científica, representativa de los Entomophthorales autóctonos del sur de Bahía.

### Resultados y discusión

En mayo de 1998 se dio inicio a una serie de prospecciones de campo que marcaron, de forma bastante tímida, el comienzo del proyecto (Sánchez *et al.* 1998, Sánchez y Freitas 1999, Sánchez 1999, Sánchez y Freitas 2000, Sánchez y Lima 2000, Sánchez *et al.* 2000, Sánchez *et al.* 2001, Sánchez *et al.* 2001, Sánchez *et al.* 2002), período durante el cual fueron recogidas un total de 1250 muestras de material biológico, provenientes de áreas próximas al Campus de la Universidad, en los barrios Banco da Vitória y Salobrinho; pequeñas y medianas propiedades agrícolas y cacaotales en los márgenes de la carretera BR-415; áreas forestales (Mata Atlântica); otras propiedades, localizadas en la carretera estatal BA-001 hasta el municipio de Una (áreas agrícolas y urbanas); y algunas prospecciones más al sur del estado, siguiendo la carretera BR-367 entre los municipios de Eunápolis (Estação Vera Cruz) y Porto Seguro (Reserva Indígena da Jaqueira), más específicamente sobre café y frutales. Las muestras con patógenos Entomophthorales se limitan en principio a los municipios conectados por el eje Ilhéus-Itabuna y a los municipios de Una y Uruçuca.

Las temperaturas y humedades relativas anuales en las regiones mencionadas tuvieron durante casi todos los años prospectados una variación media de 20,5 a 25,0 °C, y 82,0 a 88,8 %, respectivamente, por lo que es de hacer notar que existen temperaturas adecuadas y una humedad relativa bastante elevada, lo cual propicia el desarrollo de las entomophthoromosis en general. Del total de muestras recogidas, 33% presentaron Entomophthorales, 6% Deuteromycetes y 20% muertos por otras causas consideradas no patogénicas (Fig. 1).



**Figura 1.** Porcentaje total de insectos recogidos entre mayo 1998 y mayo 2002

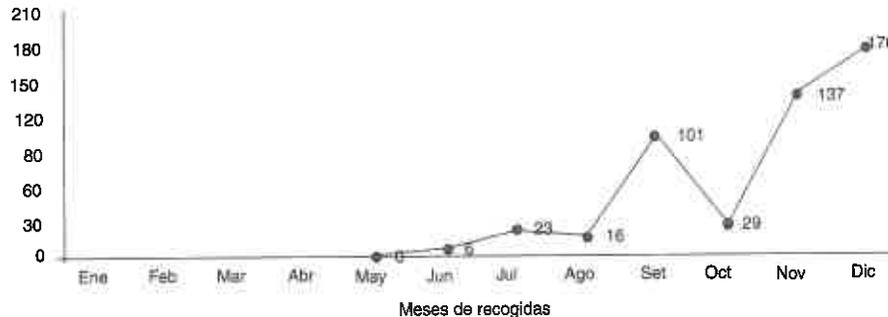
Los 41% restantes se recogieron vivos para estudios de comparación taxonómica e identificación, ya que la mayoría de las veces el micelio producido sobre el cuerpo del insecto y los deterioros propios de la propia patología y muerte, dificultan la identificación de los insectos hospederos.

En este artículo queda demostrado, aún sin hacer una cuantificación estadística del número de muestras y hallazgos específicos para cada género de Entomophthorales y órdenes de insectos encontrados, su

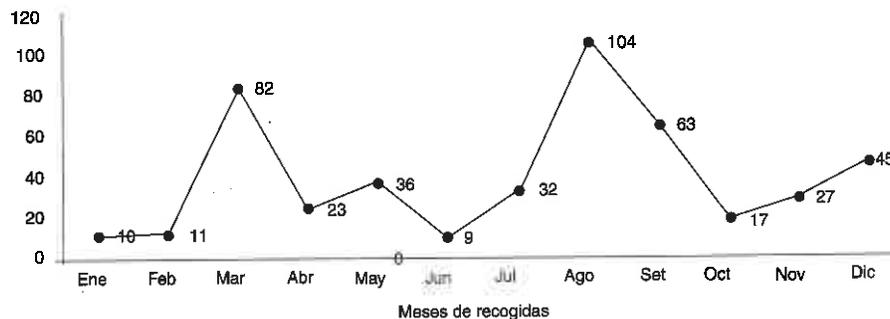
constante presencia y abundancia durante los años prospectados, algunos géneros con mayor grado de incidencia que otros, lo cual será ampliado en posteriores publicaciones, específicas para cada grupo de patógenos e insectos (Figs. 2, 3, 4, 5 y 6).

Los artrópodos hexápodos más frecuentemente encontrados asociados a patologías caracterizadas por entomophthoromycosis, pertenecen a los siguientes órdenes: Coleoptera *L. villosa* Fabr. 1783 (larvas y adultos); Diptera *T. albipunctatus* Welliston 1893, (Sánchez *et al.* 2001), Muscidae, Calliphoridae, Sarcophagidae, Dolichopodidae, Sciaridae, Tipulidae y Culicidae (*Anopheles*); Hemiptera/Homoptera: Cicadellidae y Cercopidae (chicharritas-ninfas y adultos no identificados) (Sánchez *et al.* 2001); Orthoptera: Acrididae *Rhammatocerus brasiliensis*, *Rhammatocerus brunneri*, *Abracris dilecta*, *Abracris flavolineata*, y una especie no identificada de la subfamilia Ommatolampinae; Hymenoptera: Formicidae *Paratrechina* sp.; y Lepidoptera (microlepidoptero adulto no identificado).

Con relación a los substratos, los coleópteros Lágridos fueron encontrados en su mayoría sobre los



**Figura 2.** Incidencia y abundancia estacionales de todos los géneros encontrados (Ilhéus/Itabuna) 1998.



**Figura 3.** Incidencia y abundancia estacionales de todos los géneros encontrados (Ilhéus/Itabuna) 1999.

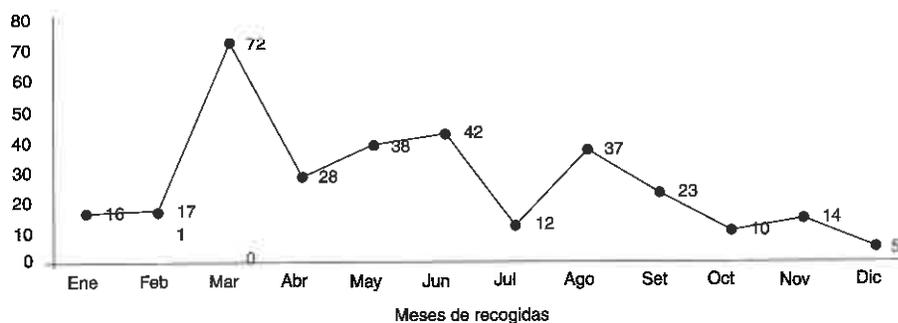


Figura 4. Incidencia y abundancia estacionales de todos los géneros encontrados. (Ilhéus/Itabuna) 2000.

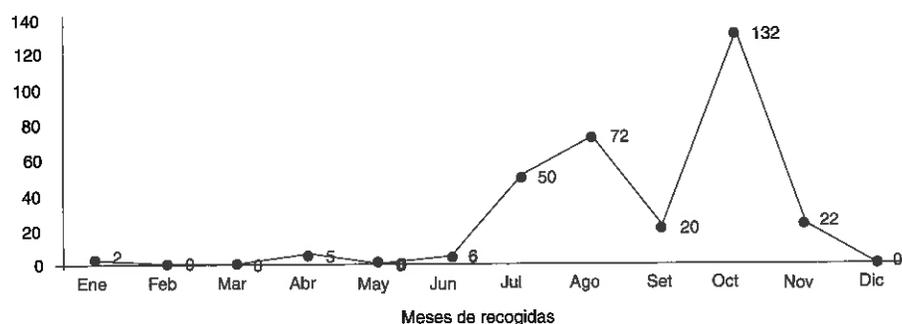


Figura 5. Incidencia y abundancia estacionales de todos los géneros encontrados. (Ilhéus/Itabuna) 2001.

siguientes cultivos: habas *Vicia faba* L., albahaca *Ocimum campechiana num* Mill, guanábana *Artocarpus heterophyllus* Lam. (*A. integrifolius*), cacao *Theobroma cacao* L., hojas de calabaza/ayote *Cucurbita pepo* L., hojas de quiabo/ocras *Hibiscus esculentus* L., hojas de papaya *Carica papaya*, hojas de planta medicinal "qebra-pedra" *Phyllanthus miruri* L., malezas y gramíneas no cultivadas, árboles no identificados del bosque tropical atlántico, plantas ornamentales "graxa-de-estudante" *Hibiscus rosa-sinensis* L., y rosa *Rosa* spp.

En diversas regiones de Brasil, estos pequeños coleópteros son una plaga de mucha importancia en cultivos tradicionales, como el frijol *Phaseolus vulgaris* L., los guisantes *Pisum sativum* L., las habas *V. faba* y otras leguminosas, además del cafeto *coffea arabica* L. También se encuentran sobre malezas y otras plantas no cultivadas. Entre otros perjuicios, se sabe que pueden diseminar bacterias patógenas sobre cafetales ya establecidos (Gallo *et al.* 1988). Hasta ahora, el método de control más conocido es el químico, a base de ingre-

dientes activos altamente tóxicos y residuales. El análisis de caracterización del material biológico determinó la presencia de *B. apiculata* (Thaxter) Humber 1989 (*Empusa apiculata* Thaxter 1888). Anualmente, la micosis sobre la población de Lágridos presenta una incidencia bastante repetitiva, con mortalidades bien acentuadas y, por lo que todo indica, la aparición dinámica de la enfermedad es de características epizoóticas.

Se encontraron Dípteros Nematóceros *T. albipunctatus* infectados por *Conidiobolus* sp. (Sánchez, S.E.M; Freitas, A.L.; y Roberts, D.W. 2001), sobre hojas de árboles frutales (frutas exóticas), yambo *Syzygium malaccense* (L.) Merr y Perry, acerola *Malpighia glabra* L (*M. puniceifolia*), pitanga *Eugenia uniflora* L., papaya *C. papaya* L., mango *Mangifera indica* L., y banano *Musa* spp. Otros substratos fueron: gramíneas silvestres, *Vernonia condeusata* Baker (planta medicinal), malezas a las orillas de riachuelos de primer orden afluentes del río Cachoeira, principalmente en el barrio Salobrinho, y sobre ventanas y paredes muy húmedas

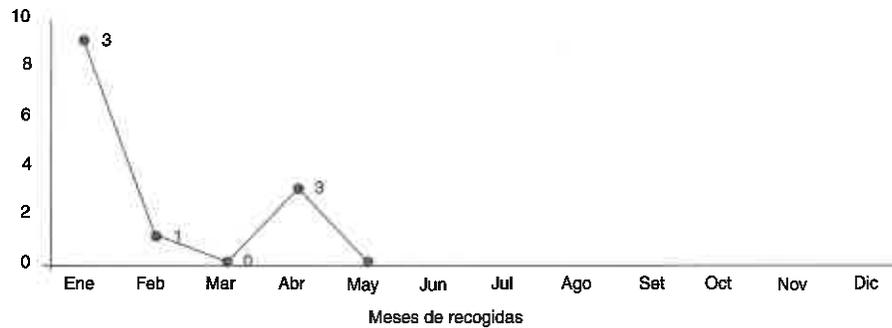


Figura 6. Incidencia y abundancia estacionales de todos los géneros encontrados. (Ilhéus/Itabuna) 2002

de algunas casas en el mismo barrio. En Sánchez e Lima 2000, se reportan como infectados por *Entomophaga* sp., lo que más tarde se corrigió por *Conidiobolus* sp. Según la literatura (Forattini 1973), estas pequeñas moscas tienen importancia médica y sanitaria, son relevantes en la fauna que se desarrolla en instalaciones de tratamientos de agua y acueductos, y consecuentemente en habitaciones y localidades vecinas a las estaciones de tratamiento, así como en locales muy húmedos, donde pueden ocurrir en elevadas densidades, llegando a incomodar a sus habitantes. Algunas especies de Psychodidae, como *P. alternata*, por ejemplo, son responsables directas de reacciones de naturaleza alérgica, tales como el asma y agentes patogénicos en algunas formas de miosis, al igual que las larvas de *T. albipunctatus*.

Los Dípteros Muscidae (mosca doméstica) fueron encontrados infectados característicamente por *E. muscae* (Cohn) Fresenius 1856, presentando conidias primarias campanuladas, típicas de la especie (Fotos 3a, 3b y 3c). El número de núcleos por conidia (Keller 1984), que aún falta determinar, podrá esclarecer mejor si el material biológico encontrado está dentro de uno de los tres grupos A-B-C del Complejo Muscae (Santiago-Álvarez 1991, Bem-Ze'Ev 1993, Sánchez 1995). Los dípteros Ciclorrafos, Calliphoridae, Sarcophagidae, Dolichopodidae y Sciaridae, infectados con *Erynia dipterigena* (Fotos 1a y 1b). Ambos géneros (*Entomophthora* y *Erynia*) aún se encuentran bajo estudio. Las familias de moscas mencionadas fueron encontradas sobre malezas, gramíneas silvestres, tallos secos de vegetación rastrera, la planta ornamental Moraceae del género *ficus* sp., hojas de yambo y maíz *Zea mays* L., y sobre arbustos no identificados. También se encontró dentro de establecimientos comerciales de productos alimenticios, bares-restaurantes y

basureros localizados en patios de algunas residencias. Por lo general, se sabe que la *Musca domestica* suele abundar en diversos ambientes y puede servir de vector de enfermedades graves para el hombre, tales como la fiebre tifoidea, la disentería y el cólera, entre otras. Las moscas Calliphoridae son saprófagas; sin embargo, las más comunes son las necrófagas. Algunas especies como la *Cochliomyia hominivorax* causan miosis en animales y pueden servir, al igual que *M. Domestica*, como vectores de enfermedades humanas. Las Sarcophagidae, bastante comunes, son generalmente saprófagas en la fase larval, y algunas especies parasitan mamíferos, incluyendo al hombre. Las moscas Dolichopodidae, depredadoras de otros insectos, pequeñas y de coloración metálica (verde-azulada), fueron encontradas sobre vegetaciones arbustivas localizadas cerca del río Cachoeira (carretera BR-415 Ilhéus-Itabuna) y en las cercanías del río Aliança, en el municipio de Una, y sobre vegetación arbustiva cercana al bosque atlántico. Los representantes de la familia Sciaridae, muy comunes, generalmente pequeños y de coloración negra, fueron encontrados sobre basura y otros desechos en descomposición, localizados en patios de residencias y en áreas urbanas, sobre terrenos abandonados que sirven como depósitos de basura al aire libre. Conviene hacer constar que algunas especies de sciáridos pueden tornarse en plagas sobre cultivos de hongos, por lo que no dejan de ser dípteros importantes dentro del contexto agrícola. Los dípteros Tipulidos infectados por *E. tipulae* fueron encontrados sobre hojas de *Musa* ssp.; yambo *S. malaccense* L.; hojas de mango *M. indica*; troncos de cacao, *T. cacao* L.; "erva-de-pasarinho" *Struthanthus* sp., especie de planta parásita del ecosistema Brasileño-Mata Atlántica Tropical; malezas, gramíneas nativas y arbustos no identificados; substratos localizados

próximos al río Cachoeira (áreas de vegetación abundante). Los mosquitos adultos (machos y hembras) de la familia Culicidae, género *Anopheles*, fueron encontrados infectados probablemente por *E. tipulae* o *E. domestica* en el municipio de Una (51 km al sur de Ilhéus), en casas residenciales, sobre techos, tejados, paredes de baño, dormitorios, salas, cocinas, espejos, estantes, guardarpapas y mosquiteros protectores. Como consta en la literatura, los mosquitos son vectores de diversas enfermedades importantes para el hombre, como es el caso de la malaria causada por Protozoa del género *Plasmodium* y transmitida por algunas especies de *Anopheles*. Sin embargo, todavía no ha sido posible determinar con exactitud cuál de los dos patógenos mencionados es el verdadero causante de las entomophthoromicosis encontradas.

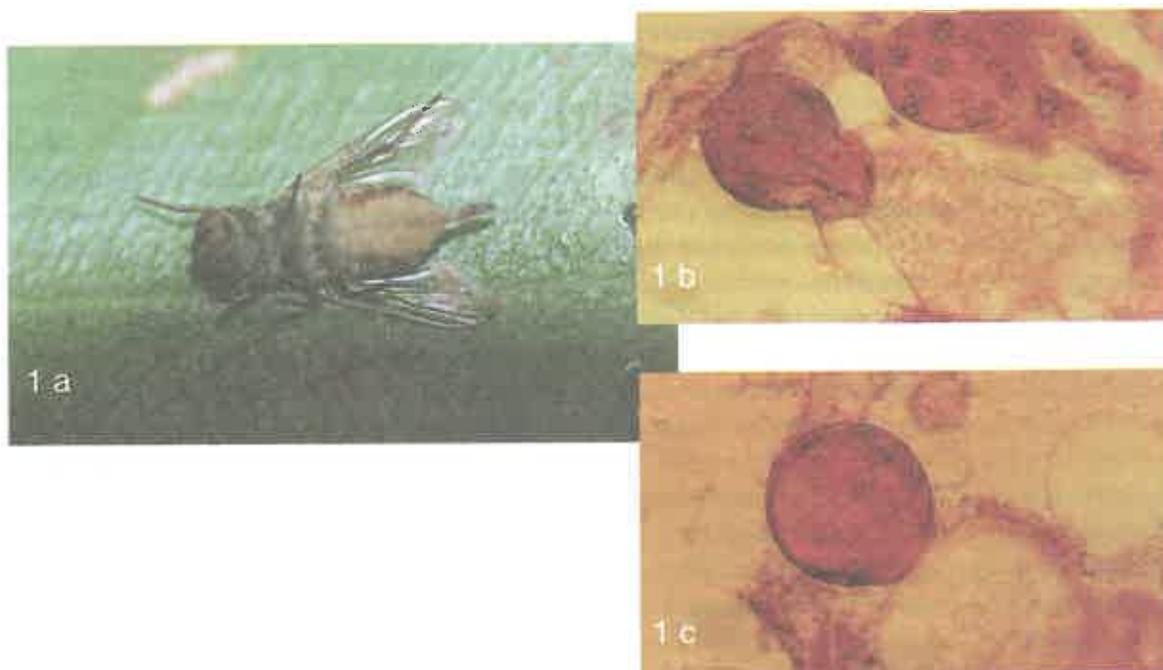
Los homópteros Cicadellidae y Cercopidae, chicharritas (ninfas y adultos), más conocidos en Brasil como "cigarrinhas", fueron encontrados entomophthoromicosados característicamente por *Conidiobolus* sp., sobre la parte ventral de hojas de cacao *T. cacao* L., inflorescencias de gramíneas silvestres y tallos secos de vegetación rastrera; substratos localizados en áreas de cacaotales que comprenden el trecho Ilhéu-

s-Itabuna. Estudios y prospecciones adicionales siguen profundizando en el tema. (Sánchez *et al.* 2001).

Un único ejemplar de Lepidoptera (microlepidoptera, adulto no identificado), fue encontrado sobre una maleza silvestre con *E. aulicae*. El mismo ejemplar presentaba parte del tórax y el abdomen totalmente micosado, y no se pudo constatar la presencia de rizoides.

Los himenópteros formícidos *Paratrechina* sp. infectados con *E. myrmecophaga* fueron encontrados sobre hojas de *E. uniflora* L., y sobre diversas hojas de *Musa* spp.

Cadáveres de ortópteros acrídidos, *Rhammatocerus brasiliensis*, *Rhammatocerus brunneri*, *Abracris dilecta*, *Abracris flavolineata*, y una especie no identificada de la subfamilia Ommatolampinae, se encontraron fijos sobre las partes terminales de *Plantago major* L. (Plantaginaceae, planta medicinal-antiinflamatoria), malezas, gramíneas silvestres en áreas de pasturaje ganadero y tallos secos de vegetación rastrera (Sánchez *et al.* 2002). La mortalidad en el campo presentaba una posición característicamente inclinada, sobre el intermedio y las partes terminales de los vegetales. Los análisis de laboratorio y la mortalidad típica, confirmaron la presencia infecciosa de *Entomophaga*, complejo *E. grylli*



**Foto 3a.** *Entomophthora muscae* (mic. óptico 40x). *Musca domestica*, infección marrón claro, más generalizada en la región ventral y restringida a las membranas intersegmentales en la región dorsal de los cadáveres.

**Foto 3b.** *Entomophthora muscae* (mic. óptico 100x). Conidióforo unicelular, simple y ensanchado en la región conidiogénica terminal. En la parte superior, una conidia típica del género, de forma campanulada, de base truncada ligeramente convexa y con la zona apical levemente desarrollada.

**Foto 3c.** *Entomophthora muscae* (mic. óptico 100x). Conidióforo y conidia primaria en completo estado de desarrollo.



**Foto 2a.** *Erynia dipterigena* (mic. óptico 100x). Conidias primarias, uninucleadas, homogéneas, alargadas ovoide-piriformes, con papila levemente redondeada y poco diferenciada del cuerpo conidial, presentando doble túnica (carácter bitunicado).

**Foto 2b.** *Erynia dipterigena* (mic. óptico 40x). Cuerpos hifales multinucleados, filamentosos, alargados y delgados.

(Fresenius) Batko, 1964, análisis corroborados por (Humber 2000)<sup>8</sup>, (Fotos 3a, 3b, 3c). Las especies citadas y entomophthoromicosadas por *E. grylli* son inéditas y muy importantes para Brasil, por lo cual se hacen necesarios más prospecciones de campo, estudios y análisis de laboratorio para determinar con más exactitud la diversidad del complejo *E. grylli* aquí encontrado. En el estado de Paraná, al sur de Brasil, se reportan casi anualmente, asociados al sistema de producción de soja y principalmente sobre trigo, Acrididos *Bacacris punctulatus*, pequeños saltamontes (tucuras) infectados por *E. grylli*, infección considerada a niveles epizoóticos (Sosa-Gomez *et al.* 2002). En Argentina también se reporta una especie miembro del complejo, probablemente *E. calopteni* (Bessey) Humber, combinación nueva sinónimo., *Entomophthora calopteni* Basesy, 1883, (Lange 1996)<sup>9</sup> Comunicación Personal), la cual produce apenas esporas de reposo (*resting spores*) pero no conidias infecciosas sobre los cadáveres o bajo medios de cultivo artificial en laboratorio (Humber 1989). La utilización de técnicas modernas, como la técnica de sistemática molecular, sería muy valiosa en la determinación del Complejo, lo cual probablemente sea desarrollado en otras etapas de la investigación.

El haber encontrado todos los insectos entomophthoromicosados, sobre los substratos aquí mencionados (Cuadro 1), no significa necesariamente que sean plagas específicas de los vegetales citados. Algunos son apenas meros frecuentadores ocasionales secundarios o insectos

polífagos. No obstante, las entomophthoromicosis asociadas a ellos ocupan un papel destacado, como hallazgos inéditos en América del Sur y en particular en el estado de Bahía, principalmente el Complejo *E. grylli* sobre *R. brasiliensis*, *R. brunneri*, *A. dilecta*, *A. flavolineata* y sobre Ommatolampinae, a la vez que resultan de gran importancia dentro del contexto de la lucha microbiana contra insectos en Brasil.

## Conclusiones

Los resultados, de carácter inédito en la región, confirman los siguientes géneros y especies de microorganismos Entomophthorales como agentes etiológicos de las entomophthoromicosis sobre los insectos prospectados,:

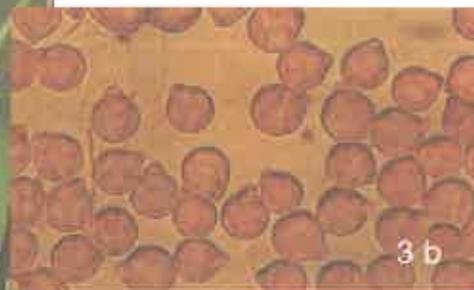
- *Batkoa apiculata* sobre Coleópteros Lagriidae, *Lagria villosa*.
- *Conidiobolus* sp. sobre Hemiptera/ Homoptera: Cicadellidae y Cercopidae, especies no identificadas.
- *Conidiobolus* sp. sobre dípteros Psychodidae, *Telmatoscopus albipunctatus*.
- *Erynia dipterigena* sobre dípteros Calliphoridae, Sarcophagidae, Dolichopodidae y Sciaridae, especies no identificadas.
- *Erynia myrmecophaga* sobre Formicidae, *Paratrechina* sp.
- *Entomophthora muscae* sobre dípteros Múscidae. Falta determinar el número nuclear del complejo *Muscae* aquí encontrado.

<sup>8</sup> Humber, 2000. Comunicación personal. Departamento de Entomología. Universidad de Cornell. EEUU.

<sup>9</sup> Lange, C. 1996. Comunicación personal. Centro de Estudios Patológicos y de Vectores (CEPAVE). Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

Cuadro 1. Resultados

ENTOMOPHTHOROMICOSADOS	PATÓGENO	PLANTA HOSPEDERA
<b>Coleoptera – Lagriidae</b> <i>Lagria villosa</i> Fabr. 1783	<i>Batkoa apiculata</i> (Thaxter) Humber 1989 (= <i>Empusa apiculata</i> Thaxter, 1888)	Habas <i>Vicia faba</i> L., Jaca <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam. ( <i>A. integrifolius</i> ), Cacao <i>Theobroma cacao</i> L., Papaya <i>Carica papaya</i> , Calabaza/Ayote/Abobora <i>Cucurbita pepo</i> L., Quiabo/Ócras <i>Hibiscus esculentus</i> L., Alfavaca-de-galinha <i>Ocimum campechianum</i> Mill (planta medicinal) Quebra-pedra <i>Phyllanthus miruri</i> L. (planta medicinal), Graxa-de-estudante <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L. (planta ornamental), Rosera <i>Rosa</i> sp. (planta ornamental), Malezas, Gramíneas no cultivadas y árboles no identificados de la Foresta Atlántica Tropical.
<b>Diptera – Psychodidae</b> <i>Telmatoscopus albipunctatus</i> Willist. 1893	<i>Conidiobolus</i> sp. Brefeld (1884), Humber 1989	Jambo/ Yambo <i>Syzygium malaccense</i> (L.) Merr & Perry, Acerola/ Semeruco <i>Malpighia glabra</i> L. ( <i>M. puniceifolia</i> ), Pitanga <i>Eugenia uniflora</i> L., Mamão/ Papaya <i>C. papaya</i> L., Manga/ Mango <i>Mangifera indica</i> L., Banana/ Banano/ Platano <i>Musa</i> spp., Alumã <i>Vernonia condensata</i> Baker (planta medicinal), Gramíneas silvestres y Malezas. <u>Otros substratos:</u> Ventanas y paredes en residencias habitadas.
<b>Diptera – Tipulidae</b>	<i>Entomophaga tipulae</i> Batko (1964b), (Fresenius, 1858)	Banana <i>Musa</i> spp., Yambo <i>S. malaccense</i> L., Mango <i>M. indica</i> L., Troncos de Cacao <i>T. cacao</i> L., Erva-de-pasarinho <i>Struthanthus</i> sp. (parasita de la Foresta Atlántica Tropical). Gramíneas nativas, malezas y arbustos no identificados.
<b>Diptera – Cullcidae/ Gen. Anópheles</b>	<i>Entomophaga tipulae</i> o probablemente <i>Entomophaga domestica</i> Keller, sp. nov. 1987	Paredes en habitaciones residenciales, cuarto de baño, cocina, sobre el mosquitero de la cama y guardarpapas.
<b>Diptera – Muscidae</b>	<i>Entomophthora muscae</i> (Cohn) Fresenius 1856	Plantas ornamentales no identificadas, generalmente localizadas en bares, cafeterías y restaurantes. <u>Otros substratos:</u> Vidriera, balcones y paredes.
<b>Diptera – Calliphoridae, Sarcophagidae Dolichopodidae Sciariidae</b>	<i>Erynia dipterigena</i> (Thaxter) Remaudière y Henn. (1980).	Yambo <i>S. malaccense</i> L., Maíz <i>Zea mays</i> L., gramíneas silvestres, malezas, tallos secos de vegetación rastrera, <i>Ficus</i> sp. (planta ornamental-moráceae), arbustos no identificados. <u>Otros substratos:</u> depósitos de basura localizados dentro de establecimientos comerciales: panaderías, lanchonetes, carnicerías, bares-restaurantes y supermercados), y depósitos de basura localizados en patios residenciales.
<b>Hemiptera/ Subord. Homoptera – Cicadellidae Cercopidae</b>	<i>Conidiobolus</i> sp. Brefeld (1884), Humber 1989	Hojas de Cacao <i>T. cacao</i> L., inflorescencias de gramíneas silvestres y tallos secos de vegetación rastrera.
<b>Orthoptera – Acrididae</b> <i>Rhammatocerus brasiliensis</i> , <i>Rhammatocerus brunneri</i> , <i>Abracris dilecta</i> , <i>Abracris flavolineata</i> . <b>Acrididae / Ommatolampinae</b> especie no identificada.	<i>Entomophaga</i> complejo <i>E. grylli</i> (Fresenius) Batko, 1964	Gramíneas silvestres (áreas de pasturaje ganadero), tallos secos y otras malezas rastreras.
<b>Hymenoptera – Formicidae</b> <i>Paratrechina</i> sp.	<i>Erynia myrmecophaga</i> Turian y Wuest, en Humber (1981a). Sin: <i>Erynia formicae</i> Humber y Balazy, en Humber (1981a).	Plantas frutíferas: Pitanga <i>E. uniflora</i> L., Banana <i>Musa</i> spp.
<b>Lepidoptera (microlepidoptero, adulto no identificado).</b>	<i>Entomophaga aulicae</i> (Reichardt in Bail) Humber (1984).	Maleza silvestre.



**Foto 3a.** *Entomophaga* (complejo *E. grylli*). Orthoptero *Rhammatocerus brasiliensis* (mortalidad típica del género).

**Foto 3b.** *Entomophaga* (complejo *E. grylli*), (Mic. óptico 40x). Grupo de conidias primarias con núcleos medianos, levemente teñidos en LPAO (lactofenol-aceto-orceína).

**Foto 3c.** *Entomophaga* (complejo *E. grylli*), (Mic. óptico 100x). Conidia primaria.

- *Entomophaga* complejo *E. grylli* sobre Ortópteros Acrididae, *Rhammatocerus brasiliensis*, *Rhammatocerus brunneri*, *Abracris dilecta*, *Abracris flavolineata*, y sobre Ommatolampinae. Según estudios de revisión bibliográfica y por lo que nos consta, esta parece ser la primera publicación donde se cita el hallazgo del Complejo *E. grylli* sobre las especies de acrididos aquí mencionadas. Es de vital importancia la realización de estudios adicionales para determinar y confirmar de forma más precisa la diversidad del Complejo *E. grylli* en las áreas prospectadas.
- *Entomophaga aulicae* sobre Lepidoptera, especie no identificada.
- *Entomophaga tipulae* sobre Diptera Tipulidae, especie no identificada.
- *Entomophaga tipulae* o probablemente *Entomophaga domestica* sobre Diptera Culicidae/género *Anopheles*. Se siguen llevando a cabo Prospecciones y estudios más específicos y detallados, ya que aún no fue posible determinar con exactitud el entomophthorales colonizador de los *Anopheles*.
- Los factores climáticos de la región son favorables a la aparición, el desarrollo y el crecimiento natural de los patógenos Entomophthorales. La presencia abundante de agua en las regiones mencionadas (río Cachoeira y sus afluentes, río Aliança, y el agroecosistema de bosque tropical húmedo Mata Atlántica Brasileira, se reconoce en este trabajo como factor importante en las incidencias, epizootias

tyas y las entomophthoromicosis respectivas desarrolladas por los patógenos encontrados.

### Agradecimientos

Los autores desean agradecer a la Rectoría, Pró-Rectoría de Investigación y Pós-Grado, Departamento de Ciencias Agrárias y Ambientales DCAA.

A los Profesores, Ph.D. Jacques Hubert Charles Delabie CEPLAC-CEPEC/UESC por el reconocimiento del género *Paratrechina* sp; Drs. Freddy Rubem Bravo y Luis Augusto Mazzarolo del Departamento de Ciências Biológicas DCBIO-Universidade Estadual de Feira de Santana-UEFS por el reconocimiento de la especie *Telmatoscopus albipunctatus*, y las familias Tipulidae, Callihoridae, Sarcophagidae, Dolichopodidae y Sciaridae; Dra. Cristiane Vieira de Assis Pujol - Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ/Departamento de Entomologia/Orthopterologia, por el reconocimiento de las especies de acrididos; Dr. Hermes Alves Almeida UESC/CEPLAC por su colaboración con los datos climatológicos; M.Sc. Luis Alberto Matos Silva PROGRAD/GERLAB-UESC por la identificación botánica de los substratos vegetales; M.Sc. Natanael Reis Bonfim UESC-DCAA y Antônio Fontes de Faria Filho CEPLAC-CEPEC-SENUP por su colaboración con el mapa de muestreos de campo, y a Lindiomar Coutinho da Silva UESC por el auxilio en la computación gráfica del proyecto. Al Periodista Edivaldo Oliveira y al Fotógrafo Profesional Geraldo Borges UESC-ASCOM por el apoyo técnico-fotográfico y la divulgación periodística del proyecto de investigación. Al Prof. Ph.D. Anthony Raw, UNB-Universidade Nacional de Brasília, por el auxilio en la revisión del abstract.

A mi encantadora esposa Cecília Carvalho y a mis hijos Saúl Edgardo Filho y Erick Carvalho Méndez, por el apoyo y el grandioso cariño hogareño que me brindan. A todos, mis más sinceros agradecimientos por la excelente colaboración para con el desempeño y desarrollo de las actividades de investigación científica y docente.

## Literatura citada

- Aruta, C.; Carrillo, R.; Montealegre, J. 1984. Determinación para Chile de hongos del orden entomophthorales (Zygomycetes). *Agro Sur* 12 (1): 36-42.
- Bem-Ze'ev, I. 1993. Check-list of fungi pathogenic to insects and mites in Israel, updated through 1992. *Phytoparasitica* 21: 213-237.
- Boucias, D.G.; Pendland, J.C. 1998. Principles of insect pathology. USA, Kluwer Academic Publishers, Chapter 9. Entomopathogenic Fungi: "Perfect" Phyla. 2. The true fungi, p. 297-314.
- Forattini, O. P. 1973. Entomologia Médica. Psychodidae, Phlebotominae, Leishmaniose, Bartonelose. Sao Paulo, Brasil, Editora da Universidade de São Paulo. V. 4, Cap. 2.
- Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Carvalho, R.P.L.; Batista, G.C.; Berti Filho, E.; Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A.; Alves, S.B.; Vendramim, J.D. 1988. Manual de Entomologia Agrícola. São Paulo, Ed. Ceres. 649 p.
- Humber, R.A. 1981b. An alternative view of certain taxonomic criteria used in the Entomophthorales (Zygomycotina). *Mycotaxon*. 13: 191-240.
- Humber, R.A. 1989. Synopsis of a revised classification for the Entomophthorales (Zygomycotina). *Mycotaxon*. 34 (2): 441-460.
- Humber, R.A. 1997. Manual of Techniques in Insect Pathology. USA, Academic Press. Chapter V-1, Fungi: Identification. p. 153-185.
- Keller, S. 1984. *Entomophthora muscae* als Artenkomplex. *Mitt.Schweiz. Ent. Ges.* 57: 131-132.
- Keller, S. 1987. Arthropod-pathogenic Entomophthorales of Switzerland, 1. *Conidiobolus*, *Entomophaga* and *Entomophthora*. *Sydowia* 40: 122-167.
- Keller, S. 1993. Working with arthropod-pathogenic Entomophthorales. IOBC/WPRS. Workshop. Working Group "Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes" Zurich, 9-10 Sep., Anexo 2.
- Papierok, B. 1989. On the occurrence of Entomophthorales (Zygomycetes) in Finland. 1. Species attacking aphids (Homoptera, Aphididae). *Ann. Entomol. Fennici* 55: 63-69.
- Papierok, B.; Hajek, A.E. 1997. Manual of Techniques in Insect Pathology. USA, Academic Press. Chapter V-2, Fungi: Entomophthorales. p. 187-211.
- Santiago-Álvarez, C. 1991. The knowledge of fungal Entomopathogens in Spain. IOBC/WPRS Bull. 14: 85-89.
- Sánchez, S. E. M.; Santiago-Álvarez, C. 1994. Nota sobre Hongos Entomofitófagos de España. *Boletín de Sanidad Vegetal (Plagas)*, Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación (España) 20: 517-520.
- Sánchez, S.E.M. 1995. Reconocimiento, caracterización e incidencia natural de hongos entomopatogénos del orden Entomophthorales (Zygomycotina; Zygomycetes) en Andalucía. [Tesis Doctoral]. Córdoba, España: Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes (ETSIAM). 204 p.
- Sánchez, S.E.M.; Santiago-Álvarez, C. 1998. Reconocimiento caracterización morfológica e incidencia de *Neozygites fresenii* en la regulación natural de áfidos en Andalucía-España. *Manejo Integrado de Plagas* 48: 40-44.
- Sánchez, S.E.M.; Freitas, A.L.; Leal, J.B.; Almeida, C.S. de. 1998. Fungos Entomophthorales no controle natural de insetos e ácaros fitófagos-prospecciones. Resumos-V Seminário de Pesquisa. Qualidade de Pesquisa, Qualidade de Vida. UESC- Universidade Estadual de Santa Cruz-UESC, 5-7 Out. Ilhéus-Bahia-Brasil.
- Sánchez, S.E.M.; Freitas, A.L. 1999. Fungos Entomophthorales no controle natural de insetos e ácaros fitófagos-prospecciones 98/99. Resumos-V Seminário Anual de Iniciação Científica. A ética na Pesquisa Científica. UESC - PIBIC/CNPq, 14-16 Jun. Ilhéus-Bahia-Brasil.
- Sánchez, S.E.M. 1999. Fungos Patogénicos Entomophthorales (Zygomycotina; Zygomycetes) no controle natural de insetos - prospecções ao sul da Bahia, Brasil. Resumos-VI Seminário de Pesquisas da UESC/CADCT/CNPq/BN. O Fomento da Pesquisa no Brasil, 3-5 Nov. Ilhéus-Bahia-Brasil.
- Sánchez, S.E.M.; Freitas, A.L. 2000. Fungos Patogénicos Entomophthorales (Zygomycotina; Zygomycetes) no controle natural de Coleoptera, Lepidoptera, Diptera, Homoptera e Orthoptera ao sul da Bahia. Resumos-VI Seminário de Iniciação Científica da UESC/PIBIC-CNPq. Iniciação Científica na Formação Acadêmica, 18-20 Jul. Ilhéus-Bahia-Brasil.
- Sánchez, S.E.M.; Lima, L.S. 2000. Diptera Psychodidae *Telamatoscopus albipunctatus* (Williston, 1893) infectados por *Entomophaga* sp. no bairro Salobrinho, eixo Ilhéus-Itabuna ao sul da Bahia. Resumos-VI Seminário de Iniciação Científica da UESC/PIBIC-CNPq. Iniciação Científica na Formação Acadêmica, 18-20 Jul. Ilhéus-Bahia-Brasil.
- Sánchez, S.E.M.; Freitas, A.L.; Lima, L.S.; Silva, G.B.; Almeida, C.S.; Leal, J.B. 2000. Entomophthoralean pathogenic Fungi (Zygomycotina; Zygomycetes) in the natural control of insects - prospects in southern of Bahia, Brazil. Abstracts - XXI International Congress of Entomology. Foz do Iguaçu, August 20<sup>th</sup> to 26<sup>th</sup>. Brazil.
- Sánchez, S.E.M.; Humber, R.A.; Freitas, A. L. 2001. Uma epizootia causada pelo fungo *Batkoa apiculata* (Thaxter) Humber, comb.nov. em *Lagria villosa* Fabr. (Col.: Lagriidae) no sul da Bahia. Livro de Resumos, VII Simpósio de Controle Biológico-SICONBIOL. Poços de Caldas, MG. 3-7 Junho, Brasil.
- Sánchez, S.E.M.; Freitas, A. L.; Roberts, D.W. 2001. Detecção de hongos Entomophthorales patógenos a insectos fitófagos, al sur de Bahia, Brasil. *Entomotrópica*: Vol. 16(3): 203-206. Diciembre/ Venezuela.
- SÁNCHEZ, S. E. M.; HUMBER, R.A.; FREITAS, A. L. & NUNES, E.F. 2002. A new record of the *Entomophaga grylli* (Fresenius) Batko species complex on Acrididae (Orthoptera) in southern Bahia, Brazil. Abstracts, VIII International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control (ICIPMC), XXXV Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology (SIP) and VI International Conference on Bacillus thuringiensis (ICBt). Foz do Iguassu - Paraná, August 18 to 23, Brazil.
- Sosa-Gomez, D.R.; Humber, R.A.; Moscardi, F. 2002. Entomopathogens associated with soybean/wheat production systems in Brazil and Argentina. Abstracts, VIII International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control (ICIPMC), XXXV Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology (SIP) and VI International Conference on Bacillus thuringiensis (ICBt). Foz do Iguassu - Paraná, August 18 to 23, Brazil.

# Evidencia de que *Nephelium lappaceum* no es hospedante de tres especies de mosca de la fruta (Tephritidae) en Honduras

L. Vásquez<sup>1</sup>  
K. Sponage<sup>2</sup>  
F. Díaz<sup>1</sup>  
J. Jiménez<sup>1</sup>  
E. Ostmark<sup>1</sup>  
M. Romero<sup>1</sup>

**RESUMEN.** El rambután, *Nephelium lappaceum* L., es un valioso cultivo tropical exótico con potencial de exportación hacia los Estados Unidos. Sin embargo, la presencia de especies de moscas de la fruta con restricciones cuarentenarias prohíbe su exportación como fruta fresca de Centro a Norte América. Nunca se ha observado daño de larvas de moscas de la fruta en el rambután sembrado en Honduras, por lo que comúnmente se cree que este no es un hospedante natural de moscas de la fruta. Con el propósito de evaluar esta hipótesis, la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA) condujo durante 1990, 1991 y 1994 series de experimentos de exposición forzada, donde frutas de rambután fueron evaluadas contra tres especies distintas de moscas de la fruta (*Ceratitidis capitata* Wiedemann, *Anastrepha ludens* Loew y *Anastrepha obliqua* Macquart). En ninguna de las 13,460 frutas de rambután evaluadas durante los tres años del estudio se pudo constatar la presencia de marcas de oviposición o presencia de larvas en la pulpa. Los resultados demostraron que el rambután no es un huésped susceptible a las especies de moscas de la fruta de Centro América.

**Palabras clave:** Rambután, *Nephelium lappaceum*, *Ceratitidis capitata*, *Anastrepha ludens*, *Anastrepha obliqua*, Moscas de la fruta.

**ABSTRACT.** Rambután, *Nephelium lappaceum* L., is a valuable exotic tropical crop with potential for exportation to the U.S. However, the presence of fruit flies species with quarantine restrictions prohibits its exportation as a fresh fruit from Central to North America. The Rambutan planted in Honduras has never been observed bearing damage of fruit flies and it is widely believed that Rambutan is not a natural host of these fruit flies. With the purpose of evaluating this hypothesis, the FHIA conducted during 1990, 1991 and 1994 a series of forced infestation tests where Rambutan was evaluated against three different species of fruit flies (*Ceratitidis capitata* Wiedemann, *Anastrepha ludens* Loew and *Anastrepha obliqua* Macquart). There were neither oviposition punctures nor larvae in the pulp of the 13,460 Rambutan fruits evaluated during the tree years of research. The results demonstrate that Rambutan is not a susceptible host for these fruit fly species.

**Key words:** Rambutan, *Nephelium lappaceum*, *Ceratitidis capitata*, *Anastrepha ludens*, *Anastrepha obliqua*, Fruit fly.

## Introducción

El Rambután, *Nephelium lappaceum* L., fue introducido desde Indonesia a Honduras a principios del siglo XX. Los primeros árboles fueron plantados en el jardín

botánico Wilson Popenoe en Lancetilla, Tela, Atlántida. Se desconoce los nombres de los clones originales, pero incluyen variedades rojas, amarillas y rosadas. En

<sup>1</sup> Departamento de Protección Vegetal, Fundación Hondureña de Investigación Agrícola, FHIA. Apartado Postal 2067, San Pedro Sula, Honduras.  
<sup>2</sup> P.O. Box 960850, Miami, FL. 33296-0850, EE. UU.

Indonesia se cultivan alrededor de 19 variedades y algunas tienen las mismas características del rambután que cultivado en Honduras (Lye *et al.* 1987). La mayoría del Rambután que es cultivado en Honduras ha sido reproducido a través de semillas provenientes de los árboles plantados en Lancetilla. Debido a las preferencias del mercado, más del 90% del Rambután cultivado en Honduras es rojo y, a pesar de las características segregantes de la población (Almeyda *et al.* 1979), algunos agricultores se refieren al rambután cultivado en Honduras como la variedad "Daysi roja". Se estima que existen más de 500 ha de rambután plantado en la costa norte de Honduras y el área sembrada está creciendo rápidamente. Se estima además que solo un 70% del área plantada está en edad reproductiva (encuesta realizada por la FHIA en 1999).

El rambután es una fruta con un alto potencial de exportación. Sin embargo, Norrbom y Kim (1988) y Liquido *et al.* (1991) han reportado que las frutas de este cultivo son hospedante de algunas de las especies de moscas de la fruta presentes en Centroamérica. Debido lo anterior, existen restricciones cuarentenarias que prohíben la exportación de rambután como fruta fresca a los Estados Unidos. En Honduras nunca se han reportado larvas de moscas de la fruta afectando las cosechas de rambután y se cree que este no es un hospedante natural de dichas moscas. Por este motivo, durante los años de 1990, 1991 y 1994, se condujeron en la FHIA series de experimentos de exposición forzada de frutas de rambután a tres especies distintas de moscas de la fruta (*Ceratitis capitata* Wiedemann, *Anastrepha ludens* Loew y *Anastrepha obliqua* Macquart), con el propósito de determinar si las frutas de rambután son hospedante de las especies más abundantes e importantes de moscas de la fruta que ocurren en Honduras.

En las pruebas de exposición forzada, las moscas de la fruta adultas y apareadas son obligadas a permanecer en cajas experimentales en presencia de uno o varios huéspedes potenciales y/o conocidos para evaluar su habilidad de utilizarlos como substrato para ovipositar y reproducirse. Estudios similares con *Dacus tryoni* fueron conducidos por John Mansfield en Australia (1992)<sup>3</sup>. Los resultados de estos estudios encontraron que *D. tryoni* oviposita en rambután, sin que ninguna larva pueda ser recuperada dentro de la fruta, mientras que las frutas de guayaba *Psidium guajava* L., su huésped favorito, mostraban infestaciones severas. En Tailandia, en cambio, *Dacus dorsalis* Hen. rara vez

ataca el rambután y se cree que esto se debe a la interferencia física que presentan los espinetes de la fruta en el momento de la oviposición (Visarathanonth 1987). La ausencia de preferencia, la repelencia o la interferencia física pueden ser las razones por las cuales las especies de moscas de la fruta de Centroamérica no afectan el Rambután. La metodología utilizada en estos estudios fue modificada a través de los años para cumplir con las demandas que USDA-APHIS establece para los estudios que buscan liberar cultivos con restricciones cuarentenarias para su exportación a los Estados Unidos.

### Métodos y materiales

En 1990 se condujeron 8 pruebas de oviposición forzada para *C. Capitata* y 5 pruebas de oviposición forzada para *A. obliqua* y *A. ludens*, cada una con una duración de 15 días. Las pruebas se iniciaron el 8 de octubre y concluyeron el 2 de noviembre del mismo año. Cada prueba incluyó 2 tratamientos: 1) frutas de rambután expuestas a moscas de la fruta y 2) frutas de rambután no expuestas a moscas de la fruta (control). La exposición de fruta a cada especie de mosca de la fruta se llevó a cabo separadamente. Cada prueba fue replicada un promedio de 4 veces a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y  $65 \pm 5\%$  HR. La unidad experimental estuvo constituida por 1 caja con 25 frutas y 400 adultos de una de las especies de mosca de la fruta. Las frutas colectadas para levantar las poblaciones de *C. capitata*, *A. obliqua* y *A. ludens* fueron cerezas de café (*Coffea arabica* L.), jobo (*Spondias mombin* L.) y toronja (*Citrus paradisi* Macfady), respectivamente. Las frutas hospedante y las moscas utilizadas en el experimento fueron colectadas en la misma región donde se encuentran las plantaciones de Rambután. Una vez recolectadas las larvas, se les brindó alimento hasta que alcanzaron la fase de pupa. Las pupas fueron luego colocadas en grupos de 400 en las cajas experimentales. Al emerger los adultos se contaron las pupas no eclosionadas. Luego, estas fueron sustituidas por adultos de la misma edad, provenientes de otras cajas, para completar un total de 400 adultos por tratamiento. Cuatro días después de haber eclosionado los adultos se introdujeron 25 frutas maduras de Rambután. Las frutas fueron expuestas a las moscas adultas durante tres días. Las frutas fueron luego removidas y colocadas en cajas de recuperación de pupas durante siete días, para permitir el desarrollo de las larvas. Al final se revisó la pulpa de cada fruta en forma individual en busca de

<sup>3</sup> Rambutan/Fruit fly exposure experiment results - Preliminary data. Department of Primary Industries, South Johnstone Research Station, Australia

daño o de larvas. Las frutas de Rambután usadas en el experimento fueron colectadas con la madurez fisiológica con que se colectarían si fueran cosechadas para el mercado.

Debido a que en 1990 no se estableció el efecto de las condiciones de laboratorio sobre la capacidad de oviposición de las hembras de las distintas especies de mosca de la fruta, en 1991 se corrió una prueba de oviposición forzada, utilizando *C. capitata*, *A. obliqua* y *A. Ludens*, incluyendo esta vez un tratamiento adicional con frutas de los hospedantes conocidos para cada una de las especies de moscas. Se incluyó también un tratamiento de control con frutas de Rambután, para detectar infestaciones previas en el campo. Los tres tratamientos utilizados fueron: 1) frutas hospedante conocidas (café, toronja y jobo) y frutas de Rambután, ambas expuestas al mismo tiempo a las moscas; 2) frutas de rambután solas expuestas a moscas; y 3) frutas de Rambután solas no expuestas a moscas. El estudio fue iniciando el 28 de agosto y finalizó el 28 de septiembre del mismo año. Cada tratamiento se replicó 4 veces y el experimento se condujo una sola vez. En todos los casos la unidad experimental consistió de 1 caja (25 x 25 x 25 cm) con 50 frutas de Rambután y 100 cerezas de café para *C. Capitata*, 10 jobos para *A. obliqua* y 2 toronjas para *A. ludens*. Para cada tratamiento con exposición a moscas se liberaron 100 moscas adultas de cada una de las especies. El procedimiento utilizado en el levantamiento de las poblaciones de moscas fue el mismo que se utilizó en 1990. En este experimento, la exposición forzada se realizó cuatro días después de que las moscas eclosionaran, a  $23.5 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$  y  $70 \pm 5\% \text{HR}$ . Las moscas adultas se colocaron en las cajas con las frutas de Rambután y de los hospedantes conocidos durante 4 días. Diez días después, se procedió a contar, con la ayuda de un microscopio, el número de marcas de oviposición presentes en la cáscara de la fruta de todos los tratamientos. Seguidamente, las frutas fueron separadas y trasladadas a jaulas de recuperación de pupas, donde permanecieron por seis días adicionales para favorecer el desarrollo de las moscas inmaduras. A continuación, todas las frutas fueron examinadas por la presencia de larvas de mosca de la fruta tanto en la pulpa de las frutas como en el piso de las cajas.

En las pruebas realizadas en 1990 y 1991 no se contó el número de larvas que podían crecer exitosamente hasta adulto en las frutas hospedante y en condiciones de laboratorio, por lo que fue necesario hacer más pruebas y determinar el porcentaje de supervi-

encia de las larvas hasta adulto. Además, se replicaron los experimentos y se controló la relación macho:hembra en las pruebas de exposición forzada. Por este motivo, se decidió efectuar tres pruebas de oviposición forzada durante el mes de febrero de 1994, utilizando únicamente dos especies de moscas de la fruta: *C. capitata* y *A. ludens*. Hubo cuatro tratamientos: 1) frutas hospedante y frutas de Rambután expuestas a moscas; 2) frutas de Rambután solas expuestas a moscas; 3) frutas de Rambután solas sin exposición a moscas; y 4) frutas del hospedante natural de cada especie de mosca sin exposición a moscas. Los últimos dos tratamientos se hicieron con la finalidad de comprobar que las frutas usadas en el experimento no habían sido previamente infestadas en el campo. Cada experimento con *C. capitata* y *A. ludens* se repitió en 3 y 2 ocasiones distintas, respectivamente. Cada tratamiento con *C. capitata* y *A. ludens* se repitió 5 y 3 veces en cada experimento, respectivamente.

La unidad experimental consistió en una jaula (de 25 x 25 x 25 cm) con 15 frutas de rambután y 90 cerezas de café para los tratamientos con *C. Capitata*; 15 frutas de rambután y 2 toronjas para los tratamientos con *A. Ludens*; y 15 frutas de rambután solas por jaula para cada una de ambas especies de moscas. Las moscas de la fruta se utilizaron estando sexualmente maduras, una semana después de haber eclosionado. En todos los tratamientos con exposición de moscas se utilizaron 90 adultos (relación macho-hembra de 1:1) de cada especie de mosca de la fruta. En todos los tratamientos, las frutas se mantuvieron expuestas al ataque de las moscas de la fruta durante 8 días. Las frutas fueron luego removidas y colocadas en cajas de recolección el tiempo necesario para permitir el desarrollo completo de las larvas hasta pupa.

En todos los experimentos, un 40% de las frutas de rambután cosechadas tenían más daño por manejo del usualmente tolerado en cualquier producción comercial. Muchos espineretes de las frutas fueron quebrados durante el transporte y, con frecuencia, algunas secciones de la pulpa quedaban expuestas cuando eran removidas de los árboles. A pesar de no ser la anterior una práctica comercial, este tipo de manejo se hizo con el propósito de hacer las frutas lo más susceptibles posible a las moscas de la fruta. Se asume que la presencia de espacios sin espineretes sobre la fruta puede ofrecer buenos sitios para la oviposición, y la exposición de la pulpa elimina el efecto de rechazo que podría existir por la presencia de la concha.

## Resultados y discusión

En las pruebas realizadas en 1990, ninguna de las frutas de Rambután expuestas a las distintas especies de moscas de la fruta utilizadas (*C. capitata*, *A. obliqua* o *A. ludens*) mostró evidencia de oviposición y en ningún caso se pudo recuperar larvas de las moscas (Cuadro 1). Las frutas recolectadas en el campo y utilizadas como control en el experimento tampoco mostraron evidencia de oviposición (Cuadro 1).

Los resultados obtenidos en 1991 fueron consistentes con los resultados obtenidos en 1990. Ninguna de las frutas de rambután expuestas a las distintas especies de moscas de la fruta mostró evidencia de haber sido ovipositada. Las frutas recolectadas en el campo y utilizadas como tratamiento control tampoco mostraron evidencia de haber sido ovipositadas por moscas de la fruta. Sin embargo, la inclusión de frutas hospedante conocidas confirmaron esta vez que los adultos utilizados en el experimento son capaces de

ovipositar y desarrollarse en sus hospedantes naturales bajo condiciones de laboratorio. Se contó un promedio de entre 5, 7 y 26 marcas de oviposición por cada fruta de café, jobo y toronja expuesta, respectivamente. Se observaron larvas de moscas de la fruta que abandonaban las frutas hospedante (café, jobo y toronja) para empupar. Esto ocurrió entre 8 y 10 días después de que las frutas fueran expuestas a las moscas. El número de larvas que salieron de las frutas hospedante no fue registrado. Ninguna larva fue recuperada de las frutas de rambután (Cuadro 2).

Los resultados obtenidos en 1994 fueron consistentes con los resultados obtenidos en 1990 y 1991. Ninguna de las frutas de rambután expuestas a las distintas especies de moscas de la fruta solas o en asocio con hospedantes conocidos evidenció haber sido ovipositada. Las frutas recolectadas en el campo y utilizadas como tratamiento control tampoco mostraron evidencia de haber sido ovipositadas por moscas de la

**Cuadro 1.** Larvas y pupas obtenidos en pruebas de oviposición forzada sobre frutas de rambután *N. lappaceum* con *C. capitata*, *A. obliqua* y *A. ludens*. Agosto a noviembre, 1990.

Tratamiento	Total de frutas utilizadas	Larvas encontradas	Pupas encontradas
Rambután con <i>C. capitata</i>	725 <sup>1</sup>	0	0
Rambután sin <i>C. capitata</i>	225 <sup>2</sup>	0	0
Rambután con <i>A. obliqua</i>	750 <sup>3</sup>	0	0
Rambután sin <i>A. obliqua</i>	250 <sup>4</sup>	0	0
Rambután con <i>A. ludens</i>	375 <sup>5</sup>	0	0
Rambután sin <i>A. ludens</i>	125 <sup>6</sup>	0	0

<sup>1</sup> Se colocaron 25 frutas de rambután en 3, 5, 3, 2, 3, 2, 5 y 6 cajas experimentales en 8 ocasiones distintas, respectivamente.

