

ISSN 1659-0082

# Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

Junio 2003

No. 68



**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\$ 30 (América Central), \$ 35 (resto de América Latina, el Caribe, Asia y África), \$ 45 (otros países), incluye el costo del correo aéreo. La versión electrónica (internet) cuesta \$ 20.

## Comité Editorial

Dr. Luko Hilje, *Director*  
Dra. Vera Sánchez  
M.Sc. Nelly Vásquez  
M.Sc. Gabriela Soto  
Dr. Joseph Saunders †  
Gabriela Gitli, *Editora*

## Comité Internacional

Dr. Terence Albrecht  
(USDA/FAS, Washington)  
Dr. Miguel Altieri  
(Universidad de California, Berkeley)  
Dra. Ann Braun  
(Paideia Resources, Nueva Zelanda)  
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: ggithi@catie.ac.cr o cismip@catie.ac.cr

www.catie.ac.cr

## Fecha de inicio y periodicidad:

No 1, setiembre, 1986

Trimestral (marzo, junio, setiembre, diciembre)



**Portada:** Conjunto de fotos representativas del trabajo que realizara el Dr. Joseph Saunders (q.e.p.d.), fundador de esta revista, con la dedicación, el amor por el conocimiento y el afán de contribuir a la búsqueda de soluciones para algunos de los problemas agrícolas que aquejan a los pueblos del neotrópico. A la derecha aparece una foto del picudo *Exophthalmus jekelianus* (Curculionidae) tomada por el Dr. Saunders (quien además fue un gran fotógrafo), el cual ataca numerosos cultivos, especialmente perennes.

# Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

No. 68

Junio 2003

## CONTENIDO

### BIOGRAFÍA

- Joe Saunders: pionero y maestro del manejo integrado de plagas en América Central.....1  
Luko Hilje

### FORO

- Consideraciones sobre plaguicidas peligrosos en América Central .....7  
Catharina Wesseling, Aurora Aragón, Luisa Castillo, Marianela Corriols, Fabio Chaverri, Elba de la Cruz,  
Matthew Keifer, Patricia Monge, Timo Partanen, Clemens Ruepert, Berna van Wendel de Joode

### ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

- Material compostado y *Trichoderma harzianum* como supresores de *Rhizoctonia solani* y promotores del crecimiento de la lechuga .....19  
V. Yossen, S. Vargas Gil, M. del P. Díaz, C. Olmos
- Distribución agroecológica de enfermedades del frijol en Costa Rica .....26  
Carlos Manuel Araya F., Juan Carlos Hernández F.
- Evaluación de extractos de meliáceas para el control de *Heterotermes tenuis* .....34  
Enrique Castiglioni, José Djair Vendramim
- Combate de *Liriomyza* spp. en crisantemo mediante el uso de una aspiradora .....41  
Roberto Antonio Huerta P., J. Refugio Lomeli Flores, Javier Trujillo A., Alberto Hernández C.
- Escala para estimar el daño de insectos en el maíz almacenado .....46  
Gonzalo Silva A., Ángel Lagunes T., J. Concepción Rodríguez, Daniel Rodríguez L.
- Avaliação de óleos vegetais de diferentes características secantes sobre *Bemisia tabaci*, em melão .....53  
Francisco Leandro de Paula Neto, Ervino Bleicher
- Colletotrichum gloeosporioides*, patógeno de orquídeas en el noroeste de Argentina .....57  
María Cabrera G., María Galmarini R., Eduardo Flachsland
- Fagodisuasión de tres extractos vegetales sobre los adultos de *Bemisia tabaci* .....62  
Alana Aguiar, Donald C. Kass, Gerardo A. Mora, Luko Hilje
- Efecto de la toxina beauvericina sobre *Hypothenemus hampei*.....71  
Jorge W. Arboleda V., Fernando Delgado B., Arnubio Valencia J.

### EXPERIENCIAS

- Aportes al conocimiento del manejo del complejo mosca blanca-geminivirus en Costa Rica .....77  
Pilar Ramírez, Claudia Zúñiga

### NOTA TÉCNICA

- Nuevos híbridos de tomate, tolerantes al TYLCV .....85  
M. Piñón, O. Gómez
- Eficacia del farnesol y de un extracto de semilla de ayote como repelentes de *Atta mexicana* .....89  
Francisca Y. Palacios F., Sally Gladstone

### HOJA TÉCNICA

- Determinación del sexo del picudo en Chile .....92  
Osvaldo Pérez J., Helga Blanco M.