<sup>2</sup> Se colocaron 25 frutas de rambután en cada caja experimental en 7 ocasiones y 50 frutas en una ocasión.

<sup>3</sup> Se colocaron 50 frutas de rambután en cada una de 3 cajas experimentales en 5 ocasiones distintas.

<sup>4</sup> Se colocaron 50 frutas de rambután en una caja experimental en 5 ocasiones distintas.

<sup>5</sup> Se colocaron 25 frutas de rambután en cada una de 3 cajas experimentales en 5 ocasiones distintas.

<sup>6</sup> Se colocaron 25 frutas de rambután en una caja experimental en 5 ocasiones distintas.

**Cuadro 2.** Marcas de oviposición y larvas obtenidas en las pruebas de oviposición forzada en frutas de rambután *Nephelium lappaceum* con *C. capitata*, *A. obliqua* y *A. ludens*. Octubre de 1991.

Tratamientos	Total de frutas utilizadas		Promedio de marcas de oviposición por fruta		Larvas de moscas de la fruta
	hospedero	Rambután	hospedero	Rambután	Rambután
Rambután con café y con <i>C. capitata</i>	400	200 <sup>1</sup>	5	0	0
Rambután con <i>C. capitata</i>	-	200	-	0	0
Rambután sin <i>C. capitata</i>	-	3000	-	0	0
Rambután con jobo y con <i>A. obliqua</i>	40	200	7	0	0
Rambután con <i>A. obliqua</i>	-	200	-	0	0
Rambután sin <i>A. obliqua</i>	-	3000	-	0	0
Rambután con toronja y con <i>A. ludens</i>	8	200	26	0	0
Rambután con <i>A. ludens</i>	-	200	-	0	0
Rambután sin <i>A. ludens</i>	-	3000	-	0	0

<sup>1</sup> 50 frutas de rambután expuestas una sola vez en 4 cajas experimentales.

fruta. Lo anterior demuestra que las larvas recolectadas de los hospedantes conocidos resultaron de la exposición a las moscas hecha en el laboratorio. Como en 1990, la inclusión de frutas hospedante conocidas confirmó que los adultos utilizados en el experimento son capaces de ovipositar en sus hospedantes naturales bajo condiciones de laboratorio (Cuadro 3).

Las condiciones de laboratorio utilizadas permitieron el desarrollo hasta adulto a más del 50% de las larvas colocadas en las frutas de café y toronja. Esto demuestra que las condiciones de laboratorio fueron propicias para la reproducción y el desarrollo de moscas de la fruta (Cuadro 4).

**Cuadro 3.** Número de frutas utilizadas, marcadas con oviposición y larvas recuperadas en las pruebas de oviposición forzada en frutas de rambután *Nephelium lappaceum* con *C. capitata* y *A. ludens*. Febrero de 1994.

Tratamiento	Total de Frutas utilizadas <sup>1</sup>		Promedio de marcas de oviposición por jaula		Promedio de larvas en la pulpa de las frutas por jaula	
	hospedero	Rambután	hospedero	Rambután	hospedero	Rambután
Rambután con Café y con <i>C. capitata</i>	1,350	225	76	0	64	0
Rambután con <i>C. capitata</i>	-	225	-	0	-	0
Rambután sin <i>C. capitata</i>	-	225	-	0	-	0
Café sin <i>C. capitata</i>	1,350	-	0	-	0	-
Toronja con Rambután y con <i>A. ludens</i>	6	45	26	0	11	0
Rambután con <i>A. ludens</i>	-	45	-	0	-	0
Rambután sin <i>A. Ludens</i>	-	45	-	0	-	0
Toronja sin <i>A. Ludens</i>	6	-	0	-	0	-

<sup>1</sup> Total de frutas en los tres experimentos. Cada experimento incluía 5 repeticiones para cada tratamiento.

**Cuadro 4.** Desarrollo hasta adulto de las larvas de *C. capitata* y recuperadas de la pulpa de café y toronja, respectivamente. FHIA, La Lima, Honduras, 1994.

Especie de mosca de la fruta	Promedio de larvas recolectadas por jaula	Promedio de adultos emergidos por jaula	Porcentaje de supervivencia
<i>C. capitata</i> <sup>1</sup>	64	33	52
<i>A. ludens</i> <sup>2</sup>	11	7	63

<sup>1</sup> Con café como hospedero.

<sup>2</sup> Con toronja como hospedero.

## Conclusiones

Según nuestros estudios, el rambután cultivado en Honduras no es un hospedante natural de las especies de moscas de la fruta más abundantes e importantes del país (*C. capitata*, *A. ludens* y *A. obliqua*). Es posible que lo anterior se deba a condiciones ambientales desfavorables, preferencias derivadas de la adaptación o características morfológicas o fisiológicas propias del Rambután.

## Literatura citada

Almeyda, N.; Malo, S.E.; Martin, F.W. 1979. The Rambutan, in Watson, B.J.; Cunningham, I. C.; Walduck, G.D.; Wait, A.J.; Goebel, R.L. eds., Cultivation of neglected tropical fruits with promise. U.S. Department of Agriculture Science and Education Administration. p. 1-10.

Liquido, N.J.; Shinoda, L.A.; Cunningham, R.T. 1991. Host plants of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): an annotated world review. Lanham, EE. UU., Entomological Society of America. 52 p.

Lye T.T.; Laksmi, L.D.S.; Maspol, P.; Yong, S.K. 1987. Comercial rambutan cultivars in ASEAN. In Lam, P.F.; Kosiyachinda, S. eds. Rambutan: fruit development, postharvest physiology and marketing in ASEAN. Kuala Lumpur, ASEAN Food Handling Bureau., p. 9-15.

Norrbom, A.L.; Kim, K.C. 1988. A list of the reported host plants of the species of Anastrepha (Diptera: Tephritidae). Washington, United States Department of Agriculture (APHIS/PPQ). 144 p.

Visarathanonth N.; Ilag, L.L. 1987. Postharvest disorders of Rambutan. In P. F. Lam & S. Kosiyachinda [eds.], Rambutan: fruit development, postharvest physiology and marketing in ASEAN. Kuala Lumpur, ASEAN Food Handling Bureau. p. 51-57.

## Malezas hospedantes de geminivirus en campos de frijol en Cuba

Javier Sampedro Romero<sup>1</sup>  
Miguel González Bez<sup>1</sup>  
Nelsón Pérez Betancourt<sup>1</sup>  
Estrella Pérez Espinosa<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Entre 1990 y 1994 se tomaron muestras de especies de malezas que crecían en campos de frijol común *Phaseolus vulgaris* en áreas alledañas en zonas frijoleras de la provincia de Holguín, Cuba, fuertemente afectadas por el virus del mosaico dorado del frijol (BGMV) y con altas densidades poblacionales de *Bemisia tabaci*. Las malezas con síntomas del tipo mosaico amarillo, y algunas asintomáticas pero muy frecuentes en los campos, se analizaron mediante la técnica de microscopía óptica para detectar las inclusiones producidas por hospedantes de geminivirus. Se informan como especies hospedantes *Amaranthus dubius*, *A. spinosus*, *Cassia obtusifolia*, *Centrosema virginianum*, *Dalechampia scandens*, *Emilia sonchifolia*, *Euphorbia heterophylla*, *Macroptilium lathyroides*, *Malachra alceifolia*, *Malvastrum corchorifolium*, *M. coromandelianum*, *Mucuna pruriens*, *Phaseolus lunatus*, *Portulaca oleraceae*, *Rhyncosia minima*, *Sida acuta*, *S. glutinosa*, *S. micrantha*, *S. rhombifolia*, *S. spinosa* y *Solanum nigrum*.

**Palabras clave:** Frijol común, geminivirus, malezas hospedantes.

**ABSTRACT.** Geminivirus-hosting weeds in common bean (*phaseolus vulgaris*) fields. Samples of weeds species were taken from common bean fields and bordering areas of the bean growing areas of the Holguin province, Cuba, where incidence of both the bean golden mosaic virus (BGMV) and population density of the whitefly was high. The samples, collected between 1990 and 1994, included plants with yellow mosaic-type symptoms, as well as others, asymptomatic but common ones. All were analyzed with light microscopy to detect geminivirus inclusions. As a result, the host species found were *Amaranthus dubius*, *A. spinosus*, *Cassia obtusifolia*, *Centrosema virginianum*, *Dalechampia scandens*, *Emilia sonchifolia*, *Euphorbia heterophylla*, *Macroptilium lathyroides*, *Malachra alceifolia*, *Malvastrum corchorifolium*, *M. coromandelianum*, *Mucuna pruriens*, *Phaseolus lunatus*, *Portulaca oleraceae*, *Rhyncosia minima*, *Sida acuta*, *S. glutinosa*, *S. micrantha*, *S. rhombifolia*, *S. spinosa*, and *Solanum nigrum*.

**Key words:** Common bean, geminivirus, host weeds.

### Introducción

Más de 30 geminivirus transmitidos por moscas blancas son causantes de graves enfermedades en cultivos agrícolas, pudiendo provocar hasta el 100 % de pérdidas (Gámez 1977, Brunt 1986, Brown y Bird 1992).

Entre los geminivirus más importantes en Cuba se encuentra el virus del mosaico dorado del frijol (BGMV), causante de pérdidas del 99% en la cosecha de 1989-1990 en la provincia de Holguín (González *et*

<sup>1</sup> Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Holguín. Ministerio de la Agricultura. Cuba.

al. 1994). A partir de esa fecha comenzaron una serie de estudios sobre esta enfermedad y su insecto vector, entre ellos este trabajo, con el objetivo de conocer la existencia de malezas hospedantes de geminivirus transmitidos por *Bemisia tabaci* en campos de frijol y áreas aledañas como posibles fuentes de inóculo.

### Materiales y métodos

Entre 1990 y 1994 se tomaron muestras de malezas en campos de frijol en producción de la provincia de Holguín, así como en áreas aledañas a los mismos, con síntomas de mosaico amarillo, así como algunas especies asintomáticas pero muy frecuentes en los campos.

La provincia de Holguín se encuentra en la región nororiental de Cuba. En este territorio, el frijol se siembra en 2 épocas, una lluviosa (septiembre), con las mayores áreas de cultivo, y otra seca (diciembre). En septiembre, la temperatura media del aire y la humedad relativa promedio anual son de alrededor de 26°C y 86%, respectivamente, mientras que en diciembre son de 23°C y 82%, respectivamente. Las zonas de siembra del grano están situadas de 0 a 200 msnm.

Los muestreos incluyeron tanto la época lluviosa como la seca y se realizaron decenalmente desde la brotación de las plantitas hasta el inicio de la formación de las vainas, o sea, 4 muestreos durante el ciclo de vida del cultivo por cada campo de frijol seleccionado.

Las hojas jóvenes de plantas, colectadas y envueltas en papel húmedo y nailon, se analizaron en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Holguín mediante la técnica de microscopía óptica, para detectar las inclusiones nucleares producidas por geminivirus (Christie *et al.* 1986), con la salvedad de que para eliminar la clorofila se utilizó una mezcla de cloroformo-metanol en una proporción de 3:1.

Para realizar las observaciones de las inclusiones, se tomaron las hojas y se desbastaron tanto por el haz como por el envés con papel abrasivo (No. 600), se lavaron con agua destilada y, posteriormente, se decoloraron sumergiéndolas en una mezcla de cloroformo-metanol en una proporción de 3:1; después, se lavaron con etanol absoluto y se contrastaron con Azur A al 0.1 % en dietilenglicol recientemente mezclado con una solución de fosfato disódico 0.05 M en una proporción de 1:1. La presencia de inclusiones de color

azul en los núcleos de las células del floema indicó la presencia de geminivirus.

Se incluyó el frijol caballero (*Phaseolus lunatus*), por encontrarlo en muchas ocasiones espontáneo en las cercas de los campos. En todos los casos se analizaron muestras de tejidos no infectados como control.

### Resultados y discusión

La flora adventicia en el frijol es muy abundante. En un estudio en la provincia de Holguín de las principales malezas que inciden en este cultivo, se informó de 61 especies presentes (Pérez 1982) y de las 41 muestreadas en este trabajo 16 resultaron nuevas, lo que eleva el número hasta 77 especies.

De las 41 especies de plantas analizadas, 21 de ellas resultaron hospedantes de geminivirus, al observarse en los núcleos de las células del floema grandes inclusiones teñidas de azul, en ocasiones con los núcleos más grandes y deformados (Recuadro 1).

Algunas malezas que aparecieron infectadas han sido registradas como hospedantes de geminivirus en otros países (Costa 1975, Pierre 1975, Gálvez y Cárdenas 1980, Brunt 1986).

La confiabilidad de esta técnica, poco costosa y rápida, ha sido demostrada por otros autores (Christie *et al.* 1986, Brown y Bird 1992) y puede utilizarse para seleccionar aquellas plantas positivas a las cuales se pretenda analizar ulteriormente para determinar el tipo de geminivirus presente, así como para establecer métodos de control de malezas en cultivos económicos.

Se debe señalar que de las malezas hospedantes de geminivirus, las más abundantes fueron *E. Heterophylla*, *A. dubius* y las especies del género *Sida*, y que en las siembras de septiembre se observó mayor cantidad de malezas con síntomas de mosaico amarillo.

El estudio permitió establecer algunas medidas para el manejo del virus del mosaico dorado del frijol, entre las cuales se pueden mencionar la erradicación de *P. lunatus*, (hospedante del BGMV), muy común en las cercas de los campos y de las casas de los campesinos durante todo el año; mantener el cultivo libre de malezas en los primeros 40 días después de la siembra; y realizar la selección negativa de plantas de frijol con síntomas de mosaico.

**Recuadro 1.** Relación de malezas muestreadas y malezas hospedantes de geminivirus en campos de frijol.

Nombre científico	Nombre vulgar	Geminivirus
<i>Acalypha alopecuroides</i>	Rabo de gato	(-)
<i>Amaranthus dubius</i>	Bledo	(+)
<i>A. spinosus</i>	Bledo espinoso	(+)
<i>Boerhaavia erecta</i>	Tostón	(-)
<i>Bouchea prismatica</i>	Verbena cimarrona	(-)
<i>Cassia obtusifolia</i>	Guanina	(+)
<i>Centrosema virginianum</i>	Crica de negra	(+)
<i>Commelina elegans</i>	Canutillo	(-)
<i>Crotalaria retusa</i>	Garbancillo	(-)
<i>Croton lobatus</i>	Frailecillo cimarrón	(-)
<i>Cucumis anguria</i>	Pepinillo	(-)
<i>C. dipsacum</i>	Pepinillo	(-)
<i>Dalechampia scandens</i>	Bejuco	(+)
<i>Datura stramonium</i>	Chamico	(-)
<i>Desmodium canum</i>	Empanadilla	(-)
<i>Emilia sonchifolia</i>	Clavel chino	(+)
<i>Euphorbia heterophylla</i>	Lechosa	(+)
<i>Jatropha gossypifolia</i>	Túa túa	(-)
<i>Lantana camara</i>	Filigrana	(-)
<i>Macroptilium lathyroides</i>	Contramaligna	(+)
<i>Malachra alceifolia</i>	Malva mulata	(+)
<i>M. capitata</i>	Malva mulata	(-)
<i>Malvastrum corchorifolium</i>	Malva corchorifolia	(+)
<i>M. coromandelianum</i>	Malva prieta	(+)
<i>Melochia nodiflora</i>	Malva colorada	(-)
<i>M. pyramidata</i>	Malva común	(-)
<i>Merremia umbellata</i>	Aguinaldo amarillo	(-)
<i>Mucuna pruriens</i>	Pica pica	(+)
<i>Phaseolus lunatus</i>	Frijol caballero	(+)
<i>Portulaca oleraceae</i>	Verdolaga	(+)
<i>Rhyncosia minima</i>	Bejuco culebra	(+)
<i>Sida acuta</i>	Malva de caballo	(+)
<i>S. glutinosa</i>	Malva de Cuba	(+)
<i>Sida micrantha</i>	Malva	(+)
<i>S. rhombifolia</i>	Malva de cochino	(+)
<i>S. spinosa</i>	Malva de caballo	(+)
<i>Solanum nigrum</i>	Hierba mora	(+)
<i>S. nodiflorum</i>	Hierba mora	(-)
<i>Turbina corymbosa</i>	Campanilla	(-)
<i>Waltheria indica</i>	Malva blanca	(-)
<i>Xanthium strumarium</i>	Guizazo de caballo	(-)

(+) Hospedantes de geminivirus

(-) No hospedantes

## Literatura citada

- Brown, J.K.; Bird, J. 1992. Whitefly-transmitted geminivirus and associated disorders in the Americas and the Caribbean basin. *Plant Disease* 76: 229 - 225.
- Brunt, A. 1986. Transmission of diseases. In *Bemisia tabaci*. A literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography (M.J.W.Cock, ed). FAO - CAB. Chameleon Press Limited. London. p. 43 - 50.
- Christie, R.G; Ko, N.J; Falk, B.W; Hierbet, E; Lastra, R; Bird, J; Kim, K.S. 1986. Light microscopy of geminivirus - induced nuclear inclusion bodies. *Phytopathology* 76: 124 - 126.
- Costa, A. 1975. Increase in the populational density of *Bemisia tabaci*, a threat of widespread virus infection of legume crops in Brazil. In *Tropical Diseases of Legumen* (J. Bird y K. Maramorosch, eds.). Academic Press. New York. p. 27 - 49.
- Galvez, G; Cárdenas, M. 1980. Virus transmitidos por moscas blancas. In *Problemas de producción del frijol: Enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de Phaseolus vulgaris* (H. Schwartz y G. Gálvez, eds.). CIAT. Colombia. p. 265 - 280.
- Gamez, R. 1977. Las enfermedades virales como factores limitantes en la producción del frijol (*Phaseolus vulgaris*) en América Latina. *Fitopatología* 12: 24 - 26.
- González, M.; Muñiz, J; Pérez T.N.; Pérez B.N.; García, E.; Mateo, A; Reyes, S.; Concepción, E.; Sampedro, J. 1994. Estudios sobre *Bemisia tabaci* y manejo integrado contra la plaga en el frijol. IX Forum de Ciencia y Técnica. INISAV. Ciudad de la Habana (25 - 27 de Octubre de 1994). Cuba.
- Pérez, E. 1982. Principales malas hierbas en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris*) en la provincia de Holguín. *Ciencia y Técnica en la Agricultura. Serie Protección de Plantas* 5 (3): 117 - 129.
- Pierre, R. 1975. Observations on the golden mosaic of bean (*Phaseolus vulgaris*) in Jamaica. In *Tropical Diseases of Legumes* (J. BIRD y K. Maramorosch, eds.). Academic Press. New York. p. 55 - 59.

# Cultivos asociados y uso de arrope para el manejo de *Bemisia tabaci* y el virus del mosaico dorado en frijol

Miguel González Bez<sup>1</sup>  
José Muñiz Cuenca<sup>2</sup>  
Evelio García Sánchez<sup>3</sup>

**RESUMEN.** Entre 1989 y 1990 se evaluaron las siguientes asociaciones de cultivo con el frijol común (*Phaseolus vulgaris*): barreras de maíz en siembra intercalada con el frijol, a razón de un surco de maíz por cada 2 y 4 surcos de frijol; 3 surcos de pepino por cada 15 surcos de frijol; y 2 surcos de plátano en fomento por cada 4 surcos de frijol, además del uso de aserrín como arrope, y fueron comparados con el monocultivo del frijol, con el objetivo de determinar la influencia de esas prácticas culturales en la incidencia del virus del mosaico dorado transmitido por la mosca blanca. En todos los casos, las variantes asociadas o el uso de arrope lograron reducir tanto las poblaciones del insecto vector como la virosis en frijol, con lo cual se lograron incrementos significativos en los rendimientos en comparación con el monocultivo.

**Palabras clave:** Frijol común, Cultivos asociados, Arrope, Mosca blanca, Virus del mosaico dorado.

**ABSTRACT.** Use of associated cultivation plants and soil covering in common bean on the control of the white fly and the golden mosaic virus. Trials were carried out during the years 1989 y 1990 concerning the effect of different associated cultivation plants as well as the use of "arrope" (the covering of the soil between plants with sawdust) on the white fly – golden mosaic virus (BGMV) complex incidence. The associated plants used (maize, cucumber and plantain, all previously sown) were interlaced as follows: one furrow of maize followed by 2 and then 4 furrows of bean; 3 furrows of cucumber followed by 15 furrows of bean and 2 furrows of plantain into 4 ones of bean. The results showed that these practices were able to reduce the white fly populations and BGMV and, consequently, yield significantly increased.

**Key words:** Common bean, associated cultivation plants, soil covering, whitefly, BGMV.

## Introducción

La asociación de cultivos en el trópico tiene una historia casi tan larga como la historia de la agricultura, a pesar que se ha ignorado en la investigación agrícola, la cual se ha inclinado por una producción más eficiente de monocultivos (García y Davis 1985). Gran parte de la producción de los cultivos básicos de las zonas tropicales latinoamericanas proviene de un sistema de policultivos: más del 40 % de la yuca, 60 % del maíz y 80 % de los frijoles de estas regiones se cultivan combinados entre sí o con otros cultivos (Leihner 1983).

Según Hart (1975), el rendimiento de una especie es menor cuando está asociada que cuando se halla en

monocultivo. No obstante, en los sistemas asociados de cultivos hay una mayor estabilidad de producción y menor riesgo a través de los años que en los monocultivos. La mayor estabilidad del ecosistema se explica como un freno a la multiplicación de insectos y patógenos por la presencia de la otra especie, además de que el sombreado de los cultivos favorecen una mayor competencia del sistema con las malezas (Lépiz 1974, García y Davis 1985).

En una revisión de 209 publicaciones de estudios agrícolas hechos sobre 287 especies artrópodos herbívoras, Andow (1991) encontró que el 52 % de las especies de plagas estudiadas era menos abundantes en

<sup>1</sup> Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Holguín, Cuba.

<sup>2</sup> Estación Territorial de Protección de Plantas de Holguín, Cuba.

<sup>3</sup> Estación Territorial de Investigaciones Agropecuarias de Holguín, Cuba.

los policultivos y que solamente el 15 % era más abundante que en los monocultivos. Además, señaló que el 53 % de las especies de depredadores y parasitoides que actúan como enemigos naturales de las plagas de insectos, eran más numerosas en policultivos que en monocultivos. Dos hipótesis explican la reducción de plagas en los policultivos (Risch 1983, Altieri y Liebman 1986): la primera hipótesis, de los enemigos naturales, predice una mayor mortalidad de plagas de insectos debido al incremento de los biorreguladores beneficiosos, dado por las mejores condiciones de sobrevivencia en los policultivos, tales como las de proporcionar más fuentes de néctar y polen. La segunda hipótesis es la de la concentración de recursos, que predice que las plagas de insectos serán menos abundantes en los policultivos cuando las combinaciones se compongan de cultivos hospedantes y no hospedantes.

La modificación de las características visuales del cultivo con coberturas al suelo es una opción eficaz para reducir la presencia de insectos vectores de virus (Maelzer 1986). Al modificar el patrón de plantas verdes contrastadas con un suelo pardo oscuro, se puede disminuir la colonización de moscas blancas, áfidos y ciertos lepidópteros; el color del suelo o la densidad de siembra alteran la atracción de insectos que vuelan sobre el cultivo (Smith 1976).

En Cuba, el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) es uno de los alimentos básicos de la población. La provincia de Holguín es la zona productora de frijol más importante del país, con una siembra de más de dos mil hectáreas anuales, de las cuales el 60 % de la producción pertenece a la localidad de Velasco, situada al norte de la provincia (Blanco y Faure 1994).

A partir de 1989, la producción de frijol en Cuba se ha visto seriamente afectada por el complejo mosca blanca – mosaico dorado, ocurriendo las mayores pérdidas en el trienio de 1989 a 1991, con cerca de cuatro mil hectáreas demolidas, de las cuales alrededor del 80% correspondieron a la provincia de Holguín. La mosca blanca que afecta el frijol es *Bemisia tabaci* (biotipo A), aunque a partir de 1995 se determinó la presencia del biotipo B en áreas de la provincia de La Habana, atacando tomate, col, calabaza y boniato, por lo que se supone se halla en todo el territorio nacional (Vázquez *et al.* 1995).

Los objetivos del trabajo fueron evaluar el frijol común en asociación con otros cultivos, además del uso de arrope, frente a la incidencia del virus del mosaico dorado (BGMV) transmitido por *B. tabaci*.

## Materiales y métodos

Se realizaron tres experimentos en áreas tanto de la Subestación de Granos de Velasco, como en cooperativas, todas ubicadas en el municipio de Gibara, provincia de Holguín, Cuba, entre 1989 y 1990.

### Experimento 1

Se realizó un experimento en frijol con la variedad Tazumal (BAT- 58) en la Subestación de Granos de Velasco, durante el período de noviembre de 1989 a febrero de 1990. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con 3 variantes y 4 repeticiones. Las variantes o tratamientos estudiados fueron:

- Variante 1: asociación de maíz (variedad HT- 66) y frijol, con siembra intercalada por surcos a razón de un surco de maíz por cada dos surcos de frijol y el maíz sembrado con 15 días de antelación.
- Variante 2: uso de aserrín de madera como arrope en el cultivo del frijol, agregando una lámina de 2 a 3 cm de grosor sobre la superficie de la parcela una vez sembrada la misma.
- Variante 3: monocultivo tradicional de frijol (testigo).

Para cada uno de los tratamientos, las unidades experimentales fueron parcelas de 5 m de largo y 7 surcos de ancho sembradas a 0,70 m de camellón. En las parcelas no se hicieron aspersiones de insecticidas y se realizaron evaluaciones a lo largo del ciclo del cultivo con relación a la plaga de mosca blanca, para lo cual se efectuaron conteos de adultos por hoja (entre 8:00 y 10:00 am) directamente en el campo. Además, se cuantificó el porcentaje de plantas enfermas afectadas por el virus del mosaico dorado del frijol (BGMV) y se determinaron los rendimientos en Kg/ha por variantes. Con los valores obtenidos se realizó un análisis de varianza mediante la prueba de Duncan, con un nivel de significación del 5 %, se compararon las variantes tratadas (policultivo y arrope) con respecto al testigo (monocultivo).

### Experimento 2

En la cooperativa (CPA) “Camilo Cienfuegos”, entre septiembre y diciembre de 1990, se desarrolló un experimento en frijol (variedad Tazumal) dispuesto en un diseño experimental de bloques completos al azar y 3 repeticiones. Las variantes o tratamientos evaluados fueron:

- Variante 1: asociación de pepino (variedad Japonés)

y frijol, con siembra intercalada por surcos a razón de 3 surcos de pepino por cada 15 surcos de frijol y el pepino sembrado con 15 días de antelación.

- Variante 2: asociación de maíz (variedad HT- 66) y frijol, con siembra intercalada a razón de un surco de maíz por cada cuatro surcos de frijol y el maíz sembrado con 15 días de antelación.
- Variante 3: testigo.

Las unidades experimentales, para cada uno de los tratamientos, fueron parcelas de 147 m<sup>2</sup> (10 m de largo y 14,7 m de ancho) con una distancia de 0,70 m entre surcos. No se hicieron aplicaciones de insecticidas.

Las evaluaciones referentes a la incidencia del BGMV se basaron en el porcentaje de plantas viróticas por variantes. Con respecto a las poblaciones de mosca blanca, se tomaron 100 hojas (33 de los niveles inferior y superior, respectivamente y 34 del nivel medio) en 33 plantas al azar por parcela, se observaron por el envés bajo el estereomicroscopio y se cuantificaron los estadios de huevo y ninfa. Los conteos de adultos se efectuaron directamente en el campo.

La medición de los rendimientos y el procesamiento estadístico fueron similares a los utilizados en el experimento anterior.

### Experimento 3

Se realizó un experimento en frijol (variedad Tazumal) en la cooperativa (CCS) "Sabino Pupo", durante los meses de septiembre a diciembre de 1990, y se compararon dos variantes o tratamientos, los cuales fueron:

- Variante 1: asociación de plátano de fomento (variedad macho) con frijol. La siembra de frijol (4 surcos) fue intercalada por cada 2 surcos de plátano, con una edad de 5 meses, plantado a una distancia de 3,6 m x 1,8 m x 1,8 m.
- Variante 2: testigo.

Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar y 3 repeticiones. Las unidades experimentales, para cada uno de los tratamientos, fueron parcelas de 324 m<sup>2</sup> (18m x 18m). La metodología de trabajo fue similar a la descrita en el experimento anterior.

## Resultados y discusión

### Experimento 1

Hubo diferencias en las densidades poblacionales de *B. tabaci* en las variantes donde se ejecutaron prácticas culturales (tratadas) con relación al monocultivo del

frijol (testigo). En las variantes tratadas se obtuvieron poblaciones inferiores de los adultos del insecto en comparación con el testigo a través del ciclo del frijol, y con ello se logró un porcentaje inferior de plantas con mosaico dorado en las variantes tratadas en los primeros 40 días de la siembra, etapa señalada como el período crítico para el BGMV (Mateo *et al.* 1997), con una reducción de 10- 24% de la virosis con relación al monocultivo. Al final del ciclo del frijol, 84 días después de la siembra (DDS), se lograron reducciones significativas de plantas viróticas (8 - 17%) en las variantes tratadas con relación al testigo (Cuadro 1).

Con relación a los rendimientos, las variantes tratadas superaron significativamente al monocultivo y la asociación de frijol con maíz fue la mejor. En el monocultivo, la cosecha fue prácticamente nula, debido a la severa afectación en la localidad de Velasco en igual fecha de siembra, donde hubo que demoler el 99 % de las áreas de frijol (González *et al.* 1997).

Para el caso del policultivo frijol – maíz, los resultados corresponden con lo señalado por Tapia (1986), quien plantea que el maíz es un insecticida para la mosca blanca, lo cual se traduce en un efecto repelente del cultivo y provoca una disminución de la plaga en el frijol. Estos resultados podrían justificarse también atendiendo a la hipótesis de la concentración de recursos (Risch 1983, Altieri y Liebman 1986), que predice que las plagas serán menos abundantes en los policultivos cuando las combinaciones están compuestas por cultivos huéspedes y no huéspedes, como en este caso, donde el maíz no es hospedante de *B. tabaci* (Vázquez 1995). Según Altieri y Liebman (1986), la reducción de las plagas se debe, por un lado, a que la colonización de herbívoros resulta afectada, ya que cuando un insecto desciende a una planta no hospedante, abandona el predio más rápidamente que si lo hace en una planta huésped; y por otro lado, a que se produce una dispersión restringida de la plaga, como resultado de estímulos visuales y químicos emanados de los cultivos no hospedantes que producen confusión.

En cuanto al uso del aserrín como cobertura al suelo, las reducciones de población de mosca blanca pueden atribuirse a los cambios en la temperatura del aire cerca de las plantas (Gálvez y Cárdenas 1980). Al respecto, en Israel, la utilización de coberturas amarillas (aserrín, paja de trigo y polietileno) en el suelo en el cultivo del tomate redujo la población de *B. tabaci* y retardó la diseminación de virosis, al resultar las coberturas más atractivas que el cultivo y porque las al-

**Cuadro 1.** Poblaciones de moscas blancas (MB) en adultos por hoja, porcentaje de plantas con síntomas del BGMV (PV) y rendimientos por variantes en frijol.

Variantes	DDS	MB	PV	Rend. (Kg/ha)	
				Frijol	Maíz
Maíz- Frijol (1 surco x 2 surcos)	10	6,5	0	138 <sup>a</sup>	1330
	17	7,3	17		
	24	7,8	28		
	31	6,0	47		
	38	2,6	56		
	45	0,5	73		
	84	-	82 <sup>c</sup>		
Arrope con aserrín	10	7.0	0	83 <sup>b</sup>	
	17	8.1	21		
	24	8.7	34		
	31	6.6	55		
	38	2.9	70		
	45	0.6	84		
	84	-	91 <sup>b</sup>		
Testigo	10	10.8	0	16 <sup>c</sup>	
	17	17.2	23		
	24	20.1	41		
	31	15.4	61		
	38	7.7	80		
	45	3.2	95		
	84	-	99 <sup>a</sup>		

Sx: 0,0570      0,5916

CV: 3,88 %      14,26 %

Letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ )

tas temperaturas que acumularon durante el día resultaron letales para el insecto (Cohen y Berlinger 1986). En Costa Rica, el uso de granza de arroz y de plástico amarillo como coberturas inertes al suelo en tomate resultaron atractivas para los adultos de *B. tabaci* y redujeron las poblaciones del insecto en el cultivo, pero no resultaron eficaces para retrasar sustancialmente la virosis; sin embargo, las coberturas vivas de malezas y de maní forrajero, también evaluadas, disminuyeron tanto la atracción de adultos como la virosis, al reducir el contraste de color entre el suelo y el cultivo (Amador e Hilje 1993).

En el orden económico, se debe lograr una ganancia no inferior a los 3500 pesos/ha, de acuerdo a los rendimientos típicos de la variedad Tazumal, de alrededor de 600 Kg/ha, atendiendo a las condiciones de producción del frijol en la zona, la cual se realiza en seco y con pocos recursos por centenares de productores en pequeñas parcelas. La ganancia se obtiene de la diferencia del valor de comercialización de la cosecha obtenida y de los gastos incurridos en la producción de la misma.

El policultivo logró un rendimiento de 138 Kg/ha en frijol en el 67 % del área de siembra disponible, lo

que implica cierta restricción como práctica para la producción de frijol solamente. A su vez, en el otro 33 % del área se alcanzó un rendimiento de 1330 Kg/ha de maíz, el cual sin dudas compensó en gran medida las pérdidas obtenidas en el frijol. Con la asociación se obtuvo una ganancia de 2621 pesos/ha, de la cual 552 pesos/ha correspondieron al frijol.

El uso del aserrín como arrope logró un rendimiento en frijol de 83 Kg/ha. Con ello, se obtuvo una ganancia de 88 pesos/ha, mientras que en el monocultivo (testigo), con una producción de solamente 16 Kg/ha, no hubo ganancias y las pérdidas ascendieron a 343 pesos/ha.

## Experimento 2

Tanto las barreras de pepino como de maíz asociados al frijol lograron reducir tanto las poblaciones de mosca blanca como la incidencia del BGMV de forma significativa con relación al testigo, lo que motivó que se alcanzaran en las asociaciones rendimientos de frijol estadísticamente superiores al monocultivo. Las variantes de cultivo asociado no presentaron diferencias (Cuadro 2).

Los resultados obtenidos con las barreras de pepino en frijol concuerdan con los conseguidos en to-

mate por Al- Musa (1982), quien al sembrar pepino entre hileras del cultivo redujo la propagación del virus del rizado amarillo de la hoja del tomate (TYLCV) durante los primeros dos meses, cuando la mosca blanca prefirió el pepino al tomate en una relación de 4 a 1.

En el orden económico, la asociación de frijol con pepino alcanzó un rendimiento de 247 Kg/ha (frijol) en el 83 % del área de siembra y una cosecha de pepino complementaria equivalente a 362 Kg/ha. Con el policultivo se obtuvo una ganancia de 1328 pesos/ha, de la cual 1249 pesos/ha correspondieron al frijol.

El uso de surcos de maíz intercaladas con frijol en una proporción de 1 a 4 propició un área de siembra mayor para el frijol (80 %), como cultivo prioritario, y alcanzó un rendimiento de 230 Kg/ha; en el otro 20 % del área se obtuvo una cosecha complementaria de maíz de 744 Kg/ha. Con la asociación se logró una ganancia de 2292 pesos/ha, de la cual 1133 pesos/ha correspondieron al frijol.

El monocultivo, con un rendimiento de 180 Kg/ha, alcanzó apenas una ganancia de 750 pesos/ha.

### Experimento 3

Los resultados obtenidos (Cuadro 3) corresponden enteramente con los del experimento anterior. Es significativo el hecho que aún cuando esta práctica es

muy limitada, ya que sólo se puede efectuar en campos de plátano en fomento, las reducciones de la incidencia del mosaico dorado del frijol fueron superiores a las obtenidas con las barreras de maíz y pepino con niveles de inóculo de la enfermedad muy similares, debido a que al final del ciclo del frijol (84 DDS) hubo en el experimento anterior un 72% de plantas viróticas contra un 75%.

Estos resultados podrían atribuirse a que en este caso el frijol actúa como una cobertura viva al suelo, reduciendo notablemente el contraste de color entre el suelo y el cultivo (prácticamente todo es del mismo color verde) lo cual dificulta a *B. tabaci* la localización de las plantas de frijol (Amador y Hilje 1993). Cabe añadir que aunque el plátano es hospedante de *B. tabaci*, la plaga carece de importancia ya que las moscas blancas que inciden con mayor peso en este cultivo en Cuba pertenecen a otro género (Vázquez 1995).

En el orden económico, las ganancias por sembrar frijol entre las hileras de plátano son obvias, toda vez que prácticamente nunca se utiliza esta área en el fomento de los platanales. En el policultivo se obtuvo un rendimiento de frijol de 202 Kg/ha, con una ganancia de 1077 pesos/ha. Al monocultivo, con una cosecha de 164 Kg/ha, correspondió una ganancia de 643 pesos/ha.

**Cuadro 2.** Poblaciones de huevos (H), ninfas (N) y adultos (A) de *B. tabaci* por hoja, porcentaje de plantas viróticas (PV) y rendimientos por variantes.

Variantes	DDS	H	N	A	PV	Rendimiento. (Kg/ha)	
						F	P- M
Pepino (P)- Frijol (F) (3 surcos x 15 surcos)	10	10,4	0	4,1	0		
	17	8,5	8,2	4,6	8		
	24	6,1	12,5	5,0	15		
	31	2,0	7,1	3,8	26		
	38	0,9	3,7	1,6	34		
	45	0,1	1,5	0,3	49		
	84	-	-	-	52 <sup>b</sup>	247 <sup>a</sup>	362
Maíz (M)- Frijol (F) (1 surco x 4 surcos)	10	11,7	0	4,8	0		
	17	9,5	9,4	5,2	11		
	24	6,7	15,9	5,6	21		
	31	2,9	8,0	4,2	29		
	38	1,5	4,5	1,9	39		
	45	0,2	2,8	0,5	54		
	84	-	-	-	58 <sup>b</sup>	230 <sup>a</sup>	744
Testigo	10	15,6	0	8,0	0		
	17	14,2	12,3	9,3	15		
	24	9,5	23,8	10,2	28		
	31	4,3	11,5	7,5	45		
	38	2,2	7,2	3,6	55		
	45	0,5	4,2	1,1	70		
	84	-	-	-	72 <sup>a</sup>	180 <sup>b</sup>	

Sx: 0,0316      0,3162

V: 3,06%      3,73%

Letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

**Cuadro 3.** Poblaciones de huevos (H), ninfas (N) y adultos (A) de *B. tabaci* por hoja, porcentaje de plantas viróticas (PV) y rendimientos por variantes.

Variantes	DDS	H	N	A	PV	Rend. (Kg/ha)
						Frijol
Plátano de Fomento- Frijol (2 surcos x 4 surcos)	10	7,1	0	2,8	0	
	17	5,7	5,5	3,1	5	
	24	4,0	8,4	3,3	11	
	31	0,6	4,7	2,5	19	
	38	0,4	2,5	1,1	25	
	45	0	1,0	0,2	33	
	84	-	-	-	35 <sup>b</sup>	202 <sup>a</sup>
Testigo	10	16,0	0	8,4	0	
	17	14,5	13,4	9,6	16	
	24	10,2	25,1	10,5	30	
	31	4,8	14,2	7,9	50	
	38	2,5	8,3	3,8	65	
	45	0,5	4,7	1,2	72	
	84	-	-	-	75 <sup>a</sup>	164 <sup>b</sup>

Sx: 0,0408      0,1779

CV: 4,21%      2,28%

Letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

Finalmente, se debe señalar que, aún bajo las severísimas condiciones de afectación por el virus del mosaico dorado, se alcanzó el objetivo propuesto de contar con nuevos elementos de lucha contra el complejo mosca blanca – geminivirus en frijol.

### Literatura citada

- Al-Musa, A. 1982. Incidence, economic importance and control of tomato yellow curl in Jordan. *Plant Disease* 66 (7): 561-563.
- Altieri, M.A.; Liebman, M.Z. 1986. Insect, weed and plant disease management in multiple cropping systems. In Francis, C.A. ed. *Multiple cropping systems*. New York, Mac Millan. p. 183- 218.
- Amador, R.; Hilje, L. 1993. Efecto de coberturas vivas e inertes sobre la atracción de la mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Genadius), al tomate. *Manejo Integrado de Plagas* 29: 14- 21.
- Andow, D. 1991. Vegetational diversity and arthropod population response. *Annual Review of Entomology* 36: 561- 586.
- Blanco, N.; Faure, B. 1994. Situación actual del mosaico dorado del frijol en Cuba. In Morales, F.J. ed. *El mosaico dorado del frijol*. Avances de Investigación. Cali, Colombia, PROFRIJOL- COSUDE. CIAT. p. 82.
- Cohen, S.; Berlinger, M. 1986. Transmission and cultural control of whitefly- borne viruses. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 17 (1- 2): 89- 97.
- Galvez, G.; Cárdenas, M. 1980. Virus transmitidos por moscas blancas. In Schwartz, H.; Galvez, G. Eds. *Problemas de Producción del frijol: Enfermedades, Insectos, Limitaciones edáficas y climáticas de Phaseolus vulgaris*. Cali, Colombia, CIAT. p. 265- 280.
- García, S.; Davis, J. 1985. Principios básicos de la asociación de cultivos. In *Frijol: Investigación y Producción*. Colombia, PNUD- CIAT. p. 363- 366.
- González, M.; Muñiz, J.; Mateo, A.; Reyes, S.; Pérez, N.; Concepción, E.; Sampedro, J.; Pérez, E.; García, E.; Chaveco, O.; Faure, B. 1997. Manejo integrado del complejo mosca blanca- mosaico dorado en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Cuba. Cuba, MINAG. Presentado en Taller Internacional "Geminivirus en el Caribe" (27 y 28 de noviembre de 1997).
- Hart, R. D. 1975. A bean, corn and moniocoltura cropping systems, 1. The effect of interspecific competition on crop yield. *Turrialba* 25 (3): 294- 301.
- Leihner, D. 1983. Management and evaluation of intercropping systems with cassava. Colombia, CIAT.
- Lépiz, R. I. 1974. Asociación de cultivos maíz- frijol. México, INIA. (Folleto Técnico No. 58).
- Maelzer, D. A. 1986. Integrated control of insect vectors of plant virus diseases. In *Plant virus epidemics*. Mclean, G. D.; Garret, R. G.; Ruesink W. G. eds. Sidney, Academic Press. Sydney. p. 483- 512.
- Mateo, A.; Reyes, S.; González, M. 1997. Ciclo biológico de *Bemisia tabaci* en tres cultivos hospedantes y dinámica poblacional de la plaga en frijol. Presentado en: Taller Internacional "Geminivirus en el Caribe" (27 y 28 de noviembre de 1997). Cuba.
- Risch, S. J. 1983. Intercropping as cultural pest control: prospects and limitations. *Environ. Manage.* 7 (1): 9- 14.
- Smith, J. G. 1976. Influence of crop background on aphids and other phytophagous on Brussels sprouts. *Annals of Applied Biology* 83: 1- 13.
- Tapia, H. 1986. Control integrado para la producción agrícola. Nicaragua, ISCA. p. 16.
- Vázquez, L. 1995. Sistema de diagnóstico, inventario y plantas hospedantes de moscas blancas en Cuba. Resumen de Tesis para la obtención del grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Ciudad de La Habana, INISAV/MINAG. 25p.
- VAZQUEZ, L.; GOMEZ, O.; MATEO, A. 1995. Informe de la problemática mosca blanca- geminivirus en Cuba. Cuba, Ministerio de la Agricultura. 10 p.

# Actividad *in vivo* de *Trichoderma harzianum* sobre *Sclerotium rolfsii* en plántulas de tomate

Reynaldo Alonso Reyes<sup>1</sup>  
Beatriz Barranco Martínez<sup>1</sup>  
Graciela Gracia Rivero<sup>1</sup>  
Gilda Jiménez Montejo<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Este estudio se llevó a cabo para comprobar la actividad biocontroladora *in vivo* de la cepa A34 de *Trichoderma harzianum* sobre la enfermedad provocada por *Sclerotium rolfsii*. El trabajo se desarrolló en casa de vegetación, en macetas que contenían suelo ferrítico púrpura, estéril, infestado artificialmente con una concentración de inóculo del patógeno que provocara aproximadamente el 18% de mortalidad en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) de la variedad Placero. Las semillas fueron tratadas antes de la siembra en un caso y, en el otro caso, el tratamiento con el antagonista fue efectuado al suelo a razón de 8 kg/ha. Se comprobó la eficacia de la actividad antagónica a partir de la ausencia de síntomas de la enfermedad en las plantas protegidas, cultivadas hasta los 30 días posteriores a su germinación.

**Palabras clave:** *Trichoderma harzianum*, *Sclerotium rolfsii*, biocontrol, Agente biocontrolador, tomate.

**ABSTRACT.** *In vivo* biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* against *Sclerotium rolfsii* disease in tomato seedlings. This study was carried out to confirm the biocontrolling activity of *Trichoderma harzianum*, strain A34, on the disease caused by *Sclerotium rolfsii*. The study took place in a greenhouse, using pots, with sterilized ferritic purple soil, artificially infested with a pathogen inoculum concentration that was able to cause 18% of mortality in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in the Placero plant variety. Two treatments were used: 1) seed treatment prior planting, 2) soil treatment with biocontrol strain to a ratio of 8 kg/ha. The efficacy of the biocontrol agent was confirmed by the absence of symptoms in protected tomato seedlings, which were cultivated up to 30 days after germination.

**Key words:** *Trichoderma harzianum*, *Sclerotium rolfsii*, biocontrol, biocontrol agent, tomato.

## Introducción

*Sclerotium rolfsii* es un hongo fitopatógeno que infecta plantas cultivadas y silvestres, incluyendo en su rango de hospedantes especies cultivadas como el tomate, pimiento, maní, ñame, zanahoria y otros cultivos de importancia económica. Este hongo causa la pudrición de las posturas (*damping-off*) en semilleros y de las plantas jóvenes en siembras directas; está distribuido en regiones tropicales y subtropicales, y en Cuba la distribución es muy amplia en las regiones Oriental, Central y Occidental. Los síntomas que ocasiona este patógeno en los tejidos afectados son: amarillamientos

en las hojas inferiores, lesiones en las bases de los hipocótilos de las plantas, caracterizadas por hundimientos, ablandamientos y decoloraciones de la corteza, justamente debajo de la línea del suelo. A medida que la enfermedad avanza, las hojas de las ramas superiores pueden marchitarse y al final toda la planta cae y se quiebra por la base del tallo. Los esclerocios del hongo aparecen generalmente en grandes cantidades, adheridos a la base de los tallos de las plantas afectadas, junto con masas de micelios de color blanco, característico de esta especie.

<sup>1</sup> Universidad Pedagógica José Martí, Carretera Circunvalación Norte km. 5, Camagüey 74670. Cuba. rey@reduc.cmw.edu.cu rey@ispcmw.rimed.cu

El uso potencial de agentes biocontroladores de enfermedades de las plantas ha sido recientemente estudiado (Misaggi y Doonndelinger 1990), a pesar de investigaciones tempranas, que datan de 1930 (Herr 1995).

Los hongos del genero *Trichoderma*, en particular *T. harzianum*, son usados para el control de enfermedades porque producen metabolitos que inhiben el crecimiento de otros hongos (Lifshitz *et al.* 1985, 1986, Claydon *et al.* 1987, Baker 1991), y el alto nivel de competencia por el sustrato y el parasitismo.

Aunque numerosas investigaciones han sido dedicadas a la ecología de los hongos fitopatógenos en el suelo, el papel de la competencia interespecífica en comunidades fungosas en sustratos naturales es pobremente comprendido (Wardle *et al.* 1993). El control biológico de hongos fitopatógenos requiere de la aplicación practica de la definición de riesgo de la enfermedad de origen telúrico dada por la noción de Unidad de Potencial Infeccioso (UPI) y de Gravedad de la Enfermedad (Louvet 1973) y de la estimación cuantitativa del potencial infeccioso del suelo (Bouhot 1975) para afirmar que el tratamiento biológico que reduzca el numero de UPI/g reduce el riesgo de aparición de la enfermedad, y que las dosis aplicadas son efectivas y económicamente viables.

Los objetivos de este trabajo fueron determinar la relación entre la concentración de inóculo de *S. rolfsii* en el suelo y la gravedad de la enfermedad (densidad de inóculo y tasa de mortalidad) en plantas jóvenes de tomate; y determinar la efectividad de los tratamientos con *T. harzianum* cepa A- 34, para el control biológico de la pudrición de la postura de tomate causada por *S. rolfsii*.

## Materiales y métodos

### Experimento 1

**Preparación del inóculo del patógeno.** Tras haber crecido en placas con medio PDA, un aislado de *S. rolfsii*, de tejido de papa (*Solanum tuberosum*) fue transferido a cáscara de arroz humedecida con una disolución de agua y miel de purga, previa esterilización en autoclave a 1,5 atm., 121 grados celsius, durante 50 minutos. Este fue empleado cuando alcanzo 45 esclerocios/g de inóculo.

**Suelo.** El suelo empleado fue de tipo ferrítico púrpura con pH de 6,1; 1,18 mg/100 g de P<sub>205</sub>; 7,90 mg/100 g de K<sub>2</sub>O; 2,73% de materia orgánica; 0,13% de N total y 1,50% de carbono, esterilizado en autoclave a 120 grados celsius, 1,5 atm., durante 30 minutos.

**Determinación del potencial de infección del inóculo. Técnica de Bouhot (1975) modificada.** Para conformar la mezcla de inóculo de análisis y suelo estéril, se determinó el volumen de las macetas por utilizar, de 373,91 cm<sup>3</sup>. A partir de las densidades de cada uno se calculan las proporciones por mezclar, teniendo en cuenta las concentraciones por estudiar del inóculo de análisis (36; 12; 1,2; y 0,2 % de inóculo de análisis en el volumen total de la maceta). Para la determinación de las concentraciones de inóculo se tuvo en cuenta los resultados alcanzados por Bouhot (1975) y elementos de carácter práctico a partir del tipo de material que servía de soporte al patógeno y al volumen de la maceta (Cuadro 1).

Por cada concentración se utilizan 5 repeticiones, en un diseño completamente al azar, en condiciones de casa de vegetación, en el periodo de primavera.

**Cuadro 1.** Concentraciones de inóculos para análisis

	(%) 36	12	1,2	0,2
Concentración en volumen cm <sup>3</sup> por maceta.				
Inóculo de análisis.	134,97	44,99	4,49	0,70
Suelo estéril	238,94	328,92	369,41	373,20
Concentración pesada, g/maceta				
Inóculo para análisis d= 0,23 g/cm <sup>3</sup>	31,04	10,35	1,03	0,16
Suelo estéril d= 1,15 g/cm <sup>3</sup>	274,78	378,25	424,82	129,18

Luego de conformadas la mezclas del inóculo del patógeno con el suelo y depositadas en las macetas se sembraron las plantas huéspedes.

**Plantas huéspedes.** Fueron sembradas en cada maceta 15 semillas pre-germinadas de *L. sculentum*, de la variedad Placero, con diagnóstico negativo del patógeno y del biocontrol estudiados. Fueron mantenidas durante 30 días en macetas, con riego a capacidad de campo, previamente determinada en macetas por el método gravimétrico. Se evaluaron los síntomas de la enfermedad por la escala de Sherwood y Hagedorn (1958), donde 0 = plantas sanas y 4 = plantas con síntomas de estrangulamiento (muerte).

**Análisis de los datos.** El valor de la mortalidad fue transformado en un valor exponencial ( $e^x$ ). Se realizaron análisis de correlación matriz y regresión lineal simple para determinar la relación entre la concentración de inóculo en el suelo y la gravedad de la enfermedad en las plantas jóvenes de tomate. La ecuación resultante nos permitió determinar la concentración por utilizar en el experimento relacionado con el efecto del tratamiento de *T. harzianum* cepa A-34, para provocar un 18 % de mortalidad en las plantas jóvenes de tomate, utilizadas en el trabajo experimental.

## Experimento 2

**Preparación de inoculantes.** *S. rolfsii* fue empleado con una concentración de 43 esclerosios/g, y elaborado como aparece descrito anteriormente.

*T. harzianum* cepa A-34 fue suministrado por el Laboratorio Territorial de Suelos y Fertilizantes de Camagüey, Cuba, siendo aquél sólido, del Lote 62, con una concentración de  $1,4 \times 10^8$  conidios/ml y 100% de viabilidad.

**Trabajo Experimental.** Luego de procesar los datos del primer experimento, se montó el presente experimento utilizando como mezcla la concentración de inóculo del patógeno en el suelo que provocara el 18% de mortalidad en las plantas de tomate.

Para ello, se utilizó el mismo suelo, plantas huéspedes, y métodos descritos en el experimento anterior. Fueron estudiados 5 tratamientos en un diseño completamente aleatorizado en casa de vegetación, en el período de primavera,:

- *S. rolfsii* (SR);

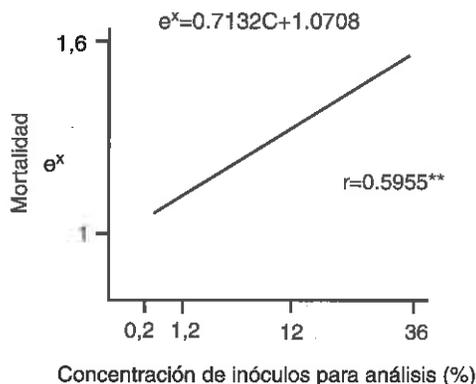
- *Trichoderma* (A34), aplicada a razón de 8 Kg/ha (Ts);
- *Trichoderma* (A34), aplicada a tratamiento de semilla (tiempo de remojo: 5 min)(Tr);
- Sr + Ts; y
- Sr + Tr.

**Análisis de datos.** Luego de transformar el valor de la mortalidad en una función exponencial ( $e^x$ ), se realizó un análisis de varianza de clasificación simple y se compararon las medias por el test de Duncan para comparar los resultados de los tratamientos

## Resultados y discusión

### Experimento I

La relación entre la concentración de inóculos de *S. rolfsii* en el suelo y la gravedad de la enfermedad de las plantas de tomate aparece en la Fig. 1.



**Figura 1.** Regresión lineal entre la mortalidad ( $e^x$ ) de las plantas atacadas por *S. rolfsii* y la concentración de inóculos para análisis en suelo estéril.

Nota : c= concentración ; x= mortalidad (%).

La ecuación de la recta de regresión es de la forma  $e^x = 0,7132 C + 1,0708$  ( $r = 0,5955^{**}$ ). Esta curva constituyó una herramienta muy importante para nuestro estudio. Se ha llevado a cabo una aplicación de la ecuación de regresión en el segundo experimento, el principio del cálculo consiste en resolver la recta de regresión para la concentración en la gravedad de la enfermedad que se desee estudiar (18% de mortalidad).

### Experimento 2.

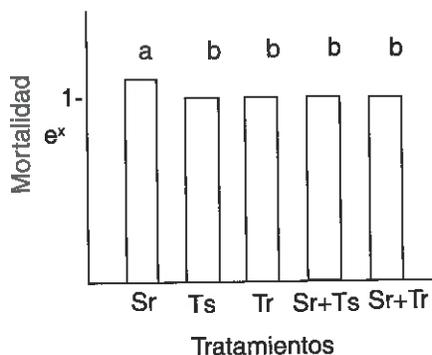
Solamente fueron observados síntomas de la enfermedad en las plantas donde no estaba presente el agente biocontrolador. Todas las plantas enfermas mostraron el mayor valor de la escala de evaluación con estrangulamiento y muerte del 18,2% de la población de plantas en ese tratamiento (Sr).

Hubo diferencias altamente significativas entre los tratamientos (Fig. 2).

**Cuadro 2.** Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* (A34)

Tratamientos	Número de plantas con estrangulamiento y muerte				
	Repeticiones				
	I	II	III	IV	V
Sr	2	3	3	4	2
Ts	0	0	0	0	0
Tr	0	0	0	0	0
Sr+Ts	0	0	0	0	0
Sr+Tr	0	0	0	0	0

Sr= *Sclerotium rolfsii*; Ts= aplicación de *Trichoderma* al suelo (8 kg/ha); Tr= aplicación de *Trichoderma* remojado de semillas antes de la siembra.



**Figura 2.** Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* (A34): Sr= *Sclerotium rolfsii*; Ts= aplicación de *Trichoderma* al suelo (8 kg/a); Tr= aplicación de *Trichoderma* remojado de semillas antes de la siembra. Las barras con letras distintas difieren significativamente entre sí para el 1%, según el test de Duncan. c.v. (%)= 3,4916.