### BOLETINES

- Mosca Blanca al Día .....96
- Plagas Forestales Neotropicales .....98
- Control Biológico de Malezas .....100
- Boletín Acceso IICA .....103

### SECCION INFORMATIVA

- Futuros eventos .....107

# 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

Programa de Educación  
para el Desarrollo y la Conservación  
Glenn Galloway

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:  
catiecolombia@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:  
cateelsalvador@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

### 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  
08160-1332  
Zona 5  
Edificio Balboa Plaza  
Avenida Balboa  
Tel. (507) 263-6400  
Fax: (507) 263-2565  
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@bitl.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: marte@iicard.org

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

[www.catie.ac.cr](http://www.catie.ac.cr)

*Suscríbase 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 17 años de trayectoria y 66 números publicados



Artículos indizados en las bases de datos agrícolas y ambientales más importantes a nivel mundial

Únase a una amplia red de instituciones, técnicos y especialistas de América Latina que comparten información sobre el tema publicando en la Revista MIPA

Suscripción	1 año	2 años	Números sueltos
América Central	US\$30	US\$55	US \$7
Resto de América Latina y el Caribe	US\$35	US\$65	US \$8
Norte América, Europa, Africa y Asia	US\$45	US\$85	US \$10
Suscripción electrónica	US\$20	US\$40	

## Un año de duelo y pesar

A veces nos cuesta aceptar que conforme envejecemos se acentúa el riesgo de perder a seres queridos, cercanos a nuestra edad o mayores que nosotros. Pero, aún sin comprender a cabalidad los imponderables del destino o la lógica de la muerte, nos deja más azorados perder a varios de ellos de manera consecutiva. ¡Y estos últimos meses han sido realmente crudos para esta verdadera legión y cofradía que somos los promotores y practicantes del manejo integrado de plagas (MIP) en América Latina y el Caribe!

Hace apenas nueve meses, el 23 de noviembre de 2002, un día después de cumplir 46 años, murió en un accidente automovilístico el Dr. Cecilio Mendoza, destacado fitopatólogo de la Universidad Autónoma Chapingo, en México. Cecilio se caracterizó por ser muy dinámico y polifacético, así como un gran catalizador de numerosos eventos científicos, que permitieron la amplia promoción del MIP en el plano nacional e internacional.

Dos meses después, el 27 de enero de 2003, un cáncer terminó con la vida del colega Mario Bustamante a los 64 años, quien era guatemalteco pero casi hondureño, por su extensa permanencia en este país, donde laboraba con la EAP-Zamorano. Mario era un experto en el campo del combate químico de plagas dentro de la perspectiva del MIP, y llevó su cálido mensaje como hábil capacitador en dicho campo por muchos rincones del continente.

A esta ingrata noticia siguió la de la muerte de Ramón Mendoza, el 18 de junio, causada por una leucemia fulminante, a los 39 años. Ramón laboró por varios años como fitopatólogo en el Proyecto MIP (NORAD-CATIE) con sede en Nicaragua y, en diciembre de 2000, había obtenido su grado de *Magister Scientiae* en el CATIE, donde sobresalió como estudiante y por su don de gentes.

Asimismo, tras un prolongado deterioro de su salud, derivado de la enfermedad de Parkinson que lo afectó por 20 años, el 4 de julio murió a los 67 años el Dr. Joseph L. Saunders. Entrañable maestro y amigo, Joe fue el pionero del MIP en el CATIE e incluso en la región centroamericana, no solo por sus aportes científicos, sino también porque siempre resaltó la necesidad de tender puentes y crear redes de colaboración, para evitar el aislamiento y ser más eficientes.

Menos de una semana después, el 10 de julio, un cáncer de riñón acabó con el Dr. Orencio Fernández, a los 53 años. Orencio, virólogo panameño que trabajaba en el IDIAP, nunca escatimó esfuerzos para hacer aportes científicos de gran valor y formar estudiantes, a pesar de grandes limitaciones y dificultades logísticas y de salud que debió enfrentar.

Sí, es muy doloroso perder a personas tan valiosas y queridas, con quienes tuvimos la fortuna de compartir anhelos y sueños. Sin duda, la mejor manera de honrar su memoria es continuar sin desmayo en nuestra lucha por insertar al MIP como un componente clave en los sistemas de producción realmente sostenibles, donde se conjuguen la racionalidad económica, la conservación ambiental y la equidad social.