Se comprueba así el efecto biocontrolador que posee in vivo la cepa estudiada de *Trichoderma harzianum*, en tratamientos de semilla y al suelo. Otros autores han obtenido resultados similares. La aplicación del biopreparado de *Trichoderma harzianum* Rifai (cepa A- 34) en la lucha contra los hongos *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani*, causantes de la pudrición de las posturas (*damping-off*) del tomate, resultado satisfactoria para el control de la enfermedad (Sandoval *et al.* 1993), y los tratamientos a las semillas y al suelo resultaron altamente satisfactorios para el control de *R. solani* y *Phytophthora parasitica* en tomate y *P. capsici* en pimiento (Sandoval *et al.* 1995), y para el control de *P. parasitica* en semilleros de tomate en cultivo hidropónico (Rodríguez y Sandoval 1998).

### Conclusiones

La ecuación de regresión que define en el suelo la relación entre la concentración de inóculo de *S. rolfsii* y

la gravedad de la enfermedad es  $e^x = 0,7132 C + 1,0708$  ( $r = 0,5955^{**}$ ).

Las aplicaciones de *T. harzianum* (A34) al suelo y como tratamiento de semilla garantizan la protección de las plántulas de tomate en las condiciones en estudio.

### Literatura citada

- Baker, R. 1991. Diversity in biological control. *Crop Protection* 10: 85- 94.
- Bouhot, D. 1975. Cuantificación de la técnica de estimación del potencial infeccioso de los suelos, mantillos y sustratos infectados por *Pythium* sp. *Ann. Phytopathol.* 7(2):147-150.
- Claydon, N.; Allan, M.; Hanson, J. R.; Avent, A. G. 1987. Antifungal alkylpyrones of *Trichoderma harzianum*. *Trans. BR. Mycol. Soc.* 88: 503- 513.
- Elad, Y.; Chet, I.; Henis, Y. 1982. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Can. J. Microbiol.* 28: 719- 725.
- Herr, L. J. 1995. Biological control of *Rhizoctonia solani* by binucleate *Rhizoctonia* spp. and hypovirulent *R. Solani* agent. *Crop Protection* 14 (3): 179- 185.
- Lifshitz, R.; Windham, M. T.; Baker, R. 1986. Mechanism of biological control of preemergence damping- off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 76: 720- 725.
- Louvet, J. 1973. Las perspectivas de lucha biológica contra los hongos parásitos de los órganos subterráneos de las plantas. Presentado en: Simposio Internacional "Perspectivas de lucha biológica contra los hongos parásitos de las plantas cultivadas y de los tejidos leñosos". Lausarne.
- Misaghi, I., Donndeliger, L. R. 1990. Endophytic bacteria in symptom free cotton plants. *Phytopathology* 80: 808- 811.
- Rodríguez, F.; Sandoval, I. 1998. Efectividad de diferentes productos químicos y del biopreparado de *Trichoderma harzianum* Rifai contra enfermedades fúngicas del tomate de hidropónico. *Fitosanidad* 2(1- 2): 51- 56.
- Sandoval- Ramírez, I.; López, M. O.; García, D.; Mendoza, I. 1995. *Trichoderma harzianum* (Cepa A- 34): un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomate y del pimiento. 36 p. (Boletín Técnico CID- INISAV 3).
- Sherwood, R.T; Hagedorn, D.J. 1958. Determining the common root rot potential of pea fields. *Agric. Exp. Stn. Bull.* 12 p.
- Wardle, D. A.; Parkinson, D.; Waller, J. E. 1993. Interspecific competitive interactions between pairs of fungal species in natural substrates. *Oecologia* 94: 165- 172.

# Silenciamiento de genes virales: el contraataque de las plantas frente a infecciones de virus fitopatógenos\*

Juan Jovel<sup>1</sup>  
Pilar Ramírez<sup>2</sup>

**RESUMEN.** El silenciamiento de genes es un sofisticado sistema de defensa mediante el cual plantas transgénicas y no transgénicas disparan, en respuesta a infecciones localizadas de virus fitopatógenos, un mecanismo de degradación de ARN viral. Durante el proceso de su replicación, los virus ARN generan moléculas intermediarias de ARN de doble cadena (ARNdc). Las células de las plantas normalmente no poseen ARNdc. Así, estas moléculas son detectadas por el mecanismo de vigilancia de la planta y posteriormente degradadas a pequeños fragmentos de ARNdc que finalmente son desnaturalizados y dirigen la degradación específica de transcritos homólogos. Los virus de ADN, como los pararetrovirus y geminivirus, también pueden ser silenciados mediante algún mecanismo análogo. Dicha respuesta de silenciamiento es adaptativa y puede ser diseminada sistémicamente dentro de la planta hospedante, protegiéndola de ataques subsecuentes del mismo virus o de otros que presenten secuencias de nucleótidos similares. Sin embargo, los virus fitopatógenos se han contradefendido y evolutivamente han desarrollado diferentes estrategias moleculares para neutralizar la maquinaria de silenciamiento de las plantas hospedantes, planteando así un claro desafío a nuestro entendimiento sobre interacciones planta-patógeno. La investigación activa en este campo se presenta como una oportunidad de diseñar mejores prácticas para el manejo de las enfermedades virales en plantas.

**Palabras clave:** Virus fitopatógenos, Secuencias homólogas, Silenciamiento de genes.

**ABSTRACT.** **Gene silencing: the counterattack of plants to infections by pathogenic viruses.** Gene silencing is a defense system by which transgenic and non-transgenic plants marshal, in response to localized infections of pathogenic viruses, a sophisticated mechanism of viral RNA degradation. During their replication process, RNA viruses generate intermediary molecules of double-stranded RNA (dsRNA). Plant cells do not normally possess RNAdc. So these molecules are detected by the surveillance mechanism of the plant and subsequently degraded to small fragments of dsRNA which are finally denatured and guide the specific degradation of homologous transcripts. DNA viruses, such as pararetrovirus and geminivirus, can also be silenced by an analogous mechanism. Such a silencing response is adaptive and can be systemically spread throughout the host plant, thus protecting it against subsequent attacks by the same virus or others that have similar sequences of nucleotides. However, plant viruses have counter-defended and have evolved different molecular strategies to neutralize the silencing mechanism of host plants, thus establishing a clear challenge to our understanding of plant-pathogen interactions. Research in this field present an opportunity to design improved practices for the management of viral diseases in plants.

**Key words:** Plant viruses, Homologous sequences, Gene silencing.

## Introducción

Los virus fitopatógenos poseen genes asociados a su propia replicación, transporte dentro de la planta y encapsidación. Sin embargo, son dependientes de la maquinaria celular del hospedante para completar su replicación y expresión génica, e intervienen ne-

gativamente en los procesos moleculares de la célula. Por esta razón, hasta el momento los numerosos intentos de curar plantas infectadas con virus mediante el uso de productos químicos han sido infructuosos.

\*Algunos nombres de virus y las abreviaturas de todos ellos aparecen escritos en inglés debido a la dificultad de encontrar una traducción satisfactoria. Las siguientes abreviaturas son usadas en el texto y corresponden a los términos en Inglés indicados entre paréntesis: **SG**: Silenciamiento de genes (*gene silencing, GS*); **SGDH**: Silenciamiento de genes dependiente de la homología (*homology-dependent gene silencing, HDGS*); **STG**: Silenciamiento transcripcional de genes (*transcriptional gene silencing, TGS*); **SPTG**: Silenciamiento postranscripcional de genes (*PTGS*); **GFP**: Proteína verde fluorescente (*green fluorescent protein*); **RdRP**: ARN polimerasa dependiente de ARN (*ARN-dependent ARN polymerase*).

<sup>1</sup>Biologisches Institut, Abteilung Molekularbiologie und Virologie der Pflanzen, Universität Stuttgart, Pfaffenwaldring 57, 70550 Stuttgart, Alemania.  
juan.jovel@po.uni-stuttgart.de

<sup>2</sup>Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM). Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. pramirez@cibcm.ucr.ac.cr

Desde 1929 se sabe que las plantas expuestas a la infección de una raza de virus atenuado están protegidas contra la infección posterior de un virus más severo, pero relacionado genéticamente con el primero (McKinney 1929). Esto se conoce como protección cruzada y se ha usado desde hace décadas, en algunos casos con éxito, aunque el mecanismo de protección subyacente no era totalmente comprendido. En el caso de plantas transgénicas, inicialmente se pensó que la introducción de uno o más transgenes virales, en forma funcional, podría conferir resistencia a plantas contra futuros ataques de virus relacionados (Waterhouse *et al.* 1999). En muchos casos, este enfoque ha sido eficaz (Lomonossoff 1995, Baulcombe 1996). Sin embargo, contrario a las teorías prevalecientes, muchas veces los transgenes no requerían ser traducidos en proteínas virales para conferir resistencia (Lindbo y Dougherty 1992, Angell y Baulcombe 1997) y más bien el mecanismo estaba basado, al menos parcialmente, en la homología del transgen viral y los genes del virus invasor. Este fenómeno ha sido denominado silenciamiento de genes dependiente de la homología (SGDH) y puede ocurrir a dos niveles de la fisiología de células infectadas: bloqueando la transcripción de los transgenes virales o degradando el ARN viral transcrito durante la infección. Los fenómenos descritos se han denominado, respectivamente, silenciamiento transcripcional (STG) y silenciamiento postranscripcional de genes (SPTG).

Actualmente se sabe que el silenciamiento de genes (SG) no es una propiedad restringida a plantas transgénicas. En forma natural las plantas cuentan con mecanismos especializados para silenciar virus cuyo genoma está compuesto de ADN o ARN (Covey *et al.* 1997, Al-Kaff *et al.* 1998); no obstante, éste es un fenómeno que apenas empieza a ser dilucidado gracias a la producción de plantas transgénicas resistentes a virus. Dado que el SGDH actúa aun cuando dicha homología es sólo parcial (Matzke *et al.* 1994), la posibilidad de incorporar genes virales defectuosos (que no codifican para las proteínas virales) se incrementa con el descubrimiento de este mecanismo de defensa, haciendo la producción de plantas transgénicas más segura y mejorando su uso. Recientemente, en experimentos con genes reporteros se ha determinado que secuencias homólogas de apenas 23 nucleótidos, entre el transgen y el gen viral, pueden activar SPTG (Thomas *et al.* 2001).

Esta revisión bibliográfica resume los avances de investigación más relevantes en el área de silenciamiento de genes, haciendo énfasis en el potencial que este mecanismo natural de defensa de las plantas representa para el manejo de enfermedades virales. Además se incluyen algunos conceptos básicos de genética útiles para una mejor comprensión de la información presentada.

### Conceptos básicos de genética

En las plantas, el ADN se presenta como una molécula compuesta por dos cadenas de nucleótidos, complementarias entre sí y unidas mediante puentes de hidrógeno, que discurren en direcciones antiparalelas y se enroscan sobre su propio eje, conformando una estructura helicoidal. Por otro lado, el ARN mensajero (ARNm) normalmente es de cadena sencilla, conformación que favorece su transporte desde el núcleo hacia el citoplasma y su posterior traducción en proteínas (Lewin 2000).

Algunos virus poseen ADN de una sola cadena (ADNsc) o de doble cadena (ADNdc) como material genético, y otros tienen ARN de doble cadena (ARNdc); sin embargo, más del 90% poseen ARN de una sola cadena (ARNsc) y se replican con la intervención de una enzima denominada ARN-polimerasa dependiente de ARN (RdRP, por sus siglas en inglés) (Bos 1999, Hull 2002). La replicación de los virus ARN ocurre en el citoplasma y genera una molécula intermediaria de ARNdc, requerimiento que es utilizado por la planta para su propia defensa contra las infecciones virales (Waterhouse *et al.* 2001a). Los virus con ADN, como los geminivirus, se replican y transcriben exclusivamente en el núcleo de células infectadas y exportan al citoplasma ARNsc; otros más, como los pararetrovirus, presentan estrategias de replicación mucho más complicadas (Hull 2002).

### Transcripción: síntesis de ARN a partir de ADN

La maquinaria celular transcribe básicamente aquellos fragmentos de ADN que codifican para proteínas, es decir los genes o cistrones. Por lo tanto, existen en el ADN señales codificadas en lenguaje de nucleótidos que indican a la ARN-polimerasa dependiente de ADN (la enzima que lleva a cabo la transcripción) el sitio exacto en que ésta debe acoplarse al ADN para dar inicio a la transcripción de un gen determinado. Un proceso análogo ocurre para virus ARN.

Tal región es denominada *promotor* y presenta complejidad estructural y funcional variable entre organismos y aun entre genes. Por ejemplo, uno de los promotores eucarióticos más poderosos que se ha encontrado pertenece al *Virus del mosaico de la coliflor* (CaMV) (Benfey *et al.* 1989, 1990). Este promotor se denomina p35S y ha llegado a ser una herramienta primordial para virólogos de plantas, por cuanto puede clonarse junto a genes de interés, conformando moléculas recombinantes o quiméricas que pueden introducirse al genoma de una planta mediante la intervención de *Agrobacterium tumefaciens*. Debido al vigor que este promotor le confiere al gen así clonado, se espera una sobre expresión de dicho gen dentro de las células de la planta. Otro promotor ampliamente utilizado en la producción de plantas transgénicas es el del gen nopalina sintasa de *A. tumefaciens*, denominado Nospro (Nopaline synthase promotor) (Matzke *et al.* 1994).

La afinidad de la ARN-polimerasa por un promotor determinado puede ser influenciada por varios factores. Por ejemplo, la presencia de otras proteínas solapando dicha secuencia promotora interferirá con la unión entre la enzima y el promotor, reduciendo el nivel de la transcripción o impidiendo su inicio (Tamarin 1996). La interferencia en dicha unión parece ser la estrategia favorita de la célula para regular la expresión génica. Por el contrario, algunas proteínas pueden favorecer dicha unión (ARN-polimerasa-promotor) incrementando la actividad transcripcional.

La metilación (adición de un grupo metilo [CH<sub>3</sub>] en nucleótidos ya sea en la secuencia promotora o codificante de un gen) cuando ocurre en exceso da como resultado la atenuación o la anulación de la transcripción. Inicialmente se consideró que la incorporación deficiente de grupos metilo en el ADN no tenía consecuencias fenotípicas, hoy se sabe que afecta el desarrollo normal de plantas y la expresión de genes específicos (Finnegan *et al.* 2000). La metilación también protege al ADN de la acción de ADNasas (enzimas que degradan ADN). En eucariontes, la metilación ocurre normalmente a nivel de la citosina (un nucleótido N<sup>5</sup>-metil-citosina surge como producto de la metilación de la citosina en el carbono 5) (Finnegan *et al.* 1998). Para efectos de nuestra discusión posterior sobre silenciamiento de genes, debe tenerse presente que la metilación es un mecanismo de la célula para regular la expresión génica.

Finalmente, la transcripción también necesita una señal de terminación. El conjunto de señales que mar-

can la finalización de la transcripción se denomina "terminador" (Tamarin 1996). En ingeniería genética, uno de los *terminadores* más utilizados corresponde al gen de la nopalina sintasa (*Nos terminator*). Una vez finalizada la transcripción en el núcleo, los precursores de ARNm son procesados y exportados al citoplasma, lugar donde serán traducidos en proteínas por los ribosomas.

### Conceptos adicionales

Los transposones son segmentos específicos de ADN que tienen la facultad de transportarse de un punto a otro del genoma. Es decir que ellos se escinden de su ubicación original, "saltan" y luego se insertan en otro punto del cromosoma. Este proceso puede alterar la función y la estructura de los genes y acelerar la evolución genética. Sin embargo, ellos también son agentes mutagénicos que tienen la facultad de lacerar el genoma del organismo (Lewin 2000).

La **clonación de ADN** puede definirse como la multiplicación exponencial de un determinado gen o grupo de genes de interés. Aún cuando el proceso se ha revestido de gran complejidad, los mecanismos subyacentes son relativamente simples. Las bacterias poseen segmentos extracromosómicos de ADN, denominados plásmidos, los cuales son estructuras circulares de ADNdc con la propiedad de autoreplicación. Mediante la utilización de endonucleasas de restricción (enzimas que cortan al ADN en puntos específicos) es posible cortar la estructura circular de dicho plásmido, insertar el gen que se desea clonar y finalmente "pegarlo" o religarlo mediante el uso de otra enzima denominada ligasa, produciendo así una molécula híbrida llamada construcción o quimera. Dicha construcción puede ser introducida a células bacterianas, mediante procesos de transformación químicos o físicos que permeabilizan la pared celular. Estas bacterias, al mismo tiempo que replican su ADN y se dividen, amplifican el número de plásmidos conteniendo el gen o genes de interés, lo cual da origen a millones de copias de dicha construcción. *Escherichia coli* ha sido la bacteria comúnmente utilizada para la clonación de genes.

La *producción de plantas transgénicas* generalmente se lleva a cabo mediante la utilización de *A. tumefaciens*. Dicha bacteria posee un plásmido denominado Plásmido *Ti*, el cual es el responsable de la inducción de tumores en diferentes especies de plantas (Zambrisky 1992, Gelvin 2000), y provoca la enfermedad

conocida como "agallas de la corona" (Agrios 1995). Esta enfermedad, de gran importancia agrícola, resulta de la transferencia de un segmento de ADNsc del plásmido *Ti* de la bacteria, denominado *T-DNA*, ("tumor inducing DNA") hacia los cromosomas de la planta hospedante. Los genes contenidos en el segmento transferido dirigen la síntesis de hormonas de la planta, provocando un crecimiento anormal de las células que culmina en la formación de tumores o agallas. Dichos genes bacterianos también inducen la producción de *opinas*, compuestos ricos en carbón y nitrógeno que sólo pueden ser metabolizados por las bacterias. De esa forma, *Agrobacterium* ha evolucionado un sofisticado método de ingeniería genética para modificar las plantas para su propio beneficio.

Tal habilidad de transformación genética ha sido ampliamente explotada por los investigadores para la producción de plantas transgénicas, con propósitos de investigación y agrícolas. El procedimiento normal consiste en insertar el gen o los genes de interés dentro del plásmido *Ti* de *Agrobacterium*, clonarlo, e introducir las bacterias dentro de las plantas, por ejemplo pinchando el tallo de éstas con una aguja y colocando una gotita de suspensión bacteriana que causará la infección. De forma similar al caso de las agallas, *Agrobacterium* integra los transgenes dentro del genoma del hospedante y éstos son expresados por la maquinaria celular de la planta, ahora transgénica. Sin embargo, en este caso, la inducción de tumores es suprimida porque los genes causantes fueron previamente removidos del plásmido *Ti*.

Adicionalmente, el ADN de los plásmidos conteniendo los genes a ser insertados en el genoma de plantas puede ser fusionado a partículas de oro (u otro metal idóneo) e insertado en las células vegetales mediante el "bombardeo" de dichas partículas. Esta técnica normalmente se utiliza para la producción de plantas transgénicas en monocotiledóneas, mediante la regeneración de callos embriogénicos.

**Genes reporteros.** La fusión de genes de interés a otro gen que codifica una proteína visualmente detectable es una herramienta valiosa para estudios de transformación genética. La proteína verde fluorescente (GFP por sus siglas en inglés) de la hidromedusa *Aequorea victoria* (Tsien 1998) produce una fluorescencia que puede ser detectada al microscopio de fluorescencia (Fig. 1A) y que además de correlacionar con la expresión de los genes fusionados (Biggar y Crabtree 2001) facilita el estudio de la fun-

ción de las proteínas virales (Baulcombe *et al.* 1995, Zhang *et al.* 2001). Otro gen reportero ampliamente utilizado en virología es el de la  $\beta$ -glucoronidasa (GUS) (Fig. 1B).

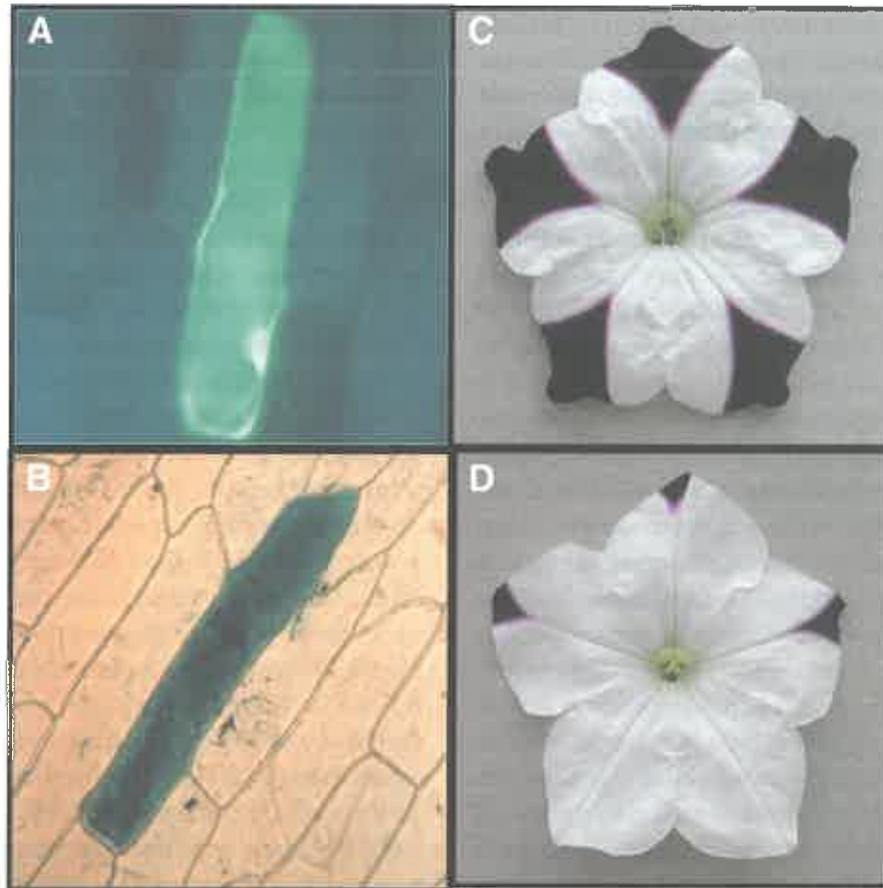
**Análisis de transcripción nuclear e hibridación del ARN: discriminando entre STG y SPTG.** La primera de estas técnicas ("transcriptional run-on assays") permite conocer si la transcripción de un gen se está llevando a cabo dentro del núcleo. La segunda técnica revela la acumulación de ARNm en el citoplasma. De manera que si un gen es capaz de transcribirse en el núcleo pero el ARNm falla en acumularse en el citoplasma (SPTG), el resultado será positivo en el primer caso y negativo en el segundo. Si el gen está transcripcionalmente silenciado, ambos resultados serán negativos. La combinación de estas dos técnicas ha sido ampliamente utilizada para el diagnóstico de transgenes transcripcional o postranscripcionalmente silenciados (Kooter *et al.* 1999).

## Silenciamiento de genes

### Perspectiva histórica

El SGDHD ha sido descubierto (no creado) como resultado de la introducción de transgenes en diferentes organismos. Actualmente, se sabe que se encuentra ampliamente difundido en diferentes especies de plantas (Cogoni y Macino 1999, Meins Jr. 2000). Fenómenos como la paramutación (Brink 1973, Matzke *et al.* 1996) y la totipotencia (Heslop-Harrison 1967, Tamarin 1996) sugieren la existencia de este mecanismo desde tiempos ancestrales.

A finales de los años 80, un grupo de investigadores liderados por el biólogo molecular Rich Jorgensen, del Instituto de Tecnología de ADN de Plantas, en Oakland, California, trataban de incrementar el color púrpura de las flores de petunia (*Petunia hybrida*, L). Para ello, el gen de la chalcona sintasa (ChsA), responsable de la producción de pigmentos antocianinos en dicha planta, había sido clonado junto al promotor p35S e insertado al genoma de petunia mediante *Agrobacterium*. En teoría, este poderoso promotor debía incrementar la función de dicho gen y dar origen a flores de color más intenso. Sin embargo, en 42% de las plantas transformadas, el resultado fueron flores de color variegado, con zonas púrpuras y albinas (Fig. 1C y D). De alguna forma, el transgen había provocado su propia mutación así como la del gen endógeno de la planta (Napoli *et al.* 1990). Jorgensen denominó a este fenómeno **cosupresión**.



**Figura 1.** (A) Proteína verde fluorescente (GFP) y (B) Gen de la  $\beta$ -glucuronidasa (GUS), expresados bajo el control del promotor p35S y el terminador Nos, en células de cebolla (*Allium cepa* L.). (C y D) Flores de petunia de plantas transgénicas conteniendo copias únicas del gen de la chalcona sintasa (ChsA); el color púrpura es el natural de las flores y el tejido albino corresponde a regiones de la flor en que dicho gen fue silenciado.

La primera evidencia acerca de la capacidad de virus fitopatógenos para inducir silenciamiento de genes (*virus-induced gene silencing, VIGS*) surgió al observar que plantas transgénicas conteniendo un gen potyviral se recuperaron de la infección del mismo potyvirus y los nuevos brotes permanecieron aparentemente resistentes al mismo virus, pero fueron susceptibles a otros (Lindbo *et al.* 1993).

Algunos años más tarde, en el Centro de Investigación John Innes, en Norwich, Inglaterra, David Baulcombe y su equipo creaban plantas transgénicas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) mediante la introducción de genes del *Virus X de la papa* (PVX). La idea era activar, en respuesta a la expresión de los transgenes virales, los mecanismos de defensa de la planta y reducir de esta forma su vulnerabilidad a futuras infecciones del virus. Curiosamente, aquellas plantas que presentaron un mayor nivel de resistencia no habían expresado en proteínas los transgenes virales (los transgenes así como los genes del virus invasor

estaban silenciados) y más bien la homología que los genes virales presentaban con respecto a los transgenes había cosuprimido la expresión de ambos (Angell y Baulcombe 1997). Dougherty *et al.* (1994), en la Universidad de Oregon, Corvallis, habían informado resultados similares para un virus del tabaco (*Tobacco etch virus, TEV*).

Posteriormente, observaciones detalladas revelaron que tanto en el caso de cosupresión como en el de la transformación con genes virales, sólo una proporción de las plantas transgénicas presentaron cosupresión o resistencia a enfermedades virales, y que esas plantas generalmente contenían muchas copias de los transgenes, los cuales se encuentran metilados (Waterhouse *et al.* 2001b).

Por otro lado, la introducción de ARN en antisentido se ha convertido en una estrategia ampliamente utilizada para el estudio de la función génica en plantas (Mol *et al.* 1994) y se presenta como una alternativa promisoriosa para el manejo de enfermedades virales

(Bejarano y Lichtenstein 1992). El principio funcional de esta técnica es muy simple: el ARN en antisentido presenta secuencia complementaria al ARN viral y forma cadenas dobles con este último, impidiendo la síntesis de proteínas o conduciendo a su rápida degradación por parte de la célula; además, también se afecta el transporte del ARNm desde el núcleo hacia el citoplasma. Paralelamente, el ARN puede interactuar con ADN (formando híbridos ADN-ARN) interfiriendo así con la actividad de las polimerasas dentro de la célula (Day *et al.* 1991).

En 1995, tal enfoque estaba siendo estudiado por Guo, en la Universidad de Cornell en Ithaca, Nueva York, para el estudio de la función de genes en el nematodo *Caenorhabditis elegans*. En estos experimentos, el ARN en antisentido fue microinyectado dentro de las células del nematodo con el objetivo de silenciar el gen *par-1*, el cual es responsable del crecimiento simétrico del nematodo, y ARN en sentido normal fue inyectado como un control (para evaluar si el solo hecho de la microinyección o bien la introducción de ARN foráneo tenían un efecto sobre *par-1*). Curiosamente, en varios de los experimentos de control, el ARN en sentido normal también había silenciado la expresión de *par-1*. Un par de años más tarde se sugirió que en los experimentos control de Guo, de alguna forma, el ARN en antisentido había contaminado al ARN en sentido normal y formado cadenas dobles (Gura 2000). Esto fue "interpretado" por las células del nematodo como un virus ARN que había iniciado el proceso de replicación y disparó la degradación del supuesto ARNdc viral. Estos resultados sugirieron que el silenciamiento de genes evolucionó como un mecanismo de protección de la célula frente a infecciones virales. Esta variante de silenciamiento fue denominada **interferencia del ARN** (*RNA interference*, *iRNA*) (Fire *et al.* 1998). A nivel genómico, ARN puede inducir modificaciones epigenéticas de ADN homólogo, al mediar su metilación (Wasseneger 2000).

Además de plantas y nematodos, el silenciamiento de genes ha sido estudiado en hongos, protozoos, insectos y hasta en mamíferos (Cogoni y Macino 2000, Meins Jr. 2000), demostrando que ésta es una estrategia celular común a muchos organismos.

### **Silenciamiento transcripcional versus postranscripcional**

En el *silenciamiento transcripcional*, la ausencia o reducción de la transcripción en el núcleo impide la acumulación de ARNm en el citoplasma, bloqueando de

esta forma la síntesis proteica, y la hipermetilación de la región del promotor aparece frecuentemente asociada a STG (Fagar y Vaucheret 2000). Además, presenta altos niveles de transmisión genética (mitótica y meióticamente) (Meins Jr. 2000). El ARNdc puede mediar STG (Chandler y Vaucheret 2001), sugiriendo la participación de virus ARN en el surgimiento de este mecanismo. Además, los virus que poseen ADN como el CaMV, han sido señalados como inductores de STG en plantas transgénicas y genotipos silvestres de *Brassica napus*, según un mecanismo dependiente de la homología de ácidos nucleicos (Al-Kaff *et al.* 1998).

El *silenciamiento postranscripcional* permite la transcripción pero impide la acumulación de ARNm en el citoplasma, al conducir a su degradación (Fagard y Vaucheret 2000). Este parece un proceso menos estable, y frecuentemente se pierde después de la meiosis, durante la embriogénesis (o sea que es meióticamente reversible) y usualmente no está correlacionado con la hipermetilación de la secuencia promotora (Meins Jr. 2000), pero varios estudios indican la asociación entre SPTG y metilación a nivel de la región codificante (Fagar y Vaucheret 2000).

En el contexto de la ingeniería genética, inicialmente, se consideró que un gran número de copias de un transgen, insertadas en el genoma de una planta produciría niveles excesivamente altos de ARNm que activarían los mecanismos de defensa de la planta. Otros investigadores sugirieron que la metilación de los transgenes daría lugar a ARNm aberrantes, los cuales serían detectados y degradados. Una tercera hipótesis plantea que múltiples copias de los transgenes podrían insertarse dentro de los cromosomas en orientaciones inversas (algunas copias en sentido 5'→3' y otras en la orientación inversa 3'→5') dando origen a segmentos de ARNdc que desencadenarían la maquinaria de silenciamiento, en forma similar al caso de *C. elegans*. El ARNdc puede originarse de secuencias repetidas invertidas por hibridación intramolecular debido a retroplegamientos y dar origen al silenciamiento postranscripcional (Fig. 2) (Jorgensen *et al.* 1999).

Además, se considera que el SPTG puede dar origen a la metilación de ADN dentro del núcleo, originando de esta forma STG (Fig. 3) (Fagar y Vaucheret 2000) y es probable que ambos mecanismos interactúen para conformar un sistema de regulación (supresión) génica complejo (Meins Jr. 2000, Waterhouse *et al.* 2001b, Bender 2001).

Los transposones también han sido propuestos como fuerza motriz de la evolución del silenciamiento

de genes (Waterhouse *et al.* 2001b); no obstante, dado el enfoque de la presente revisión, únicamente se considera dicho mecanismo en el contexto de las interacciones planta-virus fitopatógenos.

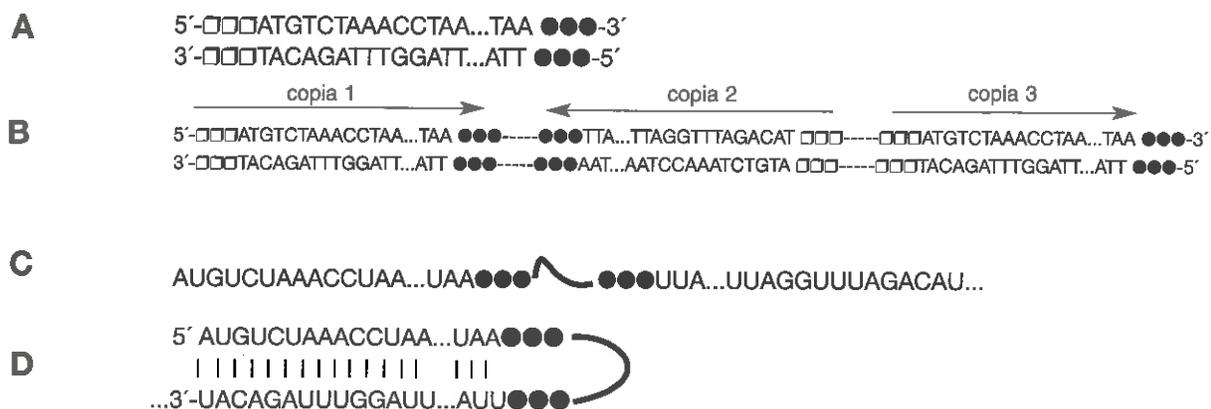
### Virus fitopatógenos y silenciamiento de genes

Diferentes secuencias virales se han utilizado para la producción de plantas transgénicas resistentes a virus. Las dos secuencias más utilizadas son la de la cubierta proteica y la de la proteína de replicación (Lomonosoff 1995). En ambos casos, el mecanismo mediante el cual la resistencia ocurre no ha sido comprendido totalmente (Jones *et al.* 1998). Transgenes de la cubierta proteica tienden a producir resistencia de amplio espectro (p.ej. contra cepas y otros virus dentro de la misma familia); mientras que aquellos de la proteína de replicación confieren resistencia específica (Lomonosoff 1995). Es probable que todas las secuencias virales tengan el potencial para inducir resistencia a través de mecanismos de SPTG (Jones *et al.* 1998).

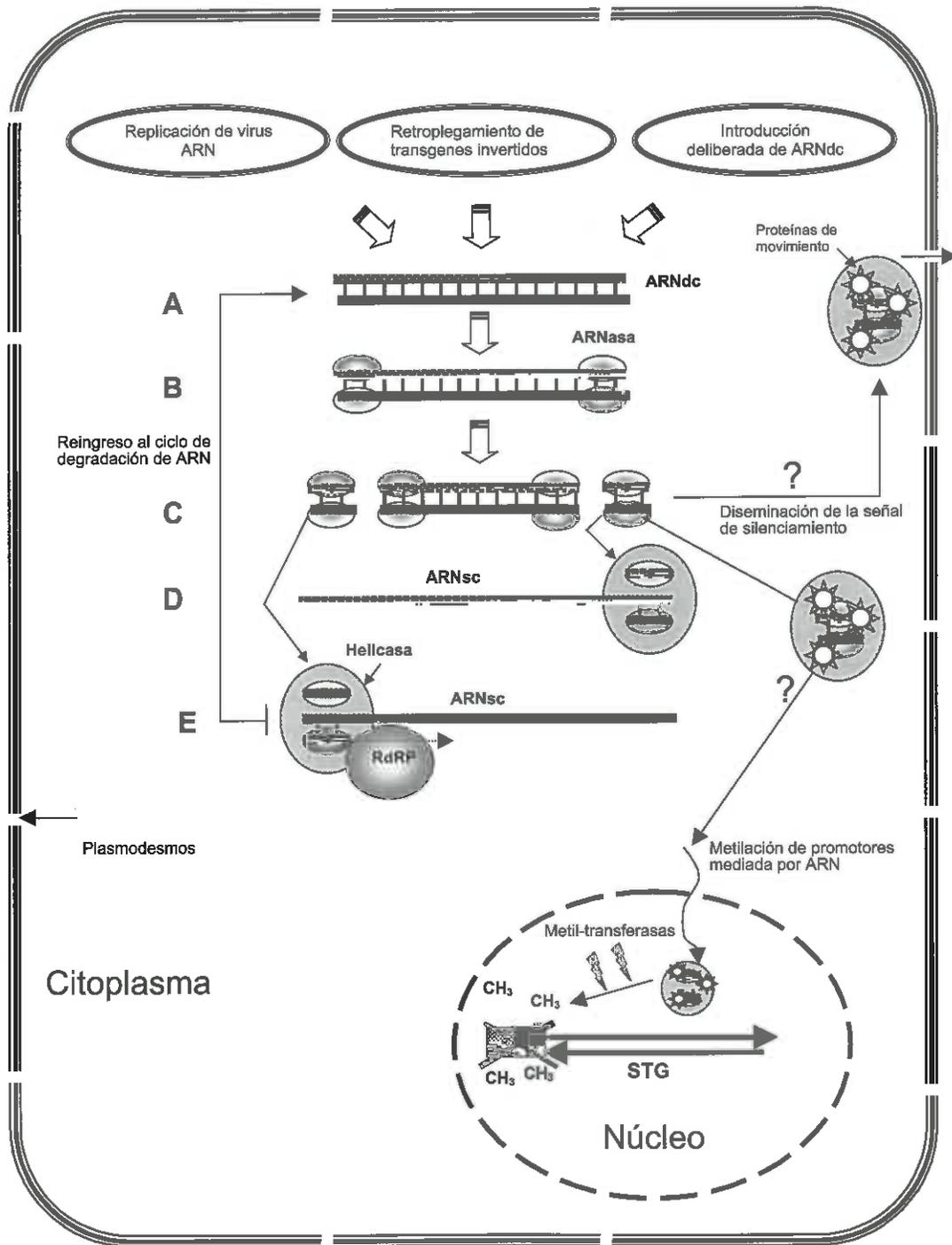
En plantas transgénicas de arveja (*Pisum sativum*) conteniendo el gen de la replicasa (Nlb) del *Pea seed-borne mosaic virus* (PSbMV) se observó resistencia inducida cuando fueron infectadas con un aislamiento homólogo (PSbMV-DPD1). En este caso, la resistencia fue asociada con la pérdida de ARN viral así como del transgen, indicando que el mecanismo opera con base en SPTG. Cuando dichas plantas, recuperadas de la infección, fueron inoculadas con un aislamiento de PSbMV, el cual presenta la secuencia más distante

(PSbMV-NY), la respuesta de las plantas transgénicas fue variable, indicando que la homología con el gen Nlb era requerida para reactivar SPTG. Para complementar dichos resultados, la resistencia fue inducida con PSbMV-NY y, curiosamente, inoculaciones subsiguientes con PSbMV-DPD1 no produjeron infección en dichas plantas (ARN viral no fue detectado en el citoplasma). Es decir que PSbMV-NY había inducido resistencia a ambos aislamientos del virus. Jones *et al.* (1998) concluyeron que la homología requerida para activar el proceso (SPTG) es menor que aquella requerida para volver a desencadenar la degradación de ARN de virus invasores posteriores, una vez que la señal de silenciamiento se ha diseminado sistémicamente. Esta información es importante cuando se consideran estrategias de resistencia basadas en SPTG que podrían ser utilizadas a nivel de campo, dado que muchas enfermedades virales dependen de la asociación de dos o más virus dentro de la misma planta (Hull 2002).

Es importante mencionar que este tipo de pérdida de susceptibilidad o recuperación no está restringida a plantas transgénicas. Por ejemplo, Ratcliff *et al.* (1997) inocularon plantas de *N. clevelandii* con *Tomato black ring nepovirus* (cepa W22) y éstas presentaron síntomas iniciales que posteriormente desaparecieron. En reinoculaciones de las hojas recuperadas con W22 los autores no determinaron incrementos en el contenido de ARN viral y las plantas permanecieron libres de síntomas. Sin embargo, las plantas que



**Figura 2.** Representación esquemática del proceso de generación de ARNdc a partir de copias repetidas invertidas de transgenes. (A) Estructura elemental de un transgen, los cuadrados representan la secuencia del promotor incorporado para sobre-expresar dicho transgen y los puntos negros representan la secuencia del terminador. (B) Algunas copias del transgen se insertan en orientación 5'→3' (copia 1 y 3) mientras que otras podrían insertarse en orientación 3'→5' (copia 2). Eventualmente, la ARN polimerasa puede integrar dos copias del transgen en un solo transcripto, cuando el terminador correspondiente no funciona apropiadamente debido a daños estructurales durante el proceso de integración. (C) La región transcrita de la copia 1 será complementaria a aquella de la copia 2. (D) Las regiones complementarias del transcripto forman ARNdc mediante un proceso de hibridación intramolecular debido a retroplegamiento.



**Figura 3.** Modelo de silenciamiento postranscripcional. (A) ARNdc puede generarse de copias invertidas de transgenes, de la introducción deliberada de ARNdc, o bien como producto de la replicación de virus ARN. (B) Proteínas cortadoras ("Dicers") degradan el ARNdc a segmentos de aproximadamente 21-23 nucleótidos (ARNc, ARN corto) en cada uno de los extremos de la molécula. (C) Nuevas moléculas de proteínas cortadoras repiten el proceso tan pronto se da la interacción de éstas con el extremo de la molécula de ARN recortada. (D-E) El complejo ARNc-proteína cortadora es interceptado por una segunda proteína con propiedades helicicas, la cual disocia las bandas de ARNdc y permite la hibridación de estos fragmentos con moléculas de ARN monocatenario. Luego, una ARN polimerasa de la planta genera de nuevo ARNdc redisparando el proceso en forma cíclica. Alternativamente, el complejo ARNc-proteína cortadora (quizás con nuevos componentes) podría degradar ARNsc (transcritos y ARNs aberrantes). En el punto C, algunos fragmentos de ARNc-proteína cortadora (probablemente en asociación con proteínas helicicas y de movimiento) podrían ingresar al núcleo y participar en la metilación del ADN o bien moverse de célula a célula, diseminando la señal de silenciamiento.

no habían sido previamente expuestas a W22 presentaron alta concentración de ARN viral así como síntomas típicos de la enfermedad.

Profundizando en este enfoque, las hojas recuperadas de la infección primaria con W22 fueron inoculadas con virus progresivamente más distantes de W22 y la acumulación de ARN viral fue consistente y paulatinamente ascendente, sugiriendo que la resistencia inducida por la infección primaria era, de alguna manera, dependiente de la homología con el nuevo virus invasor. La resistencia inducida por W22 fue aparentemente ineficaz contra infecciones secundarias con el *Tomato ringspot nepovirus* o con el PVX, los cuales eran los virus más distantes de W22.

Con el objetivo de aclarar el mecanismo que impedía la acumulación de ARN viral en las hojas recuperadas, un segmento de W22 fue insertado en un sitio de PVX donde no alteraba la expresión génica de este último. Si la recuperación de la infección primaria implicaba la degradación de proteínas virales, la acumulación de PVX:W22 no debería ser afectada por inoculaciones previas con W22. Por el contrario, si la recuperación dependía de la degradación del ARN viral de PVX:W22, la acumulación de este último sería sensiblemente reducida en hojas recuperadas. Mediante técnicas de hibridación de ARN no fue posible detectar ARN viral en hojas W22-recuperadas; pero éste fue abundante en las hojas que habían sido utilizadas como testigo negativo. Estos resultados indicaron que la resistencia inducida estaba basada en la degradación del ARN viral y que además fue dependiente de la homología, puesto que al substituir el fragmento de W22 por GFP (PVX:GFP) la transcripción no resultó afectada (Ratcliff *et al.* 1997).

En forma coincidente, los viroides pueden desencadenar el silenciamiento de genes e inducir la metilación de ADN conduciendo así a STG. Dado que dichos viroides carecen de cubierta proteica, esto evidencia que el mecanismo involucra a los ácidos nucleicos y no a las proteínas virales (Wassenegger *et al.* 1994).

Análogamente, Al-Kaff *et al.* (1998) informaron que plantas no transgénicas de *B. napus* presentaron una respuesta de supresión del CaMV similar a aquella de las plantas transgénicas conteniendo fragmentos de dicho virus. Entre 28 y 50 días después de la inoculación, la preponderancia de ADN superenrollado, indicativo de que la replicación de pararetrovirus ha finalizado, fue detectada en ambos tipos de plantas (transgénicas y no transgénicas). Los pararetrovirus

poseen una estructura inusual, su ADNc circular es el resultado de un proceso de transcripción reversa. En el CaMV, el transcripto 35S sirve como molde para la síntesis de ADN complementario. Este transcripto posee extremos redundantes. Un ARN de transferencia de la planta (ARNt-met<sub>i</sub>) se acopla a la región 5' de dicho transcripto y permite la síntesis de ADN usando la cadena de ARN del transcripto como molde, dando origen así a un pequeño fragmento doble cadena de ARN/ADN, el cual es un buen candidato para inducir silenciamiento de este virus. Posteriormente, una ARNasa H degrada el ARN de la cadena molde y el ADN recién sintetizado se acopla a la región redundante en el extremo 3' para copiar en ADN el transcripto completo (Hull 2002).

Por otro lado, la transcripción bidireccional del ADNsc de los geminivirus (Hanley-Bowdoin *et al.* 1999) podría conducir a la síntesis de ARNs complementarios, capaces de formar estructuras bicatenarias y de inducir silenciamiento postranscripcional de geminivirus (Voinnet 2001).

El SPTG en plantas no transgénicas no está restringido a nepovirus y caulimovirus, como inicialmente se consideró. Ratcliff *et al.* (1999) presentan evidencia sobre el silenciamiento postranscripcional del *Tobacco rattle virus* (TRV, Tobravirus) y del PVX (Potexvirus). Para esto se usaron plantas de *N. benthamiana*, las cuales fueron infectadas con TRV o PVX para inducir resistencia (silenciamiento) contra un segundo virus. La metodología empleada es un poco complicada, pero en resumen incluye lo siguiente: La cepa PPK20 del *Tobacco rattle virus* fue usada como vector de GFP. *Tobacco rattle virus* posee un genoma bipartito, el ARN-1 codifica para las proteínas esenciales para la replicación y el movimiento del virus dentro de la planta, el ARN-2 codifica para la cubierta proteica y dos proteínas no esenciales para la infección (Hull 2002). La GFP fue insertada en el lugar de dichas proteínas no esenciales (TRV:GFP). Dicho vector fue capaz de infectar plantas sistémicamente y de inducir síntomas leves; sin embargo, el patrón de fluorescencia de GFP indicó que se había diseminado extensivamente por toda la planta. La fluorescencia de GFP desapareció de 8-10 días después de la inoculación (todas las plantas se recuperaron de la infección, n>100). La hibridación de ARN también indicó una reducción coincidente en la transcripción de TRV (Ratcliff *et al.* 1999). Dichas hojas recuperadas de TRV:GFP fueron inoculadas con PVX, mediante el

uso de una quimera que incluía al gen GUS dentro de PVX (PVX:GUS) y otra que además incluía 363 nucleótidos de GFP (PVX:GUS:GF). La lógica indicaba que si el mecanismo de silenciamiento era dependiente de la homología, la expresión de PVX:GUS no debería resultar afectada, pero sí debería afectarse la de PVX:GUS:GF, debido a su homología con TRV:GFP. Los resultados mostraron altos niveles de expresión de PVX:GUS (manchas azules después de la detección histoquímica) y altos niveles de ARNm correspondiente a GUS; esto ocurrió en plantas TRV:GFP recuperadas y en plantas testigo (inicialmente inoculadas con agua). Sin embargo, en el caso de PVX:GUS:GF, la expresión de GUS fue detectada sólo en las plantas testigo y no en las plantas que habían silenciado la expresión de TRV:GFP.

Con el objetivo de determinar si el mecanismo de defensa natural de *N. benthamiana* era funcionalmente equivalente al SPTG observado y parcialmente caracterizado en plantas transgénicas, hojas de *N. benthamiana* recuperadas de TRV:GFP así como de plantas testigo se transformaron en forma transitoria, infiltrándolas con una suspensión de *A. tumefaciens* conteniendo el vector binario pTDB, en el cual el T-DNA incluía las secuencias del promotor p35S, GFP, el terminador Nos, p35S, GUS, y Nos (p35S:GFP:Nos;p35S:GUS:Nos), de manera que ambos genes eran expresados individualmente bajo el control del mismo promotor. La expresión de GUS (manchas azules) y de GFP (fluorescencia) fue detectada en plantas testigo, pero en aquellas TRV:GFP recuperadas sólo se detectó la expresión de GUS y no la de GFP. Esta expresión diferencial no podía ser el resultado de STG puesto que ambos genes reporteros tenían promotores idénticos. Por tanto, un mecanismo equivalente a SPTG ocurrió en el silenciamiento de GFP.

Finalmente, experimentos análogos con PVX (inductor) y TMV (retador) tuvieron resultados similares; aun cuando PVX no induce la recuperación de las plantas infectadas, éstas se protegen contra la infección de un segundo virus, mediante un mecanismo relacionado con la degradación de ARN (Ratcliff *et al.* 1999).

Debido a que la introducción de resistencia mediante ingeniería genética y sobre todo su explotación en la agricultura a niveles comerciales es un área relativamente nueva e inexplorada, la precaución es obviamente importante y los riesgos potenciales deben ser evitados o al menos investigados a profundidad (Gibbs *et al.* 1997, Hammond *et al.* 1999). De acuerdo con este

planteamiento, plantas de *N. benthamiana* se transformaron con constructos quiméricos conteniendo la cubierta proteica (CP) del *Virus del mosaico del nabo* (TuMV) y pequeños fragmentos (110 y 218 nt) del gen de la CP del *Virus de la marchitez manchada del tomate* (TSWV) (Jan *et al.* 2000), dos virus económicamente importantes a nivel mundial (Tomlinson 1987). En cuatro de las 18 líneas transgénicas analizadas, el segmento de 218 nt del gen de la CP de TSWV ligado a CP-TuMV confirió resistencia a ambos virus. Análisis más detallados confirmaron la existencia de SPTG como mecanismo de defensa (Jan *et al.* 2000). Aún cuando en estos experimentos la CP de TuMV fue utilizada como silenciador, dicho papel puede ser asumido inclusive por un gen reportero como GFP (Pang *et al.* 1997) o GUS (English *et al.* 1996).

Este enfoque tiene al menos dos ventajas importantes sobre otros tradicionalmente probados. Primero, se podría generar resistencia múltiple para enfermedades causadas por complejos virales, o bien para cultivos afectados por diferentes virus. Segundo, la utilización de pequeños fragmentos que no codifican para proteínas virales reduce el riesgo de recombinación, trans-encapsidación, sinergismo o complementación; las cuales han sido señaladas como desventajas del uso de secuencias completas de genes virales (Jan *et al.* 2000).

El silenciamiento postranscripcional de genes también ha sido informado en monocotiledóneas transgénicas (Ingelbrecht *et al.* 1999). Callos embriogénicos de caña de azúcar (*Saccharum spp. hybrid*) fueron transformados mediante bombardeo de partículas de oro recubiertas con la quimera conteniendo la cubierta proteica de la cepa SCH del *Virus del mosaico del sorgo* (SrMV-SCH), bajo el control del promotor del maíz *ubiquitin* (Ubi-1). SrMV es miembro del complejo de potyvirus que causan la enfermedad del mosaico de la caña de azúcar. Entre 220 plantas transgénicas, tres clases fenotípicas fueron identificadas según su respuesta a inoculaciones posteriores con SrMV-SCH. Algunas plantas fueron susceptibles, otras se recuperaron de la enfermedad, y un tercer grupo fue inmune. Estos resultados demuestran la generalidad del mecanismo de silenciamiento de genes en diferentes familias de plantas e incrementan el potencial de aplicación del mismo para el manejo de enfermedades virales en diferentes cultivos y/o sistemas agrícolas.

### Defensa y contradefensa

En el contexto de enfermedades virales en plantas, el silenciamiento de genes es un sistema de defensa com-

pleto y sofisticado que las protege del efecto detrimental de la proliferación de los virus fitopatógenos. No obstante, algunos virus han evolucionado estrategias moleculares que contrarrestan el silenciamiento de sus genes (Vance y Vaucheret 2001, Voinnet 2001, Waterhouse *et al.* 2001b).

Por ejemplo, los potyvirus son patógenos importantes de cultivos agrícolas, cuyo representante típico es el *Virus Y de la papa* (PVY), son transmitidos por áfidos, presentan ARNsc como material genético y una organización genómica denominada poliproteica porque se transcriben y traducen como una sola entidad que posteriormente es fraccionada para dar origen a las diferentes proteínas virales (Hull 2002). La enzima encargada de cortar los genes traducidos es denominada HC-Pro (*helper component protease*). Esta proteína interfiere, además, con la capacidad de las plantas para llevar a cabo silenciamiento postranscripcional de genes, facilitando así las infecciones virales (Savenkov y Valkonen 2001). Se presume que HC-Pro interfiere con la diseminación de la señal de silenciamiento a través de la planta (Smyth 1999), al igual que lo hace la proteína p25 del PVX (Voinnet *et al.* 2000). Por el contrario, la proteína 2b del *Virus del mosaico del pepino* (CMV) no tiene influencia sobre SPTG, una vez que éste se ha establecido, pero se ha demostrado que previene su inicio (Brigneti *et al.* 1998). La proteína AC2 de los geminivirus, señalada como regulador de la transcripción viral (Hanley-Bowdoin *et al.* 1999) también ha sido señalada como supresor de silenciamiento de genes (Voinnet 2001).

Plantas de *N. benthamiana*, en las cuales la expresión de GFP había sido silenciada, volvieron a expresar esta última después de la infección con diferentes tipos de virus. Cada tipo de virus produjo un patrón diferente de supresión del silenciamiento. Por ejemplo, los potyvirus suprimieron el silenciamiento en hojas jóvenes y maduras, mientras CMV (Cucumovirus) lo hizo únicamente en hojas jóvenes. El *Virus del mosaico africano de la yuca* (ACMV, Geminivirus) y el PVX (Potexvirus), entre otros, permitieron la reexpresión de GFP en todos los tejidos; mientras que el *Virus del achaparramiento arbustivo del tomate* (TBSV, Tombusvirus), el *Virus del mosaico del tabaco* (TMV, Tobamovirus) y el *Virus del mosaico del caupí* (CPMV, Comovirus) suprimieron el silenciamiento sólo en los tejidos adyacentes a las venas. Estos resultados sugieren que los supresores de silenciamiento codificados por virus presentan diferentes modos de

acción y afectan diferentes componentes de la maquinaria silenciadora de las plantas; además presentan una evolución dinámica con la planta hospedante (Voinnet *et al.* 1999).

Por otro lado, estudios sobre infecciones sinérgicas, en las cuales la coinfección con dos o más virus heterólogos conduce a síntomas mucho más severos que aquellos provocados por infecciones individuales han aportado evidencia importante sobre la existencia de mecanismos de defensa en plantas. Por ejemplo, TEV es capaz de desarrollar infecciones sinérgicas con un vasto ámbito de otros virus, mediante la secuencia de las proteínas P1/HC-Pro (Pruss *et al.* 1997). Esto sugiere que la expresión de estas proteínas interfiere con un sistema general de defensa en las plantas, permitiendo la acumulación de otros virus más allá de los límites mediados por el hospedante mediante el silenciamiento postranscripcional (Anandalkshmi *et al.* 1998). Además, debido a que la supresión de silenciamiento de genes promueve la acumulación de distintos virus, con estrategias moleculares y ámbito de hospedantes diferentes, el silenciamiento de genes es concebido como un mecanismo de defensa generalizado en plantas (Ratcliff *et al.* 1999). Esto reafirma la necesidad de estudiar a profundidad las epidemias virales que resultan de infecciones mixtas de dos o más virus dentro de un cultivo.

### Consideraciones finales

Los virus atacan al reclutar la maquinaria genética de la planta para su propio beneficio, las plantas se defienden mediante mecanismos de silenciamiento de genes virales, los virus contraatacan inactivando el silenciamiento; sin embargo, la dinámica evolución planta-patógeno continúa. Por ejemplo, la proteína 2b del *Tomato aspermy cucumovirus* (Tav2b) ha sido reportada como supresor del silenciamiento de genes cuando ésta es expresada utilizando el CMV como vector en plantas transgénicas de *N. benthamiana*. Sin embargo, el mismo sistema induce una respuesta similar al mecanismo de resistencia *gen por gen* en plantas no transgénicas de tabaco (*N. tabacum* cv Samsun nn), incluyendo la inducción transcripcional de ARNm viral así como la formación de lesiones necróticas que restringen la diseminación de la infección (respuesta hipersensitiva), mientras que genotipos silvestres de *N. benthamiana* fueron altamente susceptibles a la infección con dicho virus (quimera) (Li *et al.* 1999). Esto indica que esta planta ha desarrollado un mecanis-

uso de una quimera que incluía al gen GUS dentro de PVX (PVX:GUS) y otra que además incluía 363 nucleótidos de GFP (PVX:GUS:GF). La lógica indicaba que si el mecanismo de silenciamiento era dependiente de la homología, la expresión de PVX:GUS no debería resultar afectada, pero sí debería afectarse la de PVX:GUS:GF, debido a su homología con TRV:GFP. Los resultados mostraron altos niveles de expresión de PVX:GUS (manchas azules después de la detección histoquímica) y altos niveles de ARNm correspondiente a GUS; esto ocurrió en plantas TRV:GFP recuperadas y en plantas testigo (inicialmente inoculadas con agua). Sin embargo, en el caso de PVX:GUS:GF, la expresión de GUS fue detectada sólo en las plantas testigo y no en las plantas que habían silenciado la expresión de TRV:GFP.

Con el objetivo de determinar si el mecanismo de defensa natural de *N. benthamiana* era funcionalmente equivalente al SPTG observado y parcialmente caracterizado en plantas transgénicas, hojas de *N. benthamiana* recuperadas de TRV:GFP así como de plantas testigo se transformaron en forma transitoria, infiltrándolas con una suspensión de *A. tumefaciens* conteniendo el vector binario pTDB, en el cual el T-DNA incluía las secuencias del promotor p35S, GFP, el terminador Nos, p35S, GUS, y Nos (p35S:GFP:Nos:p35S:GUS:Nos), de manera que ambos genes eran expresados individualmente bajo el control del mismo promotor. La expresión de GUS (manchas azules) y de GFP (fluorescencia) fue detectada en plantas testigo, pero en aquellas TRV:GFP recuperadas sólo se detectó la expresión de GUS y no la de GFP. Esta expresión diferencial no podía ser el resultado de STG puesto que ambos genes reporteros tenían promotores idénticos. Por tanto, un mecanismo equivalente a SPTG ocurrió en el silenciamiento de GFP.

Finalmente, experimentos análogos con PVX (inductor) y TMV (retador) tuvieron resultados similares; aun cuando PVX no induce la recuperación de las plantas infectadas, éstas se protegen contra la infección de un segundo virus, mediante un mecanismo relacionado con la degradación de ARN (Ratcliff *et al.* 1999).

Debido a que la introducción de resistencia mediante ingeniería genética y sobre todo su explotación en la agricultura a niveles comerciales es un área relativamente nueva e inexplorada, la precaución es obviamente importante y los riesgos potenciales deben ser evitados o al menos investigados a profundidad (Gibbs *et al.* 1997, Hammond *et al.* 1999). De acuerdo con este

planteamiento, plantas de *N. benthamiana* se transformaron con constructos quiméricos conteniendo la cubierta proteica (CP) del *Virus del mosaico del nabo* (TuMV) y pequeños fragmentos (110 y 218 nt) del gen de la CP del *Virus de la marchitez manchada del tomate* (TSWV) (Jan *et al.* 2000), dos virus económicamente importantes a nivel mundial (Tomlinson 1987). En cuatro de las 18 líneas transgénicas analizadas, el segmento de 218 nt del gen de la CP de TSWV ligado a CP-TuMV confirió resistencia a ambos virus. Análisis más detallados confirmaron la existencia de SPTG como mecanismo de defensa (Jan *et al.* 2000). Aún cuando en estos experimentos la CP de TuMV fue utilizada como silenciador, dicho papel puede ser asumido inclusive por un gen reportero como GFP (Pang *et al.* 1997) o GUS (English *et al.* 1996).

Este enfoque tiene al menos dos ventajas importantes sobre otros tradicionalmente probados. Primero, se podría generar resistencia múltiple para enfermedades causadas por complejos virales, o bien para cultivos afectados por diferentes virus. Segundo, la utilización de pequeños fragmentos que no codifican para proteínas virales reduce el riesgo de recombinación, trans-encapsidación, sinergismo o complementación; las cuales han sido señaladas como desventajas del uso de secuencias completas de genes virales (Jan *et al.* 2000).

El silenciamiento postranscripcional de genes también ha sido informado en monocotiledóneas transgénicas (Ingelbrecht *et al.* 1999). Callos embrionarios de caña de azúcar (*Saccharum spp. hybrid*) fueron transformados mediante bombardeo de partículas de oro recubiertas con la quimera conteniendo la cubierta proteica de la cepa SCH del *Virus del mosaico del sorgo* (SrMV-SCH), bajo el control del promotor del maíz *ubiquitin* (Ubi-1). SrMV es miembro del complejo de potyvirus que causan la enfermedad del mosaico de la caña de azúcar. Entre 220 plantas transgénicas, tres clases fenotípicas fueron identificadas según su respuesta a inoculaciones posteriores con SrMV-SCH. Algunas plantas fueron susceptibles, otras se recuperaron de la enfermedad, y un tercer grupo fue inmune. Estos resultados demuestran la generalidad del mecanismo de silenciamiento de genes en diferentes familias de plantas e incrementan el potencial de aplicación del mismo para el manejo de enfermedades virales en diferentes cultivos y/o sistemas agrícolas.

### Defensa y contradefensa

En el contexto de enfermedades virales en plantas, el silenciamiento de genes es un sistema de defensa com-

mo aparentemente independiente para inactivar las proteínas supresoras del silenciamiento. La inducción de hipersensibilidad no estuvo asociada a la secuencia de ARN, sino a la presencia de la secuencia completa capaz de traducirse en proteínas, indicando que el producto del gen era la molécula activa en la inducción de resistencia. Sin embargo, la proteína 2b del CMV, también reportada como supresor de silenciamiento, permitió la infección sistémica del mismo cultivar de plantas de tabaco (Li *et al.* 1999).

Los resultados de investigaciones sobre silenciamiento de genes, presentados en este artículo, revelan interacciones genéticas complejas entre virus y plantas hospedantes. Esto explica las dificultades del manejo de enfermedades virales en el campo, pero a la vez plantea un reto importante, el de estudiar y comprender la naturaleza de estas interacciones con el propósito de definir y desarrollar medidas que contribuyan efectivamente a reducir las pérdidas ocasionadas por virus en campos de cultivos.

### Agradecimientos

A Shuo Cheng Zhang y Martin Höhnle (Universidad de Stuttgart, Alemania), así como Rich Jorgensen y Natalie Doestch (Universidad de Arizona, Tucson, USA) por brindarnos gentilmente las fotos de la figura 1. Los autores asumen responsabilidad total por la interpretación de los resultados de investigación presentados en el artículo.

### Literatura citada

- Agrios, GN. 1995. Fitopatología. 2 ed. México, Limusa. 838 p.
- Al-Kaff, NS; Covey, SN; Kreike, MM; Page, DM; Pinder, R; Dale, PJ. 1998. Transcriptional and posttranscriptional gene silencing in response to a pathogen. *Science* 279:2113-2115.
- Anandalakshmi, R; Pruss, GJ; Marathe, R; Mallory, AC; Smith, TH; Vance, VB. 1998. A viral suppressor of gene silencing in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95:13079-13084.
- Angell, SM; Baulcombe, DC. 1997. Consistent gene silencing in transgenic plants expressing a replicating potato virus X RNA. *EMBO J.* 16(12):3675-3684.
- Baulcombe, DC. 1996. Mechanisms of pathogen-derived resistance to viruses in transgenic plants. *Plant Cell* 8:1833-1844.
- Baulcombe, DC; Chapman, S; Santa Cruz, S. 1995. Jellyfish fluorescent protein as a reporter for virus infection. *Plant J.* 7:1945-1953.
- Bejarano, ER; Lichtenstein, CP. 1992. Prospects for engineering virus resistance in plants with antisense RNA substrates. *Trends Biotech.* 10:383-388.
- Bender, J. 2001. A vicious cycle: RNA silencing and DNA methylation in plants. *Cell* 106:129-132.
- Benfey, PN; Ren, L; Chua, N. 1989. The CaMV 35S enhancer contains at least two domains which confer different developmental and tissue-specific expression patterns. *EMBO J.* 8(8):2195-2202.
- Benfey, PN; Ren, L; Chua, N. 1990. Combinatorial and synergistic properties of CaMV 35S enhancer subdomains. *EMBO J.* 9(6):1685-1696.
- Biggar, SR; Crabtree, GR. 2001. Cell signaling can direct either binary or graded transcriptional responses. *EMBO J.* 20(12):3167-3176.
- Bos, L. 1999. Plant viruses, unique and intriguing pathogens. Leiden, Netherlands, Backhuys Publishers. 358 p.
- Brigneti, G; Voinnet, O; Li, WX; Ji, LH; Ding, SW; Baulcombe, DC. 1998. Viral pathogenicity determinants are suppressors of transgene silencing in *Nicotiana benthamiana*. *EMBO J.* 17:6739-6746.
- Brink, RA. 1973. Paramutation. *Ann. Rev. Genet.* 7:129-152.
- Chandler, VL; Vaucheret, H. 2001. Gene activation and gene silencing. *Plant Physiol.* 125:145-148.
- Cogoni, C; Macino, G. 1999. Homology-dependent gene silencing in plants and fungi: a number of variations on the same theme. *Curr. Opin. Microbiol.* 2:657-662.
- Cogoni, C; Macino, G. 2000. Posttranscriptional gene silencing across kingdoms. *Curr. Opin. Plant Biol.* 10:638-643.
- Covey, SN; Al-Kaff, NS; Langara, A; Turner, DS. 1997. Plants combat infection by gene silencing. *Nature* 387:781-782.
- Day, AG; Bejarano, ER; Buck, KW; Burrell, M; Lichtenstein, CP. 1991. Expression of an antisense viral gene in transgenic tobacco confers resistance to the DNA virus tomato golden mosaic virus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88:6721-6725.
- Dougherty, WG; Lindbo, JA; Smith, HA; Parks, TD; Swaney, S; Proebsting, WM. 1994. RNA-mediated virus resistance in transgenic plants: exploitation of a cellular pathway possibly involved in RNA degradation. *Mol. Plant Microbe Interact.* 7:544-552.
- English, JJ; Mueller, E; Baulcombe, BC. 1996. Suppression of virus accumulation in transgenic plants exhibiting silencing of nuclear genes. *Plant Cell* 8:179-188.
- Fagard, M; Vaucheret, H. 2000. (Trans) Gene silencing in plants: how many mechanisms?. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51:167-194.
- Finnegan, EJ; Genger, RK; Peacock, WJ; Dennis, ES. 1998. DNA methylation in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49:223-247.
- Finnegan, EJ; Peacock, WJ; Dennis, ES. 2000. DNA methylation, a key of plant development and other processes. *Curr. Opin. Plant Biol.* 10:217-223.
- Fire, A; Xu, SQ; Montgomery, MK; Kostas, SA; Driver, SE; Mello, CC. 1998. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 391:806-811.
- Gelvin, SB. 2000. Agrobacterium and plant genes involved in T-DNA transfer and integration. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51:223-256.
- Gibs, MJ; Armstrong, GF; Weiller, GF; Gibbs, AJ. 1997. Virus evolution; the past, a window on the future. In Tepfer, M; Balázs, E. Ed. Virus-resistant transgenic plants: potential ecological impact. Berlin, Springer Verlag. p. 1-19.
- Gura, T. 2000. A silence that speaks volumes. *Nature* 404:804-808.
- Hammond, J; Lecoq, H; Raccach, B. 1999. Epidemiological risks from mixed virus infections and transgenic plants expressing viral genes. *Adv. Virus Res.* 54:189-314.
- Hanley-Bowdoin, L; Settledge, SB; Orozco, BM; Nagar, S; Robertson, D. 1999. Geminiviruses: models for plant DNA replication, transcription and cell cycle regulation. *Crit. Rev. Plant Sci.* 18:71-106.
- Heslop-Harrison, J. 1967. Differentiation. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 18:325-348.

- Hull, R. 2002. *Matthews' plant virology*. 4 ed. London, Academic Press. 1001 p.
- Ingelbrecht, IL; Irvine, JE; Mirkov, TE. 1999. Posttranscriptional gene silencing in transgenic sugarcane. Dissection of homology-dependent virus resistance in a monocot that has a complex polyploid genome. *Plant Physiol.* 119:1187-1197.
- Jan, F; Fagoaga, C; Pang, S; Gonsalves, D. 2000. A single chimeric transgene derived from two distinct viruses confers multivirus resistance in transgenic plants through homology-dependent gene silencing. *J. Gen. Virol.* 81:2103-2109.
- Jones, AL; Johansen, IE; Bean, SJ; Bach, I; Maule, AJ. 1998. Specificity of resistance to pea seed-borne mosaic potyvirus in transgenic peas expressing the viral replicase (NIb) gene. *J. Gen. Virol.* 79:3129-3137.
- Jorgensen, RA; Que, Q; Stam, M. 1999. Do unintended antisense transcripts contribute to sense co-suppression in plants?. *Trends Genet.* 15(1):11-12.
- Kooter, JM; Matzke, MA; Meyer, P. 1999. Listening to the silent genes: transgene silencing, gene regulation and pathogen control. *Trends Plant Sci.* 4(9):340-347.
- Lewin, B. 2000. *Genes VII*. Oxford University Press. 990 p.
- Li, H; Lucy, A; Guo, H; Li, W; Ji, L; Wong, S; Ding, S. 1999. Strong host resistance targeted against a viral suppressor of the plant gene silencing defence mechanism. *EMBO J.* 18(10):2683-2691.
- Lindbo, JA; Dougherty, WG. 1992. Untranslatable transcripts of the tobacco etch virus coat protein gene sequence can interfere with tobacco etch virus replication in transgenic plants and protoplasts. *Virology* 189:725-733.
- Lindbo, JA; Silva-Rosales, L; Proebsting, WM; Dougherty, WG. 1993. Induction of a highly specific antiviral state in transgenic plants: Implications for regulation of gene expression and virus resistance. *Plant Cell* 5:1749-1759.
- Lomonosoff, GP. 1995. Pathogen-derived resistance to plant viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.* 33:323-343.
- Matzke, M; Matzke, AJM; Eggleston, WB. 1996. Paramutation and transgene silencing: A common response to invasive DNA?. *Trends Plant Sci.* 1:382-388.
- Matzke, M; Matzke, AJM; Mittelsten-scheid, O. 1994. Inactivation of repeated genes- DNA-DNA interaction?. In Paszkowski, J. Ed. *Homologous recombination and gene silencing in plants*. Netherlands, Kluwer Academic. p. 271-307.
- Meins, F. Jr. 2000. RNA degradation and models for post-transcriptional gene silencing. *Plant Mol. Biol.* 32:63-78.
- McKinney, HH. 1929. Mosaic diseases in the Canary Islands, West Africa and Gibraltar. *J. Agric. Res.* 39:557-578.
- Mol, JNM; Blokland, RV; De Lange, P; Stam, M; Kooter, JM. 1994. Posttranscriptional inhibition of gene expression: sense and antisense genes. In Paszkowski, J. Ed. *Homologous recombination and gene silencing in plants*. Netherlands, Kluwer Academic. p. 309-334.
- Napoli, C; Lemieux, C; Jorgensen, R. 1990. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into *Petunia* results in reversible co-suppression of homologous gene in trans. *Plant Cell* 2:279-289.
- Pang, SZ; Jan, FJ; Gonsalves, D. 1997. Non-target DNA sequences reduce the transgene length necessary for RNA-mediated tospovirus resistance in transgenic plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94:8261-8266.
- Pruss, G; Ge, X; Shi, XM; Carrington, JC; Vance, VB. 1997. Plant viral synergism: the potyviral genome encodes a broad-range pathogenicity enhancer that transactivates replication of heterologous viruses. *Plant Cell* 9:859-868.
- Ratcliff, F; Harrison, BD; Baulcombe, DC. 1997. A similarity between viral defense and gene silencing in plants. *Science* 276:1558-1560.
- Ratcliff, F; Mac Farlane, SA; Baulcombe, DC. 1999. Gene silencing without DNA: RNA-mediated cross-protection between viruses. *Plant Cell* 11:1207-1215.
- Savenkov, EI; Valkonen, PT. 2001. Coat protein gene-mediated resistance to potato virus A in transgenic plants is suppressed following infection with another potyvirus. *J. Gen. Virol.* 82:2275-2278.
- Smyth, DR. 1999. Gene silencing: plants and viruses fight it out. *Curr. Biol.* 9:R100-R102.
- Tamarin, R. 1996. *Principios de Genética*. 4 ed. Barcelona, Reverté. 607 p.
- Thomas, CL; Jones, L; Baulcombe, DC; Maule, AJ. 2001. Size constraints for targeting posttranscriptional gene silencing and for RNA-directed methylation in *Nicotiana benthamiana* using a potato X vector. *Plant J.* 25(4):417-425.
- Tomlinson, JA. 1987. Epidemiology and control of virus diseases of vegetables. *Annals Applied Biol.* 110:661-681.
- Tsien, RY. 1998. The green fluorescent protein. *Annu. Rev. Biochem.* 67:509-544.
- Vance, V; Vaucheret, H. 2001. RNA silencing in plants-defense and counter-defense. *Science* 292:2277-2280.
- Voinnet, O. 2001. RNA silencing as a plant immune system against viruses. *Trends Gen.* 17:449-459.
- Voinnet, O; Pinto, YM; Baulcombe, DC. 1999. Suppression of gene silencing: A general strategy used by diverse DNA and RNA viruses of plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96(24):14147-14152.
- Voinnet, O; Lederer, C; Baulcombe, DC. 2000. A viral movement protein prevents spread of the gene silencing signal in *Nicotiana benthamiana*. *Cell* 103:157-167.
- Wasseneger, M; Heines, S; Riedel, L; Sanger, HL. 1994. RNA-directed *de novo* methylation of genomic sequences in plants. *Cell* 76:567-576.
- Wasseneger, M. 2000. RNA-directed DNA methylation. *Plant Mol. Biol.* 43:403-220.
- Waterhouse, PM; Smith, NA; Wang, M. 1999. Virus resistance and gene silencing: Killing the messenger. *Trends Plant Sci.* 4(11):452-457.
- Waterhouse, PM; Wang, M; Finnegan, EJ. 2001a. Role of short RNAs in gene silencing. *Trends Plant Sci.* 6(7):297-301.
- Waterhouse, PM; Wang, M; Lough, T. 2001b. Gene silencing as an adaptive defence against viruses. *Nature* 411:834-842.
- Zambryski, PC. 1992. Chronicles from the *Agrobacterium*-plant cell DNA transfer story. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43:465-490.
- Zhang, SC; Wege, C; Jeske, H. 2001. Cellular site changes of Abutilon mosaic geminiviral movement protein in different plant cell as detected by green fluorescent protein tagging. *Virology* 290:249-260.

# Diseminación del banano en Latinoamérica y el Caribe y su relación con la presencia de *Radopholus similis*<sup>1</sup>

Douglas H. Marín<sup>2</sup>  
Turner B. Sutton<sup>3</sup>  
Kenneth R. Barker<sup>3</sup>

**RESUMEN.** El nematodo barrenador (*Radopholus similis*) es la plaga más importante del cultivo de banano a nivel mundial. A pesar de su amplia distribución, esta especie aún no se encuentra en todas las áreas productoras de banano del mundo. La dispersión del nematodo barrenador se considera relativamente reciente, y podría haber estado relacionada con el movimiento de material vegetativo infectado. La diseminación de *R. similis* probablemente ocurrió en tres diferentes momentos del desarrollo de la industria bananera en Latinoamérica. La introducción de esta plaga al Nuevo Mundo posiblemente se dio con el establecimiento de la variedad Gros Michel a mediados de 1830. Sin embargo, su impacto no fue significativo, por la resistencia de este cultivar al nematodo. El segundo período de diseminación fue con la distribución del mutante enano de Gros Michel, conocido como Cocos, principalmente en América Central. La tercera, y posiblemente la más importante, se inició con el reemplazo de los cultivares Gros Michel y Cocos con cultivares pertenecientes al subgrupo Cavendish, resistentes a la marchitez causada por *Fusarium*, conocida como Mal de Panamá. El manejo de la industria bananera por una sola compañía contribuyó a la uniformidad genética de banano en América Central, lo cual puede haber influenciado el nivel de similitud genética observada entre las diferentes poblaciones del nematodo provenientes de diversas localidades. *R. similis* posee muchos hospedantes, pero, el banano es el más importante y el de mayor distribución. Los bananos comestibles, pertenecientes a los grupos AA y AAA, evolucionaron principalmente en la región Malaya y áreas aledañas. Debido a que los patógenos usualmente coevolucionan con sus hospedantes, es muy probable que *R. similis* sea nativo del área de Malasia, y no de Australia, como se ha sugerido anteriormente.

**Palabras clave:** Banano, Plátano, América Latina, Historia, Diseminación, *Radopholus similis*, Nematodos.

**ABSTRACT.** Dissemination of bananas in Latin America and the Caribbean and its relationship to the occurrence of *Radopholus similis*. The burrowing nematode, *R. similis*, is the most important pest attacking bananas worldwide. Although *R. similis* is widely distributed, there are still some banana-growing areas where it has not been reported. Spread of burrowing nematodes is believed to be fairly recent, and may be related to the distribution of infected planting material. *R. similis* dissemination probably occurred at three different times during development of the banana industry in Latin America. The introduction of this pest to the New World probably occurred with the establishment of Gros Michel in the mid 1830's. However, this did not have a major impact due to the high burrowing-nematode resistance of this cultivar. The second dissemination period followed the distribution of the dwarf mutant of Gros Michel, known as Cocos, mainly in Central America. And the third, and probably the most important, started with the replacement of Gros Michel and Cocos with *Fusarium*-wilt resistant cultivars belonging to the Cavendish sub-group. Management of the banana industry by a single company contributed to the genetic uniformity of banana in Central America, which may have resulted in the high degree of genetic similarity observed among burrowing-nematode populations. *R. similis* has many different hosts but bananas are probably the most important and widespread. Edible bananas, belonging to the AA and AAA groups, evolved mainly in the Malay region and neighboring areas. Because pathogens often coevolve with their hosts, it is likely that *R. similis* is indigenous to the Malay area, and not to Australia as has been suggested previously.

**Key Words:** Bananas, Plantain, Latin America, History, Dissemination, *Radopholus similis*, Nematodes

<sup>1</sup> Artículo publicado originalmente en inglés en *Plant Disease* 82:964-974. Publicado con permiso de The Am. Phytopathological Society.

<sup>2</sup> Dirección actual: Corporación de Desarrollo Agrícola Del Monte – División Banano (Bandeco) Costa Rica. dmarin@cr.freshdelmonte.com

<sup>3</sup> North Carolina State University, Raleigh, NC, EE.UU.

## Introducción

El banano (*Musa* AAA) y el plátano (*Musa* AAB) son componentes importantes de la dieta humana en casi todos los países del mundo, ya sea como alimento cocido o como fruta fresca. Estos son una excelente fuente de alimento, y en algunas regiones del mundo, como África, son el componente principal de la dieta humana. El banano es fuente de fibra, posee bajo contenido de sodio, y es la fuente más rica de vitamina B6 y potasio "lista para consumir" (Chandler 1995). En Estados Unidos, ésta es la fruta fresca más consumida y puede encontrarse durante todo el año en supermercados, desde la ciudad más grande hasta en los pueblos más pequeños. En ese país, el promedio de consumo de banano por persona es de más 10 kg por año (Hallam 1995).

La producción anual de banano y plátano a nivel mundial es de más de 76 millones de toneladas, lo cual genera más de 1,5 millones de empleos (Price 1995). Aproximadamente el 15% de la producción de banano y plátano es exportada. La exportación de banano es clave para la economía de muchos países en desarrollo. Por ejemplo, en Costa Rica, la exportación de banano genera más de US\$500 millones, la cual constituye la segunda fuente de ingreso después del turismo.

Los bananos cultivados son variedades mejoradas de progenitores silvestres que se originaron en el sureste de Asia. Esta fruta no sólo ha sido mejorada mediante la intervención humana, sino que también ha sido diseminada a las regiones tropicales del mundo. Al igual que con otras especies vegetales transportadas por el ser humano, los parásitos y los patógenos del banano han ingresado junto con el cultivo. Entre los patógenos más importantes de las musáceas está el nematodo barrenador, *Radopholus similis* (Cobb) Thorne.

Se considera, con base en la literatura, que la dis-

persión de *R. similis* en las regiones productoras de banano de América Latina y el Caribe ocurrió al menos en tres épocas diferentes durante el establecimiento del cultivo en estas regiones. La primera introducción, probablemente, ocurrió a mediados de 1830 con el cultivar de banano Gros Michel, la segunda en la década de 1950 con Cocos, un mutante enano de Gros Michel, y la tercera, y más importante, con los cultivares Cavendish, en el decenio de los 60. Además, este nematodo pudo haber sido diseminado a las áreas productoras de banano con otras especies de *Musa* y plantas ornamentales hospedantes (Martín 1978, Matheille 1994, Whitlock 1957).

## Origen del banano

La planta conocida como banano agrupa un gran número de clones partenocárpicos pertenecientes al género *Musa*, de la familia Musaceae (Rodríguez 1955, Von Loesecke 1950). El centro de origen del banano silvestre es el sureste de Asia y las islas del Pacífico, extendiéndose desde la India hasta Papua Nueva Guinea, incluyendo Malasia e Indonesia (De Langhe 1996, Reynolds 1927, Simmonds 1959, Soto 1992).

La característica comestible evolucionó primero en la *Musa* silvestre de la especie *acuminata*. La evidencia taxonómica indica que el centro primario donde la comestibilidad evolucionó fue la Península Malaya, incluyendo, posiblemente, los territorios vecinos más cercanos (Simmonds 1995). La mayoría de los bananos cultivados son derivados de las especies *M. acuminata* (genoma A) y *Musa balbisiana* (genoma B). Simmonds y Shepherd (1955) diseñaron un método para indicar la contribución relativa de las dos especies a los diferentes genotipos cultivados, utilizando la designación del genoma A y B (Cuadro 1). La mayoría de los cultivares comerciales son triploides y

**Cuadro 1.** Clasificación taxonómica del banano de acuerdo con Simmonds y Shepherd (1955).

Género	Genoma <sup>a</sup>	Tipo	Subgrupo	Cultivares comunes
<i>Musa</i>	AAA	Banano	Gros Michel	Gros Michel Cocos
			Cavendish	Lacatán Dwarf Cavendish Valery (Robusta, Poyo) Grande Naine
<i>Musa</i>	AAB	Plátano 	Plátano	Falso cuerno Francés (Dominico)
<i>Musa</i>	ABB	Banano de cocción (guineos)	Maia Maoli	Maqueño Bluggoe (Cuadrado)
				Pelipita

<sup>a</sup>Las designaciones A y B en el genoma corresponde a *Musa acuminata* y *M. balbisiana*, respectivamente. El banano es un híbrido natural de estas dos especies de *Musa*.

pertenecen al grupo AAA. Los tres grupos más importantes que se cultivan a nivel mundial son AAA, AAB y ABB (Simmonds 1995). Relativamente, pocos clones se han movido desde su centro de origen en el sureste de Asia, con la consecuente disminución de la diversidad genética de estas plantas de Asia hacia Africa y América (Simmonds 1995).

### **Banano: hospedante de muchas especies de nematodos**

Los nematodos fitoparásitos están ampliamente distribuidos y son la plaga más dañina del cultivo de banano. En banano y plátano se han informado más de 100 especies de nematodos (Charles 1998, Gowen y Queneherve 1990). Estas especies están relacionadas con la destrucción de las raíces primarias, lo cual constituye el daño más detrimental para el cultivo. La destrucción del sistema de anclaje provoca el desraizamiento y volcamiento de las plantas (Fig. 1) (Gowen Queneherve 1990) y se asocia con pérdidas promedio de aproximadamente 20% por año (Sasser y Freckman 1987).

El banano, como la mayoría de los cultivos tropicales, está caracterizado por un parasitismo poliespecífico de nematodos. El nematodo barrenador, ampliamente distribuido, es la especie más dañina que ataca la mayoría de cultivares de banano, plátano y guineo (Gowen 1979, Gowen y Queneherve 1990, Stover y Simmonds 1987). Sin embargo, otros géneros de nematodos también pueden estar presentes en el mismo sistema radicular. El nematodo de lesión (*Pratylenchus* spp.), el nematodo espiral (*Helicotylenchus* spp.), y el nematodo agallador (*Meloidogyne* sp.) usualmente están asociados con este cultivo. A pesar de la importancia de éstas especies en algunas áreas productoras, la mayoría de la investigación se ha enfocado en el nematodo barrenador. Pocos estudios han considerado la interacción entre nematodos en raíces de banano, probablemente debido a la dominancia del nematodo barrenador sobre las otras especies (Gowen 1979, Gowen y Queneherve 1990).

El daño causado por el nematodo de lesión es, probablemente, subestimado debido a la similitud entre la necrosis de la raíz y del cormo con la causada por el nematodo barrenador. *Pratylenchus goodeyi* es el nematodo más dañino y más ampliamente distribuido en las tierras altas de Africa, y es la principal plaga de los cultivares Cavendish en las Islas Canarias. El banano es el único hospedante identificado de este

nematodo. *Pratylenchus coffeae* está distribuido por los trópicos y posee muchos hospedantes. En América del Sur y América Central, este nematodo parece estar más asociado con plátano que con clones Cavendish (Gowen 1994, 1995), pero no hay evidencia que indique que tenga preferencia por alguna especie de musácea (Gowen 1994).

El nematodo espiral, *Helicotylenchus multicinctus*, está presente en la mayoría de las regiones productoras de banano (Gowen 1979, McSorley 1994). En las áreas tropicales donde *R. similis* está presente, el nematodo de espiral tiene importancia secundaria (McSorley 1994); sin embargo, *Helicotylenchus multicinctus* puede ser numéricamente dominante con respecto a *R. similis* en aquellos lugares donde ambas especies coexisten (Gowen 1979). En áreas subtropicales, donde la población del nematodo barrenador es nula o casi nula, *H. multicinctus* puede representar el problema nematológico más importante del cultivo. En Argentina, Cuba, Chipre, Florida, Israel, Líbano y Sudáfrica, *H. multicinctus* provoca severos daños en el cultivo de banano (McSorley 1994).

Todos los cultivares de banano son hospedantes del nematodo agallador (*Meloidogyne* spp.), el cual puede causar deformaciones considerables y el acortamiento de las raíces. Sin embargo, debido a que no provoca el volcamiento de las plantas, no es considerado tan importante como las especies que causan lesiones, las cuales son más destructivas (Gowen 1995), y en poblaciones mixtas, son generalmente dominantes (Davide 1980, Gowen 1995). No obstante, esto depende del cultivar, y consecuentemente, el nematodo agallador puede dominar al nematodo barrenador (Davide 1980). Las poblaciones de *Meloidogyne* spp. son probablemente suprimidas por poblaciones altas de *R. similis* y *H. multicinctus*, los cuales causan la destrucción masiva de las raíces (Gowen 1979). Los nematodos agalladores constituyen un serio problema en Taiwán, donde son la principal plaga nematológica en nuevas zonas productoras de banano, en las cuales se ha evitado el ingreso de *R. similis* y *Pratylenchus* spp. (Gowen 1995).

### **El nematodo barrenador**

*R. similis* fue descrito por primera vez por Cobb (Cobb 1915) en 1891, quien lo encontró en raíces de banano procedentes de Fiji (Cobb 1915, Gowen y Queneherve 1990). El describió la nueva especie en 1893 como *Tylenchus similis* (Christie 1959, Cobb

1915, Loos y Loos 1960, Orton y Siddiqi 1973, Thorne 1961) e indicó que no se habían observado hembras. En 1907, Cobb encontró ambos sexos infectando raíces de caña de azúcar provenientes de las islas de Hawaii (Christie 1959, Cobb 1915, Loos y Loos 1960, Orton y Siddiqi 1973, Thorne 1961). Años más tarde, Cobb recibió de Jamaica cormos de Gros Michel infectados, y utilizó los especímenes adicionales para realizar una descripción más completa de la especie en 1915 (Cobb 1915, Loos y Loos 1960, Stover y Simmonds 1987). Desde entonces, *R. similis* ha sido encontrado en la mayoría de las áreas productoras de banano en todo el mundo (Fig. 2) (Gowen 1994). Sin embargo, esta especie, aparentemente aún no está presente en muchos países productores de esta fruta, incluyendo Israel, las Islas Canarias, las islas de Cabo Verde, Chipre, Creta, Mauricio, las tierras altas de Africa del este y Taiwán (Gowen 1979, Gowen y Queneherve 1990). La mayoría de las otras especies del género *Radopholus* han sido descritas en Australia y Nueva Zelandia. Por esta razón, *Radopholus* es considerado originario de esta área (Luc 1987, Sher 1968). Una descripción de la distribución de *R. similis* está disponible (Bridge 1993).

*R. similis* es un endoparásito migratorio, capaz de completar su ciclo de vida dentro de la raíz (Fig. 2 A y B). La penetración ocurre principalmente cerca de la punta de la raíz, pero el nematodo puede migrar a través de ella (Fig. 2C). Las hembras y todos los estados juveniles son infectivos. Los machos no poseen el estilete, y probablemente no son parasíticos (Gowen y Queneherve 1990). *R. similis* invade, se alimenta y se reproduce en las células corticales de las raíces y del cormo (Blake 1961, 1966, Gowen 1995, Loos y Loos 1960). El nematodo barrena entre las células corticales, punza las paredes celulares con su estilete, y se alimenta del citoplasma, haciendo cavidades dentro de las raíces. A medida que las células son destruidas, el nematodo migra produciendo cavidades, las cuales coalescen para formar lesiones pardo-rojizas (Fig. 2C) (Blake 1961, 1966, Mateille 1994). La migración y la oviposición depende de factores nutricionales, a medida que las hembras se mueven desde el área necrótica. En el tejido infectado, las hembras ponen de 4 a 5 huevos por día durante dos semanas. Los huevos eclosionan de 8 a 10 días después y los estados juveniles requieren entre 10 y 13 días para completar su desarrollo (Kaplan 1994); el ciclo de vida es de 20 a 25 días, a temperaturas entre 24 y 32 °C. Así como la colonia

de nematodos crece y expande su área de alimentación, también se extiende una coloración rojiza paralela a la estela de la planta, a lo ancho del tejido cortical (Fig.2D) (Blake 1961, 1966, Loos y Loos 1960). Las áreas rojizas características, están infectadas con todos los estados del nematodo, mientras que las áreas necróticas son el resultado de la invasión de microorganismos secundarios tales como hongos y bacterias (Blake 1961, 1966, Gowen 1995, Loos y Loos 1960). Los nematodos microviboros también son abundantes en los tejidos que están en proceso de desintegración (Loos y Loos 1960). La presencia de hongos en las lesiones inducidas por nematodos, probablemente, aumentan el deterioro de la raíz y contribuyen al volcamiento de la planta (Fig. 3) (Gowen y Queneherve 1990, Sikora y Schlossen 1973, Stover y Simmonds 1987).

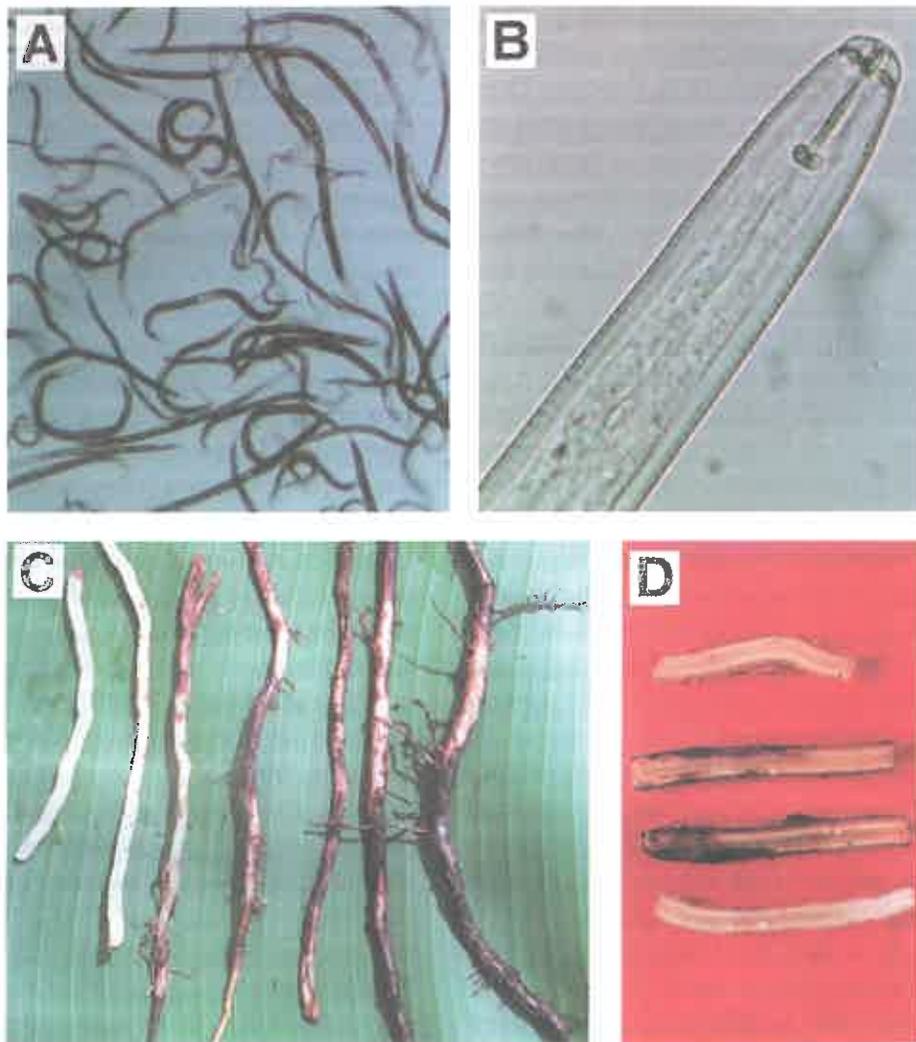
Debido a que tradicionalmente el banano es propagado en forma vegetativa, mediante cormos o partes de cormos (a menudo referidos como semillas), el material de siembra es la principal causa de la diseminación de la plaga a gran escala (Gowen y Queneherve 1990, Loos 1962, Loos y Loos 1960). Se considera que la diseminación de *R. similis* es relativamente reciente, y probablemente se inició a principios del siglo XIX (Gowen y Queneherve 1990). La amplia distribución del nematodo barrenador, a menudo, está asociada con la importación de cormos de banano del subgrupo Cavendish (Gowen y Queneherve 1990).

Dos razas de *R. similis* morfológicamente indistinguibles fueron inicialmente descritas por DuCharme y Birchfield (1956). Se observó que una raza parasitaba banano pero no cítricos, mientras que la otra infectaba tanto cítricos como banano. La raza que afecta el banano ha sido identificada en la mayoría de los países productores del mundo (Fig. 4), mientras que la raza que parasita cítricos es conocida únicamente en Florida. Con base en diferencias biológicas, bioquímicas, y cariotípicas, la raza que parasita cítricos fue elevada a nivel de especie y renombrada como *Radopholus citrophilus* (Huettel *et al.* 1984). Sin embargo, resultados moleculares y biológicos recientes indican que *R. similis* y *R. citrophilus* pueden ser la misma especie, y por tanto deben ser consideradas razas de *R. similis* (Kaplan *et al.* 1997).

Estudios moleculares recientes (Fallas *et al.* 1996, Hahn *et al.* 1994, 1996, Kaplan 1994, Kaplan *et al.* 1996, Marín 1997) han revelado un alto grado de similitud genética entre poblaciones del nematodo barrenador



**Figura 1.** Planta de banano desraizada, con daño severo causado principalmente por *Radopholus similis*.



**Figura 2.** (A) *Radopholus similis* proveniente de cultivos monoxénicos de discos de zanahoria. (B) Hembra de *R. similis* mostrando el estilete. (C) Raíces de banano mostrando el daño de nematodos. Las áreas necróticas son el resultado de la invasión de microorganismos secundarios como hongos y bacterias. (D) Corte longitudinal de una raíz de banano mostrando la decoloración del tejido cortical paralelo a la estela.

de diferentes partes del mundo. Fallas *et al.* (1996) en un análisis de agrupamiento de perfiles de ADN Polimórfico Amplificado Arbitrariamente (conocido como RAPD por sus siglas en inglés) de poblaciones de *R. similis*, principalmente africanas, encontraron dos grupos distintos; sin embargo, no era muy evidente la relación geográfica. Este autor sugirió que el conocer el origen del material de siembra podía ayudar a explicar la similitud genética entre las diferentes poblaciones del nematodo barrenador. En contraste, Marín (1997) encontró que la relación genética entre las poblaciones de América Central y el Caribe parece estar asociadas con su distribución geográfica. La agresividad del nematodo barrenador, una medida relativa a su daño potencial, sin considerar los genes de resistencia (Shaner *et al.* 1992), varía entre poblaciones de diferentes partes del mundo (Fallas *et al.* 1995, Hahn *et al.* 1996, Marín 1997, Price 1995, Sarah 1993); sin embargo, esta característica, aparentemente, no está relacionada con la similitud molecular entre las poblaciones (Marín 1997).

Aunque *R. similis* es más conocido como un parásito de especies de *Musa*, pimienta (*Piper nigrum*), caña de azúcar (*Saccharum spp.*) y cítricos (*Citrus spp.*), también ataca muchos otros cultivos importantes para el comercio mundial y la agricultura de subsistencia, tales como el café y el anturio (O'Bannon 1977). Browning (1980) sugirió que los patógenos de éstos y otros cultivos no evolucionaron en sistemas agrícolas sino que coevolucionaron con ellos en ecosistemas naturales, un proceso que aún continúa (Browning 1980). Los hospedantes más importantes de *R. similis* comparten un centro de origen común en la región Indo-Malaya (León 1987). Vavilov (1949) sostiene que los parásitos son más diversos en el centro de origen de sus hospedantes (cultivados o silvestres). Por tanto, considerando estos factores (Browning 1980, Vavilov 1949), es muy probable que *R. similis* sea nativo del área Indo-Malaya más que del área de Australia, como ha sido sugerido anteriormente (Luc 1987, Sher 1968). Razak (1994) sugiere que *R. similis* es nativo de Malasia. Por otra parte, Pattison *et al.* (1997) sugie-

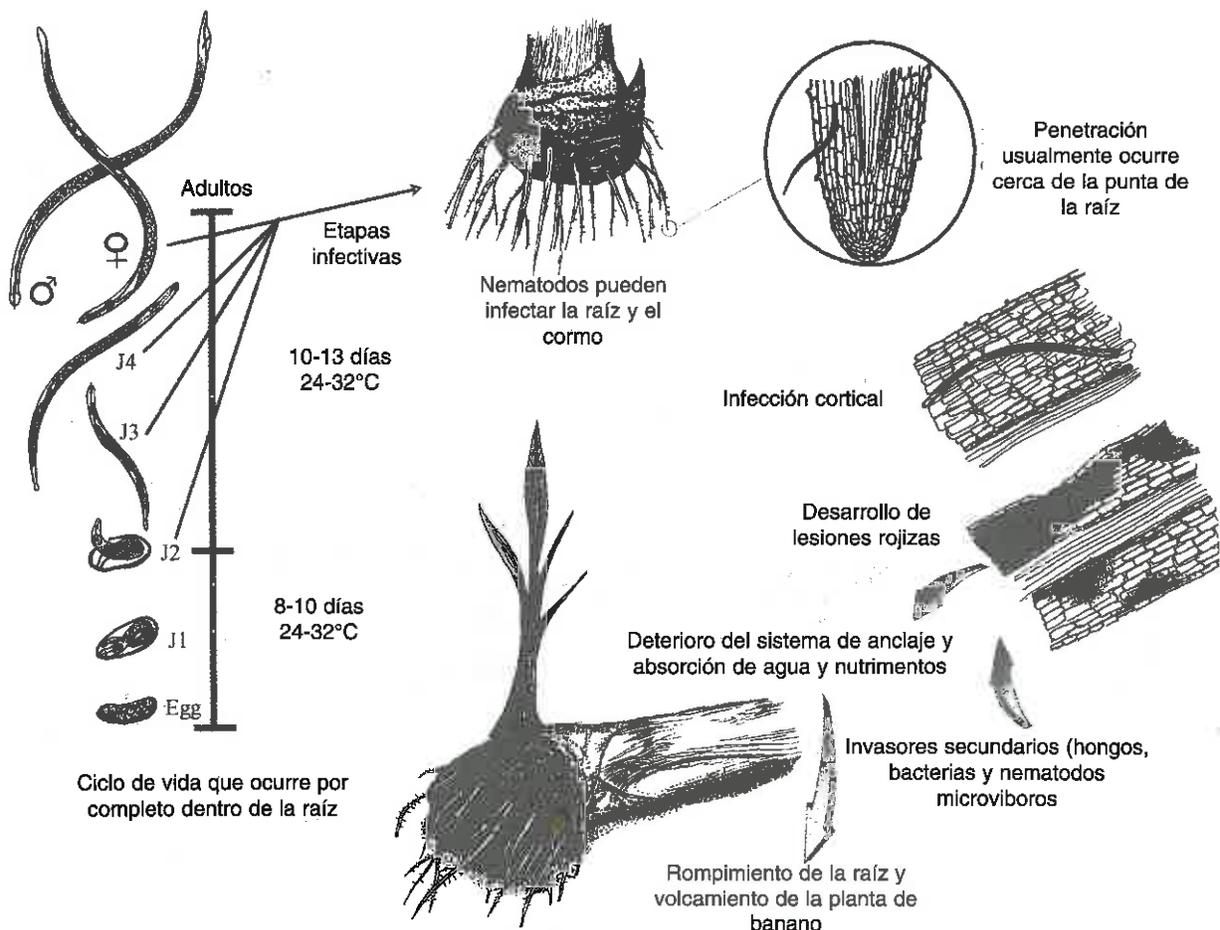


Figura 3. Ciclo de vida de *Radopholus similis*.

re que *R. similis*, fue introducido en Australia, probablemente con material infectado de Fiji.

### Llegada del banano al Nuevo Mundo

No se conocen las fechas exactas de la evolución y diseminación del banano comestible (Fig. 5). Los primeros eventos en el sureste Asiático probablemente ocurrieron hace miles de años y no cientos de años (Simmonds 1995). Desde el siglo V y hasta el XV, y quizás antes, el Océano Indico era navegado por mercaderes de Arabia Saudita, Persia, India, e Indonesia. Los cultivares de banano del sureste Asiático fueron distribuidos a través de la costa del océano Indico (De Langhe 1996, Reynolds 1927, United Fruit Company 1929). Estos cultivares son una mezcla de combinaciones genómicas, incluyendo el Rojo (AAA), Seda (Silk) y Prata (AAB), Pisang Awak (ABB), algunos plátanos e incluso cultivares AA y AB (De Langhe 1996).

El banano y el plátano ya estaban en Africa antes del arribo de los portugueses, en el siglo XV. Es más probable que estos cultivos ingresaran a Africa desde Indo-Malasia, que desde la India, por Madagascar y/o la costa este, aproximadamente en el siglo X (Hall 1991, Reynolds 1927, Robinson 1996, Simmonds 1995, United Fruit Company 1929). Sin embargo, los cultivares de las tierras altas de Africa son muy diferentes a los de las tierras bajas tropicales de ese mismo continente (Langdon 1993, Simmonds 1995). Se cree que el banano dulce (AA y AAA) fue llevado a Africa del este desde la antigüedad, con el establecimiento de los

árabes (Langdon 1993). Posteriormente, en el siglo VII o después, el banano de cocción o guineo (AAB y ABB) fue introducido en Madagascar desde Borneo del Sur. De allí fueron distribuidos al norte, a través del valle de los Zambies, y después hacia el oeste a lo largo de Congo y la costa oeste (Langdon 1993). En el oeste de Africa hay principalmente banano de cocción, aunque se cultivan algunos clones pequeños y dulces (AA y AAA). El banano para postre se encuentra principalmente en el este de Africa, incluyendo a Egipto (Langdon 1993).

Los portugueses primero exploraron la costa de Guinea de 1469 a 1474, y al final del siglo XV llevaron banano de allí a las Islas Canarias (Hall 1991, Langdon 1993, Reynolds 1927, Rodríguez 1955, United Fruit Company 1929). Sin embargo, aún no se conoce la fecha exacta de cuando llegó el banano a las Islas Canarias y todavía existe controversia al respecto (Hernández 1991). Simmonds (1995) y Hernández (1991) proveen evidencia de que el banano fue llevado a Gran Canaria en el año 1402, mientras Rodríguez (1955), Hernández (1991) y Langdon (1993) informan que dicho evento ocurrió en 1482. Dado que los portugueses primero exploraron la Costa de Guinea, entre 1469 y 1474, es más probable que el banano fuera introducido al final de los años 1400 que al inicio de ese siglo, como fue señalado por Simmonds (1995) y Hernández (1991). Este último autor también considera la posibilidad de que el banano llegara de Filipinas, que estaba bajo el dominio de España.

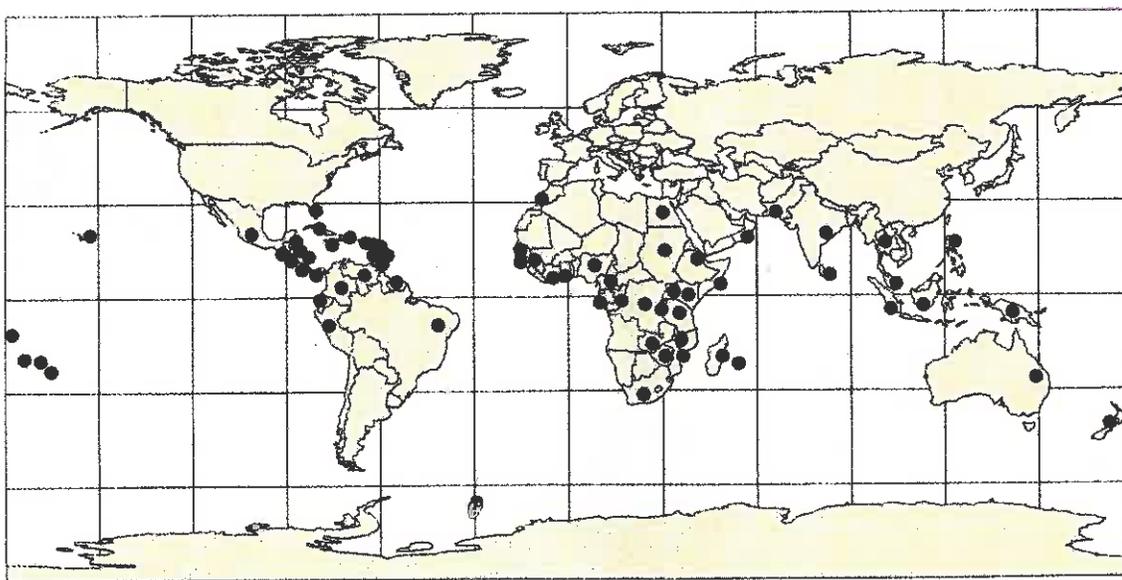


Figura 4. Distribución mundial del nematodo barrenador (*Radopholus similis*) asociado con banano (● = infectado con *R. similis*).

En 1516, el fraile Tomás de Berlanga llevó una planta de banano a la Española, actualmente República Dominicana, procedente de las Islas Canarias (Fernández de Oviedo y Valdéz 1959, Langdon 1993, Reynolds 1927, Rodríguez 1955, Simmonds 1959, United Fruit Company 1929, Von Loesecke 1950). También se ha sugerido que el banano fue introducido al Nuevo Mundo por los portugueses, por las Islas de Cabo Verde (Ashe *et al.* 1971, Bradley 1992, Van Sertima 1976). Simmonds (1959) señala que el clon traído por Tomás de Berlanga estaba identificado. Sin embargo, Langdon (1993), sostiene que el banano introducido por el Fraile de Berlanga era conocido como "Dominicos" el cual todavía es un nombre común para un grupo de plátanos perteneciendo al Grupo French. Los primeros clones identificados en el Nuevo Mundo fueron el Manzano o "Silk Fig" (*Musa* AAB) y el plátano francés (*Musa* AAB), los cuales estaban presentes en las Islas del Caribe en el siglo XVII (Simmonds 1959).

El fraile de Berlanga también sembró banano en el monasterio de San Francisco, donde creció bien (Rodríguez 1955). Entonces Vasco de Tueraoa llevó este cultivo a Cuba en 1529 y a México en 1531, y Diego Guadierrez lo introdujo en Costa Rica en 1541. Cuando el padre de Berlanga, fue nombrado Obispo de Panamá, también llevó plantas de banano a ese país (Rodríguez 1955).

Aunque hipotéticamente se ha mencionado, existe poca evidencia de la presencia de banano en la época precolombina en el Nuevo Mundo (Simmonds 1995, Von Loesecke 1950). Esta hipótesis está basada en hallazgos de hojas que parecen de banano, en depósitos precolombinos en América del Sur. Sin embargo, estas hojas pueden ser de otras especies muy relacionadas a este cultivo (Von Loesecke 1950). También hay informes de estudios realizados en tumbas precolombinas en Perú, donde no sólo se encontraron hojas de banano sino también frutos sin semilla de la vieja especie de *Musa paradisiaca*, hoy conocida como el grupo de plátanos (*Musa* AAB) (Ashe *et al.* 1971, Van Sertima 1976). De acuerdo con Fernández de Oviedo (Fernández de Oviedo y Valdéz 1959, originalmente publicado de 1535 a 1537), el banano no se conocía en el Nuevo Mundo antes de 1516, época en la cual fue traído a Santo Domingo por el padre de Berlanga.

En contraste, Langdon (1993), encontró evidencia de que el banano era "fruto de la tierra", lo cual significa que ya estaba en América cuando los Españoles llegaron. Este autor incluye evidencias de la presen-

cia de plantas de banano en Puerto Rico, México, Costa Rica, Panamá, Colombia, las Guayanas, Brasil, Ecuador y Perú, desde 1535 a 1556; sugiriendo que esta fruta ha sido una fuente importante de alimento, tanto en Polinesia como en América del Sur por más de 2000 años y ofrece información sobre la relación entre estas dos regiones (Langdon 1993). Von Loesecke (1950) señala que probablemente esta fruta fue introducida desde el Pacífico con las primeras migraciones de los Polinesios al inicio de la era cristiana. Otros investigadores han concluido que plantas de banano del grupo Maia Maoli (tipo popoulu) pueden haber sido llevadas a Ecuador desde las islas del Pacífico, aproximadamente en el año 200 AC (De Langhe 1996, Langdon 1993).

Cuando el Amazonas fue explorado, 24 años después de que el banano fue llevado a la Española, esta especie ya era cultivada a lo largo del río. Debido a que es poco probable que esta fruta se diseminara desde México hasta Brasil, en la costa Atlántica de América del Sur tan rápidamente (Ashe *et al.* 1971, Bradley 1992, Van Sertima 1976), es que se tiene la hipótesis de que estas plantas tropicales fueron traídas al Nuevo Mundo antes de la llegada de Cristóbal Colón, por los habitantes del este de África (Ashe *et al.* 1971, Bradley 1992, Van Sertima 1976).

Del siglo XVI al XIX, los portugueses y los españoles llevaron el banano a toda la América tropical. Los mercaderes holandeses, ingleses, franceses y alemanes también tuvieron una contribución importante en la distribución de Gros Michel y del grupo Cavendish a África del oeste, Latinoamérica y el Caribe (De Langhe 1996). El Gros Michel y el Dwarf Cavendish fueron introducidos a inicios del siglo XIX, y algunos otros clones fueron llevados a Dominica desde el Jardín Botánico de Kew en 1902 (Simmonds 1959).

Aunque el banano fue introducido en América hace muchísimos años, es poco probable que *R. similis* ingresara en la misma época. El hecho de que este nematodo no esté presente en las Islas Canarias (Gowen y Queneherve 1990) respalda esta hipótesis, porque estas islas eran un punto importante para el comercio entre América y el Viejo Mundo.

### **Introducción del Gros Michel (*Musa* AAA)**

El cultivar Gros Michel aparentemente es nativo de Burma (actualmente Myanmar), Tailandia, Malasia, Indonesia, y Ceilán (actualmente Sri Lanka), pero no está presente o fue recientemente introducido en Fili-

pinas, Nueva Guinea y el Pacífico, África y el Nuevo Mundo. En el Nuevo Mundo, este cultivar llegó primero a Martinica (Fig. 6), a inicios del siglo XIX (Reynolds 1927, Rodríguez 1955, Simmonds 1959). Kervegant (1935), citado por Simmonds (1959), sugiere que un oficial naval lo introdujo al jardín botánico de St. Pierre.

Aunque no se conoce la fecha exacta del establecimiento de la industria bananera en América, se sabe que fue después del ingreso del cultivar Gros Michel a Jamaica, aproximadamente en 1835, proveniente de Martinica y traído por Jean Francois Pouyat (Reynolds 1927, Rodríguez 1955, Simmonds 1959, United Fruit Company 1929). Cuarenta años más tarde, este cultivar estaba ampliamente distribuido en América Central y el Caribe, y fue empleado para la comercialización de banano (Simmonds 1959). Se cree que las plantaciones comerciales de América Central y Cuba se originaron de la planta llevada a Jamaica (Reynolds 1927).

Colombia hizo la primera importación de hijos de Gros Michel de Jamaica en 1892; Surinam importó material en 1904 (Rodríguez 1955). Este cultivar crecía casi exclusivamente en Almirante, Panamá. Aparentemente, las infecciones de *R. similis* en banano estaban muy generalizadas, y las plantas desraizadas eran abundantes. Sin embargo, los síntomas asociados con la infección de este nematodo en raíces y cormos de Gros Michel y en el cultivar Cocos fueron descritos hasta 1957 (Loos y Loos 1960).

La introducción del cultivar Gros Michel a las islas del Pacífico fue aproximadamente entre finales del

siglo XIX y principios del siglo XX: de Jamaica a Fiji en 1891 (vía Kew, Inglaterra), a Hawai en 1903 (vía Nicaragua), y a Australia en 1910 (Price 1995, Sarah *et al.* 1993). No hay información sobre la introducción de este cultivar a Fiji antes de la que se dio desde Jamaica, durante la misma época en que Cobb hizo sus observaciones sobre *R. similis*. Aunque ningún cultivar fue mencionado durante la visita de Cobb a Fiji, entre 1890 y 1891, es posible que los primeros especímenes de *R. similis* observados estaban asociados con las plantas de Gros Michel importadas de Jamaica.