Dr. Luko Hilje  
Director



## Joe Saunders: pionero y maestro del manejo integrado de plagas en América Central

Luko Hilje<sup>1</sup>

### Introducción

Cuando creamos la sección de *Biografías* en nuestra revista, lo hicimos con el ánimo de rendir un tributo póstumo a pioneros cuyos aportes científicos han contribuido al desarrollo de los campos de la protección vegetal y la agroecología en el continente y, a la vez, para estimular a las nuevas generaciones a seguir el ejemplo de estos modelos de científicos. Hoy, tras la reciente muerte del Dr. Joseph Lloyd Saunders, este propósito se reafirma y magnifica pues, además de ser un notable científico, él fue el creador intelectual y material de esta revista.

En un editorial reciente (No. 64, junio 2002), comentábamos que nuestra revista nació en setiembre de 1986 “gracias a esa intuición y visión propias de mentes sensibles y conocedoras de su entorno científico-técnico, humano y geográfico, como la del Dr. Joseph L. Saunders”. Fue como una criatura suya, y así la amó, honrándonos como miembro honorario del Comité Editorial hasta sus días finales. Aunque no asistió a nuestras últimas reuniones, debido al deterioro de su salud, originado por la crónica enfermedad de Parkinson (que lo afectara desde los 47 años) y sus efectos colaterales, estaba totalmente lúcido y se mantenía al tanto de nuestros avances y, con frecuencia, nos aportaba sus siempre oportunos consejos.

Por tanto, el homenaje que le rendimos en estas páginas a Joe —como lo llamábamos todos— al evocar su fecunda travesía vital, es más que merecido, pues fue una persona que supo ser jefe y maestro, excelente colega, amigo y consejero y, más que todo esto, un extraordinario y luminoso ser humano.

### Sus primeros años

Joe nació el 26 de octubre de 1935, en Elk City, Oklahoma, hijo único de un hogar campesino, con ancestros indígenas (por su bisabuela materna), formado por Kenneth Saunders y Roma Ledbetter. Su familia se trasladó a Nuevo México, donde poseían una finca en la que laboró desde niño, enfrentando los rigores de la pobreza y del clima. Pero, además, trabajó como peón asalariado cuando fue necesario para complementar el ingreso familiar. Asimismo, como agricultor joven, participó activamente en el programa Future Farmers of America (FFA) y durante dos años consecutivos ganó el premio State Farmers Award, lo que en parte le abriría las puertas para ingresar después a la Universidad Estatal de Nuevo México.

Sin duda, esto lo marcó de por vida. Amó con autenticidad y calidez a los agricultores pobres, pues se veía reflejado en ellos, pero también convirtió sus sentimientos en una norma de vida y en un imperativo ético. Conocía muy bien los intersticios del alma campesina —que es universal—, lo que le permitió integrarse con facilidad a los ambientes rurales latinoamericanos cuando le correspondería hacerlo varios años después. Como buen campesino, fue un verdadero maestro del sentido común, el cual supo aplicar con naturalidad tanto en su vida personal como en la profesional.

Consecuente con este compromiso, durante su educación secundaria Joe se orientó hacia la agricultura, y se graduó en este campo en 1954, en Portales, Nuevo México. En 1959, obtuvo el bachillerato con énfasis en entomología y botánica en la Universidad Estatal de Colorado.

<sup>1</sup> Unidad de Fitoprotección. CATIE. Turrialba, Costa Rica. lhilje@catie.ac.cr

Esos años no fueron fáciles para un muchacho de origen pobre como él, por lo que debió recurrir a varios y diversos empleos (algunos de ellos simultáneamente) para poder financiar sus estudios. La mayoría de dichos empleos se relacionaban con la agricultura, aunque algunos fueron como asistente de ingeniería y como técnico fotográfico (quizás esto explique la gran habilidad fotográfica demostrada muchos años después en sus labores profesionales como entomólogo). Los trabajos en el campo agrícola, que le aportaron una amplia visión y experiencia para su futura vida profesional, incluyeron actividades en el control químico y biológico de plagas, así como la resistencia varietal, en cultivos como alfalfa, algodón, maíz, pacañas y hortalizas; la crianza de mosquitos y moscas de las frutas, y el análisis de residuos de insecticidas; y estudios sobre la biología y el combate químico de abejones descortezadores (*Scolytidae*) de las coníferas.