La introducción de *R. similis* al Nuevo Mundo, probablemente se dio con la introducción de Gros Michel. El grupo Gros Michel posee un nivel moderado de resistencia al nematodo barrenador (Rowe y Richardson 1975), lo cual podría haber causado que la plaga prácticamente no fuera observada en esa época. En evaluaciones iniciales sobre nematodos en América Central se determinó que *R. similis* estaba presente en Gros Michel (Loos y Loos 1960, United Fruit Company 1958). Además, Cobb recibió de Jamaica cormos de Gros Michel infectados con *R. similis*, los cuales usó para completar su descripción del nematodo en 1915 (Cobb 1915, Thorne 1961).

#### Introducción de Cocos (*Musa AAA*)

La historia de la industria bananera en América Central es casi la historia de la United Fruit Company (Simmonds 1959, Soto 1992). Antes de 1958, los nematodos no eran importantes para la industria bananera.

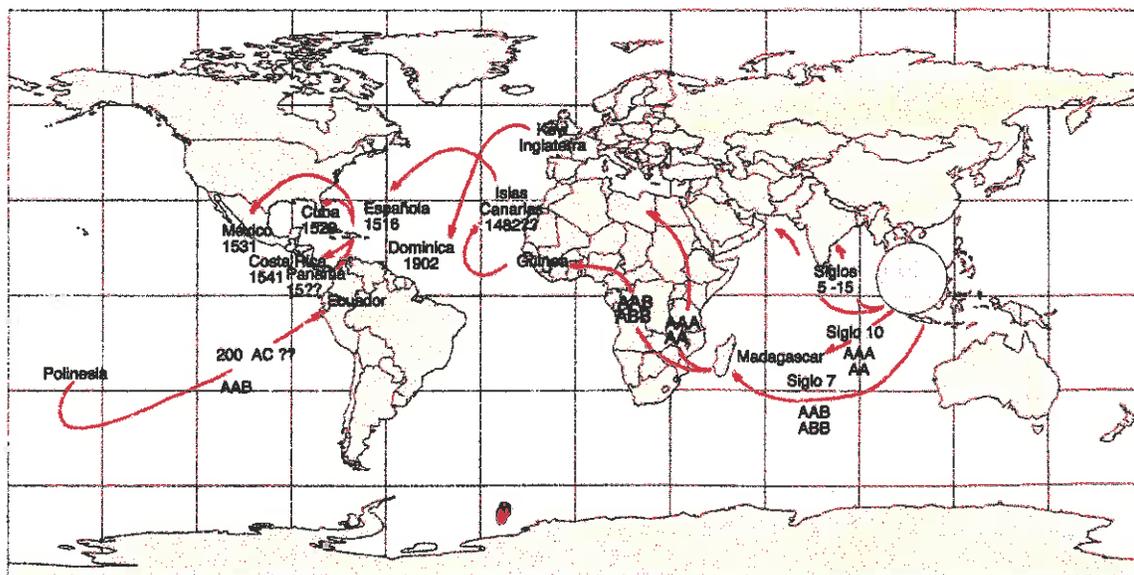


Figura 5. Dispersión del cultivo de banano de la Región Indo-Malaya al resto del mundo.

Los productores de banano tradicionalmente cultivaban Gros Michel, el cual resistía el daño de estos patógenos. A mediados de 1950, un mutante de Gros Michel, conocido como Cocos, fue distribuido a todas las plantaciones de la United Fruit Company, en Guatemala, Honduras, Costa Rica, Panamá, República Dominicana y Turbo, Colombia, y posiblemente a Nicaragua y Ecuador (Fig.7). El cultivar Cocos fue encontrado en la finca Cocos en Puerto Armuelles, Panamá. Debido a que este cultivar era más resistente al viento que Gros Michel, fue usado para sustituir a este último. Desafortunadamente, las semillas traídas de Puerto Armuelles estaban contaminadas con *R. similis*, y cientos de miles de semillas infectadas fueron distribuidas en todas las plantaciones de la United Fruit Co. (C. Stephens, Comunicación personal)<sup>4</sup>.

La finca Cocos, el sitio donde la planta Cocos fue originalmente encontrada en Armuelles en 1948, fue muestreada en 1958, y no se detectó infección de *R. similis* (United Fruit Company 1958). De la finca Cocos, el cultivar fue llevado a Palo Blanco, y de allí a Zapatera y a la finca Jobo. El sitio en Zapatera fue probablemente el origen de la infección de Cocos en Armuelles. El Gros Michel cultivado en estas zonas también estaba infectado con este nematodo (United Fruit Company 1958). Cocos fue introducido a Honduras desde Armuelles en 1955. La camas de los viveros donde se estableció en Guaruma 2, y todas las plantaciones usadas como fuente de semilla también estaban infectadas (United Fruit Company 1958).

El nematodo barrenador fue encontrado en todas las divisiones de la United Fruit Co. muestreadas a finales de los años 50 (United Fruit Company 1958). A excepción de los distritos de Tiquisate en Guatemala y Esquinas en Costa Rica, la presencia de la infección estaba limitada al cultivar Cocos. Así el patógeno fue aparentemente transportado con la semilla de este cultivar. En Tiquisate y Esquinas, el nematodo también fue encontrado en el cultivar Gros Michel (United Fruit Company 1958). Por tanto, la segunda diseminación de *R. similis* ocurrió con la distribución del cultivar Cocos. La fuente de contaminación fue, muy probablemente, una planta de Gros Michel.

### **Diseminación de abacá (*Musa textilis*) y ornamentales**

Una colección de abacá, conocida también como fibra de Manila, fue llevada al Jardín Botánico de Lanceti-

lla, Honduras desde Panamá en 1928 (Rosengarten 1995). Sin embargo, la fuente original del material de siembra de abacá no está documentada. El establecimiento de plantaciones de abacá en América Central durante 1941 y 1942 se hizo con material vegetal proveniente de Lancetilla (Rosengarten 1995). Si el abacá fue infectado con *R. similis* durante la producción de semilla en Lancetilla, es muy probable, que el establecimiento de esta *Musa* también contribuyera a la diseminación del nematodo barrenador en América Central. Sin embargo, no hay evidencia documental que respalde esta hipótesis.

*R. similis* ha sido introducido a otras regiones con diferentes hospedantes, tales como ornamentales (Martin 1978, Whitlock 1957), incluyendo especies pertenecientes al género *Musa* (Whitlock 1957). Por tanto, también es posible que el nematodo barrenador ingresara a las áreas productoras de banano con plantas ornamentales.

### **Diseminación de cultivares Cavendish (*Musa AAA*)**

La primera y más conocida introducción de Dwarf Cavendish (banano Chino) fue realizada por Charles Telfair, quien en 1826 llevó este material desde el sur de China hasta Mauricio (Fig. 8). En 1829, algunas plantas fueron enviadas a Barclay de Burryhill en Inglaterra. Posteriormente, el Duque de Devonshire compró una planta para sus jardines privados en Chatsworth. Desde allí, el misionero John Williams llevó hijos a Samoa en 1838, desde donde el clon fue llevado a Tonga y Fiji en 1840, y de Tahití a Hawai en 1855. Probablemente, Australia y Nueva Guinea recibieron el clon de la misma manera forma (Price 1995, Reynolds 1927, Simmonds 1995).

En 1884, el Dwarf Cavendish fue importado y sembrado en Bath Gardens, St. Thomas. En 1909, el cultivar Robusta, también conocido como Valery, fue llevado a Jamaica desde Guatemala y plantado en South Manchester (Rodríguez 1955, Simmonds 1959). Sin embargo, no está documentado la forma como Robusta llegó a Guatemala.

Lacatán, otro cultivar Cavendish, fue sembrado en el Colegio Imperial en Trinidad en 1933. Las plantas madres fueron obtenidas por el Departamento de Agricultura de Trinidad & Tobago, y aparentemente provenían de Filipinas (Fig. 8) vía Costa Rica (Bridge 1993). Lacatán fue introducido a Jamaica desde Trinidad & Tobago aproximadamente en 1926 (Rodríguez 1955).

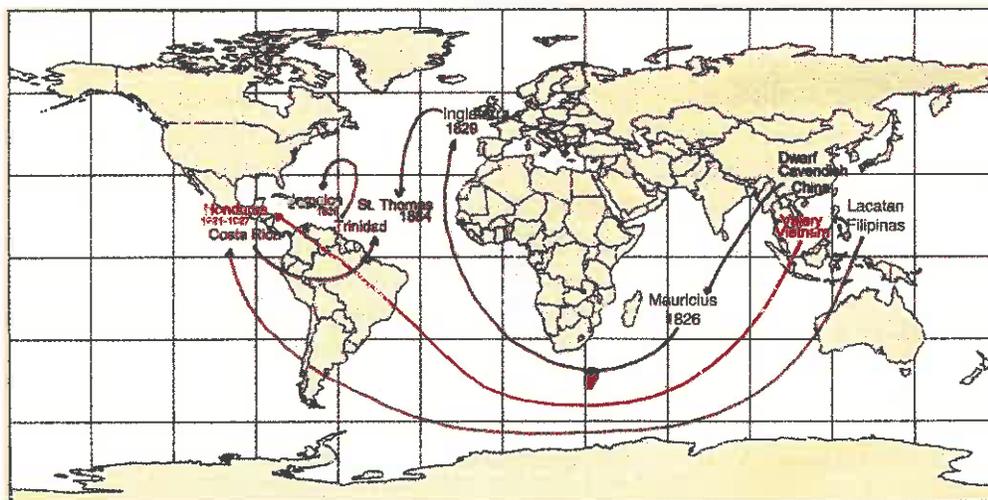
<sup>4</sup> C. Stephens, United Fruit Company 1958



**Figura 6.** Introducción del cultivar de banano Gros Michel desde el sureste Asiático.



**Figura 7.** Distribución del cultivar de banano Cocos en América Central y América del Sur.



**Figura 8.** Diseminación de los cultivares de banano del Sub-grupo Cavendish desde el sureste Asiático al resto del mundo.

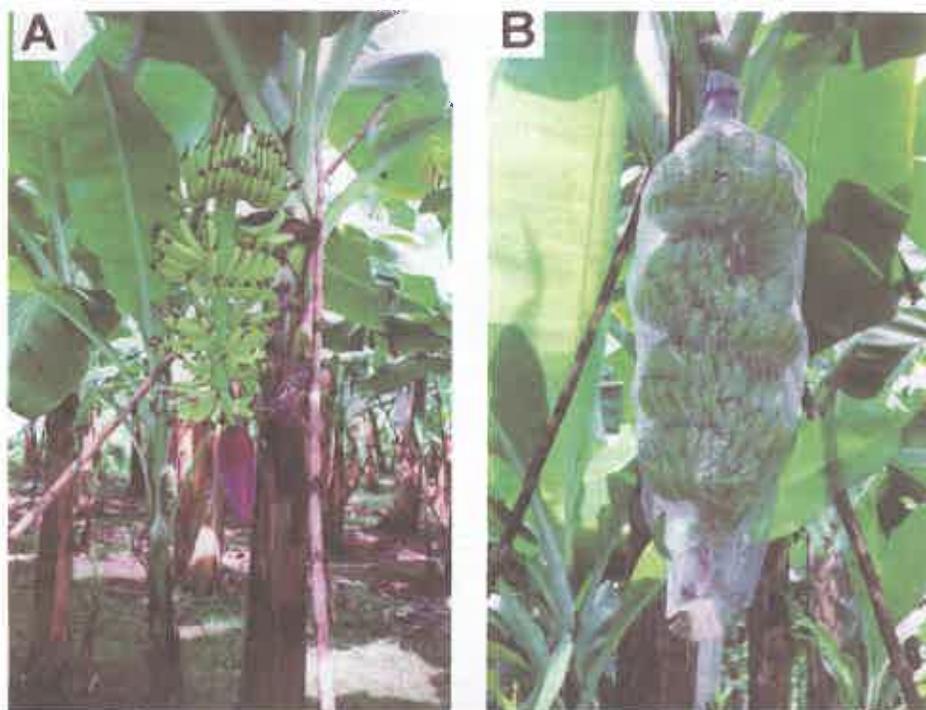


Figura 9. (A) Inflorescencia de banano cv. Grande Naine. (B) Racimo embolsado de Grande Naine antes de la cosecha.

A excepción de la Standard Fruit Co. en La Estrella, Costa Rica, y el Valle de Aguán, Honduras, sólo la United Fruit Co. produjo banano en América Central antes de 1960 (C. Stephens, comunicación personal). Cuando la United Fruit Co. comenzó a utilizar los tipos Cavendish por su resistencia a la enfermedad de Panamá, entre 1958 a 1959, un embarque de cormos de Lacatán, totalmente infectados con *R. similis*, fue llevado a Changuinola, Panamá, desde Jamaica. La mayoría de las fincas en Changuinola fueron sembradas con el material infectado, y la producción disminuyó rápidamente (Loos y Loos 1960; C. Stephens, comunicación personal).

La United Fruit Co. tenía un pequeño programa de mejoramiento genético del banano en Panamá en la década de 1920. El programa se inició con cultivares traídos de Cuba, Panamá y Costa Rica. La cantidad de germoplasma se fue aumentando con material recolectado entre 1921 y 1927 por D.A. Reinking en la Indochina Francesa, Filipinas, los estados Malay, Siam, Sumatra, Java, Celebes, Nueva Guinea, Halmahera, Banda, Australia, Burma y la India. Posteriormente, el programa terminó y la colección fue trasladada a Lantecilla, Honduras. Un nuevo cultivar, Valery, fue llevado por Reinking desde el Jardín Botánico de Saigón (Fig. 8). Valery, el cual es resistente a la marchitez cau-

sada por *Fusarium* (Mal de Panamá), reemplazó al cultivar Gros Michel en todos los países, excepto Panamá, en los años 1960. En la década de 1980, el Valery fue reemplazado por un cultivar enano, Grande Naine (Rosengarten 1995, Rowe y Richardson 1975; C. Stephens, comunicación personal), el cual es uno de los materiales más utilizados actualmente (Fig. 9).

### Conclusiones

Gowen y Queneherve (1990) afirman que la amplia distribución del nematodo barrenador, a menudo está relacionada con las áreas donde se importaron cormos de banano del subgrupo Cavendish. La evidencia presentada en esta revisión no contradice dicha aseveración. Sin embargo, hay razones para creer que la dispersión de *R. similis* comenzó en América Central y las islas del Caribe a inicios de 1820, cuando el Gros Michel llegó a Martinica (Simmonds 1959). Es muy probable que los cultivares Cavendish no hubieran estado asociados al nematodo barrenador hasta su arribo a América. Dado que en las Islas Canarias y en Mauricio, donde aparentemente, *Radopholus* sp. no se ha informado infectando banano (Gowen y Queneherve 1990), y tampoco se ha reportado su presencia en China (Zhou y Xie 1992) o Vietnam (Bridge 1993), lugares donde se recolectaron inicialmente Dwarf

Cavendish y el Valery, *R. similis* debe haber estado en contacto con estos cultivares en algún otro lugar. *R. similis* no era conocido en Filipinas, donde el Lacatán fue recolectado, hasta en 1960 con la introducción de material de siembra de Cavendish, el cual estaba contaminado (A. Salas. Comunicación personal). El hecho de que los cultivares Cavendish, los cuales son más susceptibles que Gros Michel y Cocos a *R. similis* (United Fruit Company 1962, 1963), fueran utilizados para sustituir estos últimos (Stephens 1995), definitivamente contribuyó a la amplia dispersión del nematodo en los países productores de banano.

Existe mucha evidencia circunstancial sobre el origen común de las poblaciones del nematodo barrenador en América Central y el Caribe. El genoma tan bien conservado de este nematodo (Fallas *et al.* 1996, Hahn *et al.* 1994, Kaplan 1994, Kaplan *et al.* 1996, Marín 1997) podría explicarse por esta razón. Con un conocimiento más preciso de la distribución de este nematodo en el área, es posible reducir aún más la relación genética entre las poblaciones. La variación en la agresividad entre poblaciones de este parásito (Fallas *et al.* 1995, Marín 1997, Pinochet 1992, Sarah *et al.* 1993), a pesar de su gran similaridad genética, posiblemente se deba a la evolución de las poblaciones bajo condiciones ambientales específicas. Esta variación también pudo haber estado influenciada por los rápidos cambios de cultivares durante el siglo XX.

### Agradecimientos

A C. Stephens, A. Salas, J.A. Sandoval y D.T. Kaplan por contribuir con información útil a este trabajo, y a H. Vélchez por algunas fotografías y el diagrama del ciclo de vida de *Radopholus*.

### Literatura citada

- Ashe, G; Heyerdahl, T; Ingstad, H; Luce, JV; Meggers, BJ; Wallace, BL. 1971. The Quest for America. New York, Praeger. p. 135-137.
- Blake, CD. 1961. Root rot of bananas caused by *Radopholus similis* (Cobb) and its control in New South Wales. *Nematologica* 6:295-310.
- Blake, CD. 1966. The histological changes in banana roots caused by *Radopholus similis* and *Helicotylenchus multicinctus*. *Nematologica* 12:129-137.
- Bradley, M. 1992. Dawn Voyage: The Black African Discovery of America. New York, A & B Books. p. 138-139.
- Bridge, J. 1993. Worldwide distribution of the major nematode parasites of bananas and plantains. In *Biological and Integrated Control of Highland Banana and Plantain Pests and Diseases*. Gold, CS; Gemmill, B. Ed. Nigeria, IITA. p. 185-198
- Browning, JA. 1980. Genetic protective mechanisms of plant-pathogen populations: Their coevolution and use in breeding for resistance. In *Biology and Breeding for Resistance to Arthropods and Pathogens in Agricultural Plants*. Texas Agric. Exp. Stn., Misc. Publ. 1451. p. 52-75.
- Chandler, S. 1995. The nutritional value of bananas. In Gowen, S. Ed. *Bananas and Plantains*. London, Chapman & Hall. p. 468-480.
- Charles, JSK. 1998. Nematode pests of banana. In *Nematode Diseases in Plants*. Trivedi, PC. Ed. New Delhi, India, CBS. p. 288-309.
- Christie, JR. 1959. Plant Nematodes: Their Bionomics and Control. Gainesville, Agricultural Experiment Station, University of Florida. p. 96-113.
- Cobb, NA. 1915. *Tylenchus similis*, the cause of a root disease of sugar cane and bananas. *J. Agric. Res.* 4:561-568.
- Davide, RG. 1980. Influence of cultivar, age, soil texture, and pH on *Meloidogyne incognita* and *Radopholus similis* on banana. *Plant Dis.* 64:571-573.
- De Langhe, E. 1996. Banana and plantain: The earliest fruit crops? In *INIBAP Annual Report 1995*. Montpellier, France, INIBAP. p. 6-8.
- DuCharme, EP; Birchfield, W. 1956. Physiologic races of the burrowing nematode. *Phytopathology* 46:615-616.
- Fallas, G; Sarah, JL; Fargette, M. 1995. Reproductive fitness and pathogenicity of eight *Radopholus similis* isolates on banana plants (*Musa* AAA cv. Poyo). *Nematropica* 25:135-141.
- Fallas, G; Hahn, ML; Fargette, M; Burrows, PR; Sarah, JL. 1996. Molecular and biochemical diversity among isolates of *Radopholus* spp. from different areas of the world. *J. Nematol.* 28:422-430.
- Fernández de Oviedo y Valdéz, G. 1959. Historia General y Natural de las Indias: Estudio preliminar de Juan Pérez Tudela. Vol. I. Libro IX. Cap. I. p. 247-250.
- Gowen, SR. 1979. Some considerations of problems associated with the nematode pests of bananas. *Nematropica* 9:79-91.
- Gowen, SR. 1994. Burrowing nematode root rot (blackhead toppling disease). In *Compendium of Tropical Fruit Diseases*. Ploetz, RC; Zentmyer, GA; Nishijima, WT; Rohrbach, KG; Ohr, HD. Eds. St. Paul, APS. p. 21
- Gowen, S. 1995. Pests. In *Bananas and Plantains*. Gowen, S. Ed. London, Chapman & Hall. p. 382-402.
- Gowen, SR; Queneherve, P. 1990. Nematode Parasites of Bananas, Plantains and Abaca. In *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. Luc, M.; Sikora, RA; Bridge, J. Ed. Wallingford, CAB International, Eng. p. 431-460
- Hahn, ML; Burrows, PR; Gnanapragasam, NC; Bridge, J; Vines, NJ; Wright, DJ. 1994. Molecular diversity amongst *Radopholus similis* populations from Sri Lanka detected by RAPD analysis. *Fundam. Appl. Nematol.* 17:275-281.
- Hahn, ML; Burrows, PR; Wright, DJ. 1996. Genomic diversity between *Radopholus similis* populations from around the world detected by RAPD-PCR analysis. *Nematologica* 42:537-545.
- Hall, RL. 1991. Savoring Africa in the New World. In *Seeds of Change*. Viola, HJ; Margolis, C. Ed. Washington, DC., Smithsonian Institution. p. 161-171.
- Hallam, D. 1995. The world banana economy. In *Bananas and Plantains*. Gowen, S. Ed. London, Chapman & Hall. p. 509-533.
- Hernández, G. 1991. Los plátanos. Barcelona, ImpreRapid. p. 11-13.
- Huetzel, RN; Dickson, DW; Kaplan, DT. 1984. *Radopholus citrophilus* sp.n. Nematoda, a sibling species of *Radopholus similis*. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 51:32-35.
- Kaplan, DT. 1994. Molecular characterization of the burrowing nematode sibling species, *Radopholus citrophilus* and *R. similis*. In *Advances in Molecular Plant Nematology*. Lamber-

- ti, F; De Giorgi, C; McK Bird, D. Ed. New York, Plenum Press. p. 77-83.
- Kaplan, DT; Vanderspool, MC; Garret, C; Chang, S; Opperman, CH. 1996. Molecular polymorphisms associated with host range in the highly conserved genomes of burrowing nematodes, *Radopholus* spp. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 9:32-38.
- Kaplan, DT; Vanderspool, MC; Opperman, CH. 1997. Sequence tag site and host range assays demonstrate that *Radopholus similis* and *R. citrophilus* are not reproductively isolated. *J. Nematol.* 29:421-429.
- Langdon, R. 1993. The banana as a key to early American and Polynesian history. *J. Pacific Hist.* 28:15-35.
- León, J. 1987. *Botánica de los cultivos tropicales.* 2 ed. San José, Costa Rica, IICA. p. 91-92, 133-134, 238, 414.
- Loos, CA. 1962. Studies on the life-history and habits of the burrowing nematode, *Radopholus similis*, the cause of black-head disease of bananas. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 29:43-56.
- Loos, CA; Loos, S. 1960. The black-head disease of bananas (*Musa acuminata*). *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 27:189-193.
- Luc, M. 1987. A reappraisal of Tylenchina (Nemata). 7. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. *Revue Nematol.* 10:203-218.
- Marín, DH. 1997. Characterization and diversity of *Radopholus similis* populations on selective germplasm of bananas. Tesis Ph.D. Raleigh, North Carolina State University.
- Martin, KJ. 1978. Occurrence of *Radopholus similis* and other plant-parasitic nematodes in ornamental plants being transported into Arizona. *Plant Dis. Rep.* 62:293.
- Mateille, T. 1994. Comparative host tissue reactions of *Musa acuminata* (AAA group) cvs Poyo and Gros Michel roots to three banana-parasitic nematodes. *Ann. Appl. Biol.* 124:65-73.
- McSorley, R. 1994. The spiral nematode. In *Compendium of Tropical Fruit Diseases.* Ploetz, RC; Zentmyer, GA; Nishijima, WT; Rohrbach, KG; Ohr, HD. Ed. St. Paul, MN, APS. p. 22.
- O'Bannon, JH. 1977. Worldwide dissemination of *Radopholus similis* and its importance in crop production. *J. Nematol.* 9:16-25.
- Orton, KJ; Siddiqi, MR. 1973. *Radopholus similis.* CAB Descriptions of plant-parasitic nematodes. Set 2, no. 27.
- Pattison, T; Stanton, J; Lindsay, S. 1997. Burrowing nematode management. Brisbane, Queensland, Department of Primary Industries. Inform. Ser. QI97034.
- Pinochet, J. 1992. Breeding bananas for resistance against lesion forming nematodes. In *Nematology from Molecule to Ecosystem.* Gommers, FJ; Maas, PWT. Ed. Scotland, European Society of Nematologists. p. 157-169.
- Price, NS. 1995. The origin and development of banana and plantain cultivation. In *Bananas and Plantains.* Gowen, SR. Ed. London, Chapman & Hall. p. 1-13.
- Razak, AR. 1994. Plant-parasitic nematodes, a potential threat to commercial cultivation of banana in Malaysia. In *Banana Nematodes and Weevil Borers in Asia and the Pacific.* Valmayor, RV; Davide, RG; Stanton, JM; Treverrow, NL; Roa, VN. Ed. Philippines, INIBAP/APSNET. p. 34-45.
- Reynolds, PK. 1927. *The Banana: Its History, Cultivation and Place Among Staple Foods.* Cambridge, MA, Houghton Mifflin. p. 13-38.
- Robinson, JC. 1996. *Bananas and Plantains.* Wallingford, Eng., CAB International. p. 1-2.
- Rodríguez, DW. 1955. Bananas: An outline of the economic history of production and trade with special reference to Jamaica. Kingston, Jamaica, Department of Agriculture, Commodity Bull. no. 1.
- Rosengarten, F Jr. 1995. Wilson Popenoe: Explorador Agrícola, Educador y Amigo de América Latina. Tegucigalpa, Honduras, Guaymuras. p. 174-179.
- Rowe, PR; Richardson, DL. 1975. Breeding bananas for disease resistance, fruit quality and yield. La Lima, Honduras, Tropical Agriculture Research Services. Bull. no. 2.
- Sarah, JL; Sabatini, C; Boisseau, M. 1993. Differences in pathogenicity to banana (*Musa* sp., cv. Poyo) among isolates of *Radopholus similis* from different production areas of the world. *Nematropica* 23:75-79.
- Sasser, JN; Freckman, DW. 1987. A world perspective on nematology: The role of the society. In *Vistas on Nematology.* Veech, JA; Dickson, DW. Ed. Hyattsville, MD, Society of Nematologists. p. 7-14.
- Shaner, G; Stromberg, EL; Lacy, GH; Barker, KR; Pirone, TP. 1992. Nomenclature and concepts of pathogenicity and virulence. *Annu. Rev. Phytopathol.* 30:47-66.
- Sher, SA. 1968. Revision of the genus *Radopholus* Thorne, 1949 (Nematoda: Tylenchoidea). *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 35:219-237.
- Sikora, RA; Schlossen, E. 1973. Nematode and fungi associated with root systems of bananas in a state of decline in Lebanon. *Plant Dis. Rep.* 57:615-618.
- Simmonds, NW. 1959. *Bananas.* London, Longmans, Green. p. 76-97, 308-333.
- Simmonds, NW. 1995. *Bananas.* In *Evolution of Crop Plants.* 2 ed. Smart, J; Simmonds, NW. Ed. Essex, England, Longman Scientific and Technical. p. 370-375.
- Simmonds, NW; Shepherd, K. 1955. The taxonomy and origins of cultivated bananas. *J. Linn. Soc. Bot.* 55:302-312.
- Soto, M. 1992. *Bananos: Cultivo y comercialización.* 2. ed. San José, Costa Rica, Lil.
- Stephens, C. 1995. *Banana Nematodes: Past, Present and Future.* In *International Congress of Tropical Nematology (1, 1995).* Memory. p. 172-175.
- Stover, RH; Simmonds, NW. 1987. *Bananas.* 3 ed. Essex, Eng., Longman Scientific & Technical.
- Thorne, G. 1961. *Principles of Nematology.* New York, McGraw-Hill. p. 226-229.
- United Fruit Company. 1929. *The Story of the Banana.* 5 ed. Boston, Crosby.
- United Fruit Company. 1958. Distribution of plant-parasitic nematodes and their importance in growth and production of bananas. *United Fruit Co. Annu. Rep.* p. 54-58.
- United Fruit Company. 1962. Varietal susceptibility to *Radopholus similis.* *United Fruit Co. Annu. Rep.* p. iv, 73.
- United Fruit Company. 1963. Valery planting program. *United Fruit Co. Annu. Rep.* p. 82.
- Van Sertima, I. 1976. They came before Columbus. New York, Random House. p. 193-203.
- Vavilov, NI. 1949. The Origin, Variation, Immunity and Breeding of Cultivated Plants. Trans. K. Starr Chester, Waltham, Chronica Botanica.
- Von Loesecke, HW. 1950. *Bananas.* 2 ed. New York, Interscience. p. 1-15.
- Whitlock, LS. 1957. The burrowing nematode found on ornamental banana plants at Baton Rouge, Louisiana. *Plant Dis. Rep.* 41(9). Mimeo.
- Zhou, Z; Xie, L. 1992. Status of banana diseases in China. *Fruits* 47:715-721.

# Nematodos que atacan cultivos ornamentales

Noel Ortuño<sup>1</sup>  
Rolando Oros<sup>2</sup>

**RESUMEN.** Por la importancia de la producción de plantas ornamentales y flores, y de su exportación o importación, existe el peligro permanente de diseminación de nematodos. Por eso, se ha realizado una revisión de literatura para poner a disposición de los productores e investigadores un resumen sobre los nematodos que atacan a este tipo de cultivos y algunas pautas para su control.

**Palabras clave:** Sanidad vegetal, nematodos, plantas ornamentales.

**ABSTRACT. Nematodes attacking ornamental plant production.** Due to the importance of ornamental plants and flowers, export and import of these products poses risks to vegetable health, because of the permanent danger of nematodes dissemination. This paper presents a revision of the literature, to present a summary about nematodes attacking this type of crops and some guidelines for their control.

**Key words:** Vegetable health, nematodes, ornamental plants.

---

## Introducción

Las flores y las plantas ornamentales tienen un gran valor económico en el comercio nacional e internacional (SEPSA 1990). Existen países como Alemania, Holanda, Francia, el Reino Unido, Dinamarca y Bélgica, que producen entre 99 y 672 millones de dólares al año en superficies de 4579 a 11192 ha (Richardson y Grewal 1993).

En estos cultivos, es frecuente la propagación vegetativa, la cual es el medio más eficiente para la diseminación de plagas. Por "plaga" se entiende cualquier organismo capaz de causar daños a la planta y ocasionar pérdidas económicas al productor.

Una de estas plagas en el cultivo de flores y plantas ornamentales son los nematodos. Su presencia en las plantaciones ocasiona la predisposición de la planta al ataque de otros parásitos de suelo, disminuyendo la calidad de las plantas por las lesiones que causan en la parte aérea o subterránea de la planta, pérdida de la estética de la planta y, finalmente, las infectadas con nematodos no son permiti-

das para la exportación. Todo esto puede traducirse en pérdidas de hasta un 100%.

Los nematodos que atacan las plantas son organismos transparentes, microscópicos y de forma cilíndrica. Carecen de sistema circulatorio y respiratorio. Su hábitat es generalmente el suelo y están distribuidos en todo el mundo. El primer reporte en plantas ornamentales data de 1881, cuando Prillieux describió daños causados por *Ditylenchus dipsaci*. Posteriormente, entre 1889 y 1890, *Aphelenchoides ritzemabosi* fue encontrado y descrito sobre crisantemo en el Reino Unido; en 1891, en Estados Unidos, Atkinson reportó *A. fragarie* sobre plantas de begonias; en Alemania, en 1891, Klebahn sobre helechos; en Francia sobre siemprevivas (*Helichrysum* sp.). En la segunda década de 1900 se reporta *Meloidogyne* sp. sobre plantas ornamentales (Southey 1993). Es así como los nematodos empiezan a ejercer un impacto económico en estos cultivos, por los daños y pérdidas que ocasionan a los productores de flores y plantas ornamentales.

<sup>1</sup> Fundación PROINPA. Casilla 4285. Cochabamba, Bolivia. nortuno@papa.bo

<sup>2</sup> Fundación PROINPA. Casilla 4285. Cochabamba, Bolivia. roros@procupa.org

## Principales nematodos que atacan las plantas ornamentales

### *Ditylenchus dipsaci*

Conocido como el "nematodo del tallo y de los bulbos", es una plaga común, distribuida en regiones templadas, que ataca cerca de 500 especies de plantas. Los adultos, de aproximadamente 1.2 mm de largo, tienen la forma típica de un nematodo con cola alargada. Su ciclo biológico dura 21 días a 15°C (Southey 1993).

Gracias a la habilidad del cuarto estado juvenil de controlar la pérdida de agua y enrollarse en forma compacta, estos nematodos tienen la capacidad de sobrevivir aún cuando no está el hospedante y en condiciones de sequedad. Pueden sobrevivir hasta 10 años en dichas condiciones, para luego activarse en presencia del hospedante y en condiciones ambientales favorables. Existen 20 o más razas, morfológicamente indistinguibles entre sí (Southey 1993).

*D. dipsaci* ataca bulbos de narcisos y tulipanes. Desde el punto de vista económico, su presencia en los jacintos es relevante. Ocasionalmente afectan también especies de *Scilla*, *Hyacinthoides*, *Galanthus*, *Chionodoxa*, *Nerine*, *Muscari*, *Allium* y otros bulbos (Southey 1993).

### Ornamentales de bulbo

En narcisos, los síntomas típicos se presentan como un amarilleo en las hojas. Cuando los bulbos se cortan transversalmente, presentan anillos concéntricos de color café (Southey 1993).

En tulipanes, el primer síntoma se presenta como una palidez de la planta o lesiones púrpuras en uno de los lados del tallo, inmediatamente debajo de las flores, el cual se encorva en dirección de la lesión. Cuando se incrementa el daño, la epidermis se separa y los tejidos de abajo quedan sueltos. Los daños aumentan hacia abajo, para luego ascender y llegar hasta los pétalos. En ataques severos, se extienden lesiones similares que descienden por el tallo desde las axilas de las hojas, causando deformaciones en el crecimiento (Southey 1993). Los bulbos infectados presentan una pérdida de color y necrosis esparcida en la base del bulbo.

En jacintos, raramente se observan síntomas en campos comerciales. En caso de observarse, el follaje sería de color amarillo pálido, con crecimiento raquíptico. Los síntomas en los bulbos son similares a los de los narcisos.

Otros bulbos atacados son las Liliaceae y Amaryllidaceae (*Galanthus* y *Nerine* spp.), que presentan un anillo color café, similar al de los narcisos.

### Ornamentales de follaje

*Phlox* sp. es una ornamental de follaje que, al ser atacada por *D. dipsaci*, presenta tallos engrosados y quebradizos, además del acortamiento de los entrenudos. Son típicos la reducción y el encrespamiento de la lámina de las hojas (Southey 1993).

Otras especies de los siguientes géneros son hospedantes de este nematodo: *Campanula*, *Collomia*, *Dianthus*, *Gilia*, *Oenothera*, *Primula*, *Schizanthus*, *Solidago*, *Gypsophila* (Southey 1993).

### Ornamentales leñosas

En la *Hidrangea macrophylla* causa distorsiones en las partes no leñosas o retoños y una mayor, más marcada venación en los peciolo.

### *Ditylenchus destructor*

Conocido también como el "nematodo de la pudrición". Ataca severamente los bulbos, cormos y tubérculos. En general, su ciclo de vida es similar al de *D. dipsaci* y tienen hospedantes en común, pero soporta periodos secos más cortos. Es una plaga importante de bulbos de iris (híbrido de *Iris xiphium* e *I. xiphoides*) y se reporta como parásito en especies de *Crocus*, *Gladiolus*, *Tigridia*, *Calchicum* y *Tulipa*.

### *Aphelenchoides* spp.

Se le conoce también como el "nematodo de la hoja". Ataca las hojas y los brotes de sus hospedantes. En plantas ornamentales de zonas templadas, *A. ritzemabosi* y *A. fragariae* son las especies de mayor importancia económica (Richardson y Grewal 1993).

El adulto mide cerca de 1 mm de longitud. No son verdaderos endoparásitos, pues se alimentan esencialmente sobre la superficie de la hoja. Estos nematodos migran, se alimentan y se reproducen solo en la lámina de agua que hay sobre las hojas y entran a los espacios intracelulares a través de los estomas. Su ciclo dura de 12 a 14 días. Los adultos de *A. ritzemabosi* pueden mantenerse enrollados a lo largo de varios meses, durante los periodos secos (Southey 1993).

Otra especie es *A. Subtenuis*, aparentemente un endoparásito en bulbos y cormos. *A. subtenuis* ataca los bulbos y las hojas de los narcisos. También fue detectado atacando bulbos de *Allium*, *Iris* y *Tulipa* spp.,

en cormos de *Colchicum*, *Crocus* spp. y *Scilla* sp. Las infecciones en narcisos fueron asociadas con una decoloración grisácea y un anillo café en los bulbos y amarilleo en el follaje (Southey 1993).

### **Flores**

Los crisantemos son atacados por *A. ritzemabosi*, que causa daño a los botones florales y puntos de crecimiento de la planta, llegando a ocasionar pequeñas malformaciones. El nematodo entra a través de los estomas al mesófilo de la hoja y destruye el tejido durante su alimentación. Las lesiones se tornan café; usualmente aparecen como sectores angulares a lo largo de las venas de las hojas. La coloración café observada en los crisantemos está relacionada con la oxidación y polimerización de compuestos fenólicos. Finalmente, aparece necrosis intervenal en las hojas, como consecuencia de la alimentación del nematodo.

Otras plantas herbáceas también son atacadas, presentando manchas internervales y distorsiones sobre las hojas, como *Lavandula angustifolia* y en especies de *Buddleia*.

En las plantas herbáceas, *A. fragariae* ocasiona los mismos síntomas que la especie anterior. Ambas tienen muchos hospedantes en común. Está asociado a daños en *Begonia* spp. y helechos. *Viola odorata* (violeta) es también atacada en los botones florales y se observan malformaciones en las hojas. *Cornus canadensis* es un ejemplo de planta hospedante leñosa.

*A. blastophthorus* causa malformaciones o muerte de los botones florales y malformaciones de las hojas de *Scabiosa caucasica*. Otros hospedantes que se pueden citar son especies y variedades de *Anchusa*, *Caltha*, *Convallaria*, *Dipsacus*, *Geum*, *Trollius* y *Viola* (Southey 1993).

### ***Pratylenchus* spp.**

Se le conoce como el "nematodo de la lesión radical". Existen muchas especies, siendo las más típicas y también las más patogénicas *P. penetrans* y *P. coffeae*. Son endoparásitos migratorios pequeños, de movimientos cortos. Miden 0.5 mm de largo, con cabeza achatada y cola redondeada (Southey 1993). Penetran por los tejidos meristemáticos y producen lesiones pequeñas en las raíces, donde luego invaden otros parásitos del suelo hasta necrosarse el tejido (Pinochet y Duarte 1986). Los hongos parásitos débiles pueden ocasionar daños severos cuando interactúan con *Pratylenchus* spp., y

esto puede ocurrir en tulipanes, gladiolos, jacintos, iris, *Lilium* spp., claveles, rosas y crisantemos. *P. coffeae* ocasiona pérdidas de hasta el 100% en *Aglaonema commutatum* (Ortuño y Marban 1994a).

*P. penetrans* tiene numerosas plantas hospedantes, entre ellas *Acer*, *Aconitum*, *Easculus*, *Anchusa*, *Astilbe*, *Berberis*, *Chysanthemum*, *Cotoneaster*, *Dicentra*, *Digitalis*, *Doronicum*, *Forsytia*, *Hebe*, *Iberis*, *Ligustrum*, *Phlox*, *Potentilla*, *Rosa*, *Rudbekia*, *Sorbus*, *Trollius*, *Viola* y *Weigelia*. También se incluyen coníferas, helechos y violeta africana (Richardson y Grewal 1993, O'Banon et al. 1988).

*P. vulnus* es altamente patogénico en áreas templadas. Tiene como hospedantes a *Buxus*, *Chamaecyparis*, *Fraxinus*, *Ligustrum*, *Malus*, *Rosa*, *Sorbus*, *Thuja* y otros.

*P. convallariae* causa severos daños en *Convallaria majalis*. Este nematodo causa lesiones típicas, seguidas de una rápida destrucción de la corteza y del floema y, generalmente, permite la entrada de otros patógenos de suelo (Richardson y Grewal 1993; O'Banon et al. 1988).

*P. bolivianus* fue encontrada en *Alstroemeria* en Gran Bretaña (1989), Holanda y en el sur de Chile, siendo su primera descripción en los Andes de Bolivia. Aparentemente, no siempre persiste en climas fríos (Richardson y Grewal 1993).

### ***Radopholus similis***

Conocido como "el nematodo barrenador", también es un endoparásito migratorio que causa daño en las raíces de numerosas especies ornamentales de follaje. Está sujeto a estrictas restricciones cuarentenarias en países como Italia y EE.UU.

Las hembras adultas se pueden reproducir con macho o sin él. Su ciclo biológico dura aproximadamente 21 días. Todos los estados entran a la raíz, destruyendo células e induciendo extensas cavidades entre los tejidos. Inicialmente causa líneas oscuras, probablemente por la oxidación de los fenoles. Esta especie sobrevive menos de seis meses en ausencia del hospedante. Sus hospedantes son: *Anthurium*, *Calathea*, *Chamadorea*, *Dieffenbachia*, *Dizygotheca*, *Epipremnum*, *Maranta*, *Monstera*, *Philodendron* y *Strelitzia* (Richardson y Grewal 1993).

### ***Meloidogyne* spp.**

El nematodo del nudo de la raíz se encuentra asociado al cultivo de muchas plantas ornamentales. Este nematodo es un endoparásito sedentario, causa agallas en las raíces de sus hospedantes y puede interac-

cionar con hongos, dónde los daños al sistema radical son mayores y ocurren en menor tiempo que los que causaría el hongo o el nematodo por sí solo.

Los segundos estados juveniles penetran a la raíz por la zona de elongación. Aprovechan las células epidermales y, después de penetrar, estimulan la formación de agallas. Este nematodo pasa por tres mudas consecutivas y se convierte en macho o hembra. La hembra empezará a tornarse globosa y al mismo tiempo a formar huevos. Su ciclo biológico dura de tres a cuatro semanas en presencia de un hospedante favorable. Pude sobrevivir bajo condiciones adversas en estado de huevo (Richardson y Grewal 1993).

*M. hapla* tiene una amplia gama de hospedantes, incluyendo especies ornamentales herbáceas y leñosas, como *Aconitum*, *Anemone*, *Berberis*, *Clematis*, *Geranium*, *Geum*, *Hypericum*, *Iris*, *Lonicera*, *Lychnis philadelphus*, *Pratia*, rosa, salvia, *Stachys*, *Thalictrum* y *Viburnum gladiolos* (Overman 1985).

*M. ardenensis* ataca plantas leñosas, especies de *Carpinus*, *Cornus*, *Fraxinus*, *Ligustrum*, *Lonicera*, *Sambucus*, *Quercus*, *Vinca*. Otras, no leñosas, son *Aspilbe* sp., *Hepatica angulosa* y *Saxifraga cortusifolia*. Existen también otras especies del nematodo, como *M. incognita* sobre Liliaceae (*Dracaena* sp.).

### Otros nematodos importantes

Los "nematodos enquistados" son llamados así porque la hembra, una vez madura, muere y se enquista, lo cual le permite sobrevivir hasta 20 años o más en el suelo. Entre estos tenemos a *Heterodera fici*, que ataca a *Ficus* spp. y *H. trifoli* a claveles. *Cactodera cacti* ataca ciertas Cactaceae, dónde ocasiona una disminución en el número de flores y el período de floración,

además del envejecimiento rápido de la planta y, finalmente, su muerte (Figueroa 1988).

Otro nematodo importante es *Helicotylenchus*, conocido como "el nematodo espiral". *H. californicus* es importante en las Araceae, dónde causa lesiones en las raíces y enanismo en las plantas (Ortuño y Marbán 1994b); también es posible esté en sinergismo y se torne más severo el daño, cuando interaccionan con hongos como *Fusarium oxysporum* en *Aglaonema commutatum* (Ortuño 1993).

Cabe destacar también *Anguina klebahni*, el causante de las agallas en las flores de *Primula florindae*, así como *Subanguina millefolii*, que ocasiona agallas, distorsión de hojas y retoños en *Achillea* sp. (Dropkin 1980, Southey 1993).

### Nematodos vectores de virus

Son nematodos ectoparásitos económicamente relevantes en zonas templadas (Cuadro 1).

### Medidas de combate de poblaciones de nematodos en cultivos ornamentales

Es importante considerar ciertas medidas al momento de iniciar las plantaciones comerciales.

- Si el material se está introduciendo desde otro país, las cuarentenas son importantes para evitar la introducción de plagas (nematodos) a los terrenos de cultivo.
- Conocer el historial del terreno y hacer un muestreo nematológico para verificar la presencia o ausencia de nematodos.

**Cuadro 1.** Nematodos que transmiten virus a plantas ornamentales

Virus	Nematodo vector	Hospedante
SLRV	<i>Xiphinema</i> spp.	Narcisos Tulipanes
TobRSV		Tulipanes Gladiolos <i>Lilium longiflorum</i>
TomRSV TVRV	<i>Longidorus</i> spp.	Gladiolos Narcisos Tulipanes
RRV TRV	<i>Trichodorus</i> y <i>Panagrolaimus</i> spp.	Narcisos Narcisos Tulipanes Jacintos Gladiolos <i>Lilium longiflorum</i>

Fuente: J. F., Southey, 1993. *In* Plant parasitic nematodes in temperate agriculture.

- La desinfección del terreno antes de la siembra, con fumigantes aprobados para su uso (Basamid®). Sin embargo, se deben tomar todas las precauciones recomendadas para disminuir los riesgos de toxicidad para los seres humanos y el ambiente.
  - También se pueden utilizar medios físicos como el calor seco, vapor y altas temperaturas. En relación con estas últimas, la solarización es una de las alternativas, porque la radiación solar es letal para los nematodos. Para esto se utiliza plástico transparente de 0.5 mm de espesor, que se coloca sobre el sustrato que debe estar a capacidad de campo (30% de humedad), se debe surcar y colocar el plástico de este a oeste para permitir mayor superficie de exposición. El plástico se debe colocar en el piso, se deposita el sustrato sobre él y luego se tapa con el mismo plástico, de manera que quede en forma de carpa, a unos 20 cm de distancia de la superficie del sustrato. Luego se cierra herméticamente con la misma tierra para evitar fugas de calor. El tiempo de solarización puede ser de 4 a 6 semanas, dependiendo de la época y la zona. Con esta técnica se ha obtenido de 40 a 100% de efectividad; elimina hongos y semillas de malezas, permitiendo el uso complementario de nematicidas y fungicidas en dosis menores que las recomendadas.
  - Utilización de material vegetativo libre de nematodos, como raíces, rizomas, esquejes o estolones, ya que estos son medios eficientes de diseminación. Si no se elimina este material, una vez establecida la planta, aún con suelo desinfectado, los nematodos podrán proliferar.
  - En plantaciones establecidas, los análisis nematológicos deben realizarse periódicamente, con el fin de tomar medidas de control. Es importante el control de estos nematodos aún en bajas poblaciones, porque tienen gran capacidad para reproducirse (en promedio requieren de 20 a 45 días).
  - Una forma eficaz y económica de combatir estos organismos consiste en rotar cultivos o variedades. Significa que una plantación determinada, después de un periodo de tiempo, debe ser sustituida por otra especie o variedad menos susceptible o resistente. Esto también ayuda a eliminar otras plagas.
- No se debe olvidar que la presencia de nematodos agrava otros problemas, como el ataque de hongos y bacterias.
- Existen nematicidas como el Mocap® (ethoprop), Nematicur® (fenamiphos), Counter® y Kayterbufos® (terbufos), Miral® (izasofos), Temik® (aldicarb), Furadan® y Curater® (carbofuran), y Vydate® (oxamil). Estos compuestos tienen un efecto residual de 1 a 12 semanas, siendo su modo de acción por contacto, ingestión y sistémico, dependiendo del producto. Para su uso es recomendable rotar plaguicidas con el fin de evitar toxicidad en los cultivos y que no aparezcan nematodos que no se puedan controlar (Dunn 1991, Thomason 1992, Marbán-Mendoza 1992).
  - Para evitar la diseminación e infestación del suelo por nematodos a través de bulbos y cormos, es necesario verificar su sanidad mediante cortes transversales a los bulbos antes de la siembra. Si se presentan síntomas típicos, desechar los bulbos; si los síntomas son muy leves, realizar termoterapia. La termoterapia consiste en someter a agua caliente las partes vegetales; se recomiendan 45°C por 15 minutos y hasta 3 horas, dependiendo del tipo de material; en cualquier caso, se aconseja efectuar pruebas para establecer la temperatura y el tiempo óptimos, que no dañen el material de propagación.
  - Recurrir a laboratorios especializados para garantizar la sanidad del material vegetal.
  - En las ornamentales de follaje la situación es más compleja, porque la estética de la planta es la más afectada. Las plantas afectadas se deben eliminar y quemar. El uso de materia orgánica abundante, gallinaza o *compost* en el sustrato, puede ayudar en la prevención.
  - Las plantas afectadas con nematodos parásitos de la parte foliar y las plantas viejas deben ser cortadas y quemadas.
  - Durante la propagación vegetativa, desinfectar las raíces con hipoclorito de sodio al 3% (hacer pruebas para no tener daños en la planta), ya que hay nematodos que se diseminan en las raíces.

- Para el control de *Pratylenchus* spp. y *Meloidogyne incognita*, se pueden utilizar plantas trampa que pueden suprimir hasta un 90% de la población del suelo, como *Tagetes erecta*, *T. patula* o *T. minuta*. Otras plantas que pueden suprimir poblaciones son las Compositae (*Helenium*, *Gaillardia* y *Eriophyllum*), que también son ornamentales (Hackey y Dickerson 1975).

### Literatura consultada

- Dunn, R.A. 1991. Nematode safety in ornamental plant nurseries. Fla. Dept. Agri and Consumer Serv. Division of plant industry. Nematology circular No. 191. 4p.
- Dropkin, V.H. 1980. Diseases of flowers, leaves, and stems. In. Introduction to plant nematology. New York, USA, John Wiley, 160-181p.
- Hackey, R.N.; Dickerson, O. I. 1975. Marigold, Castor bean, and chrysanthemum as controls of and *Pratylenchus alleni*. Journal of Nematology 7(1):84-91.
- Figueroa, M. 1988. Reconocimiento de nematodos que causan daños en ornamentales. San José, Costa Rica, ASBANA 12-16p.
- Jimenes, C.; Franco, J.A. 1990. Algunas plagas del suelo en plantas ornamentales. Boletín Informativo de plantas ornamentales. San José, Costa Rica, Cooperación AID 6 p.
- Marbán-Mendoza, N. 1992. Quimioterapia en nematodos. In. Fitonematología avanzada I. México, Colegio de Post graduados 345 p.
- Ortuño, N.; Marbán, N. 1994a. Patogenicidad e histopatología de *Pratylenchus coffeae* en *Aglaonema commutatum*. Nematropica. 24(2):85.
- Ortuño, N.; Marbán, N. 1994b. Patogenicidad e histopatología de *Helicotylenchus californicus* en la ornamental *Aglaonema commutatum*. Nematropica. 24(2):85.
- Ortuño, N. 1993. Patogenicidad e interacción de *Pratylenchus coffeae*, *Helicotylenchus californicus* y *Fusarium solani* en la planta ornamental *Aglaonema commutatum* var. María y alternativas de combate de nematodos. Tesis de Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 132 p.
- Overman, A.J. 1985. Root knot nematodes in gladiolus corms. Fla. Dept. Agri and Consumer Serv. Division of Plant Industry. Nematology circular No. 123. 4p.
- O'banon, J.H.; Esser, R.P.; Lehman, P.S.; Milatos, C. 1988. The root lesion nematode *Pratylenchus penetrans* and other nematodes associated with Lenthierleaf fern. Fla. Dept. Agri and Consumer Serv. Division of Plant Industry. Nematology circular No. 157. 4p.
- Pinochet, J.; Duarte, O. 1986. Additional list ornamental foliage plants host of the lesion nematode *Pratylenchus coffeae*. Nematropica. 16(1):11-19.
- Richardson, P.N.; Grewal, P.S. 1993. Nematode pest of glasshouse crops and mushrooms. In. Evans, K.; Trudgill, D. L., Webster, J. M. Plant parasitic nematodes in temperate agriculture. Cambridge, Inglaterra, CAB Internacional. 648 p.
- SEPSA- 1990. Secretaría Ejecutiva de planificación sectorial agropecuaria. Informe. Costa Rica.
- Southey, J.F. 1993. Nematode pest of ornamental and bulb crops. In. Evans, K.; Trudgill, D.L.; Webster, J.M. Plant parasitic nematodes in temperate agriculture. Cambridge, Inglaterra, CAB Internacional. 648 p.
- Thomason, I.J. 1992. Nematicides. In. Fitonematología avanzada I. México, Colegio de Post graduados. 345 p.

## Experiencias

# Avances del control biológico de *Bemisia tabaci* en la región neotropical

Luis L. Vázquez Moreno<sup>1</sup>

**RESUMEN.** La importancia económica de la mosca blanca *Bemisia tabaci* en la región Neotropical, principalmente como vector de geminivirus en varios cultivos agrícolas, y los problemas surgidos del uso de insecticidas sintéticos, han motivado la investigación sobre control biológico de esta plaga.

Se han realizado estudios para conocer los enemigos naturales de esta plaga, existentes en la mayoría de los países y como resultado se han identificado diversas especies de parasitoides de los géneros *Encarsia*, *Eretmocerus* (Hymenoptera: Aphelinidae) y *Amitus* (Hymenoptera: Platygasteriidae); depredadores de los géneros *Chrysopa*, *Nodita* (Neuroptera: Chrysopidae), *Coleomegilla*, *Cycloneda*, *Hyppodamia*, *Delphastus*, *Nephaspis*, *Scymnus* (Coleoptera: Coccinellidae), *Cyrtopeltis* (Hemiptera: Miridae), *Orius* (Heteroptera: Anthocoridae), *Condylostillus* (Diptera: Dolichopodidae), Syrphidae (Diptera), *Theridula* (Araneae: Theridulidae) y entomopatógenos de los géneros *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Metarhizium*, *Aschersonia*, *Cladosporium* y *Beauveria*.

Los más estudiados para su utilización en programas de control biológico han sido los parasitoides de los géneros *Encarsia* y *Eretmocerus*, predadores del género *Chrysopa* y entomopatógenos de los géneros *Paecilomyces*, *Verticillium* y *Beauveria*.

En la práctica, algunos países liberan entomófagos de forma inoculativa y, aplica bioplaguicidas y muchos integran elementos del control biológico al manejo integrado de plagas.

**Palabras clave:** Hemiptera, Aleyrodidae, *Bemisia tabaci*, enemigos naturales, control biológico, Neotrópico.

**ABSTRACT.** Advances in the biological control of the whitefly *Bemisia tabaci* in the Neotropical region. The economic importance of the whitefly *Bemisia tabaci* in the Neotropical region, mainly as vector of geminivirus in several agricultural crops and the problems that arise with the use of synthetic insecticides, have motivated research on the biological control of this pest.

Studies have been carried out to find out the natural enemies in most of the countries, and as a result diverse species of parasitoids of *Encarsia* and *Eretmocerus* (Hymenoptera: Aphelinidae), and *Amitus* (Hymenoptera: Platygasteriidae); predators of the genus *Chrysopa*, *Nodita* (Neuroptera: Chrysopidae), *Coleomegilla*, *Cycloneda*, *Hyppodamia*, *Delphastus*, *Nephaspis*, *Scymnus* (Coleoptera: Coccinellidae), *Cyrtopeltis* (Hemiptera: Miridae), *Orius* (Heteroptera: Anthocoridae), *Condylostillus* (Diptera: Dolichopodidae), Syrphidae (Diptera), *Theridula* (Araneae: Theridulidae), and entomopatogenic fungus of the genus *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Metarhizium*, *Aschersonia*, *Cladosporium* and *Beauveria* genera have been identified.

The most widely researched for their use in programs of biological control have been parasitoids of the genus *Encarsia* and *Eretmocerus*, predators of the genus *Chrysopa*, and entomopatogenic fungus of the genus *Paecilomyces*, *Verticillium* and *Beauveria*.

In the practice, some of the countries release entomophagous insects in inoculative ways, and apply biopesticides, and many integrate biological control elements into integrated pest management programs.

**Key words:** Hemiptera, Aleyrodidae, *Bemisia tabaci*, natural enemies, biological control, Neotropics.

## Introducción

Las moscas blancas (Hemiptera: Aleyrodidae) son insectos de gran interés actual, no solo por su importan-

cia como plagas agrícolas (hervíboros y vectores de enfermedades causadas por virus), sino porque como

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV). Ciudad de La Habana, Cuba. lvazquez@inisav.cu

consecuencia de lo anterior se han diversificado e intensificado las investigaciones, con la producción de una gran cantidad de información científica y el diseño de modelos de investigación muy útiles para otros problemas similares.

Entre las moscas blancas, *Bemisia tabaci* (Gennadius) ha sido la más importante, especialmente el biotipo B (también conocido como *B. argentifolii* Bellows and Perring), por su capacidad de transmitir geminivirus y de provocar afectaciones fisiológicas importantes.

Con respecto al control de esta plaga, diversos autores opinan que las mayores posibilidades radican en la integración de tácticas (Cave 1994, Ciomperlik 1998), entre las que incluyen el control biológico.

Sobre los enemigos naturales de *B. tabaci* y sus biotipos se ha investigado intensamente en los últimos 10-12 años y como resultado de estos estudios se conocen diversas especies de insectos y arácnidos depredadores, insectos parasitoides y hongos entomopatógenos que afectan naturalmente poblaciones de esta plaga, algunas de ellas con perspectivas para el control biológico por aumento. Desde luego, aún quedan muchas incógnitas por despejar en el conocimiento de estos organismos, ya que la problemática mosca blanca-geminivirus significa un gran reto: lograr altas eficacias en el control de un insecto polífago y vector de virus.

En el neotrópico, las potencialidades del control biológico son altas, debido al clima favorable para estos organismos, así como por las características particulares de los sistemas de producción agrícola, en los cuales existe experiencia en la explotación a pequeña escala, la diversificación de cultivos y las prácticas agronómicas.

Bajo estas condiciones es factible una mayor explotación de la biodiversidad existente, rica en organismos reguladores de herbívoros; pero para ello hay que lograr la disminución de la alta dependencia de insecticidas que tiene la mayoría de los agricultores, lo cual constituye un gran reto.

Este artículo ofrece una síntesis del control biológico de *B. tabaci* en la región neotropical, la cual fue utilizada como base para la reflexión, la proyección científica y la discusión sobre este tema en el IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre mosca blanca y geminivirus, efectuado en noviembre del 2000, en Panamá. Desde luego, existe más información sobre este particular e incluso hay una rica experiencia acumulada, pero lamentablemente no hay aún publicaciones disponibles donde se compile este valioso conoci-

miento. Este es precisamente otro modesto propósito del presente documento, que ha sido actualizado para su publicación.

### Los enemigos naturales de *Bemisia tabaci*

Existen varias compilaciones sobre los enemigos naturales de las moscas blancas, básicamente las ofrecidas por Mound y Halsey (1978), López-Avila (1986), Gerling (1990) y Cook (1993). Con base en ellas y en otras, más específicas, se propone una versión de lo que se ha informado en la región, como demostración de la diversidad de organismos que regulan las poblaciones de esta plaga.

Los parasitoides (Cuadro 1) están representados por dos géneros de la familia Aphelinidae (*Encarsia* y *Eretmocerus*) y uno de la familia Platygasteridae (*Amitus*). En coincidencia con informes de otras regiones, el género *Encarsia* es el más representado, aunque es necesario continuar los estudios taxonómicos, tanto de este género como de *Eretmocerus*, ya que existen especies no identificadas aún. Los informes muchas veces se concentran solamente en el género, por no disponer de especialistas o contactos con estos para la identificación de especies, lo que sugiere la necesidad de propiciar acciones regionales en este sentido.

Los afelinidos mencionados son parasitoides internos. En el caso de *Encarsia*, la hembra introduce el huevo taladrando con el ovipositor el cuerpo de la larva de la mosca blanca, mientras que la de *Eretmocerus* deposita los huevos sobre la superficie de la hoja de la planta o sobre el cuerpo de la larva de la mosca blanca y perfora el cuerpo de la mosca blanca ventralmente para que luego la larva penetre en el mismo. En ambos casos, las larvas parasitadas se endurecen y cambian de coloración, las de *Encarsia* se convierten en momias casi o totalmente negras, mientras que las de *Eretmocerus* permanecen del mismo color (Gerling 1990, Yasnosh 1992).

Aunque la mayoría de las referencias sobre actividad de los parasitoides no atribuyen la capacidad de regular satisfactoriamente las poblaciones de *B. tabaci*, varios informes reflejan su potencial en programas donde se combinen la conservación y otras tácticas de manejo. Así, Serrano *et al.* (1996) observaron en áreas de policultivos en El Salvador tasas de reducción de hasta el 80 % en frijol y el 60 % en tomate, básicamente por *Encarsia* y *Eretmocerus*.

Los depredadores son más diversos, ubicados básicamente en los órdenes Neuroptera, Coleoptera,

**Cuadro 1.** Parasitoides (Hymenoptera) enemigos naturales de *B. tabaci* en la región Neotropical.

Familias	Especies	Países	Referencias
Aphelinidae	<i>Encarsia basicincta</i> Gahan	Brasil	Vilarinho de Olivera <i>et al.</i> (1999).
	<i>Encarsia desantisi</i> Viggiani	Argentina, Brasil Colombia, Costa Rica, Honduras, Nicaragua, Venezuela.	Bernal (2000); Cave (1995); Cock (1993); Hanson, P. (comunic. pers.); Hennessey <i>et al.</i> (1995); Jiménez (1999); Shuster <i>et al.</i> (1993); Vilarinho de Olivera <i>et al.</i> (1999).
	<i>Encarsia formosa</i> Gahan	Brasil, Colombia, Costa Rica, Florida (EUA), México, Nicaragua, Puerto Rico.	Haji <i>et al.</i> (2000); Bernal (2000); Cave (1995); García y López-Avila (2000, 2001); Haji <i>et al.</i> (1997); Hanson, P. (comunic. pers.); Hennessey <i>et al.</i> (1995); Medeiros <i>et al.</i> (1999); Pantoja y Cabrera (2000); Shuster <i>et al.</i> (1993); Vilarinho de O <i>et al.</i> (1999, 2001).
	<i>Encarsia inaron</i> Walker	Brasil	Vilarinho de Olivera <i>et al.</i> (1999, 2001).
	<i>Encarsia lutea</i> (Masi)	Brasil	Araujo <i>et al.</i> (1999); Hennessey <i>et al.</i> (1995); Moreira <i>et al.</i> (1999); Shuster <i>et al.</i> (1993).
	<i>Encarsia luteola</i> Howard	Brasil, Guadalupe, México, Puerto Rico, Cuba, Florida (EUA)	Cock (1993); Castiñeiras (1995); Hennessey <i>et al.</i> (1995); Laurantao <i>et al.</i> (2000); Shuster <i>et al.</i> (1993); Vilarinho <i>et al.</i> (1999).
	<i>Encarsia lycopersici</i> De Santis	Brasil	Vilarinho de Olivera <i>et al.</i> (1999)
	<i>Encarsia meritoria</i> Gahan ( <i>E. hispida</i> De Santis)	Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Dominica, Guadalupe, Honduras, Jamaica, México, Puerto Rico, R. Dominicana, Trinidad y Tobago, Venezuela.	Alvarez y Abud (1997); Bernal (2000); Caballero y Rueda (1992); Cock (1993); Hanson, P. (comunic. pers.); Hennessey <i>et al.</i> (1995); McGuire (1995); Shuster <i>et al.</i> (1993); Vilarinho de Olivera <i>et al.</i> (1999, 2001).
	<i>Encarsia nigricephala</i> Dozier	Barbados, Brasil, Colombia, Costa Rica Cuba, Florida (EUA), Granada, Guadalupe, Guatemala, Honduras, Jamaica, México, Nicaragua, Puerto Rico, R. Dominicana, Venezuela.	Alvarez y Abud (1997); Bernal (2000); Caballero y Rueda (1992); Castiñeiras (1995); Cave (1994); Cave (1995); Cock (1993); García y López-Avila (2000, 2001); Hanson, P. (comunic. pers.); Hennessey <i>et al.</i> (1995); Jiménez (1999); Naranjo (1996); Shuster <i>et al.</i> (1993); Vilarinho de Olivera <i>et al.</i> (1999, 2001).
	<i>Encarsia opulenta</i> (Soilvestri)	Barbados, Costa Rica, El Salvador, Islas Caimán, Jamaica, México, Nicaragua.	Hennessey <i>et al.</i> (1995).
	<i>Encarsia pergandiella</i> Howard (= <i>E. tabacivora</i> Viggiani).	Argentina, Brasil, Colombia, Costa Rica, El Salvador, Florida (EUA), Granada, Guadalupe, Guatemala, Honduras, Jamaica, México, Nicaragua, Panamá, Puerto Rico, R. Dominicana, Venezuela.	Alvarez y Abud (1997); Cave (1994); Cave (1995); Bernal (2000); Bernal y Basedow (2000), Cock (1993); Caballero y Rueda (1992); Hanson, P. (comunic. pers.); Hennessey <i>et al.</i> (1995); Jiménez (1999); Naranjo (1996); Shuster <i>et al.</i> (1993); Serra <i>et al.</i> (1996); Serrano <i>et al.</i> (1992); Viscarret (1999).
	<i>Encarsia porteri</i> Mercet	Argentina, Brasil, Chile, Costa Rica, México, Nicaragua.	Bernal (2000); Cave (1995); Cock (1993); Haji (1997); Hanson, P. (comunic. pers.); Hennessey <i>et al.</i> (1995); Jiménez (1999); Viscarret (1999).
	<i>Encarsia prox. Porteri</i> Mercet	Brasil	Vilarinho de Olivera <i>et al.</i> (1999).
	<i>Encarsia quaintancei</i> Howard	Cuba, El Salvador, Florida (EUA), Guadalupe, Jamaica, México, Puerto Rico, Venezuela.	Castiñeiras (1995); Cock (1993); Hennessey <i>et al.</i> (1995); Machado <i>et al.</i> (2001); Serrano <i>et al.</i> (1992); Shuster <i>et al.</i> (1993).

<i>Encarsia strenua</i> Silvestri	Colombia, Costa Rica, Florida (EUA), Honduras, México, Puerto Rico.	Bernal (2000); Cock (1993); Hanson, P. (comunic. pers.); Hennessey <i>et al.</i> (1995); Shuster <i>et al.</i> (1993), Naranjo (1996); García y López-Avila (2000, 2001)
<i>Encarsia transvena</i> (Timberlake)	Argentina, Cuba, Florida (EUA), Guatemala, Honduras, Puerto Rico, R. Dominicana.	Alvarez y Abud (1997); Caballero y Rueda (1992); Hennessey <i>et al.</i> (1995); Machado <i>et al.</i> (2001); Naranjo (1996); Pantoja y Cabrera (2000); Serra <i>et al.</i> (1996); Shuster <i>et al.</i> (1993); Viscarret (1999).
<i>Encarsia</i> sp.	Brasil, Colombia, Cuba, Ecuador, Honduras, Nicaragua, Panamá, Perú, Venezuela.	Arias de López (1997); Caballero y Rueda (1992); García y López-Avila (2000); Jiménez <i>et al.</i> (1996); Machado <i>et al.</i> (2001); Núñez (1995); Salas (2001); Salas y Arnal (2000); Sediles (2000); Vilarinho de Olivera <i>et al.</i> (1999); Zachrisson y Poveda (1992).
<i>Eretmocerus</i> <i>californicus</i> Howard	El Salvador, Florida (EUA), México, Puerto Rico.	Hennessey <i>et al.</i> (1995); Naranjo (1996); Serrano <i>et al.</i> (1992).
<i>Eretmocerus corni</i> Haldeman	Argentina, Chile, Paraguay	Hennessey <i>et al.</i> (1995); Viscarret (1999).
<i>Eretmocerus emiratus</i> Zolnerowich and Rose	Puerto Rico	Pantoja y Cabrera (2000).
<i>Eretmocerus</i> <i>haldemani</i> Howard	Cuba, México	Hennessey <i>et al.</i> (1995).
<i>Eretmocerus hyati</i> Zolnerowich and Rose	Puerto Rico	Pantoja y Cabrera (2000).
<i>Eretmocerus mundus</i> Marcet	México, Puerto Rico	Hennessey <i>et al.</i> (1995); Pantoja y Cabrera (2000).
<i>Eretmocerus</i> sp.	Argentina, Brasil, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, Florida (EUA), Guadalupe, Guatemala, Honduras, Jamaica, México, Nicaragua, Panamá, Perú, Puerto Rico, R. Dominicana, Venezuela.	Alvarez <i>et al.</i> (1992); Arias de López (1997); Castiñeiras (1995); Bernal (2000); Cave (1994); García y López-Avila (2000,2001); Hanson, P. (comunic. pers.); Jiménez (1999); Jiménez <i>et al.</i> (1996); La Rosa <i>et al.</i> (1992); Núñez (1995); Ortiz <i>et al.</i> (1996); Pantoja y Cabrera (2000); Salas (2001); Salas y Arnal (2000); Sediles (2000); Shuster <i>et al.</i> (1993); Viscarret (1999); Zachrisson y Poveda (1992).
Platygasteridae <i>Amitus</i> sp.	Costa Rica, Florida (EUA), Honduras, Nicaragua, Puerto Rico, R. Dominicana, Venezuela.	Bernal (2000); Hanson, P. (comunic. pers.); Jiménez (1999); Salas (2001); Salas y Arnal (2000); Sediles (2000); Serra <i>et al.</i> (1996); Shuster <i>et al.</i> (1993).

Hemiptera y Diptera de la clase Insecta, y los órdenes Acarina y Araneae, de la clase Aracnida (Cuadro 2). La mayor representatividad está en los Coccinellidae, aunque al parecer los Hemiptera y Diptera no han sido suficientemente estudiados, pues potencialmente deben existir más especies involucradas en la mayoría de los países. Desde luego, debido a que muchas de ellas son polífagas y oligófagas, es necesario profundizar en sus relaciones con las poblaciones de la mosca blanca.

Los predadores del orden Hemiptera muestran un comportamiento interesante, pues necesitan completar su dieta alimentaria con proteína vegetal. Particularmente, las especies del género *Cyrtopeltis* pueden manifestarse como predadores cuando abundan sus

presas, y en bajas poblaciones de estas actuar como fitófagos, alimentándose de las flores de la planta. Este comportamiento como zoofitófago ha puesto en dudas la utilización de esta especie como control biológico de las moscas blancas (Goula y Alomar 1994, Vazquez y López 2000).

Los predadores de la familia Syrphidae son muy conocidos; los adultos se asemejan a las avispas y las abejas y tienen el hábito de acudir frecuentemente a las flores de las plantas; las larvas capturan la presa, la alzan en el aire, la pican y le chupan todo el contenido del cuerpo. Son más frecuentes como reguladores biológicos de pulgones, aunque algunas especies depredan otros insectos (trips, moscas blancas, coxidoideos, cercópodos y lepidópteros).

**Cuadro 2.** Depredadores reportados como enemigos naturales de *B. tabaci* en la región.

Órdenes	Familias	Especies	Países	Referencias		
Hymenoptera	Vespidae	<i>Polistes panamensis</i> Holmg.	Panamá	Zachrisson y Poveda (1992).		
Neuroptera	Chrysopidae	<i>Ceraeochrysa cineta</i> (Schneider)	Brasil	Santos <i>et al.</i> (2001).		
		<i>Ceraeochrysa claveri</i> (Navás)	Brasil	Santos <i>et al.</i> (2001).		
		<i>Ceraeochrysa cubana</i> (Hagen)	Caribe	Schuster <i>et al.</i> (1993).		
		<i>Chrysoperla defreitasi</i> Brooks	Brasil	Santos <i>et al.</i> (2001).		
		<i>Chrysoperla externa</i> (Hagen)	Argentina, Brasil, Cuba, Perú.	Castiñeiras (1995); De Marrero <i>et al.</i> (2001); La Rosa <i>et al.</i> (1992); Lourencao <i>et al.</i> (2000); Santos <i>et al.</i> (2001); Valencia <i>et al.</i> (2000); Vázquez <i>et al.</i> (1999).		
		<i>Chrysoperla rufflabris</i> (Burmeister)	Caribe	Schuster <i>et al.</i> (1993).		
		<i>Chrysoperla</i> sp.	Brasil, Colombia, Costa Rica, El Salvador, Haití, Panamá, R. Dominicana, Venezuela.	Alvarez <i>et al.</i> (1992); Serrano <i>et al.</i> (1992); Hilje <i>et al.</i> (1992); Zachrisson y Poveda (1992); Denis y Prophite (1997); Vilarinho de Olivera <i>et al.</i> (1999); García y López-Avila (2000, 2001); Salas y Arnal (2000).		
		<i>Chrysopodes collaris</i> (Schneider)	Caribe	Schuster <i>et al.</i> (1993).		
		<i>Nodita firmi</i> Navas	Cuba	Vázquez <i>et al.</i> (1999).		
		Coleoptera	Coccinellidae	<i>Coleomegilla cubensis</i> Casey	R. dominicana	Alvarez <i>et al.</i> (1992); Alvarez y Abud (1997).
				<i>Coleomegilla maculata</i> (De Geer)	El Salvador, Panamá	Serrano <i>et al.</i> (1992); Zachrisson y Poveda (1992).
				<i>Coccidophilus</i> sp.	Brasil	Santos <i>et al.</i> (2001).
				<i>Cycloneda sanguinea</i> (Linnaeus)	Argentina, Brasil, Costa Rica, El Salvador, Panamá, R. Dominicana.	Alvarez <i>et al.</i> (1992); Alvarez y Abud (1997); De Marrero <i>et al.</i> (2001); Hilje <i>et al.</i> (1992); Zachrisson y Poveda (1992); Serrano <i>et al.</i> (1992); Zachrisson y Santos <i>et al.</i> (2001).
<i>Delphastus davidsoni</i> Gordon	Brasil			Santos <i>et al.</i> (2001).		
<i>Delphastus pallidus</i> (LeConte)	Cuba, R. Dominicana			Alvarez y Abud-Antún (1995); Castiñeiras (1995); La Rosa <i>et al.</i> (1992); Vázquez <i>et al.</i> (1999).		
<i>Delphastus pusillus</i> (LeConte)	Colombia, De EUA a Perú, Nicaragua, Venezuela.			Cave (1994); García y López-Avila (2000); Salas y Arnal (2000); Sediles (2000); Schuster <i>et al.</i> (1993).		
<i>Delphastus</i> sp.	Argentina, Brasil, Colombia.			De Marrero <i>et al.</i> (2001); García y López-Avila (2000); Laurencao <i>et al.</i> (2000).		
<i>Eriopsis connexa</i> (Germar)	Argentina, Brasil			De Marrero <i>et al.</i> (2001), Santos <i>et al.</i> (2001).		
<i>Hippodamia convergens</i> Guerin	Argentina, Brasil, El Salvador, Panamá, R. Dominicana.			Alvarez <i>et al.</i> (1992); Alvarez y Abud (1997); De Marrero <i>et al.</i> (2001); Santos <i>et al.</i> (2001); Serrano <i>et al.</i> (1992); Zachrisson y Poveda (1992).		
<i>Nephaspis gemini</i> Gordon	Brasil			Vilarinho de Olivera <i>et al.</i> (1999).		
<i>Nephaspis hydra</i> Gordon	Brasil			Santos <i>et al.</i> (2001).		
<i>Nephaspis maesi</i> Duverger	Brasil, Nicaragua.			Duverger (1986), Santos <i>et al.</i> (2001).		

		<i>Nephaspis</i> sp.	Colombia	García y López-Avila (2000).
		<i>Pullus ruficurdus</i> Erichson	Brasil	Santos <i>et al.</i> (2001).
		<i>Olla v-nigrum</i> Casey	Brasil	Lourencao <i>et al.</i> (2000).
		<i>Scymnus</i> sp.	Brasil, El Salvador, Panamá, Perú.	Santos <i>et al.</i> (2001); Serrano <i>et al.</i> (1992); y Valencia <i>et al.</i> (2000); Zachrisson y Poveda (1992).
		<i>Serangium parcesetosum</i> Sicard	Puerto Rico	Pantoja y Cabrera (2000).
Hemiptera	Miridae	<i>Cyrtopeltis modestus</i> (Distant)	R. Dominicana	Serra <i>et al.</i> (1996).
		<i>Cyrtopeltis notatus</i> (Distant)	Argentina	De Marrero <i>et al.</i> (2001).
		<i>Cyrtopeltis tenuis</i> Reuter	Cuba, R. Dominicana.	Alvarez <i>et al.</i> (1992); Alvarez y Abud (1997); Serra <i>et al.</i> (1996); Vázquez y López (2000).
		<i>Cyrtopeltis varians</i> Distant	Cuba	Castiñeiras (1995); La Rosa <i>et al.</i> (1992).
	Anthocoridae	<i>Orius insidiosus</i> (Say)	Cuba, Venezuela	Salas y Arnal (2000); Vázquez <i>et al.</i> (1999).
	Lygaeidae	<i>Geocoris punctipes</i> (Say)	Caribe	Schuster <i>et al.</i> (1993).
		<i>Geocoris</i> sp.	Colombia	García y López-Avila (2000, 2001).
	Berytidae	<i>Akynsus</i> sp.	Perú	Valencia <i>et al.</i> (2000).
		<i>Jalysus spinosus</i> (Say)	Caribe	Schuster <i>et al.</i> (1993).
Diptera	Dolichopodidae	<i>Condylostillus</i> spp.	El Salvador, México, R. Dominicana.	Alvarez y Abud (1997); Dimas <i>et al.</i> (1993); Ortiz <i>et al.</i> (1996).
	Syrphidae	<i>Allograpta exotica</i> (Wiedeman)	Argentina, Brasil	De Marrero <i>et al.</i> (2001); Santos <i>et al.</i> (2001).
		<i>Ocyrtamus mentor</i> (Curran)	Brasil	Santos <i>et al.</i> (2001).
		<i>Toxomerus lacrimosus</i> (Bigot)	Brasil	Santos <i>et al.</i> (2001).
		Sp. <i>indet.</i>	México, Panamá.	Ortiz <i>et al.</i> (1996); Zachrisson y Poveda (1992).
Araneae	Theridulidae	<i>Theridula gongygaster</i> Simon	Cuba	Castiñeiras (1995); La Rosa <i>et al.</i> (1992).
		<i>Theridula opulenta</i> (Walchenaer)	Caribe	Schuster <i>et al.</i> (1993).
		<i>Theridula</i> sp.	Cuba	Castiñeiras (1995); La Rosa <i>et al.</i> (1992).
		No identificada	Colombia	García y López-Avila (2000, 2001).
Acarina	Phytoseidae	No identificada	Argentina	De Marrero <i>et al.</i> (2001).

En relación con los entomopatógenos (Cuadro 3), en diversos países de la región se han reportado individuos de *B. tabaci* infectados en el campo, sin que se haya aislado e identificado el microorganismo causante de dicha patología, lo cual obedece a las limitaciones en la identificación de este tipo de enemigos naturales. Por supuesto, existen muchos menos estudios sobre colectas, aislamiento y caracterización de aislados locales con grandes potencialidades, como se demuestra en las observaciones realizadas por algunos entomólogos que evalúan las poblaciones de esta plaga en los agroecosistemas.

Por ejemplo, en Dominica, McGuire (1995) informó de un hongo que controla la mosca blanca duran-

te la estación de lluvia; en Ecuador, Mendoza *et al.* (1995) refirieron que en la zona central del litoral ecuatoriano han colectado dos especies de hongos entomopatógenos y se ha registrado naturalmente hasta un 95 % de mortalidad de adultos por estos microorganismos, bajo condiciones de 80-90 % de humedad relativa, poca luminosidad y temperatura media de 24 ° C. Igualmente, Serrano *et al.* (1995) hallaron en El Salvador una epizootia intensa de *Paecilomyces* sp., que consideraron muy agresiva sobre poblaciones de *B. tabaci*, especialmente de adultos.

En realidad, *P. fumosoroseus* es el microorganismo que con mayor frecuencia se reporta en nuestros agroecosistemas, lo que sugiere la necesidad de estu-

**Cuadro 3.** Hongos entomopatógenos informados como enemigos naturales de *B. tabaci* en la región.

Especies	Países	Referencias
<i>Aschersonia aleyrodís</i> Webber	Florida (EUA)	Cock (1993).
<i>Aschersonia goldiana</i> Sacc. And Ell.	Brasil	Lourencao <i>et al.</i> (2000).
<i>Aschersonia</i> sp.	Brasil	Farias <i>et al.</i> (1999).
<i>Beauveria bassiana</i> Bals.	México	Ortiz <i>et al.</i> (1996).
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link.	Venezuela	Rojas <i>et al.</i> (1998); Salas (2001); Salas y Arnal (2000).
<i>Cladosporium</i> sp.	Brasil	Farias <i>et al.</i> (1999).
<i>Fusarium</i> sp.	Colombia	García y López-Avila (2000, 2001).
<i>Metarhizium</i> sp.	Panamá	Zachrisson y Poveda (1992).
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> (Wize) Brown and Smith	Brasil, Cuba, Ecuador, El Salvador, Florida (USA), R. Dominicana.	Arias de López (1997); Castiñeiras (1995); Fransen (1990); Lourencao <i>et al.</i> (2000); Serra <i>et al.</i> (1996); Serrano <i>et al.</i> (1996); Vázquez <i>et al.</i> (1999).
<i>Paecilomyces</i> sp.	Brasil, Colombia, México, Panamá.	Farias <i>et al.</i> (1999); García y López-Avila (2000); Ortiz <i>et al.</i> (1996); Zachrisson y Poveda (1992).
<i>Synnematum</i> sp.	México	Aguilera <i>et al.</i> (1996).
<i>Verticillium lecanii</i> (Zimmerman) Viegas	Colombia, México, R. Dominicana.	Alvarez y Abud (1997); García y López-Avila (2000); Ortiz <i>et al.</i> (1996); Serra <i>et al.</i> (1996).

diarlo profundamente. Este hongo es parásito de una amplia variedad de insectos, incluyendo las moscas blancas, tanto en la fase de larva como en la de adulto, y bajo condiciones de alta humedad puede infectar los huevos. Su temperatura óptima de desarrollo es 28° C y sus esporas se adaptan mejor a las condiciones tropicales que las de *Verticillium lecanii*, por ser de mayor tamaño. Desarrolla una alta virulencia sobre *B. tabaci* (Hall 1993, Hernández y Berlanga 1995).

Un breve análisis de las listas de los enemigos naturales de *B. tabaci* en la región nos indica cierta tendencia en el orden de diversidad, predadores > parasitoides > patógenos, con una gran riqueza en especies de parasitoides del género *Encarsia*. Desde luego, estudios profundos de la rica fauna existente podrían cambiar este orden.

El hecho de que en otras regiones se haya informado mayor diversidad de especies, como se puede apreciar en las compilaciones inicialmente referidas, no significa que el neotrópico esté poco habitado por enemigos naturales de esta plaga, sino que en esta región no han sido suficientes los estudios faunísticos, pues estamos seguros de que, como señala Hilje (1995), los censos realizados son preliminares, por lo que es posible que, al profundizarse, se hallen más especies que regulan las poblaciones de esta plaga.

### Principales atributos de los enemigos naturales y avances en el biocontrol de la mosca blanca

**Parasitoides:** La búsqueda de parasitoides de *B. tabaci* ha sido objeto de una gran atención mundial en los

últimos años, incluso para programas de control biológico clásico contra esta plaga.

Sin embargo, según refiere Hoelmer (1996), algunas de las razones por las cuales aún se presentan dificultades para el control biológico de esta plaga incluyen la complejidad taxonómica del grupo *Bemisia*, que impide la identificación de los parasitoides mejor adaptados; la complejidad taxonómica de *Encarsia* y *Eretmocerus*, los dos géneros que incluyen casi todas las especies reportadas de parasitoides, que limita la identificación de las especies nativas y exóticas; entendimiento incompleto de los aspectos esenciales de la biología y los hábitos de los parasitoides, tales como dispersión y efecto de la planta hospedante, que pueden impedir su establecimiento y manejo; el amplio rango de hospedantes de *B. tabaci*, su complejo hábito de selección del hospedante, su habilidad como vector de numerosos virus y sus hábitos de dispersión; y la diversidad de los sistemas de cultivos hospedantes de *B. tabaci*.

La complejidad del problema es tal, que existen lugares como Florida, EUA, donde según Polaszek *et al.* (1992) hay una rica diversidad de parasitoides que atacan a *B. tabaci*, a pesar de lo cual esta mosca blanca continua siendo un problema, sin que este complejo de enemigos naturales logre un control adecuado. Agregan que este complejo de parasitoides está compuesto por especies indígenas y unas pocas introducidas, y todas habitan un amplio rango de cultivos. Los autores concluyeron que las opciones de control biológico dependerán probablemente de las características de los biotipos locales.

De hecho, en algunos lugares, como Dominica, donde interactúan poblaciones locales de enemigos naturales, McGuire y Woolley (1995) refirieron altas tasas de parasitoidismo por *Encarsia hispida* (de hasta un 75 %), lo que contribuye al argumento de que para lograr mejores resultados hay que profundizar en aspectos relativos a la localidad, como es la relación biotipo de la mosca blanca-parasitoide-cultivo-localidad, ya que hay lugares donde la actividad reguladora es alta.

Existen diversos experimentos, en invernadero y en el campo, que reportan altos resultados en la actividad de los parasitoides (Cuadro 4), lo que atribuye buenas perspectivas a estos entomófagos; en cambio, muchas veces la evaluación del parasitoidismo no se realiza por los mismos métodos y ello dificulta las interpretaciones y comparaciones. De cualquier manera, cuando estos organismos se liberan en campos donde no se aplican insecticidas foliarmente, se observan altas tasas de parasitismo.

**Depredadores:** Están representados básicamente por artrópodos, la mayoría de ellos polífagos. Sus hábitos alimenticios son variados, pero en general consumen larvas y huevos, aunque unas pocas especies se alimentan de adultos (Nordlund y Legaspi 1996).

Debido a que estos artrópodos habitan los campos cultivados donde regulan poblaciones de diversos fitófagos, su presencia en los campos afectados por la mosca blanca es común y ello ha sugerido que un en-

foque de conservación en los programas de manejo integrado de plagas (MIP) podría contribuir a su actividad reguladora. Sin embargo, como la mosca blanca es vector de geminivirus aún a muy bajas poblaciones y muchas veces manifiesta explosiones poblacionales, generalmente debido a un inadecuado manejo de los insecticidas, las perspectivas de estos entomófagos se redujeron a buscar especies de alta eficiencia para liberaciones aumentativas, aunque no se ha descartado la conservación de estas y de los demás enemigos naturales existentes en los agroecosistemas.

Las mayores experiencias se concentran en los cultivos protegidos bajo invernaderos, aunque según Heinz *et al.* (1994) se ha demostrado que no resulta eficiente liberar un solo enemigo natural, sino que deben realizarse estudios sobre relaciones entre la mosca blanca y el cultivo, para potenciar el control, mediante liberaciones de más de un biocontrolador.

Los crisópidos han sido evaluados como los más promisorios (Cuadro 5) y en países como México y Cuba se están empleando en el control de los pulgones, la mosca blanca y otras plagas. Las larvas de estos insectos agarran sus presas (insectos de cuerpo blando) y luego succionan su contenido con gran voracidad.

**Entomopatógenos:** A causa de los enormes problemas que se han presentado por el uso de insecticidas sintéticos en el control de las moscas blancas (fenómeno de resistencia, altos costos, etc.), surgió el interés por los

**Cuadro 4.** Informes sobre actividad de parasitoides (liberaciones inoculativas e inundativas).

Especies de parasitoides	Características de la liberación	Resultados	Referencias
<i>Encarsia</i> spp., <i>Eretmocerus</i> spp.	Liberaciones en campo (México)	Buenos	Nieves (1997).
<i>Encarsia</i> spp.	Campo abierto. Frijol. 20 mil indiv./ha. (Holguín, Cuba)	37 % parasitismo	Murguido <i>et al.</i> (2001); Vázquez <i>et al.</i> (1999).
<i>Eretmocerus californicus</i>	Campo abierto. Sobre la vegetación silvestre (El Salvador). Siete liberaciones, cada 15 días (3000 parásitoides en cada liberación).	87%	Parada <i>et al.</i> (1993).

**Cuadro 5.** Algunos ejemplos sobre la actividad de depredadores mediante liberaciones aumentativas.

Especies de depredadores	Características de la liberación	Resultados	Referencias
<i>Chrysopa</i> sp., <i>Hippodamia</i> sp.	Campo abierto. Algodón (Guatemala).	Positivos	Salguero (1992).
<i>Chrysoperla carnea</i>	Campo abierto. Algodón y soya (México). 5-10 mil huevos/ha, mezclados con cascarilla de trigo o arroz.	Buenos	Cárdenas <i>et al.</i> (1996), Nieves (1997).
	Campo abierto. <i>Citrullus vulgaris</i> (Jalisco, México). Larvas 1-2 estadio.	Buenos	López-Barbosa <i>et al.</i> (1996).
<i>Nodita firmini</i>	Liberaciones inoculativas. Agricultura urbana. Campo abierto (Cuba).	Relación predador presa 0,7	Vázquez <i>et al.</i> (1999).

bioproductos de origen microbiológico. Debido a los hábitos alimenticios de las moscas blancas, las mayores posibilidades se atribuyeron a los hongos entomopatógenos, los cuales tienen la característica de germinar en la cutícula del insecto y penetrar a través de su integumento.

Según han expresado Lacey *et al.* (1996), el interés práctico por el uso de hongos entomopatógenos como agentes de control microbial de *B. tabaci* y otras moscas blancas es alto por varias razones: las cuatro especies o grupos de especies más estudiadas (*V. lecanii*, *P. fumosoroseus*, *Aschersonia* spp. y *B. bassiana*) son altamente virulentas para las moscas blancas; excluyendo *B. bassiana*, la mayoría de ellas causa epizootias naturales en moscas blancas, en condiciones de campo o en invernaderos; pueden ser cultivadas en medios artificiales y aplicadas con el equipo de los insecticidas convencionales; se adaptan bien a las condiciones ambientales; contrario a los entomófagos, los conidios producidos comercialmente pueden conservarse viables y ser patogénicos para las moscas blancas después de su producción; y bajo ciertas condiciones, son compatibles o complementadas con otros enemigos naturales de moscas blancas.

Hay tres elementos indispensables para la utilización de estos hongos como bioproductos: primero, las características propias que debe poseer el producto (virulencia, alta producción de esporas, conservar sus propiedades durante el almacenamiento, poseer protección de las esporas); segundo, existencia de buenas condiciones ambientales en el agroecosistema (alta humedad relativa, período favorable de temperatura óptima, pocas corrientes superficiales de aire) y, tercero, aplicarlos como parte de programas de MIP.

Estudios conducidos en varios países han permitido avalar las ventajas de estos bioproductos, principalmente bajo condiciones de invernaderos (Ruiz *et*

*al.* 1995), aunque bajo condiciones de campo también se han obtenido buenas efectividades realizando aplicaciones periódicas (Cuadro 6). En Cuba, por ejemplo, hay una amplia experiencia en su uso en el campo abierto; en particular, contra *B. tabaci* se utiliza la cepa Y-57 de *V. lecanii* desde los primeros años de afectación por esta plaga (Murguido *et al.* 1997). Se llevan a cabo aplicaciones preventivas en el tomate, a partir de los primeros días posteriores al trasplante, y se continúa cada 5-6 días mientras haya control, alternando con insecticidas cuando las poblaciones se elevan por encima del índice o para suprimir los inmigrantes. De esta forma se ha logrado sustituir un tercio de los insecticidas sintéticos con tratamientos en todo el país (Vázquez 1999), aplicando unas 100 toneladas métricas en 50 mil hectáreas (tomate y frijol) anualmente (Murguido *et al.* 2001).

Se refiere además que, en el caso de *P. fumosoroseus*, se ha demostrado que no afecta los parasitoides afelinidos de la mosca blanca y su acción sobre los crisópidos es muy baja (Torres y Cárdenas 1996), lo cual requiere de estudios comprobatorios bajo condiciones de campo, pero sin duda constituye una ventaja el poder hacer un uso combinado de estos organismos como parte de programas de MIP.

De hecho, como señalaran Asiático y Zoebisch (1992), bajo condiciones de campo estos entomopatógenos no evitan la afectación por geminivirus en el tomate; pero es evidente que constituyen una alternativa para disminuir el uso de insecticidas sintéticos y muestran muchas posibilidades en cultivos en que las moscas blancas tienen importancia solamente como herbívoros.

El reto consiste en continuar en la búsqueda de nuevas cepas de mejores características como base para lograr un manejo de estas en los programas de control de la mosca blanca, e incluso realizar mezclas de

**Cuadro 6.** Referencias sobre el uso de hongos entomopatógenos en el biocontrol de *B. tabaci*.

Especies de hongos	Características de la aplicación	Resultados	Referencias
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Laboratorio. $1 \times 10^7$ esp./ml (Costa Rica).	83,8 %	Herrera <i>et al.</i> (1999).
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Ensayos de campo. $1 \times 10^7$ esp./ml.		
	Aplicaciones semanales. Utilización de barreras de maíz (México).	51,3 %	Ruiz y Bolaños (1999).
	Laboratorio. $1 \times 10^8$ esp./ml (Costa Rica).	52,9 %	Herrera <i>et al.</i> (1999).
<i>Verticillium lecanii</i>	Campo abierto. <i>Citrullus vulgaris</i> . $2 \times 10^{12}$ conid./ml (Jalisco, México).	Buenos	López-Barbosa <i>et al.</i> (1996).
	Campo abierto. Tomate y frijol. Tratamientos semanales. Biopreparado sólido (10kg/ha) o líquido (1 L/ha). $10^8$ esp./ml (Cuba).	70-80 %	Murguido <i>et al.</i> (2001).

estas o de microorganismos, además de emplear un sistema de tratamientos que involucre prácticas agronómicas que favorezcan la actividad patogénica de estos bioproductos, pues como opinaron Osborne y Landa (1992), son muy prometedores.

## Conclusiones

La pregunta realizada por Cave (1994) es: ¿Es viable el control biológico de un vector de geminivirus como *B. tabaci*? La pregunta sigue siendo interesante desde el punto de vista científico y su respuesta es aún un reto para los entomólogos que trabajan el control biológico de esta importante plaga. Desde luego, los tres tipos de organismos que constituyen enemigos naturales de la mosca blanca (entiéndase depredadores, parasitoides y entomopatógenos) muestran buenas tasas de regulación bajo las condiciones de experimentos controlados y existen avances en liberaciones y aplicaciones en invernaderos y en campo abierto, lo que sugiere que existen potencialidades.

Respecto a la conservación de los enemigos naturales como estrategia de control biológico, diversos autores le atribuyen importancia, pero habrá que profundizar en aspectos ecológicos y del manejo del cultivo. Así, Minkenberg y Heinz (1996) resumieron que el uso corriente de insecticidas de gran espectro es uno de los mayores obstáculos para el establecimiento del control biológico en el campo, además de los problemas que se deben resolver con el uso de plantas anuales como refugio de estos y su compatibilidad con los cultivos comerciales.

Hay avances en este sentido en Puerto Rico, donde se trabaja en un programa de MIP que involucra liberaciones de entomófagos y el uso de cultivos refugio (*Crotalaria juncea*) de enemigos naturales, así como las barreras (*Saccharum officinarum*) para reducir el movimiento de las poblaciones de adultos de la mosca blanca, contribuyendo a una reducción drástica del uso de agroquímicos (Pantoja *et al.* 2001).

El control biológico clásico continúa en estudio. Minkenberg y Heinz (1996) refieren que en los Estados Unidos se han realizado introducciones de parasitoides, pero que aún no se han concluido investigaciones que permitan demostrar sus posibilidades en la lucha contra la mosca blanca, por lo que se puede considerar como una estrategia con perspectivas, que requiere de validaciones en condiciones de campo.

El aumento o las liberaciones-aplicaciones masivas de enemigos naturales eficientes (entomófagos,

entomopatógenos) es un tema con un nivel de estudio relativo, pues quedan muchas incógnitas por despejar respecto a la actividad en campo de estos organismos, debido al insuficiente estudio de varios aspectos claves de su ecología y su inserción en la tecnología del cultivo.

Además de continuar con la prospección de la biodiversidad existente en nuestros ecosistemas y de mejorar las características y la actividad reguladora de los enemigos naturales más eficientes, hay que priorizar las investigaciones que busquen adecuar los programas de MIP en función de aumentar la efectividad de estos organismos, pues los estudiosos de este tema coinciden en que la tecnología del cultivo y el manejo del hábitat, compatibilizadas como parte de estos programas, pueden contribuir significativamente a incrementar el impacto del control biológico en la lucha contra la mosca blanca, ya que está demostrado que por sí solo el control biológico aún no logra resolver el problema de *B. tabaci*, pero puede contribuir a minimizar el uso de insecticidas cuando se inserta en programas de MIP.

Un análisis de los informes más recientes de países de la región revela que todos utilizan con prioridad los insecticidas, combinándolos con semilleros protegidos, algunas prácticas agronómicas y otras tácticas de manejo; mientras que se presentan avances en el estudio de enemigos naturales y se recomiendan parasitoides y entomopatógenos e incluso en algunos se realizan liberaciones inoculativas de entomófagos y aplicaciones de bioplaguicidas. Resulta significativo en este análisis que muchos países integran de alguna forma elementos de control biológico al manejo de esta plaga (Hilje *et al.* 2000, García y Lopez-Avila 2000, 2001, Vázquez *et al.* 2000, Valarezo y Arias de López 2000, Sermeño y Serrano 2000, Mejía *et al.* 2000, Bustamante 2000, Torres *et al.* 2000, Sediles 2000, Chang 2000, Valencia *et al.* 2000, Pantoja y Cabrera 2000, Villar *et al.* 2000, Salas y Arnal 2000).

## Agradecimientos

Agradezco sinceramente al Comité Organizador del IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre Mosca Blanca y Geminivirus (Panamá, 22-24 de noviembre de 2000) y a la oficina regional de la FAO por su invitación a dicho taller; a Luko Hilje (Coordinador Regional, CATIE, Costa Rica) por haberme designado para elaborar y presentar esta síntesis.

A los siguientes colegas, que me ofrecieron una valiosa información sobre los enemigos naturales de *B. tabaci* en sus respectivos países: Paul Hanson (Universidad de Costa Rica), Javier García y Aristóbulo López-Avila (Corpoica, Colombia), Alberto Sediles (Universidad Nacional Agraria, Managua, Ni-

caragua), José Luis Martínez Carrillo (INIFAP-CIRNO-CEVY, México), Mariana M. Viscarret (Instituto de Genética 'Ewald A. Favret' Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires, Argentina), Jorge Salas (INIA, Centro de Investigaciones Agropecuarias del Estado Lara, Venezuela) y Chris Pruett (Santa Cruz, Bolivia).

## Literatura citada

- Aguilera, R.G.; Córdova, S.; Rodríguez, E.; Dubon, R.; García, C. 1996. Efecto de siete entomopatogenos sobre ninfas de *Bemisia tabaci* en el cultivo de sandía en el Valle de la Fragua, Zacapa. In Memorias V Taller Latinoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus. Acapulco, México. p 201.
- Álvarez, P.; Alfonseca L.; Abud, A.; Villar, A.; Roeland, R.; Marciano, E.; Borbón, J.C.; Garrido, L. 1992. Las moscas blancas en la República Dominicana. En Taller centroamericano y del Caribe sobre moscas blancas. Memorias. Turrialba, Costa Rica. 3-5 de agosto. p. 34-37.
- Álvarez, P.; Abud-Antún, A. 1995. Reporte de República Dominicana. Memoria IV Taller Latinoamericano sobre moscas blancas y geminivirus. CEIBA 36 (1):39-47.
- Álvarez, P.; Abud-Antún, A. 1997. Situación y manejo de las moscas blancas y geminivirus en la República Dominicana. En: VI Taller Latinoamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas y Geminivirus. Memoria. Santo domingo, República Dominicana. 18-19 de agosto. p.15-19
- Araujo, Lucía; Avelino, H.; Poliane A.; De Lucena Santos, M.; Araujo de Lima, G. 1999. Parasitismo de mosca blanca por *Encarsia lutea* (Masi) (Hymenoptera:Aphelinidae) em algodoneiro. En: III Encontro Latino-Americano e do Caribe sobre Moscas Brancas e Geminivirus. Anais Mini- resumos. Recife, Brasil. 17-20 de octubre. p.146.
- Arias de López, M. 1997. Informe nacional de mosca blanca de Ecuador. In VI Taller Latinoamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas y Geminivirus, Memoria. Santo domingo, República Dominicana. 18-19 de agosto. p. 9-10.
- Asiático, J.M.; Zoebisch, T.G. 1992. Control de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate con insecticidas de origen biológico y químico. Manejo Integrado de Plagas 24-25: 1-7.
- Bernal, J.A. 2000. Inventario preliminar de los parasitoides de *Bemisia tabaci* (Gennadius)(Homoptera:Aleyrodidae) en frijol y tomate en Costa Rica. Ceiba (Honduras). 41 (1):21-26.
- Bernal, J.; Basedow, T. 2000. Inventario preliminar de parasitoides de *Bemisia tabaci* (Gennadius)(Homoptera:Aleyrodidae) en varias plantas hospederas de Panamá. In: Memorias IX Congreso Latinoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus. MIDA-IDIAP. Panamá. p.144.
- Bustamante, M.R. 2000. Informe de Honduras. En: IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre mosca blanca y geminivirus. Panamá. 22-24 de noviembre. p. 157-159.
- Caballero, R.; Rueda, A. 1992. Las moscas blancas en Honduras. In Primer taller Centroamericano y del Caribe sobre moscas blancas, Memorias. Turrialba, Costa Rica. 3-5 agosto. p.50-53.
- Cárdenas, J.A., Pérez, F.; Nieves, F. 1996. Campaña contra la mosquita blanca en México. In V Taller Latinoamericano sobre moscas blancas y geminivirus. Memorias. Acapulco, Guerrero, México. 29 septiembre- 4 de octubre. p. 167-169.
- Castifeiras, A. 1995. Natural enemies of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). In Cuba. Florida Entomologist 78 (3):538-540.
- Cave, R.D. 1994. ¿Es viable el control biológico de un vector de geminivirus como *Bemisia tabaci*?. Manejo Integrado de Plagas. No 34, p. 18-22.
- Cave, R.D. 1995. Manual para el reconocimiento de parasitoides de plagas agrícolas en America Central. Ed. Zamorano Honduras. 202 p.
- Ciomperlik, M.A.; Goolsby, J.A.; Poprawski, T.; Wendel, L.E. 1998. Biological control based-IPM of silverleaf whitefly in annual row crops. In: International workshop on Bemisia and Geminiviruses. Memoirs. San Juan, Puerto Rico. June 7-12. p. L-77.
- Cock, M.J.W. 1993. *Bemisia tabaci*. An update 1986-1992 on the cotton whitefly with an annotated bibliography. C.A.B. International Institute of Biological Control, Silwood Park, Ascot, Berks. 78 p.
- Chang, R. 2000. Informe de Panamá. En: IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre mosca blanca y geminivirus. Panamá. 22-24 de noviembre. p. 167-169.
- De Marrero, A.; Tapia, S.; Soto, R. 2001. Enemigos naturales de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) y del complejo *Bemisia tabaci* (Gennadius) presentes en Jujuy, Argentina. In Memorias, X Taller Iberoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus. Varadero, Cuba, p. 227.
- Dimas, H.R.; Flores, J.A.; Menjivar, R.; Serrano, L. 1993. Las moscas Dolichopodidae, depredadores de interés potencial para el control de poblaciones de mosca blanca. In II Taller Latinoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus. Memorias. Managua, Nicaragua. 20-22 octubre. p. 69-70.
- Donis, J.; Prophete, E. 1997. Las moscas blancas (Homoptera:Aleyrodidae) en Haití: situación actual y manejo. In VI Taller Latinoamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas y Geminivirus. Memoria. Santo domingo, República Dominicana. 18-19 de agosto. p. 11.
- Duverger, C. 1986. *Nephaspis maesi*, a new species of Scymnini from Nicaragua (Coleoptera:Coccinellidae). Revue Française d'Entomologia 8 (4): 167-169.
- Gerling, D. 1990. Natural enemies of whiteflies. In: Whiteflies: Their bionomics, pest status and management. D. Gerling Ed. Aintercept, Andover, Hants. p. 147-185.
- Farias, A.R.; De Oliveira, M.Z.A.; Santos, H.P.; Vasconcelos, M.C. 1999. Ocorrencia do fungo *Cladosporium* sp. em ninfas de mosca branca *Bemisia argentifolii* na Bahia. En: VIII Encontro Latino-Americano e do Caribe sobre Moscas Brancas e Geminivirus. Anais Mini- resumos. Recife, Brasil. 17-20 de octubre. p. 145.
- Fransen, J.J. 1990. Natural enemies of whiteflies: Fungi. In Whiteflies: their Bionomics, Pest Status and Management. D. Gerling Ed. Aintercept, Andover, Hants. p. 187-209.
- García, J.; López-Avila, A. 2000. Informe de Colombia. In: IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre mosca blanca y geminivirus. Panamá. 22-24 de noviembre. p.179-183.
- García J.; López-Avila, A. 2001. La problemática de las moscas blancas en Colombia: manejo integrado y transferencia de tecnología. In Memorias, X Taller Iberoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus. Varadero, Cuba, p. 197-205.
- Gerling, D. 1990. Natural Enemies of Whiteflies: predators and Parasitoids. In: Whiteflies: their Bionomics, Pest Status and Management. D. Gerling Ed. Aintercept, Andover, Hants. p. 147-185.

- Goula, M.; Alomar, O. 1994. Miridos (Heteroptera: Miridae) de interés en el control integrado de plagas en el tomate. Guía para su identificación. Bol. San. Veg. Plagas (España). 20: 131-143.
- Hall, R.A. 1993. The use of pathogens to control whiteflies in Europe and the tropics: Possibilities for integrated control. En: Memoria II Taller Latinoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus. Managua, Nicaragua. 20-22 octubre. p. 35-48.
- Haji, F. N. 1997. Pedrosa. Histórico sobre mosca branca no Brasil. En: VI Taller Latinoamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas y Geminivirus. Memoria, Santo Domingo, República Dominicana. 18-19 de agosto. p. 5-8.
- Haji, F.N.P.; Lima M.F.; Barbosa, F.R.; de Alencar J.A.; de Oliveira, M.R.V.; Araújo, L.H.A.; Bleicher, E.; da Silva, P.H.S.; Carneiro, J. da S.. 2000. Relatório do Brasil. En: IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre mosca blanca y geminivirus. Panamá. 22-24 de noviembre. p.187-191.
- Hennessey, R.; Arredondo-Bernal, H.C.; Rodríguez del Bosque, L.A. 1995. Distribución geográfica y huéspedes alternos de parasitoides afelinidos de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Vedaia, México. 2:61-75.
- Hernández, V.M.; Berlanga, A. M. 1995. Selección de aislamientos de *Paecilomyces* spp. y su interacción con otros agentes de control de *Bemisia* spp. En: Memorias XVIII Congreso Nacional de Control Biológico. México. p. 68-69.
- Herrera, F.; Carballo, M.; Shannon, P. 1999. Eficacia de cepas nativas de hongos entomopatógenos sobre *Bemisia tabaci*, en el laboratorio. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No 54, p. 37-43.
- Hilje, L.; Lastra, R.; Zoebisch, T.; Calvo, G.; Segura, L.; Barrantes, L.; Alpízar, D.; Amador, R. 1992. Las moscas blancas en Costa Rica. In Taller centroamericano y del Caribe sobre moscas blancas. Memorias. Turrialba, Costa Rica. 3-5 de agosto. p. 58-63.
- Hilje, L. 1995. Aspectos bioecológicos de *Bemisia tabaci* en Mesoamérica. Manejo Integrado de Plagas, Costa Rica, No 35. p. 46-54.
- Hilje, L.; Ramírez, P.; Sibaja, G. 2000. Informe de Costa Rica. En: IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre mosca blanca y geminivirus. Panamá. 22-24 de noviembre. p. 163-166.
- Hoelmer, K.A. 1996. Whitefly parasitoids: can they control field populations of *Bemisia*?. In: Bemisia 1995: taxonomy, biology, damage, control and management. In Gerling, D.; Mayer, R.T (eds.). Intercept Ltd. UK. p. 451-476.
- Jimenez, E.; Santamaría, B.; Guharay, F. 1996. Reproducción de mosca blanca y la incidencia de control biológico natural en el Valle de Sebaco, Nicaragua. En: V Taller Latinoamericano sobre moscas blancas y geminivirus. Memorias. Acapulco, Guerrero, México. 29 septiembre- 4 de octubre. p. 202.
- Jiménez, E. 1999. La mosca blanca principal plaga en el tomate: ecología y control. In IV taller nacional hortícola, Grupo Interdisciplinario e Interinstitucional de Sistemas Hortícolas, Masatepe, Nicaragua.
- La Rosa, J.; Ocano, C.; Castiñeiras, A.; Zayas, M.A.; Riverón, R. 1992. Enemigos naturales de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) en Cuba. In II Taller sobre Diagnóstico de Plagas, Resúmenes. Ciudad de La Habana. p. 2.
- Lacey, L.A.; Fransen, J.J.; Carruthers, R. 1996. Global distribution of naturally occurring fungi of *Bemisia*, their biologies and use as biological control agents. In Gerling, D.; Mayer, R.T. (eds.). *Bemisia* 1995: taxonomy, biology, damage, control and management. Eds. Intercept Ltd. UK. p. 401-433.
- Lopez-Avila, A. 1986. Natural enemies. In: Cock, M.J.W. (ed). *Bemisia tabaci*-a literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography. Ascot, UK; CAB. International Institute of Biological Control. Pp. 27-35.
- López-Barbosa, E.C.; López-Maldonado, M.C.; Flores-Breceda, S.; M. Zabeih, B.; Tejada, L.O. 1996. Efecto de cuatro métodos de control sobre la fluctuación de población de la mosquita blanca *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) en sandía. In XIX Congreso Nacional de Control Biológico. Simposio de Control Biológico de la mosquita blanca. Memoria. Culiacán, Sinaloa, México. 14-15 de noviembre. p. 20-28.
- Lourencao, A.L.; Valle, G.E.; Alves, S.B.; Tavares, M.T.; Berti H. 2000. Occurrence of natural enemies of *Bemisia tabaci* B biotype in Brazil. In IX taller Latinoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus. Panamá. MIDA-IDIAP. p.132.
- Machado, J.; Fonseca, M.; Bruqueta, D.; Pérez, J.; Tornés, C.; Fernández, J.L.; Fonseca, M.A.; Beitia, F. 2001. Estudios taxonómicos y bioecológicos de *Bemisia* spp. en la región del Valle del Cauto. In Memorias, X Taller Iberoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus. Varadero, Cuba, p. 212.
- McGuire, M. 1995. Reporte de Dominica, Antillas Menores. Memoria IV Taller Latinoamericano sobre moscas blancas y geminivirus. CEIBA 36 (1):9-12.
- McGuire, M.; Woolley, J. 1995. Ecología del complejo mosca blanca-parasitoide en la isla de Dominica. Memoria IV Taller Latinoamericano sobre moscas blancas y geminivirus. CEIBA 36 (1):94.
- Medeiros, K.M.; Farias, A.M.; Nemauro, F. 1999. Comportamento de selecao e oviposicao da *Encarsia dormosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitando *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). In VIII Encontro Latino-americano e do Caribe sobre moscas brancas e geminivirus. Anais, p88. Recife, Pernambuco, Brasil. 17-20 octubre.
- Mejía, L.; Palmieri, M.; Dardón, D. 2000. Informe de Guatemala. En: IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre mosca blanca y geminivirus. Panamá. 22-24 de noviembre. p. 148-151.
- Mendoza, J.; Valarezo, O.; Arias de López, M.; R. Quijije; Cañarte, E.; Alvarez, V. 1995. Reporte de Ecuador. Memoria IV Taller Latinoamericano sobre moscas blancas y geminivirus. CEIBA 36 (1):13-15.
- Mier, T.; River, F.; Bermudez, C.; Benavides, C.; Ulloa, M. 1991. Primer reporte en México del aislamiento de *Verticillium lecanii* a partir de la mosquita blanca y pruebas de patogenicidad in vitro sobre este insecto. Revista Mexicana de Micología 7: 149-156.
- Minkenbergh, O.; Heinz, K. 1996. Research Summary. Section D: Biological Control. In: Silverleaf whitefly. 1996 supplement to the Five-year National Research and Action Plan. USDA-ARS. Fourth Annual Review Held in San Antonio, Texas. February 4-6. p. 155-156.
- Moreira, A.N.; Pedrosa, F.; Severo, R.; dos Santos, A.P.; de Azevedo, M.A.; Rabelo, F.; Alencar, J.A. 1999. Parasitoides de *Bemisia argentifolii* em tomateiro e videira no submedido do vale do Sao Francisco. In VIII Encontro Latino-Americano e do Caribe sobre Moscas Brancas e Geminivirus. Anais Mini-resumos. Recife, Brasil. 17-20 de octubre. p. 147.

- Mound, L.A.; Halsey, S.H. Whitefly of the world. A systematic catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with host plant and natural enemy data. British Museum (Natural History). 340 p. 1978.
- Murguido, C.; Vázquez, L.L.; Gómez, O. 2001. Informe sobre el alcance del programa de manejo integrado de la mosca blanca y los geminivirus en tomate y frijol en Cuba. En: Memorias, X Taller Iberoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus. Varadero, Cuba, p. 179-183.
- Naranjo, S.E. 1996. Overview of Biological Control Programs for *Bemisia* in the USA with emphasis on Arizona. In XIX Congreso Nacional de Control Biológico. Simposio de Control Biológico de la mosquita blanca. Memoria, Culiacán, Sinaloa, México. 14-15 de noviembre. p. 4-10.
- Nieves, F. 1997. Campaña contra la mosquita blanca en México. En: VI Taller Latinoamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas y Geminivirus. Memoria. Santo Domingo, República Dominicana. 18-19 de agosto. p. 12-14.
- Nordlund, D.A.; Legaspi, J.C. 1996. Whitefly predators and their potential for use in biological control. In: *Bemisia* 1995: taxonomy, biology, damage, control and management. Eds. D. Gerling and R. T. Mayer. Intercept Ltd. UK. p. 499-513.
- Núñez, E.Y. 1995. Reporte de Perú. Memoria IV Taller Latinoamericano sobre moscas blancas y geminivirus. CEIBA 36 (1): 157-162.
- Ortiz, M., Arroyo, J.M.; Ramos, A.; González, J. 1996. Especies de moscas blancas, sus enemigos naturales y hospederos en el estado de Nayarit. In V Taller Latinoamericano sobre moscas blancas y geminivirus. Memorias. Acapulco, Guerrero, México. 29 septiembre- 4 de octubre. p. 204.
- Osborne, L.S.; Landa, Z. 1992. Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. Florida Entomologist 75 (4): 456-471.
- Pantoja, A.; Cabrera, I. 2000. Informe de Puerto Rico. En: IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre mosca blanca y geminivirus. Panamá. 22-24 de noviembre. p. 176-178.
- Pantoja, A.; Cabrera, I. 2001. Informe de Puerto Rico. En: Memorias, X Taller Iberoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus. Varadero, Cuba, p. 177-179.
- Parada, M.E.; Martínez, S.R.; Sermeño, J.M. 1993. Manejo de *Eretmocerus clifformis* en vegetación silvestre para el control de moscas blancas en la Cuenca. In II taller Latinoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus. Memorias. Managua, Nicaragua. 20-22 octubre. p. 70.
- Polaszek, A.; Evans, J.A.; Bennett, F.D. 1992. *Encarsia* parasitoids of *Bemisia tabaci* (Hymenoptera: Aphelinidae, Homoptera: Aleyrodidae): a preliminary guide to identification. Bulletin of Entomological Research 82: 375-392.
- Rojas, T.; Pons, N.; Arnal, E. 1998. *Cladosporium herbarum* sobre moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en Venezuela. Boletín de Entomología Venezolana 13 (1): 57-65.
- Ruiz, V.; Ibarra, J.E.; Pérez, R. 1995. Bioensayos con hongos entomopatógenos de mosca blanca a distintas humedades relativas. In Memorias XVIII Congreso Nacional de Control Biológico. México. p. 72-73.
- Ruiz, J.; Bolaños, T.A. 1999. Manejo de *Bemisia tabaci* mediante barreras vivas y *Paecilomyces* en Oaxaca, México. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No 52. p. 80-88.
- Salas, J. 2001. Estudios bioecológicos y control biológico natural de moscas blancas en Venezuela. In Memorias, X Taller Iberoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus. Varadero, Cuba, p. 213-214.
- Salas, J.; Arnal, E. 2000. Informe de Venezuela. In IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre mosca blanca y geminivirus. Panamá. 22-24 de noviembre. p. 184-186.
- Salguero, V. 1992. Perspectivas para el manejo del complejo mosca blanca-virosis. En: II taller Latinoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus. Memorias. Managua, Nicaragua. 20-22 octubre. p. 20-26.
- Santos, E.A.; Gómez, L.O.; Oliveira, M.R.V. 2001. Natural enemies of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotype B in Brazil. In Memorias, X Taller Iberoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus. Varadero, Cuba, p. 226.
- Sediles, A. 2000. Informe de Nicaragua. En: IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre mosca blanca y geminivirus. Panamá. 22-24 de noviembre. p. 160-162.
- Sermeño, J.M.; Serrano, L. 2000. Informe de El Salvador. En: IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre mosca blanca y geminivirus. Panamá. 22-24 de noviembre. p. 152-156.
- Serra, C.A.; Ortiz, M.; Núñez, J.B.; Benoit, P.B. 1996. Survey of indigenous natural enemies of whiteflies in the Dominican Republic. In: Silverleaf whitefly. 1996 supplement to the Five-year National Research and Action Plan. USDA-ARS. Fourth Annual Review Held in San Antonio, Texas. February 4-6. p. 143.
- Serrano, L.; Sermeño, J.M.; Larios, J.F. 1992. Las moscas blancas en El Salvador. En Taller centroamericano y del Caribe sobre moscas blancas. Memorias. Turrialba, Costa Rica. 3-5 de agosto. p. 42-49.
- Serrano, L.; Menjivar, R.; Iraheta, R. 1995. Multiplicación y liberación de parasitoides de *Bemisia tabaci*. Memoria IV Taller Latinoamericano sobre moscas blancas y geminivirus. CEIBA 36 (1): 95.
- Serrano, C.L., Sermeño, C.; Iraheta, R.; Menjivar R.; Pérez, A. 1996. Niveles de población de mosca blanca (*Bemisia tabaci*) y su parasitismo nativo en frijol (*Phaseolus vulgaris*) y tomate (*Lycopersicon esculentum*) en el valle de Zapotitan y hallazgo de un hongo entomopatógeno de la plaga en Usulután, El Salvador, C.A. In V Taller Latinoamericano sobre moscas blancas y geminivirus. Memorias. Acapulco, Guerrero, México. 29 septiembre- 4 de octubre. p. 206.
- Shuster, D.J.; Bennett, F.D.; Evans, G.A.; Dean, D.E.; Price, J.F. 1993. Natural enemies attacking the sweetpotato whitefly in the Caribbean, including Florida. Annual Meeting. USA.
- Torres, E.; Cárdenas, H. 1996. *Paecilomyces fumosoroseus* en el control microbiano de la mosca blanca *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). In memorias XIX Congreso Nacional de control biológico. Sinaloa, México. p. 40-42.
- Torres, C.; Martínez, J.L.; Ramírez, J.C. 2000. Informe de México. In IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre mosca blanca y geminivirus. Panamá. 22-24 de noviembre. p. 144-147.
- Valencia, L.; Mujica, N.; Cisneros, F. 2000. Informe de Perú. In IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre mosca blanca y geminivirus. Panamá. 22-24 de noviembre. p. 194-198.
- Valarezo, O.; Arias, M. 2000. Informe de Ecuador. In IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre mosca blanca y geminivirus. Panamá. 22-24 de noviembre. p. 192-193.
- Vázquez, L.L.; López, D. 2000. Comportamiento de las poblaciones de la chinchita *Cyrtopeltis tenuis* Reuter (Heteroptera: Miridae) en el cultivo del tomate infestado por la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Fitosanidad. La Habana, Cuba. 4 (3-4): 85-88.

- Vázquez, L.L.; Rijo, E.; Mateo, A. 1999. Manejo y conservación de enemigos naturales de *Bemisia* spp. en agroecosistemas de cultivos anuales. In VIII Encontro Latino-Americano e do Caribe sobre Moscas Brancas e Geminivirus. Anais Mini-resumos. Recife, Brasil. 17-20 de octubre. p. 132.
- Vázquez, L.L. 1999. Moscas blancas y geminivirus en el Caribe: estado actual y perspectivas. In VIII Encontro Latino-Americano e do Caribe sobre Moscas Brancas e Geminivirus. Anais Mini-resumos, Recife. Brasil. 17-20 de octubre. p. 45-58.
- Vázquez, L. L., Olympia Gómez, Gloria González y Madelaine Quiñónez. 2000. Informe de Cuba. In IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre mosca blanca y geminivirus. Panamá. 22-24 de noviembre. p. 170-172.
- Vilarinho de Olivera, M.R.; Laumann, R.A.; de Almeida, F.; Goncalves, P.R.; Coimbra de Castro, A. 1999. Inimigos naturais coletados nas populações de *Bemisia tabaci* raza B e *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). In VIII Encontro Latino-Americano e do Caribe sobre Moscas Brancas e Geminivirus. Anais Mini-resumos. Recife, Brasil. 17-20 de octubre. p. 122.
- Villar, A.; Álvarez, P.; Escarramán, V.; Gómez, E. 2000. Informe de república Dominicana. In IX Taller Latinoamericano y del Caribe sobre mosca blanca y geminivirus. Panamá. 22-24 de noviembre. p. 173-175.
- Viscarret, M.M. 1999. La situación actual de las moscas blancas en la Argentina: perspectivas de manejo. En: VIII Encontro Latino-Americano e do Caribe sobre Moscas Brancas e Geminivirus. Anais Mini-resumos, Recife, Brasil. 17-20 de octubre. p. 59-63.
- Yasnosh, V.A. 1992. Entomofagos de las moscas blancas. *Phytoma*. España. No 42, p.15-18.
- Zachrisson, B.; Poveda, J. 1992. La mosca blanca en Panamá. En: Las moscas blancas (Homoptera; Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. In Hilje, L.; Arboleda, O. (eds.). CATIE, Turrialba, Costa Rica. p. 64-66.

## Nota Técnica

# Efecto de la cal y la urea en el manejo del moko de las musáceas

Gabriel Núñez<sup>1</sup>  
Verónica Guevara<sup>2</sup>  
David Monterroso<sup>3</sup>

**RESUMEN.** Con el objetivo de determinar cómo influyen la cal, la urea, y la combinación de ambas sobre la supervivencia de *Pseudomonas solanacearum* Smith, causante del moko de las musáceas, se llevaron a cabo estudios en la finca Ticomo, en Managua, Nicaragua. La investigación se realizó en dos niveles; uno de campo, que incluyó la realización de los tratamientos, formas de muestreo y período para hacer un muestreo; el segundo fue en el laboratorio, para realizar pruebas bioquímicas para la identificación de la bacteria. En el mismo período, se encuestó a productores de musáceas del departamento de Rivas. El saneamiento es suficiente, por sí solo, para manejar la enfermedad. Las colonias de la bacteria se redujeron a los 3 meses, con urea en un 94%, con cal en un 88%, con ambas, en un 86% y con el testigo, en un 72%. A los 6 meses, la población de la bacteria bajó a 0 en todos los tratamientos. Ochenta y nueve por ciento de los productores reconocen los diferentes síntomas de la enfermedad, 67% de ellos sabe como se transmite, pero solo el 44% sabe como prevenirla.

**Palabras clave:** *Pseudomonas solanacearum* (Smith), moko de las musáceas, saneamiento del suelo.

**ABSTRACT.** Effect of cal and urea on sanitation in moko management of musaceas. To determine the effect of cal, urea and their combination on the survival of *Pseudomonas solanacearum* (Smith), which causes musaceas' moko, studies were conducted at the Ticomo farm in Managua, Nicaragua. Research was divided into two levels; first, the field treatments, sampling methods and period. Second, in the laboratory, biochemical tests were carried out to identify the bacteria. At the same time, a survey was conducted with musaceas producers, in Rivas. The bacterial population was reduced in 3 months, 94% with urea, 88% with cal, 86% with both, and 72% with control treatment. After 6 months, the bacterial population was reduced to 0 with all treatments. Eighty nine per cent of the producers recognized different disease symptoms, 67% of them know how it is transmitted, and only 44% know how prevent the disease.

**Key words:** *Pseudomonas solanacearum* (Smith), musaceas' moko, soil sanitation.

## Introducción

El moko bacteriano es causado por la bacteria *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Raza 2. Los síntomas que ocasiona son: amarilleo y dobladura en la lámina y el pecíolo de la hoja candela, segunda o tercera (Fig. 1); en el pseudotallo hay pérdida de turgencia, algunas vainas se rajan (Fig. 2); al hacer un corte transversal al pseudotallo se observan áreas de color amarillo a café-negrusco en los haces vasculares (Figs. 3 y 4); se puede dar pudrición de la chira (flor masculina) y el raquis (Fig. 5); madurez prematura del fruto, se observa una pudrición seca y de color negro a rojo y secreción de mucosidad en el corte

(Figs 7 y 8). Para el control del moko, se utiliza el herbicida Round-up® (i.a. Glifosato 40%), diluido 1:4 en agua (Lehman 1990).

La enfermedad puede causar grandes pérdidas, desde un 30-40% en plantaciones de plátanos (Buitrago, comunicación personal).

Encuestas anteriores han demostrado claramente que el 61% de los productores mencionaron sigatoka como la enfermedad más importante, 51% al mal de Panamá, seguido del moko, con el 34% (Villanueva 1992).

De manera general, se considera que el cultivo es rentable aunque las técnicas usadas por los productores

<sup>1</sup> Parte de la tesis para optar al grado de ingeniero agrónomo.

<sup>2</sup> Docente, Universidad Nacional Agraria - UNA. Managua, Nicaragua.

<sup>3</sup> Coordinador, Proyecto CATIE-INTA/MIP (NORAD). Nicaragua.

res no correspondan a las requeridas, debido a la falta de conocimiento y asesoría sobre los distintos componentes que interactúan en el sistema agrícola, es decir, clima, suelo y plantas (Mendoza 1993).

La investigación pretende dar al productor alguna alternativa que, de manera sencilla, reduzca los costos para controlar o prevenir la enfermedad.

### Materiales y métodos

El estudio se realizó durante el período de octubre de 1995 a julio de 1996, en la finca Ticomo, Managua. El aislamiento e identificación de la bacteria se llevó a cabo en los laboratorios de Microbiología de la Universidad Nacional Agraria.

Los tratamientos se describen de la siguiente manera:

Tratamiento	Dosis	Producto
	4 lb	Cal
II	4 lb	Urea
III	4 lb	Cal + Urea
IV	-	Testigo

Se utiliza cal o urea es para alterar el pH del suelo o para acelerar la descomposición del material vegetal infestado y así propiciar antagonismo entre la bacteria patógena y los microorganismos del suelo.

Los tratamientos 1, 2 y 4 tuvieron 7 repeticiones y el tratamiento 3 tuvo 11 repeticiones. En el campo se marcaron las plantas con síntomas evidentes en el fruto, y se contó con 32 sitios para sanear.

Para aplicar los tratamientos en el campo, se excavó alrededor de la planta una zanja a 1 m de distancia, con una profundidad de 60 cm y un ancho de 50 cm; la planta se derribó y se picó finamente, incluyendo los hijos, y se introdujo en la zanja. Se aplicaron 2 lb de los productos en estudio (cal, urea o la mezcla de ambos), y se procedió a enterrar. Posteriormente, se sacó y picó el cormo, se aplicó nuevamente 2 lb del producto, se enterró y se tapó uniformemente. El testigo se enterró sin la aplicación de ningún producto (Fig. 9).

Cada mes se recolectaron muestras del suelo, recolectando 4 submuestras por sitio tratado para hacer una muestra única a una profundidad de 30 cm. En el laboratorio, se pesaron 10 g de suelo, que se mezclaron con 90 ml de agua estéril. Luego, se realizaron diluciones en serie hasta obtener una dilución de  $10^6$ . El medio de cultivo utilizado fue TTZC (Triphenil Tetrazolium Chloride). Con una micropipeta, se depositó 0.1 ml de la suspensión anterior. A las 48 horas, se realizó el conteo de colonias.

Para la identificación se utilizaron los métodos de tinción Gram, producción de pigmentos, prueba de catalasa y prueba de oxidasa (Dolmuz 1992).



Figura 1



Figura 2



Figura 3

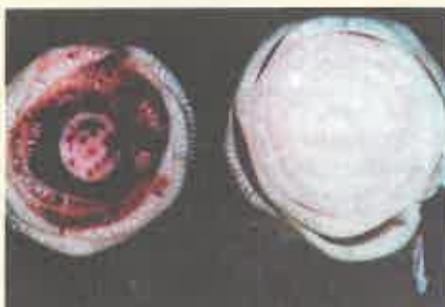


Figura 4

**Figura 1.** Amarillamiento y dobladura de la hoja.

**Figura 2.** Pérdida de turgencia y rajadura de las vainas.

**Figura 3.** Síntomas iniciales de la pudrición en los haces vasculares.

**Figura 4.** Izquierda: síntomas avanzados de pudrición en pseudotallo. Derecha: planta sana.



Figura 5



Figura 6



Figura 7



Figura 8

**Figura 5.** Pudrición de la chira y el raquis.  
**Figura 6.** Producción del área de conducción en el raquis.  
**Figura 7.** Maduración prematura del fruto.  
**Figura 8.** Producción seca y mucosidad en el fruto.



**Figura 9.** Método para realizar el saneamiento en plantaciones de musáceas por el moko bacteriano.

Foto 1. Diagnóstico de la enfermedad en la plantación afectada.

Foto 2. Apertura de la zanja a 1 m de distancia 0.60 m de profundidad y 0.50 m de ancho.

Foto 3. Derribo y picado de la mata enferma, incluye pseudotallo, hojas y frutos.

Foto 4. Todo el material picado se coloca en la zanja. Opcionalmente se puede aplicar 2 libras de cal o urea.

Foto 5. Desentierro del corno. Se pica lo más finamente posible para evitar emergencia de nuevas cepas.

Foto 6. Opcionalmente se puede aplicar otras 2 libras de cal o urea.

Foto 7. Entierro total del corno y partes vegetativas.



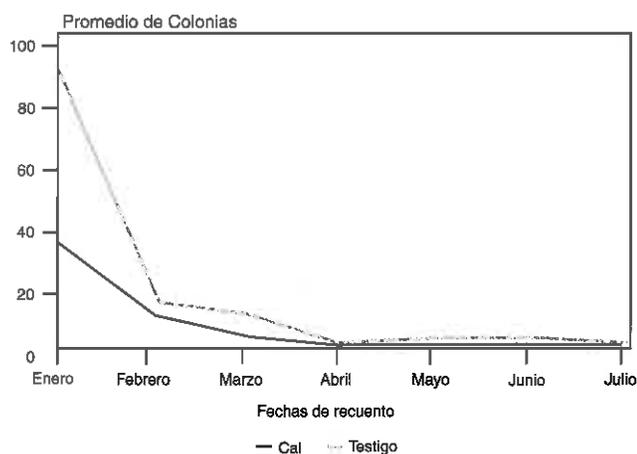
Se realizaron aislamientos y se identificó la bacteria que creció en la rizósfera de las malezas en los sitios tratados. Se limpiaron con agua estéril las raíces de malezas y se maceraron, la suspensión resultante se sembró en TTZC.

La encuesta estuvo dirigida a 18 productores del Departamento de Rivas, por ser el que concentra la mayor producción de Musáceas, 80% de la IV región y 86% de la producción total (Villanueva 1992, citado por Rueda 1993).

La encuesta fue estructurada mediante cinco aspectos fundamentales: generales, agronómicos, fitosanitarios, sobre la enfermedad y asistencia técnica.

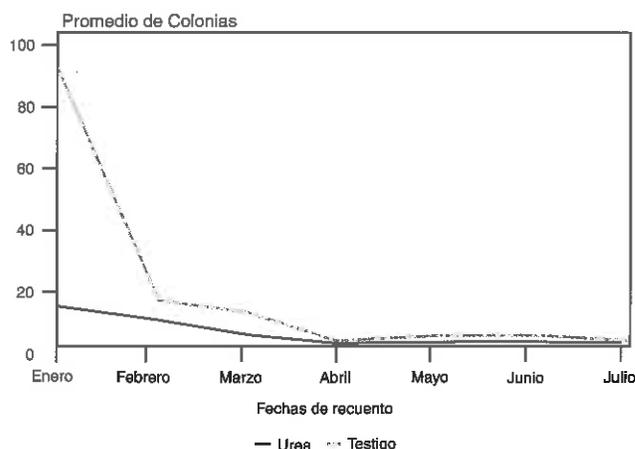
### Resultados y discusión

El tratamiento con urea registró durante los cuatro primeros meses un promedio poblacional de colonias de bacterias de  $6.11 \times 10^6$  en comparación con el testigo. Así, la urea redujo el 93.89% de la población inicial de bacterias. En el primer muestreo la población de colonias de bacterias fue de  $12.57 \times 10^6$ , en el segundo muestreo fue de  $8.28 \times 10^6$ , en el tercer muestreo la población fue de  $3.57 \times 10^6$ , y en el último muestreo la población de colonias de bacterias fue de cero (Fig. 10).



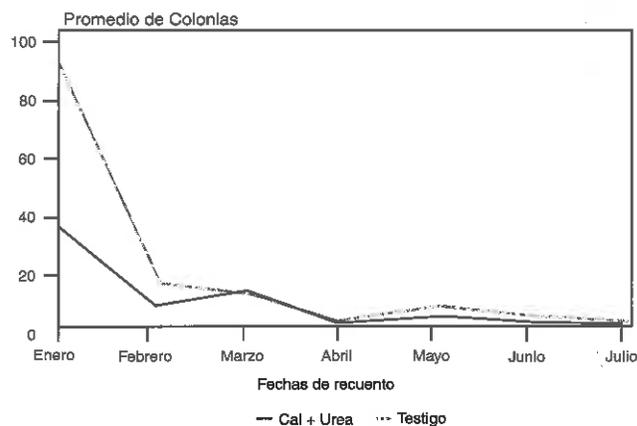
**Figura 10.** Efecto del tratamiento Cal sobre las poblaciones de *P. solanacearum* durante los meses de Enero a Julio. Ticomo, Managua, 1996.

El tratamiento con cal registró un promedio poblacional de colonias de bacterias de  $11.17 \times 10^6$  en comparación con el testigo, lo que indica que la población se redujo en un 88.29%. En el primer recuento, la población de colonias de bacterias fue de  $34.43 \times 10^6$ , en el segundo recuento era de  $9.71 \times 10^6$ , durante el tercer recuento la población de colonias era de  $2.71 \times 10^6$ , y en el cuarto recuento la población fue de cero (Fig. 11).



**Figura 11.** Efecto del tratamiento Urea en la sobrevivencia de *P. solanacearum* en los meses de Enero a Julio. Ticomo, Managua, 1996.

En el tratamiento con cal más urea, el promedio poblacional de colonias de bacterias en el cuarto mes fue de  $13.50 \times 10^6$ , lo cual indica que la mezcla redujo en un 86.50% las colonias de bacterias en comparación con el testigo. Durante el primer recuento, la población fue de  $35.27 \times 10^6$  colonias de bacterias, en el segundo recuento fue de  $8 \times 10^6$ . En el recuento siguiente, la población fue de  $10.43 \times 10^6$  colonias de bacterias, lo que indica un pequeño aumento de la población, y en el último recuento la población fue de cero (Fig. 12).



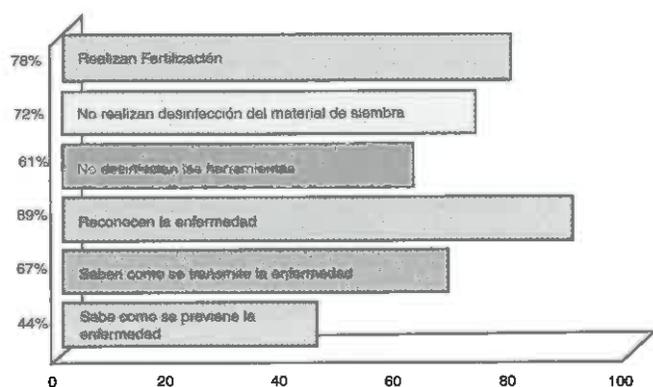
**Figura 12.** Efecto de los tratamientos Cal+Urea sobre las poblaciones de *P. solanacearum* durante los meses de Enero a Julio. Ticomo, Managua, 1996.

El tratamiento testigo registró un promedio poblacional de  $28.14 \times 10^6$  colonias de bacterias al cuarto mes. Durante el primer recuento, el testigo registró  $87 \times 10^6$  colonias de bacterias. En los demás recuentos hubo disminución: en el segundo recuento de  $15.14 \times 10^6$ , en el tercero de  $10.43 \times 10^6$ , y en el último fue de cero.

Los factores climáticos coadyuvaron en la eliminación de la bacteria, ya que hubo altas temperaturas y pocas precipitaciones.

Las malezas encontradas en los sitios tratados fueron: *Melampodium divaricatum*, *Commelina diffusa*, *Argemone mexicana*, *Digitaria sanguinalis*, *Elleusine indica*, *Portulaca oleracea* y *Lantana camara*. La bacteria se aisló de todas ellas; pero no se realizó conteo porque nuestro objetivo era únicamente verificar su presencia en las raíces.

En cuanto a los resultados de las encuestas, un



**Figura 13.** Resultados de las encuestas realizadas a productores de Musáceas sobre el conocimiento de la enfermedad, 1996.

78% de los encuestados fertilizan, el 72% no desinfecta el material; un 89% de los encuestados reconoce la enfermedad en sus distintos síntomas, como amarilleo de las hojas, fruto sin desarrollar y con maduración prematura.

El 67% de los productores sabe cómo se transmite la enfermedad: por machetes, insectos, materiales y herramientas infestadas. Un 44% sabe como se pre-

viene la enfermedad: mediante el deschire oportuno, la desinfección de las herramientas y el material de siembra.

### Conclusiones

- La urea redujo las poblaciones de *P. solamancearum* en el suelo en el menor tiempo, comparado con el resto de los tratamientos.
- La población de bacterias desciende a 0 después de seis meses sólo con el saneamiento en época seca.
- Cuando la bacteria no encuentra sustrato alimenticio, puede sobrevivir en la rizósfera de las malezas.
- La gran mayoría de los productores encuestados conoce la enfermedad y la manera en la cual se transmite; pero no sabe cómo prevenirla.

### Literatura citada

- Dolmuz, M. 1992. Métodos de diagnóstico de enfermedades bacterianas. In Fundamentos básicos de bacteriología agrícola. Managua, Nicaragua, Universidad Nacional Agraria. p. 84.
- Lehman, H. 1990. Control del moko. In Manejo integrado de enfermedades en plátano y guineo. Managua, Nicaragua, Proyecto Protección de Cultivos (GTZ). Ministerio de Agricultura y Ganadería. p. 45.
- Mendoza, S. 1993. Diagnóstico agronómico, fitosanitario y económico del cultivo de plátano en diferentes niveles tecnológicos en Rivas. Tesis Ing. Agr. Managua, Nicaragua, Universidad Nacional Agraria. p. 1.
- Rueda, TC. 1993. Diagnóstico del cultivo del guineo cuadrado (*Musa sp.*) en diferentes niveles tecnológicos. Rivas. Tesis Ing. Agr. Managua, Nicaragua, Universidad Nacional Agraria. p. 1.
- Villanueva, FC. 1992. Informe de las encuestas aplicadas a productores de musáceas de la región IV: Rivas, Managua, Carazo y Granada. (Setiembre-Diciembre de 1991). Managua, Nicaragua, Ministerio de Agricultura y Ganadería. Dirección de Sanidad Vegetal, Centro Nacional de Protección Vegetal. p. 26.

# Identificación de *Acidovorax avenae citrulli* en semillas de sandía en Nicaragua

Mercedes Muñoz<sup>1</sup>  
David Monterroso<sup>2</sup>

**RESUMEN.** A inicios de 1997 los productores de sandía en Tipitapa, Managua, Nicaragua, reportaron una enfermedad desconocida, que causaba problemas en el fruto. El problema fue introducido a Nicaragua en recipientes preparados por la Co. Petoseed. El Departamento de Protección de Plantas del Ministerio de Agricultura decomisó la semilla infestada. El organismo causal fue identificado y caracterizado. Las pruebas de patogenicidad demostraron que se trata de la bacteria *Acidovorax avenae* ssp. *Citrulli*. Este es el primer reporte que se hace de la bacteria y ha sido registrada en el listado de plagas establecidas en Nicaragua.

**Palabras clave:** *Acidovorax avenae citrulli*, sandía, mancha bacterial del fruto.

**ABSTRACT.** Identification of *Acidovorax avenae citrulli* in watermelon seeds in Nicaragua. In early 1997, watermelon growers in Tipitapa, Managua, Nicaragua, reported an unidentifiable disease attacking the fruits. The problem was traced to seeds introduced by Horsh from the Petosee Company, in Costa Rica. The Ministry of Agriculture's Crop Protection Department recalled the contaminated seed. Through a series of lab tests, the disease was characterized as caused by the bacterial fruit spot in watermelon, identified as *Acidovorax avenae* subsp. *Citrulli*. This is the first reported appearance of this bacteria in Nicaragua and it has been added to the list of established pests.

**Key words:** *Acidovorax avenae citrulli*, watermelon, bacterial fruit spot.

## Introducción

De todas las enfermedades que afectan la sandía, la mancha bacterial de la sandía es la más devastadora porque ocasiona pérdidas de hasta más del 90% en condiciones favorables.

La mancha bacterial de la sandía se reportó por primera vez en 1989, en los Estados Unidos. También se reporta en países como Filipinas, Italia y Taiwan.

Esta bacteria causa dos tipos de síntomas en el cultivo de sandía: uno se caracteriza principalmente por manchas que forman lesiones acuosas en los cotiledones de las plántulas; el otro tipo de síntoma corresponde a lesiones grandes acuosas de márgenes irregulares en la fruta, que con la edad pueden rajar el peridermo de la corteza del fruto y producir exudaciones.

A comienzos de este año, se introdujo un lote de semillas de sandía a Nicaragua, el cual no alcanzó la etapa de cultivo debido a la presencia de patógenos. Como consecuencia de este problema, la empresa Horsh Frutas y Vegetales solicitó a la Dirección de Sanidad Vegetal un diagnóstico exhaustivo de la semilla introducida; la Dirección la decomisó inmediatamente. Cabe mencionar que el recipiente de la semilla decomisada señalaba que: "El fabricante controló la producción de esta semilla de sandía. Una muestra fue evaluada en sus laboratorios de Patología y se encontró negativa para el organismo de la mancha bacterial del fruto de sandía. Sin embargo, el fabricante no se responsabiliza de que estas semillas estén completamente libres de otras enfermedades llevadas en las mismas".

<sup>1</sup> Responsable de Bacteriología, Centro Nacional de Diagnóstico y Vigilancia Fitosanitaria, SAVE-MAG, Managua, Nicaragua.

<sup>2</sup> Coordinador del Proyecto CATIE/INTA-MIP (NORAD), Managua, Nicaragua.

Actualmente, la mancha bacterial del fruto de sandía, causada por la bacteria *A. avenae* subsp. *Citrulli*, no se reporta en el listado oficial de plagas establecidas en Nicaragua y, tomando en consideración la gran importancia que representa esta enfermedad para los cultivadores nacionales, es de principal interés para el Laboratorio de Bacteriología del Centro Nacional de Diagnósticos Fitosanitarios del Ministerio de Agricultura y Ganadería (CNDF) realizar el trabajo de diagnóstico, cuyos objetivos son determinar la calidad fitosanitaria de la semilla de sandía var. *Mickylee*, e identificar la bacteria *A. avenae* subsp. *Citrulli*.

### Materiales y métodos

El material utilizado como fuente de inóculo para el aislamiento de la bacteria fue semillas de sandía certificada por Petoseed var. *Mickylee*, Lote No.1018.

Para el aislamiento e identificación del patógeno se utilizó la siguiente metodología:

Se realizaron pruebas de germinación en el invernadero, utilizando mil semillas de sandía var. *Mickylee*, Lote No.1018, para determinar el porcentaje de germinación y presencia de patógenos.

Las semillas de sandía se pusieron a germinar *in vitro*. Para ello, se utilizó un germinador Astell Hearnson, modelo No.SCB006. El patógeno se aisló a partir de las semillas infectadas.

La purificación de bacterias se realizó en medios de cultivos generales y específicos para su identificación.

Para la identificación de la bacteria fitopatógena, nos basamos en varias propiedades de la colonia en medio de cultivo: color, forma y margen de la colonia. Otras de las propiedades que se consideraron son las bioquímicas, como la habilidad de degradar ciertos componentes selectivos que juegan un papel importante en la identificación.

Las pruebas de patogenicidad se realizaron en plantas sanas de sandía y otras cucurbitáceas (melón y pepino), usando una solución salina 0.8% de NaCl estéril como dispersante de la bacteria. La prueba testigo consistió de plantas sanas inoculadas con agua estéril.

### Resultados y discusión

Durante la etapa de germinación en el invernadero se observó el desarrollo de áreas acuosas en el envés de la hoja cotiledonal en un 75%, otras presentaron lesiones necrosadas foliares circundadas por un halo amarillo que se extendía a lo largo de la vena central y tallos completamente deformados que no llegan a desarrollarse (Fig. 1).

La bacteria se desarrolló en todos los aislamientos de semillas de sandía germinadas. La bacteria aislada de semillas var. *Mickylee* presentó un color cremoso, típico del género *Acidovorax* (*Pseudomonas*) en los medios NA, YDC y PDA; y para la determinación de la especie *avenae* se utilizó el medio selectivo SNR descrito por Schaad (1988) (ver Recuadro 1). La bacteria no mostró fluorescencia en el medio KB, por lo tanto, pertenece al grupo no fluorescente de *Acidovorax* (*Pseudomonas*), al cual también pertenece *A. avenae*, el agente causal de la mancha bacterial de la sandía; se propone la subespecie *citrulli*, por el hospedante del cual se aisló la bacteria en estudio (Fig. 2).

En las pruebas de patogenicidad realizadas en plantas sanas de sandía var. *Charlenton Gray*, se produjeron las lesiones típicas de la mancha bacterial del fruto de sandía (Fig. 3). También en pepino y melón se expresaron los síntomas de acuosidad y necrosis (Figs. 4 y 5).

Lo anterior ocurre cuando la bacteria penetra en los espacios intercelulares de la planta y comienza a multiplicarse, produciendo cambios drásticos en la permeabilidad de las membranas de las células del vegetal en la zona aledaña a la penetración.

En resumen, los síntomas observados en las plántulas sembradas en arena estéril coinciden con los descritos para la mancha bacterial de la sandía. Los aislamientos efectuados en los diferentes medios de cultivo, las pruebas fisiológicas y bioquímicas y, principalmente, las pruebas de patogenicidad realizadas en cultivos de sandía, melón y pepino, indican que la bacteria aislada es la causante de la mancha bacterial de la sandía.

De acuerdo con los registros de los análisis realizados en el Laboratorio de Bacteriología del CNDF, es la primera vez que se reporta la presencia de la bacteria *A. avenae* subsp. *Citrulli* en Nicaragua.

Es posible evitar la expansión de *A. Avenae* subsp. *Citrulli*, ya que está limitada a cucurbitáceas y suponemos que hasta el momento se halla solamente en la Finca El Quemado, propiedad del Sr. Tragot Horsh.

### Conclusiones

Se identificó *A. avenae* subsp. *Citrulli* en semillas de sandía var. *Mickylee*, registrada y envasada por la empresa Petoseed.

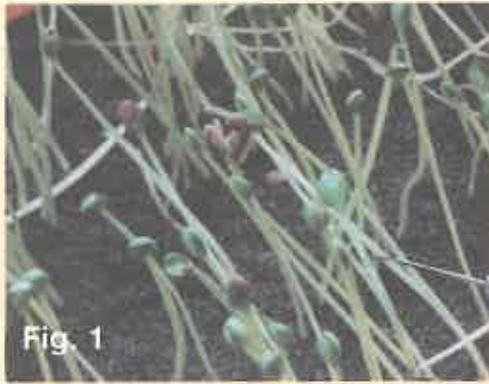


Fig. 1



Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4



Fig. 5

**Figura 1** Pruebas de germinación, hojas cotiledonales acuosas y necrosadas.

**Figura 2.** Reacción en medios de cultivo YDC y KB.

**Figura 3.** Síntomas provocados en sandía, con inoculación artificial.

**Figura 4.** Síntomas provocados en pepino con inoculación artificial.

**Figura 5.** Síntomas provocados en melón con inoculación artificial.

## Recomendaciones

Como la semilla ya ha sido sembrada, recomendamos lo que a continuación se detalla.

Cuarentenar la finca El Quemado, propiedad de Horsh Frutas y Vegetales, bajo una constante supervisión; a su vez, esta empresa tendrá que cuarentenar el lote para evitar la diseminación de la bacteria a lotes sanos. Tendrá que aplicar medidas de desinfección de los instrumentos utilizados en el trabajo de campo, como maquinarias, zapatos de los trabajadores, etc.

Prohibir el cultivo de cucurbitáceas por un período de dos años en el lote en el cual fue detectada la bacteria.

Como la bacteria sobrevive en la corteza del fru-

to y las plantas voluntarias, se recomienda sembrar gramíneas o yuca.

Los agricultores deben cooperar, exigiendo en conjunto con las unidades de cuarentena un certificado de análisis de las semillas que quieran importar.

Realizar muestreos de suelo para así determinar viabilidad de *A. Avenae*.

Realizar muestreos periódicos en fincas donde se cultiva sandía, aledañas a la finca El Quemado.

## Literatura citada

Schaad, NW. 1988. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacterial. 2<sup>nd</sup>. Edition. Minnesota, The American Phytopathological Society. p. 36-38.

### Recuadro 1. Medios de cultivos básicos para el diagnóstico de enfermedades bacterianas en las plantas

#### Medio NA (Nutriente Agar)

El medio NA es un medio sólido para propósitos generales.

##### Composición

Extracto de levadura	2 g/l
Extracto de carne	1 g/l
Bacto Peptona	5 g/l
NaCl	5 g/l
Agar-Agar	15 g/l
Agua destilada	1 l

#### Medio KB

El medio KB es un medio sólido diferencial para bacterias del grupo fluorescente de *Pseudomona*.

##### Composición

Proteasa Peptona	20 g/l
Glicerina	10 ml/l
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.5 g/l
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1.5 g/l
Agar-Agar	15 g/l

#### Medio XA

El medio XA es un medio sólido, específico para el análisis de bacterias del género *Xanthomonas*. Alrededor de las colonias de bacterias pertenecientes a este género se forma una zona clara casi amarilla en el medio azul.

##### Composición

Bacto Peptona	1 g/l
Almidón Soluble	10 g/l
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.5 g/l
NaCl	5 g/l
Agar-Agar	15 g/l
Azul de Bromotimol 2%	6 ml
Agua destilada	1 l

#### Medio YDC (levadura - dextrosa - carbonato)

El medio YDC, es un medio sólido para propósitos generales, como determinar el color típico de las colonias bacterianas.

##### Composición

Parte I	
Carbonato de Calcio (CaCO <sub>3</sub> )	20 g/l
Extracto de levadura	10 g/l
Agar-Agar	15 g/l
Agua destilada	900 ml
Parte II	
Dextrosa	20 g/l
Agua destilada	100 ml

#### Medio SNR Agar (sorbitol rojo neutral)

El medio específico para el aislamiento de *Pseudomonas avenae*

##### Composición

Parte I	
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	3.00 g/l
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.0 g/l
KNO <sub>3</sub>	1.0 g/l
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.3 g/l
Neutral Red, 0.2% solución	
Acuosa (69% activo)	10 ml/l

##### Parte II

Una vez autoclavado, agregar 2 ml de una solución alcohólica de 100 mg/ml de cicloheximide y 50 ml de una solución de D-sorbitol al 10%.

# Hoja Técnica

No. 43

CATIE



## Mancha bacteriana del fruto de melón y sandía: Manejo integrado de una emergencia

Floribeth Mora-Umaña<sup>1</sup>  
Carlos Manuel Araya<sup>2</sup>

### Introducción

La mancha bacteriana del fruto de melón y sandía es causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Willems y Schaad). Se considera un patógeno con alto potencial de destrucción, capaz de causar pérdidas de hasta el 100% en vivero o plantación, cuando el cultivo se desarrolla bajo condiciones ambientales favorables para su multiplicación y diseminación.

La enfermedad se observó por primera vez en 1963 causando defoliación en plantaciones comerciales de sandía en Florida; cuatro años más tarde se presentó infección y destrucción de frutos de sandía, en los que se observó exudados a partir de las lesiones. El análisis de las muestras demostró la presencia de colonias bacterianas, fluorescentes bajo luz ultravioleta. Posteriormente, en Georgia, se identificaron síntomas similares en el follaje de plántulas de sandía. También se encontraron ataques en Indiana, Oregon, y Texas.

Otros informes sobre la presencia de la enfermedad fuera de los EE.UU. se dieron en Australia, Venezuela y Brasil. En Costa Rica, la enfermedad se presentó en varias fincas productoras de melón a finales del año 2001, en las regiones Pacífico Central y Chorotega, así como en viveros ubicados en el Valle Central. A pesar de la distribución limitada de la enfermedad, la ausencia de medidas de combate oportunas, aunada a condiciones climáticas favorables, permitieron al patógeno alcanzar altos niveles de severidad.

Las pérdidas de producción en lotes afectados oscilaron entre el 70 y el 100%.

La correcta identificación del patógeno ha sido motivo de controversia. Originalmente, la especie *Pseudomonas lachrymans* se asoció con los síntomas observados en plántulas de sandía; autores posteriores describieron una bacteria similar, obtenida de lesiones en cotiledones y, con menor frecuencia, en plántulas de sandía, la cual identificaron como *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli*. En 1991, fue reclasificada a *Pseudomonas pseudoalcaligenes citrulli* y, recientemente, a *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*.

Durante la temporada 2001-2002 se cultivaron en Costa Rica 8.664 ha de melón y sandía, de las cuales 1.667 fueron severamente afectadas por la bacteriosis y erradicadas como medida de combate. Gracias a la ejecución oportuna de la estrategia de combate, diseñada por un grupo interdisciplinario de técnicos, y que durante el primer trimestre de año 2002 las condiciones climáticas se tornaron desfavorables al desarrollo de la enfermedad, los productores lograron resembrar y las pérdidas económicas al final de la temporada no excedieron el 2,24 %, respecto al año anterior.

Actualmente, los técnicos encargados de enfrentar la situación han encontrado tres condiciones que tornaron el problema en uno de particular importancia fitosanitaria. Primero, desde el punto de vista bio-

<sup>1</sup> Servicio Fitosanitario del Estado. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Ap. 10094-1000 San José, Costa Rica. fmora@proteconet.go.cr

<sup>2</sup> Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional Ap. 86-3000. Heredia, Costa Rica. caraya@una.ac.cr

lógico, se contaba con suficiente información sobre la bacteria; no obstante, esta había sido generada bajo condiciones de clima templado, referidas al cultivo de sandía, no de melón. Segundo, en el país no se contaba con métodos rápidos y precisos de diagnóstico. El tercer aspecto, quizá el de mayor trascendencia económica, fue que el problema demandaba una solución pronta y efectiva, por tratarse de un cultivo que presenta una sola temporada de producción que cubre una "ventana" de comercialización en Europa y EE.UU., principalmente.

### Síntomas

La bacteria ataca todos los estados fenológicos de la planta, desde la fase de producción de plántulas en invernadero hasta la planta adulta y los frutos en el campo.

En el invernadero, los síntomas se manifiestan en las hojas cotiledonales de plántulas recién emergidas. Al inicio se notan pequeños puntos de aspecto acuoso, más evidentes en el envés de la hoja. Estas lesiones crecen y se tornan oscuras (Fig. 1). Bajo condiciones de alta humedad se puede presentar exudado bacteriano. La aparición de síntomas toma de 10 a 14 días, por lo que algunas veces pueden pasar desapercibidos y muy raramente se observan en las primeras hojas verdaderas. Las le-

siones en el hipocótilo pueden resultar en daños y muerte prematura de las plántulas. Por ser un patógeno transmitido por semilla, la incidencia y la severidad de la enfermedad están muy asociadas a la sanidad de la semilla.

En el campo, después del trasplante, los síntomas en hojas verdaderas se presentan como pequeñas manchas acuosas, amarillentas, que conforme se desarrollan se produce tejido necrótico en el centro de la lesión con un halo clorótico muy pronunciado (Fig. 2). En ataques severos se puede observar necrosis en el tejido próximo a la vena principal o secundarias. En condiciones de lluvias frecuentes, se presenta un exudado bacteriano por el envés de la hoja, el cual se convierte en un polvillo blanco si la humedad se reduce (Fig. 3). En Costa Rica se han observado también "guías" enfermas, con producción de exudados.

En el fruto, las lesiones aparecen mucho después de haberse producido la infección; se inician con una pequeña lesión de apariencia grasosa sobre la superficie, la cual crece rápidamente y toma una coloración verde oscura, con márgenes irregulares de aspecto acuoso. En algunos casos, la bacteria es capaz de penetrar el fruto y causar la desintegración interna de la pulpa, sin que se observen síntomas externos (Fig. 4). En la variedad de melón Cantaloupe se de-

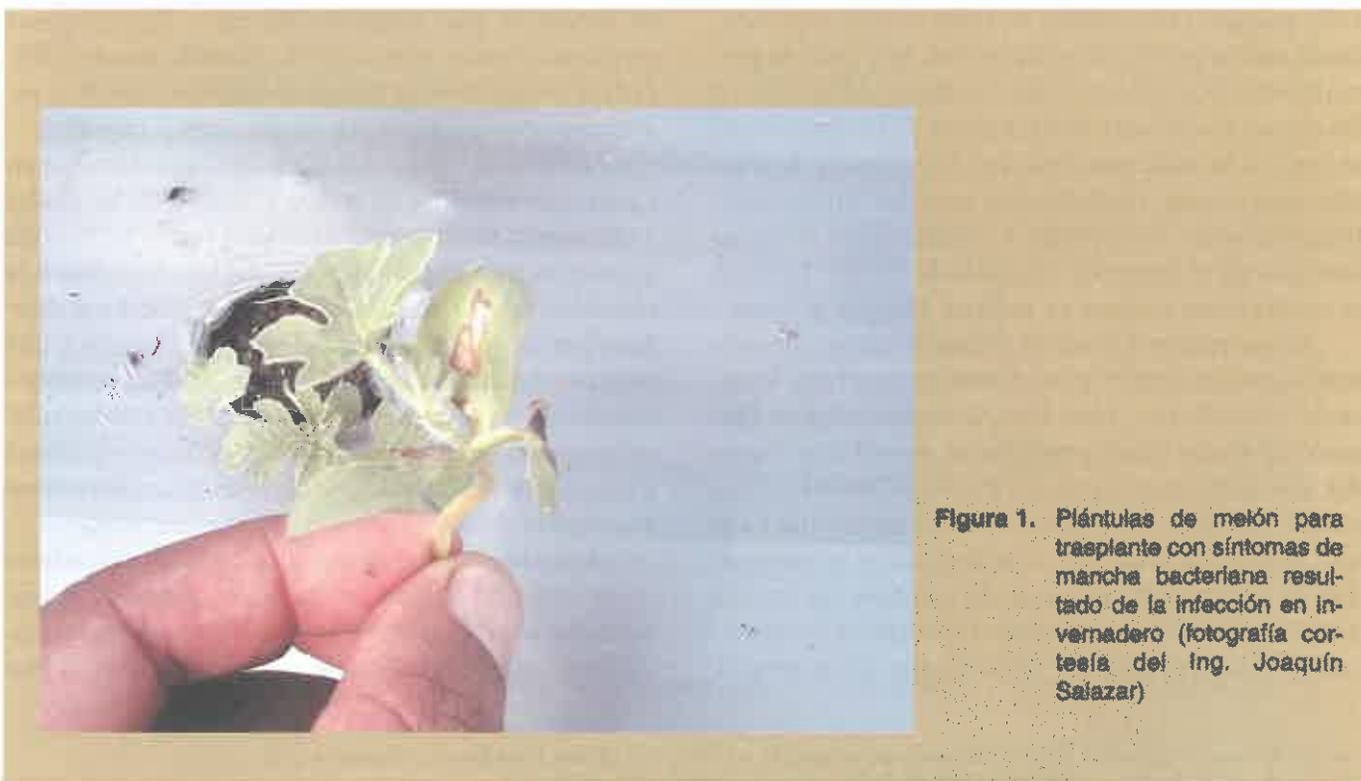


Figura 1. Plántulas de melón para trasplante con síntomas de mancha bacteriana resultado de la infección en invernadero (fotografía cortesía del Ing. Joaquín Salazar)



Figura 2. A) Síntomas iniciales de la mancha bacteriana en hojas desarrolladas, B) lesiones avanzadas de la enfermedad en plantas en el campo (fotografías cortesía del Ing. Joaquín Salazar).

tecta con facilidad la infección de la bacteria y su punto de penetración, debido a que en esa área no se forma la malla o redcilla superficial que caracteriza la variedad.

### Epidemiología

La semilla es una importante fuente de inóculo, porque la bacteria se transmite por ese medio y puede atacar diferentes variedades de sandía, melón y otras cucurbitáceas. Otros reservorios del microorganismo son los frutos infectados dejados sobre el suelo, plantas residuales enfermas, plántulas de trasplante con síntomas incipientes, malezas susceptibles y cucurbitáceas silvestres. También se ha mencionado semillas de solanáceas como transmisoras de la bacteria.

Las plántulas infectadas en el invernadero tienen gran relevancia epidemiológica por la rápida diseminación interna. Esta se acelera con el uso de los sistemas de riego por aspersión, los cuales pueden causar la infección de un gran número de plántulas, algunas veces sin síntomas evidentes, las cuales posteriormente son llevadas al campo. La producción de almacigales o plántulas bajo condiciones de alta temperatura y humedad, propias de los invernaderos, provee condiciones favorables para la multiplicación y diseminación del patógeno. Se ha mencionado, también, el papel que pueden desempeñar poblaciones epífitas de la bacteria que existen en tejido foliar o frutos asintomáticos.

La penetración ocurre a través de los estomas en frutos de dos a tres semanas de desarrollo; después de esa etapa, adquieren resistencia debido a los depósitos de grasa que cubren los estomas. Las bacterias epífitas lo pueden hacer por heridas a cualquier edad de las hojas o frutos. No existe evidencia de infección sistémica.

La diseminación de la enfermedad a cortas distancias ocurre por salpique de lluvia, mientras que la combinación de alta precipitación y viento favorece la dispersión a mayores distancias. El riego por aspersión es un factor que favorece epifitias de la enfermedad.

Datos de supervivencia en condiciones de clima templado confirman que *A.a.* subsp. *citrulli* sobrevive durante 63 días en bandejas de vivero no tratadas que contienen residuos de substrato y residuos de raíces. Sin embargo, esta información no se puede extrapolar a las condiciones tropicales de producción de melón en Costa Rica, ya que es posible que la longevidad sea mayor. La presencia de residuos de cosecha infectados y hospedantes alternos en el campo mejoran su capacidad de supervivencia.

### Manejo de la enfermedad

Las medidas de combate deben estar muy asociadas a la realidad del cultivo en Costa Rica, donde las condiciones de clima tropical favorecen la reproducción de la bacteria. Asimismo, la información disponible debe



**Figura 3.** Povillo blancuzco producto de la desecación del exudado bacteriano (fotografía cortesía del Ing. Joaquín Salazar)

ser tomada con precaución, dado que, en su mayor parte, ha sido generada a partir de investigaciones realizadas en sandía, y en nuestro país el problema se presentó en variedades de melón, principalmente.

Con estas dos premisas, el Servicio Fitosanitario del Estado, del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), convocó a la formación de la “Comisión Nacional de Melón”, en la que se inició un proceso de consulta multidisciplinario e interinstitucional con la

participación de entes públicos y privados, con el propósito de elaborar una estrategia conjunta para el manejo de la enfermedad, considerando los puntos sensibles en la cadena de producción.

Como primer paso, se valoró todo lo relacionado con la importación de semilla comercial de melón y sandía, la cual, a partir de octubre del 2002, debe cumplir con el aporte de un Certificado Fitosanitario oficial del país de origen, acompañado de un certificado de análisis de un laboratorio (oficial o privado) que indique que la semilla declarada fue sometida a ensayos (de al menos 10 000 semillas) en los cuales no se determinó la presencia de la bacteria *A. avenae* subsp. *citrulli*. En los casos de países productores de semilla donde no se ha reportado la presencia de la bacteria, el requisito es el Certificado Fitosanitario Oficial del país de origen, donde se indique en el renglón de declaraciones adicionales que el país está libre de *A. avenae* subsp. *citrulli*.

En relación con el muestreo de embarques comerciales, se procederá de la siguiente manera:

- a) A todo embarque se le tomará una muestra a la entrada, para análisis y custodia del MAG.
- b) Esta muestra será suministrada por el importador



**Figura 4.** A) Lesión inicial en frutos de melón próximos a cosecha, B) síntomas superficiales C) avance de la bacteria hacia el interior de la pulpa (fotografías cortesía del Ing. Joaquín Salazar)

en forma adicional al embarque comercial, la cual debe pertenecer al mismo lote declarado; de lo contrario, se toma una muestra del envío comercial.

- c) El envío de una muestra adicional al embarque debe estar certificada por el ente oficial como perteneciente al mismo lote declarado del embarque comercial, de lo contrario, se procederá a la toma de muestra del embarque comercial.
- d) El análisis de laboratorio se realizará al azar cada cinco embarques y la semilla podrá ser liberada antes del resultado del mismo con la declaración jurada establecida para esos casos.

Cuando se trata de embarque de semilla experimental, sin valor comercial, la importación se registrará por la medida fitosanitaria SFE/04-02 para la prevención de la bacteria conocida como "mancha bacteriana del fruto de la sandía y melón *A.a. subsp. citrulli*", emitida el 30 de abril de 2002.

Una vez que las implicaciones legales y comerciales fueron resueltas, los esfuerzos se concentraron en la definición de las necesidades de investigación. Dada la ausencia de información sobre la biología y epidemiología de la bacteria en las condiciones del trópico, se establecieron las siguientes prioridades de investigación.

1. Supervivencia de *A. avenae* subsp. *citrulli* en hospedantes alternos bajo condiciones tropicales:
  - a) Presencia de cucurbitáceas susceptibles.
  - b) Susceptibilidad de malezas a *A. avenae* subsp. *citrulli*.
  - c) Importancia epidemiológica del inóculo de hospedantes alternos.
  - d) Beneficios potenciales de la erradicación de malezas.
2. Eficacia de aplicaciones foliares de plaguicidas:
  - a) Bactericidas más eficaces.
  - b) Potencial de los funguicidas a base de cobre.
  - c) Dosis y frecuencia de las aplicaciones.
3. Decisiones para el manejo poscosecha:
  - a) Riesgo de almacenar y exportar frutos asintomáticos.
  - b) Tratamiento poscosecha efectivo para el combate de la bacteria.
  - c) Condiciones ideales de almacenamiento para exportación.

- d) Métodos seguros para descartar frutas infectadas y residuos de cosecha.

4. Levantar una base de datos sobre la variabilidad genética de *A. avenae* subsp. *citrulli* en Costa Rica.

Entre otros aspectos estratégicos, se consideró la necesidad de destinar fondos para la capacitación de recursos humanos en técnicas para el diagnóstico preciso y el estudio de la biología de *A. avenae* subsp. *citrulli*. Se debe considerar el uso de las técnicas moleculares como herramientas de diagnóstico. Este aspecto incluye la participación en entrenamientos, cursos cortos, o eventos científicos internacionales, así como un programa de educación continuada para productores y personal de campo.

Debido a la emergencia nacional existente en el momento de redactar este artículo, se diseñó una estrategia para el combate y la prevención de la enfermedad, la cual es ampliamente descrita en la Medida Fitosanitaria DSPF/01-02, emitida el 9 de enero del 2002 por el Servicio Fitosanitario del Estado, y dirigida a viveros comerciales, productores y comercializadores de especies cucurbitáceas. Esta contiene medidas específicas para viveros y plantaciones comerciales (con presencia de la bacteria o sin ella), plantas empacadoras, maquinaria y medios de transporte.

## Conclusiones

La mancha bacteriana del fruto de melón y sandía es una enfermedad que se presenta por primera vez en Costa Rica. La escasa información sobre la biología y la epidemiología del patógeno en condiciones tropicales, así como la trascendencia económica del cultivo para el país, demandó una acción conjunta inmediata y coordinada de técnicos y autoridades del gobierno. Las decisiones se basaron en consultas con las diferentes instancias involucradas en la agrocadena.

El manejo integrado de una situación de emergencia permitió enfrentar la bacteria *A. avenae* subsp. *citrulli* desde diferentes flancos.

Inicialmente, se enfatizaron las acciones inmediatas para erradicar el patógeno recién diagnosticado en el campo; luego, el objetivo fue reducir la infección y prevenir un aumento descontrolado de la población bacteriana, de manera que el inóculo residual no fue-

ra un problema para la siguiente época de siembra. En el plano legal, se tomaron acciones paralelas al regular la importación de semilla y su manejo en viveros mediante la puesta en práctica de medidas fitosanitarias. Finalmente, fueron identificadas las prioridades de investigación para respaldar científicamente, bajo nuestras condiciones ambientales, las medidas de combate que en el futuro deban adoptarse.

### Literatura citada

- Assouline, I; Milshtein, M; Mizrahi M; Levy E ; Ben-Ze'ev IS. 1997. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* transmitted by solanaceous seeds. *Phytoparasitica* 25:117-118.
- Brien, RGO; Martin, HL. 1999. Bacterial blotch of melons caused by strains of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Australian J. Exper. Agr.* 39:479-485.
- Crall, JM; Schenck, NC. 1969. Bacterial fruit rot of watermelon in Florida. *Plant Dis. Repr.* 53:74-75.
- Frankle, WG; Hopkins, DL; Stall RE. 1993. Ingress of the watermelon fruit blotch bacterium into fruit. *Plant Dis.* 77:1090-1092.
- Goth, RW; Webb, RE. 1981. Resistance of commercial Watermelon (*Citrus lunatus*) to *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli*. *Plant Dis.* 65:671-672.
- Isakeit, T; Black, MC; Barnes, MW; Jones, J.B. 1997. First report of infection of Honeydew with *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Plant Dis.* 81:694.
- Latin, RX; Rane, KK. 1990. Bacterial fruit blotch of watermelon in Indiana. *Plant Dis.* 74:331.
- Latin, RX; Tikhonova, I; Rane, K. 1995. Factors affecting the survival and spread of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in watermelon transplant production facilities. *Phytopathol.* 85:1413-1417.
- Mullin, RS; Schenck, NC. 1963. Bacterial leaf spot on watermelon. *Plant Dis. Repr.* 47:848.
- Rane, KK; Latin, RX. 1992. Bacterial fruit blotch of watermelon: association of the pathogen with seed. *Plant Dis.* 76:509-512.
- Shaad, NW; Sowell, JR; Goth, RW; Colwell, RR; Webb, RE. 1978. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* subsp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 28:117-125
- Sowell, G. 1981. A bacterial disease causing severe damage to susceptible plant introductions of muskmelon. *Plant Dis.* 65:609-610.
- Viana, FM; dos Santos, AA; Cardoso, JE; Freire, F; Lopes, CA. 2000. Surto de mancha-aquosa em frutos de melão nos estados do Ceará y do Rio Grande do Norte: recomendações preliminares de controle. *EMBRAPA, Comunicado Técnico, N° 50.* p 1-4.
- Willems, A; Goar, M; Thielemans, S; Gills, M. Kersters, K and Deley, J. 1992. Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* subsp. nov., comb. nov., *Acidovorax avenae citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*, and *Acidovorax konjaci*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42:107-119.

## Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación

# Escuela de Posgrado

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

### Doctorado conjunto (Ph.D.) en:

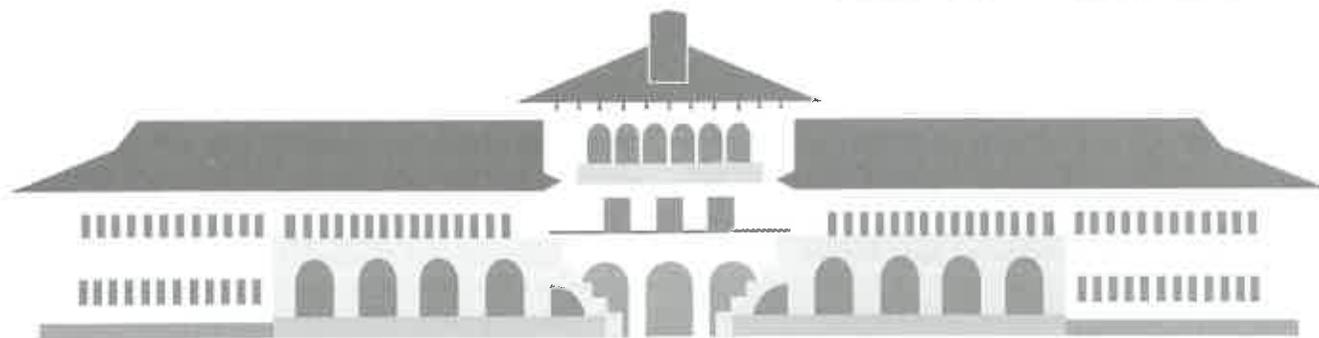
- I. Ciencias Forestales Tropicales
- II. Agroforestería Tropical

#### Universidades asociadas al CATIE:

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

### Maestría (M.Sc.) en:

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



Producir conservando, conservar produciendo®

#### Solicite información a:

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



# MOSCA BLANCA AL DÍA

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

No. 41

Diciembre, 2002



## Nota editorial

### Un decenio productivo

Este número tiene un significado especial, pues en él deseamos resaltar varios aspectos relacionados con la celebración del X Aniversario de nuestra Red, la cual surgió del *Plan de Acción Regional para el Manejo de las Moscas Blancas*, concebido en agosto de 1992 en el CATIE, en Turrialba.

No deseamos enfatizar los logros en los aspectos técnicos, que son notables, pues están sintetizados en el artículo *Manejo de Bemisia tabaci en América Central y el Caribe: la experiencia de un decenio*. Este aparece en el último número de la revista *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* (65: 109-112), y originalmente fue presentado como una ponencia en el *XIX Congreso Brasileño de Entomología* (Manaus, Brasil). Queremos, más bien, destacar algunos rasgos particulares de nuestro *Plan*.

En primer lugar, desde su concepción, su eje estratégico ha sido la validación y transferencia de tecnologías para el manejo integrado (MIP) del complejo mosca blanca-geminivirus. Es por ello que hemos insistido siempre en el hecho de que son las experiencias prácticas, junto con los agricultores, las que mejor nutren la visión y percepción sobre nuestro quehacer como científicos. No desdeñamos la investigación básica, pero sí tenemos claro que los hallazgos científicos deben contribuir a resolver problemas acuciantes de los productores. Es decir, la investigación, el diagnóstico y la capacitación deben estar unidas de manera indisoluble con las labores de validación y transferencia que realizan las entidades pertinentes en nuestros países.

Esto explica que los agricultores hayan estado con nosotros no solamente en sus fincas, con parcelas demostrativas y días de campo, sino también contribuyendo en la gestación de propuestas de investigación. De ahí que insistamos tanto en la *investigación participativa* como una valiosa herramienta metodológica para garantizar que los logros de la investigación tengan mayor probabilidad de adopción por parte de ellos.

En segundo lugar, entendemos que es imperioso el contacto permanente con los nuevos hallazgos científicos que surgen fuera de nuestra región. Es por ello que no solamente tenemos un flujo continuo de información con investigadores de todo el mundo por Internet, sino que también ellos han participado como conferencistas en todos nuestros talleres anuales y, en algu-

nos casos, han sido co-gestores de fondos, mediante propuestas de investigación. Aprovechamos esta oportunidad para expresarles nuestra gratitud por su apoyo en estos 10 años.

Finalmente, reafirmamos la importancia medular de propiciar el intercambio de la abundante y valiosa información disponible sobre el tema. Tenemos memorias de los diez talleres realizados, algunas en nuestro portal (<http://www.catie.ac.cr/mosca-blanca>), y hemos producido el boletín *Mosca Blanca al Día* de manera trimestral e ininterrumpida a lo largo de 10 años.

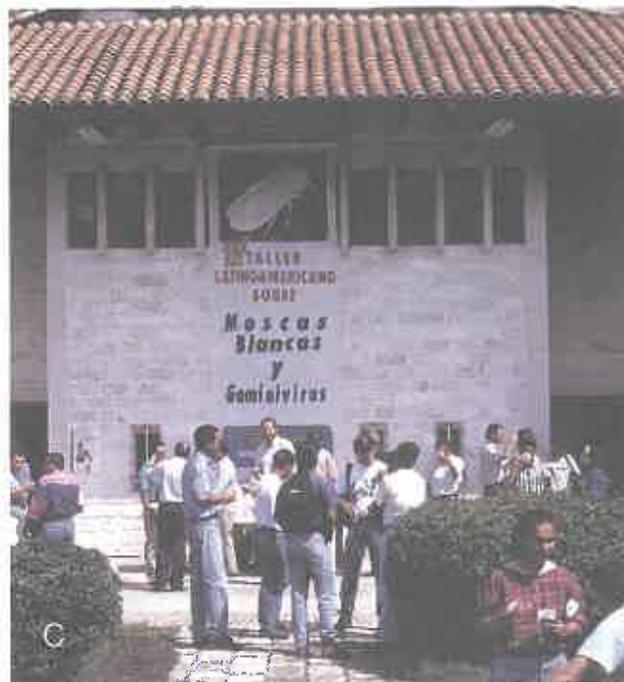
En estos tiempos, cuando es frecuente que se nos pregunte por el impacto de nuestras acciones, no es sencillo aquilatar dicho impacto con precisión. En nuestro caso, éste no resulta solamente del trabajo de las Comisiones Nacionales que participan en el *Plan*, sino también de numerosos funcionarios y entidades, tanto públicas como privadas, que efectúan labores de validación y transferencia, investigación, diagnóstico o capacitación. Pero, más cierto aún, es que es en los campos de los agricultores donde se pueden palpar los esfuerzos y logros de este decenio. Y no cabe duda de que hoy, a 10 años de la crisis que tanto les afectó, ellos saben cómo lidiar mejor con el complejo mosca blanca-geminivirus.



## Red mundial

Tras varios intentos por establecer una red mundial sobre el tema, por fin este año se creó el *Worldwide Aleyrodidae Study Programme* (WASP). Esta es una especie de plataforma para la colaboración y el intercambio de información entre los diversos grupos que trabajan en la bioecología y el manejo de las moscas blancas (familia Aleyrodidae) y los virus que varias de ellas transmiten. Este representa el denodado esfuerzo del Dr. Ian Bedford (EWSN), a quien le agradecemos su iniciativa.

Actualmente enlaza a seis entidades o grupos, correspondientes a Europa (Dr. Ian Bedford), EE.UU. (Dra. Judith Brown), América Latina y el Caribe (Dr. Luko Hilje), África del Norte (Dr. Abdel Hanafi), al Proyecto TYLCV-Medio Oriente (Dr. Henryk Czosnek y Douglas Maxwell) y al Proyecto Tropical de MIP-Mosca Blanca (Dr. Francisco Morales). Se espera que pronto se incorporen los grupos de Australia (Dr. Paul de Barro), islas Mauricio (Mr. Seelavarn Ganeshan), Paquistán (Dr. Muhammad Naveed) y Sudáfrica (Dra. Kerstin Krüger). Las



Día de campo con agricultores (A). Grupo participante en una propuesta para la Fundación McKnight (1994), incluyendo a dos agricultores (Carlos Solano y Manuel Valerio) y a los especialistas David Byrne, Judy Brown y Douglas Maxwell (B). Taller anual de la Red (C).

direcciones de estas personas aparecen en el boletín *EWSN Newsletter* No. 14 (setiembre, 2002), que puede ser accedido en el portal [www.whitefly.org](http://www.whitefly.org)



## Memoria reuniones EE.UU.

Información reciente sobre el manejo de la mosca blanca en los EE.UU., así como en otras regiones del mundo, aparece en el documento *Silverleaf Whitefly. National Research, Action and Technology Transfer Plan: Fourth Annual Review of the Second 5-Year Plan and Final Report for 1992-2002*. United States Department of Agriculture (USDA). Memoria de la Novena Reunión Anual sobre el Plan Quinquenal de Moscas Blancas para los EE.UU., realizada en San Diego, California (Febrero, 2002).

Además de realizar una valiosa síntesis crítica de los logros en el intervalo 1992-2002, este documento incluye la versión completa, por primera vez, de la *Bibliography of Bemisia tabaci*

(*Gennadius*) and *Bemisia argentifolii* Bellows and Perring, que antes era actualizada cada año por S.E. Naranjo, G.D. Butler y T.J. Henneberry. Contiene 4745 citas de artículos completos y 1392 resúmenes de presentaciones en congresos. Debido al inmenso valor de esta obra, la cual debiera estar en todas las instituciones agrícolas del continente, podríamos fotocopiarla a precio de costo (contiene 438 páginas), a los interesados.



## Congreso mundial

Como se informó en *MBDía* previos, el *Bemisia Workshop 2003*, que es el evento mundial más destacado sobre el tema (los primeros talleres se realizaron en Israel y Puerto Rico) se efectuará en Barcelona (España), del 17 al 20 de marzo de 2003. Su principal objetivo será discutir los hallazgos más recientes en cuanto a la bioecología y manejo de las moscas blancas. Contactos: [www.irta.es/bemisia2003](http://www.irta.es/bemisia2003) y [bemisia200@otac.com](mailto:bemisia200@otac.com) Coordinadoras: Dra. Rosa Gabarra ([Rosa.Gabarra@irta.es](mailto:Rosa.Gabarra@irta.es)) y Dra. Cristina Castañé ([Cristina.Castane@irta.es](mailto:Cristina.Castane@irta.es)).

**ESTE BOLETÍN ESTÁ DISPONIBLE POR CORREO ELECTRÓNICO,  
YA SEA DENTRO DE LA REVISTA MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS Y AGROECOLOGIA,  
O EN LAS SIGUIENTE DIRECCIÓN:  
<http://www.catie.ac.cr.moscablanca>**

# PLAGAS FORESTALES NEOTROPICALES



Jorge Macías (jmacias@tap-ecosur.edu.mx)  
Marcela Arguedas (marguedas@itcr.ac.cr)  
José Cola Zanuncio (zanuncio@mail.ufv.br)  
Luko Hilje (lhilje@catie.ac.cr)  
**EDITORES**

No. 8

Diciembre, 2002

## NOTA EDITORIAL

Con este boletín, cumplimos dos años de haber iniciado la labor de fortalecer la comunicación y la divulgación sobre temas acuciantes de protección forestal en nuestro continente. Hoy, por las numerosas consultas que recibimos, constatamos que ya se le reconoce como un valioso foro para beneficio de aquellos productores y técnicos forestales urgidos de soluciones para encarar el tema. Es así como, satisfechos y motivados, cerramos un nuevo año de labores, con la esperanza de mejorar la calidad de nuestros aportes en el nuevo año, y aprovechamos esta oportunidad para desear salud y paz espiritual a todos nuestros lectores.

## ¡CUIDADO CON LAS PLAGAS EXÓTICAS!

Hay tipos de madera que representan un excelente medio de diseminación, en el plano global, de insectos barrenadores y de descortezadores de la madera. Por lo general, se trata de madera de baja calidad, así como de productos derivados de ésta, los cuales se utilizan para transportar, almacenar y soportar el peso de diversos productos trasegados en el comercio internacional.

Es común hallar estados inmaduros de estos insectos dentro de la madera utilizada como embalaje, tarimas, etc., los cuales pueden completar su desarrollo en dicho material, emergiendo como adultos en los puertos de entrada a otros países. Lamentablemente, el almacenamiento de estos materiales, su envío a sitios cercanos a bosques, o su eliminación en áreas naturales, son y han sido un medio para la introducción y el establecimiento de especies de insectos barrenadores y de descortezadores de la madera. Las familias más importantes y frecuentes son Cerambycidae, Scolytidae, Anobiidae, Bostrichidae y Termitidae.

Por ejemplo, en Norteamérica, desde hace muchos años ha habido introducciones de insectos exóticos, los cuales han causado grandes daños a los bosques y áreas verdes urbanas. Al respecto, sobresalen la mariposa gitana (*Lymantria dispar*) y la enfermedad holandesa del olmo (*Ceratocystis ulmi*), causante de la desaparición del olmo americano en el este de EE.UU. y Canadá. Recientemente, ingresó por el norte de México el piojo saltón *Glycaspis brimblecombei* (ver Boletín No.4), que es un defoliador importante de eucaliptos y que se está distribuyendo por todas las localidades en las cuales se encuentran estas especies de árbol, también introducidas.

En la actualidad, con el gran incremento del comercio internacional en los últimos años, ha habido un aumento exponencial de los insectos y patógenos introducidos en nuevos ambientes. Pero estas introducciones no ocurren a través de los medios habituales, como serían los productos agrícolas o forestales *per se*, pues para ello se dispone de buena protección cuarentenaria, normada internacionalmente. Más bien, lo hacen por medio de material de embalaje y transporte, el cual hasta hace pocos años no estaba regulado por normas fitosanitarias.

Es necesario hacer conciencia del hecho de que los países latinoamericanos apenas están empezando a desarrollar medidas regulatorias para normar la inspección y la entrada de este tipo de materiales y, por tanto, de insectos barrenadores y descortezadores. Asimismo, todavía es incipiente nuestro conocimiento de las especies nativas de insectos de las familias previamente mencionadas y, posiblemente, ya existen algunas especies exóticas establecidas en nuestros países, de las cuales también tenemos poco conocimiento, como *Xylosandrus morigerus* (Scolytidae).

Para contribuir a enfrentar estas carencias, la Comisión Forestal de América del Norte, a través de su *Grupo de Estudio de Insectos y Enfermedades Forestales*, está desarrollando un sistema de información para insectos exóticos forestales para América del Norte, el cual está disponible en el siguiente pórtico: <http://www.exoticforestpests.org/> Otro sitio pertinente es: <http://www.apsnet.org/meetings/ExoticPests/> En éste se mantendrá un Taller Global, en línea, sobre el riesgo de las plagas forestales exóticas. **Contacto: Jorge Macías.**

## TIZON DEL CIPRES

En Costa Rica, el ciprés (*Cupressus lusitanica*) fue introducido desde principios del siglo XX. Por su gran adaptabilidad y la amplia utilización de su madera en el mercado nacional, es una especie muy utilizada en proyectos de reforestación en zonas de altura. Además, gracias a su grato aroma y a las podas de formación, sus árboles se utilizan en los hogares y el comercio como representativos de la Navidad, lo cual acrecienta el interés comercial de la especie.

Durante los últimos cinco años, las plantaciones jóvenes de ciprés, así como aquéllas plantadas en forma deliberada para obtener árboles de Navidad, han sido severamente afectadas por tres patógenos, cuyo principal síntoma es una quema marrón-rojiza del follaje, por lo que a este complejo se le ha denominado "tizón del ciprés". Los tres principales patógenos causantes de esta enfermedad son *Pestalotia* sp., *Cercospora* sp. y *Seiridium cardinale*.

***Cercospora* sp.:** Las estructuras reproductivas de *Cercospora* sp. están representadas por conidióforos pardo oscuro, que se desarrollan sobre pequeños estromas en la superficie de las hojas. De los conidióforos emergen las esporas o conidias, alargadas y multicelulares. Con una lupa de bolsillo se pueden observar los estromas, como pequeños puntos pardo oscuro, cubiertos de estructuras alargadas.

El daño que causa se inicia en las ramas bajas y en el follaje cercano al fuste. Se desarrolla de abajo hacia arriba y de adentro hacia fuera, afectando hasta los brotes de las ramas. El follaje y los brotes de árboles severamente afectados por largos períodos pueden caer progresivamente hacia los extremos de las ramas, y los árboles muy susceptibles a la enfermedad pueden morir. Estas infec-

ciones ocurren durante la época lluviosa. De los patógenos causantes de este complejo, es el más virulento.

***Pestalotia* sp.:** Este es considerado como un patógeno oportunista, que invade tejidos predispuestos o dañados anteriormente por otros agentes. Las conidias o esporas se producen en acérvulos, que se desarrollan debajo de la epidermis de las hojas, los cuales a simple vista se observan como puntos negros minúsculos sobre las hojas.

La sintomatología producida es muy similar a la descrita para *Cercospora* sp. La diferencia radica en que las infecciones son mucho más leves, no alcanzan los extremos de las ramillas y casi nunca causan mortalidad. Las infecciones se manifiestan principalmente durante los meses de sequía, cuando los árboles se encuentran muy estresados, pero hay condiciones ambientales suficientes para que el patógeno cause infecciones.

**Cancro *Seiridium*: *S. cardinale*** ataca las ramas y el fuste de los árboles. Produce las esporas o conidias en acérvulos, que se aprecian como diminutos puntos negros sobre los tejidos corticales muertos. En las ramas jóvenes, la corteza afectada se deprime y toma una coloración pardo-rojiza, y luego se rompe y forma fisuras longitudinales, con leves secreciones de resina. Posteriormente, el cancro se extiende y rodea toda la rama; la porción terminal cambia de color gradualmente, se torna clorótica y antes de morir toma un color rojizo, por lo que esta enfermedad es confundida con las que afectan directamente el follaje. En árboles de mayor tamaño, las infecciones avanzan hacia el fuste, donde se producen grandes cancos.

Dada la severidad de los daños, se han tenido que establecer protocolos de manejo intensivos, los cuales contemplan inspecciones semanales; correcciones para mejorar las condiciones del sitio, especialmente mediante fertilización; medidas mecánicas, como la eliminación de árboles severamente afectados o podas sanitarias cuando los objetivos de las plantaciones lo permitan; y, finalmente, el uso de fungicidas protectores y curativos, en forma alterna.

## NUEVAS PUBLICACIONES

- Geils, B., Cibrián-Tovar, J. y Moody, B. (eds.). 2002. *Mistletoes of North American conifers*. Gen. Tech. Rep. RMRS-GTR-98, Ogden, UT. USDA-FS, RMES. 123 pp.

POR FAVOR, DISTRIBUYA ESTE BOLETÍN A TODOS LOS INTERESADOS QUE CONOZCA



# Control Biológico de Malezas

Vera Sánchez Garita, Coordinadora  
(sanchezv@catie.ac.cr)

No. 3

Diciembre, 2002

## Procedimientos por seguir en un programa de control biológico de plantas invasoras

Julio Medal<sup>1</sup>

### Introducción

El control biológico puede, entre otras ventajas, ser altamente específico contra la planta objetivo de control y no causar daños significativos a las poblaciones de plantas que tienen un valor económico y/o ecológico. Durante los 100 años transcurridos desde que se inició el uso planificado de esta estrategia de control, ha sido utilizada contra más de 133 malezas importantes en el mundo. Otra gran ventaja del control biológico es que no contaminan el medio ambiente. Con relación al aspecto económico, esta estrategia puede requerir una inversión relativamente alta cuando se inicia un proyecto nuevo. Sin embargo, a mediano y largo plazo, el retorno de la inversión o la relación costo - beneficio llega a ser altamente beneficiosa (Doeleman 1989, Chippendale 1995, Cullen y Whitten 1995, McFadyen 1998). Además, provee un control permanente a largo plazo, sostenible por sí mismo una vez que el enemigo natural se establece en la planta meta. El mayor condicionante para el uso del control biológico se da en cultivos anuales constantemente alterados por el ser humano, los cuales, además, son afectados por un complejo de malezas diferentes, y resulta difícil encontrar un agente efectivo y seguro para el control de cada maleza (DeLoach *et al.* 1989).

### Pasos por seguir en un programa de control biológico clásico:

**Justificación del proyecto.** Este es, sin duda, el paso inicial más importante. Consiste en la identificación de un problema o la selección de una maleza por controlar, cuyo daño económico y/o ecológico, justifique y permita la obtención de los fondos o recursos económicos de parte de las instituciones nacionales u organismos internacionales correspondientes.

Al seleccionar la maleza meta, es importante, dejar claramente establecidos los daños que esta maleza ocasiona, y si puede tener algún beneficio para algún sector de la sociedad, lo que podría resultar en un conflicto de intereses. Una planta considerada dañina por un sector de la sociedad (por ejemplo, un arbusto espinoso y de frutas tóxicas en un parque público), puede ser beneficiosa para otro sector (por ejemplo, para los apicultores, ya que la planta provee polen y néctar para la producción de miel de abejas). Estos conflictos de intereses deben resolverse antes de iniciar un proyecto.

Una vez que seleccionada la planta objetivo, se procede a recoger toda la información disponible acerca de ella, incluyendo su procedencia, la cual no siempre es fácil de establecer. Para obtener esta información,

<sup>1</sup> University of Florida. Entomology and Nematology Department. Gainesville, Florida, EE. UU.. medal@mail.ifas.ufl.edu

un recurso muy valioso es el catálogo de Julien y Griffiths de CSIRO, Australia, el cual presenta un listado de todos los enemigos naturales y sus malezas meta que se han implementado en el mundo. Este catálogo es actualizado aproximadamente cada cuatro años y la cuarta edición fue publicada en 1998.

**Exploraciones en el extranjero.** La búsqueda de enemigos naturales en los países de los cuales proviene la planta, requiere de una planificación adecuada con suficiente tiempo; a veces se requiere de hasta más de un año para obtener todos los permisos de colecta y exportación de enemigos naturales de la planta en el país de origen, e importación con las autoridades del país donde se van a realizar los muestreos de campo en busca de la planta y enemigos naturales asociados. La colaboración y participación activa en el campo de personas naturales de la región facilita las exploraciones por su conocimiento del idioma, la cultura, las creencias, entre otros.

**Pruebas de especificidad.** Los estudios para determinar la especificidad o el rango de plantas hospederas de los agentes potenciales que se van a evaluar son uno de los aspectos más críticos de un proyecto. Estas pruebas son llevadas a cabo mediante la exposición de diferentes estadios del insecto o enemigo natural a un número seleccionado de plantas que van a ser evaluadas. Usualmente, se realizan pruebas preliminares de alimentación y/o oviposición con el agente potencial, en el país de origen, y luego se procede a su importación y pruebas de cuarentena con plantas adicionales en el país donde la maleza será motivo de control.

**Aprobación para liberar en el campo el agente de control biológico.** Una vez finalizadas las pruebas de especificidad, las cuales usualmente requieren un promedio de 2-3 años, si los resultados indican que el agente potencial es altamente específico y podría causar daños significativos en la maleza, se procede a elaborar un documento de "solicitud para liberar en el campo", incluyendo todos los resultados obtenidos en las pruebas llevadas a cabo, tanto en el extranjero como en el país de introducción. Además, se incluye información sobre la biología del enemigo natural y de la planta objetivo. Este documento es presentado a las autoridades regulatorias del país donde se pretende liberar el agente.

**Importación y crianza del agente de control biológico.** Si la solicitud para liberar el enemigo natural en el campo es aprobada, se procede a su importación para su reproducción masiva en cuarentena, para luego proceder a su liberación en el campo.

**Estudios de post-liberación del agente de control biológico.** El agente se debe incorporar rutinariamente dentro de un proyecto de control biológico. Deben realizarse estudios posteriores a la liberación en el campo del enemigo natural, para determinar si logró establecerse, si está disponible, y si está causando daños significativos a la planta meta.

**Diseminación del enemigo natural.** Una vez establecido el enemigo natural sobre la planta meta, se espera que el agente se disemine naturalmente a otras regiones que tienen la planta invasora. Sin embargo, en muchos casos es necesario ayudar a la distribución del agente para facilitar una multiplicación más rápida y los efectos sobre las poblaciones de la planta meta en regiones distantes.

## LITERATURA CITADA

- Cullen, JM.; Whitten, MJ. 1995. Economics of classical biological control: a research perspective. *En* Hokkanen, HH; Lynch, JM. Biological control: Benefits and risks. Cambridge University Press. Cambridge. pp. 270-276.
- Chippendale, JF. 1995. The biological control of Noogoora burr (*Xanthium occidentale*) in Queensland: an economic perspective. *En* Delfosse, ES; Scott, RR. (eds.). Proceedings 8<sup>th</sup> International Symposium on Biological Control of Weeds. CSIRO. Melbourne, Australia. p. 185-192.
- DeLoach, C; Cordo, HA; Crouzel, IS. 1989. Control biológico de malezas. Editorial El Ateneo. Buenos Aires. p. 266
- Doeleman, JA. 1989. Biological control of *Salvinia molesta* in Sri Lanka: an assessment of costs and benefits. Australian Center International Agric., Res. Tech. Rep. 12. Camberra.
- Julien, MH; Griffiths, MW (eds.). 1998. Biological control of weeds. A world catalogue of agents and their target weeds. CABI Publishing, 4<sup>th</sup> edition. p. 223
- McFadyen, RE. 1998. Biological control of weeds. Annual Review of Entomology 43:369-393.
- Withers, TM; Barton Brown, L; Stanley, J (eds.). 1999. Host specificity testing in Australasia: towards improved assays for biological control. The state of Queensland, Department of Natural Resources. Australia p. 98
- Wright, T. 1997. Distribution of agents. *In* Julien, M.; White, G. (eds.). Biological control of weeds: theory and practical applications. ACIAR Monograph Series no. 49. Camberra, Australia. pp. 97-100.



## Manejo de insectos mediante parasitoides

Manuel Carballo

### ¿Qué son los parasitoides?

El parasitoide es un insecto “parasítico” que en su estado inmaduro se alimenta y desarrolla dentro o sobre el cuerpo de un solo insecto hospedante al cual mata lentamente, o bien, se desarrolla dentro de los huevecillos de éste. Normalmente son más pequeños que el hospedante., No siendo parasitoide, el estado adulto vive libre. Su hospedante pertenece a la misma clase taxonómica o una clase estrechamente relacionada. Los parasitoides se diferencian de los verdaderos parásitos, los cuales dependen de un hospedante vivo para su supervivencia y no necesariamente le causan la muerte, tienen un tamaño menor que el de su hospedante, y son de otra clase taxonómica. Son los enemigos naturales más utilizados en los programas de control biológico de plagas insectiles. La mayoría (85%) son del orden Hymenoptera y unos pocos (15%) son Dípteros.

### ¿Cómo se clasifican los parasitoides?

Por su localización en el hospedante, se clasifican en *ectoparasitoides*, aquellos que se ubican y alimentan en el exterior del hospedante, como por ejemplo *Diglyphus* spp. (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide de *Liriomyza*; y *endoparasitoides*, que son los que se ubican y alimentan en el interior de su hospedante, como *Cotesia flavipes*, parasitoide de *Diatraea saccharalis* en caña de azúcar.

**Cuadro 1.** Tipos de parasitoides por el estado que parasitan.

Tipos de parasitoide	Familias	Ejemplos
De huevo	Mymaridae, Trichogrammatidae, Scelionidae	<i>Trichogramma</i> spp. <i>Trissolcus</i> spp.
De huevo-larva	Braconidae	<i>Chelonus</i> spp.
De ninfas	Aphidiinae	<i>Diaeretiella</i>
De larvas	Ichneumonidae, Braconidae, Tachinidae	<i>Cotesia flavipes</i>
De pupa	Chalcididae, Ichneumonidae, Pteromalidae	<i>Spalangia</i> spp.
De larva- pupa	Braconidae Braconidae, Tachinidae	<i>Opius</i> <i>Belvosia</i> spp.

Por el número de individuos que emergen del hospedante, se clasifican en *solitarios*, aquellos en los cuales un solo individuo se desarrolla dentro de su hospedante, como es el caso de *Diaeretiella* spp., parasitoide del áfido *Myzus persicae*; y los *gregarios*, en los cuales se desarrollan varios parasitoides en un hospedante, como es el caso de *Cotesia* spp., parasitoide del gusano cachudo del tomate.

Por la estrategia de desarrollo que utilizan, los parasitoides se clasifican en *idiobiontes*, donde la larva del parasitoide se alimenta de un hospedante que tiene su desarrollo después de ser parasitado (parasitoides de huevo, larva y pupa). Un ejemplo de este tipo de parasitoide es *Trichogramma* spp., parasitoide de huevos de Lepidópteros; y los *koinobiontes*, en los cuales la larva del parasitoide se alimenta de un hospedante que continúa desarrollándose después de parasitado (parasitoides huevo-larva, larva-pupa). Un ejemplo de este parasitoide es *Diadegma insulare*, parasitoide de *Plutella xylostella*.

Por el estado del hospedante que parasitan y emergen, pueden ser *parasitoides de huevo*, como por ejemplo *Trichogramma*, de Larva-Larva: *Diglyphus* y *Cotesia*, de Larva-Pupa: *Diadegma*, entre otros (Cuadro 1).

## ¿Cómo actúan los parasitoides?

El ciclo de vida de un parasitoide, se compone de una serie de fases continuas. El **apareamiento** entre hembras y machos ocurre cerca del hospedante del cual emergerán los adultos del parasitoide, o bien, lejos del hospedante, utilizando mecanismos de atracción como las feromonas.

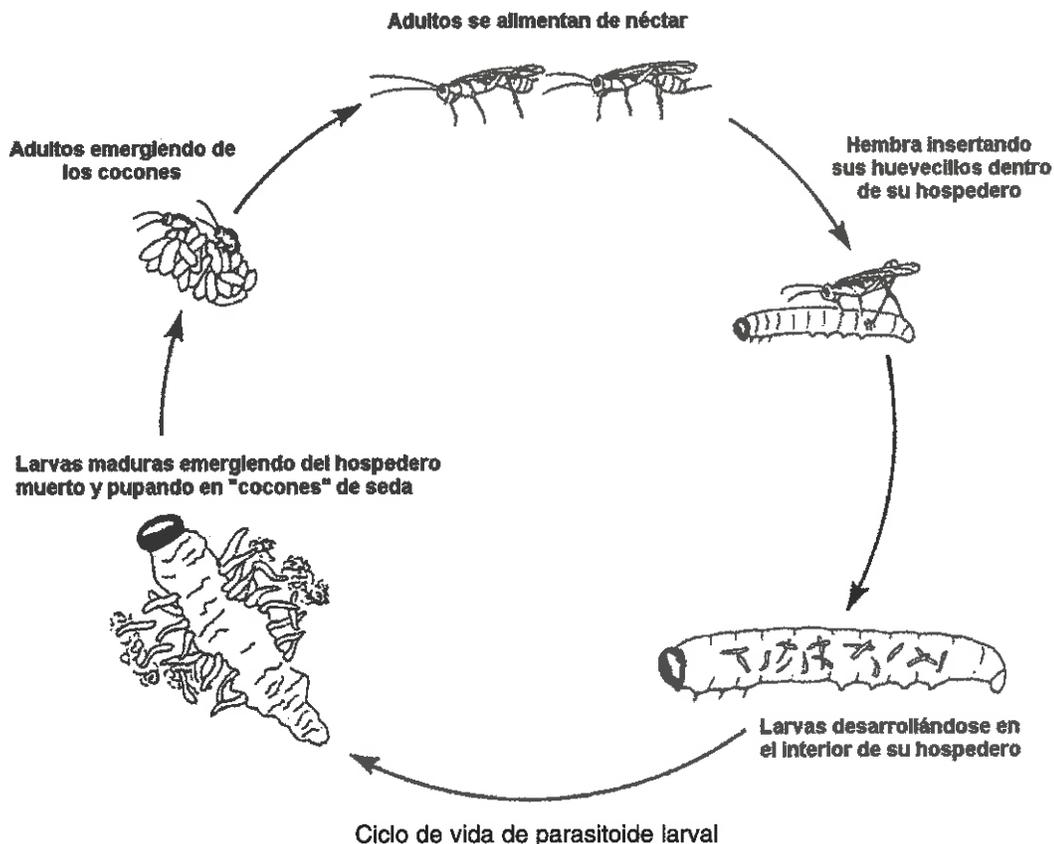
Luego sigue una fase de **alimentación de los adultos**, que puede ocurrir tanto antes como después de que pongan sus huevos, durante la cual se alimentan del néctar de las flores o del mismo hospedante que van a parasitar.

Posteriormente se inicia la **localización del hospedante**, durante la cual la hembra del parasitoide es atraída primero hacia la planta, donde participan atrayentes de largo alcance como sustancias químicas del insecto hospedante (*kairomonas*), que pueden ser subproductos de su alimentación o desarrollo o sustancias volátiles provenientes del tejido dañado de la planta. Luego participan atrayentes de corto alcance, los cuales atraen al parasitoide hacia su hospedante por medio de sustancias menos volátiles producidas por el insecto hospedante cuando se alimenta u oviposita, las cuales son percibidas por las antenas.

Sigue la fase de **oviposición (parasitación)**, en la cual la hembra del parasitoide deposita sus huevos. Aquí actúan estímulos físicos y químicos del insecto hospedante. La hembra del parasitoide puede o no paralizar a la larva antes de ovipositar; puede poner más o menos huevos, según el tamaño del hospedante, o puede poner huevos que originen hembras o machos, según el tamaño del insecto hospedante. También puede poner huevos dentro o fuera, según la especie de parasitoide, lo cual determina los diferentes tipos de parasitoides que existen.

Seguidamente viene la fase de **desarrollo larval** del parasitoide, la cual depende del tamaño del insecto hospedante, de la etapa en la que fue parasitado, y si paralizó o no a su hospedante. Continúa la fase de **formación de pupa** del parasitoide que ha completado su desarrollo larval, la cual puede ocurrir tanto dentro del insecto hospedante como fuera de él; normalmente, los insectos parasitados buscan hábitats protegidos.

Finalmente, ocurre la **emergencia de los adultos**; normalmente, los machos emergen antes que las hembras y, en el caso de parasitoides gregarios, los adultos que emergen permanecen cerca, pero cuando son solitarios se van lejos de su hospedante.



Tomado de: Nicholls, C. I.; Altieri, M. A.; Sánchez, J. 1999. Manual práctico de control biológico para una agricultura sostenible.

## ¿Cuáles son las familias más importantes de parasitoides?

La mayoría de los parasitoides utilizados en el control biológico de plagas pertenecen a las familias Braconidae, Scellionidae, Trichogrammatidae, Eulophidae, Encyrtidae, Aphelinidae y Tachinidae, de las cuales una gran cantidad de géneros y especies son reproducidos masivamente y comercializados (Cuadro .2).

## ¿Cuales son sus características y como actúan?

En esta sección se discuten algunos de los parasitoides más importantes y de mayor potencial para el control biológico de plagas considerables en la región centroamericana.

### *Trichogramma* spp.

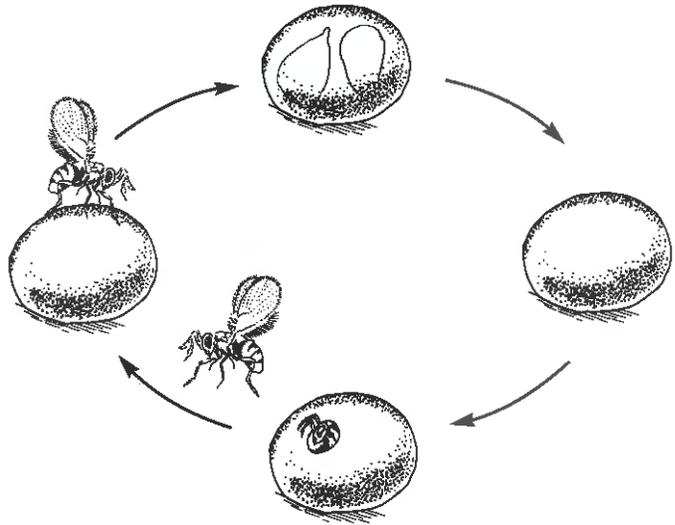
#### Importancia

Entre los insectos benéficos más importantes para el control de Lepidópteros están los parasitoides de huevos del género *Trichogramma*. Estos son avispidas diminutas que atacan los huevos de las polillas y mariposas. Su importancia en el control biológico radica en la facilidad con que se pueden producir masivamente, utilizando polillas de granos almacenados, y en la facilidad de liberarlos en el campo para el control de Lepidópteros, con altos niveles de control.

#### Descripción

*Trichogramma* spp. es una avispidita de 0.5-0.8 mm de longitud, amarilla con marcas pardas en el mesosoma y dorso de los fémures, y metasoma más oscuro en el medio del tercio apical. El macho presenta una colo-

ración parda más extensa; su antena tiene setas largas y delgadas, el ancho de cada seta disminuye a lo largo de la seta. La longitud de la seta más larga es 2.7-3.7 veces más larga que el ancho máximo de la antena, los ojos son de color rojo.



Ciclo de vida de *Trichogramma* spp.

#### ¿Que plagas controla?

Entre las plagas que se controlan mejor con este parasitoide están *Helicoverpa zea*, *Trichoplusia ni*, *Anticarsia gemmatalis*, *Diaphania* sp., *Alabama argillacea*, *Diatraea sacharalis*, *Spodoptera* sp. y *Mocis latipes*.

#### ¿Cómo se liberan?

El parasitoide se puede liberar en el campo utilizando el sistema de cono de papel, donde se coloca una pulgada cuadrada de huevos parasitados. También se usa

**Cuadro 2.** Algunas familias de parasitoides y los organismos que controlan.

Orden	Familia	Hospedantes
Hymenoptera	Braconidae	Son parásitos de áfidos, Lepidópteros, Coleópteros y Dípteros.
	Scellionidae	Parasitoides de huevos chinches.
	Trichogrammatidae	Parasitoides de huevos de Lepidópteros, muy importantes en el control biológico inundativo.
	Eulophidae	Son muy importantes en el control de larvas de minadores de hojas y barrenadores de madera.
	Mymaridae	Parasitoides de huevos de Heteróptera, Homóptera, Coleóptera, Díptera y Saltatoria.
Díptera	Encyrtidae	Son parasitoides de escamas, cochinillas.
	Aphelinidae	Muy importantes parasitoides de escamas, cochinillas, moscas blancas y áfidos.
	Tachinidae	Son parasitoides de larvas de Lepidópteros.
	Bombyliidae	Parasitoides de larvas de Scarabacidae.

el sistema de porrón, en el cual se utiliza un envase plástico con 3 a 4 litros de capacidad, de donde se depositan entre 150 y 200 pulgadas de huevos. Cuando las avispidas han emergido, se llevan al campo. La liberación se realiza empezando 10 surcos adentro del cultivo. Se camina sobre el surco y cada 20 pasos se abre el porrón durante 4-5 segundos al nivel del follaje. Se sigue caminando otros 20 pasos, y así sucesivamente hasta terminar el surco. Luego, se cuentan otros 20 surcos y se repite la operación. Al día siguiente, se hace la liberación en el sentido contrario al del día anterior.

### *Cotesia flavipes*

#### **Importancia**

Este parasitoide gregario tiene su origen en el sudeste asiático, donde ataca barrenadores de los géneros *Chilo* y *Sesamia*. Fue introducido por primera vez a Costa Rica en 1984, a Honduras en 1985 y a El Salvador en 1986, para el control del barrenador de la caña de azúcar *Diatraea saccharalis*.

#### **Descripción**

Tiene una longitud de 2 mm, su cuerpo es negro, patas amarillas castaño pálido, antenas situadas encima de una repisa entre los ojos compuestos; tergito un poco más ancho posteriormente que anteriormente; cubierta del ovipositor mucho más corta que la tibia.



Adulto de *Cotesia flavipes*, hembra parasitando y larvas del parasitoide recién emergidas de la larva de *Diatraea*

#### **¿Que plagas controla?**

Este parasitoide es muy específico para el control de gusanos barrenadores del tallo de la familia Pyralidae, entre ellos el barrenador de la caña de azúcar *Diatraea saccharalis*, y el barrenador del maíz *Diatraea lineolata*, entre otros.

#### **¿Cómo se liberan?**

Su utilización en campos de caña de azúcar se lleva a cabo mediante liberaciones periódicas de adultos después de realizar un monitoreo para definir los niveles poblacionales de la plaga en el campo.

### *Cephalonomia stephanoderis* Hymenoptera: Bethyliidae

#### **Importancia**

*Cephalonomia stephanoderis* Betrem (Hymenoptera: Bethyliidae), también llamada avispa de Costa de Marfil es uno de los enemigos más promisorios para el control biológico de la broca del café, gracias a su comprobada adaptabilidad en varios agorecosistemas cafeteros del Africa y América, a lo específico de su dieta y a la existencia de metodologías apropiadas para su cría. Fue introducida a México y a Ecuador en 1988, en 1990 se introdujo desde México a Guatemala, Honduras y el Salvador. A Colombia, se introdujo desde Ecuador e Inglaterra, entre 1989 y 1990.

#### **Descripción**

La avispa adulta mide 1.6 a 2 mm de largo, es de color pardo negruzco brillante, patas más pálidas, cabeza cuadrada, venación muy reducida; los últimos cuatro tergitos con setas blanca largas.



Adulto de *Cephalonomia*



Huevo, larva en primer estadio y larva en estadio final de *Cephalonomia*

### ¿Cómo se liberan?

Para la liberación, se utilizan bolsas de tela (tul u organza) o canastillas de organdí que permitan la salida de las avispidas pero no de la broca, que contienen de 200 a 400 granos pergamino brocados y parasitados

protegidos de la lluvia con un plástico. Estas bolsas se cuelgan de la parte media de los árboles de café, ubicando una canastilla cada 15 árboles y entre 3 y 5 surcos. Estas son retiradas 15 días después.

## *Futuros Eventos*

**8 -10 Abril 2003**

4TH National IPM Symposium/Workshop

**Información:**

E.E. Wolff  
University of Illinois, Champaign, IL 61820, USA  
[www.conted.uiuc.edu/ipm](http://www.conted.uiuc.edu/ipm)  
[IPMsymposium@ad.uiuc.edu](mailto:IPMsymposium@ad.uiuc.edu)

**Mayo 2003**

5 International Symposium on Population Dynamics  
of Plant  
Inhabiting Mites

**Información:**

D.C. Margolies,  
Dept. of Entomology, Waters Hall, Kansas State Univ.  
USA  
[DMargoli@oznet.ksu.edu](mailto:DMargoli@oznet.ksu.edu)

**7 - 9 Mayo 2003**

4º Internacional de Microbiología Ambiental y 2º In-  
ternacional en  
Biotecnología Agrícola

**Información:**

Departamento de Microbiología, Facultad de Cien-  
cias, Pontificia Universidad Javeriana  
Bogotá, Colombia  
[franco@javercol.javeriana.edu.co](mailto:franco@javercol.javeriana.edu.co) y [mmmartin@jave-  
riana.edu.co](mailto:mmmartin@jave-<br/>riana.edu.co)

**22-26 junio 2003**

8th Simposio sobre Controle Biologico

**Información:**

Sao Pedro, SP, Brasil  
Correo electrónico:  
[siconbiol2003@esalq.usp.br](mailto:siconbiol2003@esalq.usp.br)  
<http://www.esalq.usp.br/siconbiol2003/>

**23-27 junio 2003**

Manejo integrado de plagas en la producción agraria  
sostenible  
Curso-taller para agricultores y extensionistas

Ciudad de La Habana, Cuba

**Información:**

Dr. Luis L. Vázquez Moreno

Correo Electrónico:

[lvazquez@inisav.cu](mailto:lvazquez@inisav.cu)  
Fax: (537) 2029366, 2040535  
Dirección postal: Calle 110 # 514 e/ 5taB y 5ta F.  
Playa. CP 11600. Ciudad de La Habana. Cuba.  
<http://www.inisav.cu/>

**9-14 noviembre 2003**

XVI Congreso Latinoamericano de la Ciencia de la  
Maleza y XXIV Congreso Nacional de la Ciencia de  
la Maleza

Sede Hotel Karmina Palace.  
Manzanillo, Colima, México.

**Información:**

Dr. Javier Farías Larios  
Correo electrónico:  
[jfarias@volcan.ucol.mx](mailto:jfarias@volcan.ucol.mx)

Dr. José Alfredo Domínguez Valenzuela  
Correo electrónico:  
[josev@taurus1.chapingo.mx](mailto:josev@taurus1.chapingo.mx)

Dr. José Gerardo López Aguirre Correo electrónico:  
[jglopez@tecoman.ucol.mx](mailto:jglopez@tecoman.ucol.mx)

<http://www.ucol.mx>.

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

*Suscríbese*

**Manejo Integrado de  
Plagas y Agroecología**

# INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

## NATURALEZA

*Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* es una revista que reúne y difunde aportes científicos y técnicos (planteamientos teóricos, resultados de investigación, experiencias prácticas y de transferencia de tecnologías) en los campos de la protección vegetal y la agroecología, con énfasis en la región neotropical.

La versatilidad de su contenido permite incluir, artículos científicos formales; foros; biografías sobre científicos notables; revisiones bibliográficas; recuentos sistematizados de experiencias prácticas y de transferencia de tecnología; diagnósticos fitosanitarios o agroecológicos; ponencias presentadas en eventos científicos; notas o comunicaciones breves; hojas técnicas; resúmenes de tesis; aportes metodológicos; y materiales de apoyo a la enseñanza. Asimismo, contiene boletines, secciones especializadas, reseñas bibliográficas y anuncios de eventos, en los cuales se puede participar.

## ARBITRAJE

Cada artículo será revisado en su formato y presentación por la Editora, inicialmente, y luego remitido al menos a dos expertos en el tema tratado. Sus evaluaciones serán consideradas por la Editora y por Comité Editorial, para decidir sobre su aceptación. La Editora mantendrá informado al autor principal del artículo sobre la evaluación, para que aporte las aclaraciones o ajustes del caso, si las hubiere.

## Instrucciones generales para la presentación de los escritos.

- Los artículos se publicarán en forma gratuita.
- Se aceptarán artículos escritos en español o portugués, solamente. En casos muy calificados (en los cuales sí habrá un costo por publicación, a convenir con el autor) se aceptarán artículos en inglés, pero deberá adjuntarse también una versión en español o portugués, consultándolo previamente con la Editora.
- El límite máximo de extensión es de 25 páginas impresas, a doble espacio, en letra tamaño 12, tipo Times New Roman, incluyendo las ilustraciones. Las páginas deben estar numeradas. Cualquier artículo que no satisfaga este requisito será rechazado *ad portas*, excepto en casos muy calificados, a juicio del Comité Editorial. El estilo debe ser directo y conciso, con párrafos cortos, y con criterio de exactitud y brevedad.
- Los artículos pueden enviarse a la Editora, a la dirección anotada abajo. Puede hacerse en cualquier procesador de textos, acompañado de la versión impresa, en dos copias. Deben incluirse también los archivos de las figuras. Si hay fotos, pueden enviarse en papel o en diapositiva, o bien escaneadas a 225 dpi, como mínimo.

- Cuando el trabajo lo amerite, se incluirán fotos a color. Sin embargo, se debe enviar la "separación de colores" lista para su impresión. Si esto no es posible, se requiere el envío de US\$ 30 por cada fotografía, para cubrir el costo de la separación de colores.
- Las abreviaturas se explican la primera vez que son utilizadas (por ejemplo: *Estados Unidos de América, EUA*), y a partir de allí se utiliza solamente la abreviatura. Los géneros de los binomios se escriben completos solo la primera vez que se mencionan; después, se anotarán de la siguiente manera: *B. tabaci*, *P. solanacearum*, etc.
- Se recomienda a los autores revisar la ortografía del manuscrito antes de enviarlo a revisión.

## ESTRUCTURA DE LOS ARTÍCULOS

Dada la versatilidad en el contenido de la Revista, el formato para los textos que no corresponden a artículos científicos formales es bastante flexible. Al respecto, se sugiere basarse en artículos publicados en números recientes de la Revista o consultar con la Editora. Sin embargo, para los artículos científicos deben respetarse las siguientes normas.

## TÍTULO

- Debe ser claro y conciso, reflejando en un máximo de 15 palabras, el contenido del artículo.
- No deben usarse nombres comunes, sino nombres científicos, y éstos no deben acompañarse de la ubicación taxonómica de la especie indicada, ni del nombre de la autoridad taxonómica.

## AUTORES

- Debe haber congruencia en el uso de sus nombres y apellidos. Se recomienda utilizar solamente el primer nombre, la inicial del segundo y el primer apellido, lo cual facilitará las búsquedas en las bases de datos; además, es aconsejable evitar nombres compuestos (p.ej., Rodríguez-Maldonado), pues cuando hay varios coautores las citas bibliográficas se recargan demasiado.
- En una nota al pie se describen la filiación institucional y la dirección completa, incluyendo el código de correo electrónico de cada uno de los autores.

## RESUMEN

- El cuerpo de todo artículo científico debe ser precedido por un **Resumen** no mayor de 250 palabras, acompañado de una versión en inglés (**Abstract**). Al pie de cada uno de ellos debe haber cinco **Palabras clave**, también traducidas

al inglés (**Keywords**) descriptivas del contenido del artículo. Ambos requisitos facilitan la difusión del artículo en los servicios bibliográficos internacionales. El resumen debe ser una versión sintética de los aspectos más relevantes de las secciones de *Métodos y materiales* y *Resultados*.

#### EL CUERPO DEL ARTÍCULO

- Se subdivide en las siguientes secciones: *Introducción*, *Métodos y materiales*, *Resultados* y *Discusión*, *Agradecimientos* y *Literatura citada*. No debe haber una sección de *Conclusiones*, pues éstas deben incorporarse en la *Discusión*.
- La *Introducción* presenta, en forma breve, los antecedentes e importancia del tema estudiado, e indica el objetivo de la investigación.
- *Métodos y materiales* contiene una descripción concisa de la metodología y materiales empleados, con un nivel de detalle suficiente como para que cualquier otro investigador pueda repetir los experimentos y verificar su validez. Para su organización, se recomienda subdividirlo en secciones tales como: *localización*, *tratamientos* y *diseño experimental*, *variables de respuesta* y *análisis estadístico*.
- *Resultados* presenta una descripción, en prosa, de las tendencias más sobresalientes detectadas en los experimentos, respaldadas por los resultados de los análisis estadísticos y compendiados en cuadros y gráficos. Es recomendable incluir también hechos negativos, lo cual podrían evitar a otros investigadores incurrir en errores metodológicos innecesariamente.
- *Discusión* analiza de manera crítica, a partir de la hipótesis que originó la investigación, los resultados obtenidos, comparándolos con los de otros autores. Además, resalta los principales hallazgos y conclusiones, así como su valor científico o técnico. Puede incluir recomendaciones de tipo metodológico o aplicado.
- Los *agradecimientos* recogen los nombres, sin títulos académicos, de las personas o instituciones que contribuyeron en aspectos claves de la investigación.
- *Literatura citada* enumera únicamente las fuentes bibliográficas consultadas mencionadas en el texto, incluyendo citas de internet.
- Puesto que el formato de una cita bibliográfica varía según el tipo de fuente, y también según las revistas, se recomienda revisar un número reciente para observar las modalidades empleadas en la Revista.

- Aunque la lista de citas debe hacerse en orden alfabético, nótese que en el texto del artículo los autores deben mencionarse primero en orden cronológico y luego alfabético (p.ej., Trejos 1998, Alvarez *et al.* 1999, Salazar y Ruiz 1999, Cárdenas 2002).
- Cuando haya más de dos autores, se citarán completos en *Literatura citada*, pero se utilizará solo el nombre del primero en el texto, seguido de *et al.* (en cursiva).
- Los trabajos que aún no han sido aceptados para publicación aparecen en el texto, pero no en la sección de *Literatura citada*.

#### ILUSTRACIONES

- Las figuras (gráficos, dibujos o fotografías) se ubican en el texto con numeración consecutiva, precedida de la palabra *Figura*; al citarla en el texto, se debe utilizar la abreviatura *Fig*.
- Tanto las figuras como los cuadros deben aparecer lo más cerca posible de su mención en el texto; es decir, no deben aparecer figuras ni cuadros aislados.
- La leyenda debe estar al pie de cada figura y estar redactada de manera tal que el usuario no tenga que recurrir al texto para su interpretación. Se recomienda no sobrecargar las figuras, para facilitar su entendimiento. En tal sentido, se deben omitir las figuras en tres dimensiones, excepto que sea imprescindible hacerlo, así como la inclusión de líneas horizontales en el cuerpo de la figura o de símbolos decorativos excesivos.
- Los cuadros no deben repetir el contenido de los gráficos. Se debe evitar que sean recargados, con demasiadas columnas y exceso de información. Deben evitarse las líneas verticales y horizontales en el cuerpo del cuadro.
- Las fórmulas que aparecen separadas del texto deberán citarse con números o letras entre paréntesis, de manera que no queden aisladas.

El cumplimiento de todas las indicaciones anteriores facilitará la revisión y la edición de los artículos, lo cual evitará atrasos y agilizará el proceso de selección y publicación.

#### Dirección

Gabriela Gitli

Editora

Revista *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*

CATIE, 7170 Turrialba, Costa Rica

Tel.: (506) 558 2408 ó 558 2633

Fax. (506) 556 6282 ó 556 1533

cicmip@catie.ac.cr

ggitli@catie.ac.cr

*La Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología quiere agradecer a todos quienes colaboraron con ella durante el 2002. Les deseamos un 2003 colmado de éxitos y lleno de prosperidad.*

Adolfo Martínez-Adolfo Soto-Alba Stella Riveros-Alejandro Rodríguez-Ana Tapia-Antonio Bogantes-Bernal Valverde-Carmen Rivera-Comar Serra-Christian Zúñiga-Daniel Coto-David Monterroso-Douglas Cubillo-Eduardo Hidalgo-Elkin Bustamante-Federico Albertazzi-Felicia Echeverri-Galileo Rivas-Gloria Inés Puerta-Guillermo Ramírez-Helda Morales-Helga Blanco-Hipólito Madrigal-Hugo Aguilar-Jorge Madriz-José Luis Martínez-Joseph Saunders-Juan Jovel-Julio M. Arias-Kenneth Madriz-Larry Lugo -Laura Delia Ortega-Luis Carlos Salazar-Luis Vázquez-Luko Hilje-Manuel Carballo-María Carmen Jaizme-Nelly Vásquez-Paul Hanson-Pilar Ramírez-Ramiro de la Cruz-Roberto Belmont Montes-Ronald Cave-Ronald Ochoa-Tamara Benjamin -Tomás Rojas-Ulrike Krauss-Vera Sanchez-Victor Salguero-Personal de Biblioteca Conmemorativa Orton, IICA-CATIE

*Gracias*

# Conviértase en patrocinador de la revista

## Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

Si su empresa o proyecto está comprometido con la conservación de los recursos naturales, la protección del productor y del consumidor, así como con la producción agrícola sostenible, lo invitamos a ser patrocinador de esta Revista.

**Manejo Integrado de Plagas y Agroecología** es una publicación con 16 años de trayectoria, única en el tema en América Latina y el Caribe, de alta calidad, gran prestigio y con amplia distribución en la comunidad técnica y científica latinoamericana.

El patrocinio consiste en un **aporte financiero anual, a convenir entre ambas partes**. Los patrocinadores reciben otros beneficios importantes, como:

- **Publicidad internacional** que reforzará su imagen como empresa o institución en pro del movimiento ecológico y el desarrollo sostenible.
- **Mención en la contraportada** de cada número de esta Revista, así como en la versión electrónica en internet.
- **Ejemplares gratuitos** de la Revista para sus técnicos o para su distribución, según su conveniencia.

Para información adicional consultar a la siguiente dirección:

**REVISTA MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS Y  
AGROECOLOGÍA**

CATIE, 7170 Turrialba, Costa Rica

Tel.: (506) 558 2633 ó 556 6431

Fax: (506) 556 6282

ggitli@catie.ac.cr / cicmip@catie.ac.cr



# Patrocinadores

La Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología se complace en anunciar que, como parte de las actividades para generar ingresos que aseguren su sostenibilidad, cuenta con patrocinadores, los cuales aparecen 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