Este último grupo de insectos fue clave en su vida como estudiante de postgrado. En solamente un año obtuvo el diploma de *Magister Scientiae* en la Universidad de Wisconsin (1960), con énfasis en entomología, nematología y fitopatología. Su tesis, titulada "Nematode parasites and associates of the smaller European elm bark beetle, *Scolytus multistriatus* (Marsham)", versó sobre nemátodos como agentes de control biológico de dicha plaga forestal, vectora del hongo *Ceratocystis ulmi* en el olmo europeo (*Ulmus procera*).

Para su doctorado, iniciado de inmediato, que también enfatizaría la entomología, nematología y fitopatología, y que culminaría en 1963 con la tesis "Scolytidae and Platypodidae associated with *Ceratocystis* wilt of *Theobroma cacao* L. in Costa Rica", proyectó sus conocimientos del campo forestal a un cultivo perenne como el cacao. A la vez, dicha tesis representó el punto de viraje existencial, tanto en su vida personal como en su compromiso con los agricultores del neotrópico.

### Su encuentro con el trópico

¿Cómo fue que este corpulento muchacho rural y brillante estudiante, pero originario de las zonas áridas de Oklahoma y Nuevo México, y después expuesto al clima templado de Wisconsin, recaló en el mundo neotropical? Esto es sencillo de explicar en términos formales, pues la Universidad de Wisconsin tenía un convenio de colaboración con el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas (IICA) (antecesor del CATIE), establecido en Turrialba, Costa Rica, desde 1943. Pero, en mi opinión, tan pronto llegó fue hechizado por la desbordante naturaleza de este sitio y, más aún, por la bondad de sus gentes.

Aparte de su trabajo científico, en Turrialba conoció a Ivonne Gómez, que era secretaria en el IICA, con quien años después procreó tres hijos: Kenneth y Susan (nacidos

en Costa Rica), y Monet (nacida en Washington). Con ellos desarrolló un hogar modelo, de valores sólidos y profundos, basado en sus dones de tolerancia y respeto, que lo convirtieron en un esposo y padre ejemplar. Asimismo, entabló una amistad con numerosa gente de Turrialba, incluyendo a varias personas humildes, quienes serían sus amigos de por vida. Con su rico humor y cabal humildad, decía que él era el gringo más turrialbeño que había, o el turrialbeño más gringo que alguien pudiera imaginar.

Tras obtener su doctorado, Joe regresó a Turrialba por cinco años (de junio de 1961 a julio de 1966), como funcionario del convenio entre el IICA y la Universidad de Wisconsin, en el que ejerció varios puestos, llegando incluso a coordinar dicho programa. Además de supervisar varios asistentes, así como estudiantes graduados de dicha universidad y del IICA, efectuó numerosas consultorías y actividades de asistencia técnica en otros países latinoamericanos.

Sus investigaciones personales se concentraron en plagas del cacao, incluyendo estudios sobre la sistemática de unas 60 especies de *Scolytidae* y *Platypodidae*; la biología y ecología tanto de las plagas primarias como de las plagas secundarias más comunes, en aspectos tales como la secuencia



Joe en 1961, con el estudiante ecuatoriano Julio Molinares, en la finca La Lola (Limón, Costa Rica), donde realizaban investigaciones sobre insectos plagas del cacao.



de su ataque, su desarrollo poblacional, ritmos circadianos, complejos con hongos de "ambrosía" y sus aspectos nutricionales, así como la transmisión de patógenos vasculares; eficacia de insecticidas y adyuvantes en condiciones tropicales; y polinización del cultivo.

### De regreso a su país

Por razones laborales, Joe dejó el IICA para trabajar en la Universidad Estatal de Washington, donde permaneció entre julio de 1966 y agosto de 1971, alcanzando el rango de profesor asociado. Sus actividades de investigación se concentraron en la biología y el manejo de artrópodos dañinos de plantas ornamentales, árboles de Navidad, césped y bayas. La mayoría de estas actividades se enfocaron hacia el desarrollo de opciones de manejo eficaces y prácticas para las principales plagas de dichos cultivos, con énfasis en el uso de insecticidas sistémicos (adquisición, transporte, deposición, eficacia y desarrollo de métodos analíticos para extraer y medir los compuestos originales y sus metabolitos en los tejidos vegetales).

Asimismo, era el responsable de escribir recomendaciones de manejo de las plagas de los cultivos antes anotados, dirigió estudiantes de postgrado y enseñó cursos a agentes del condado, aplicadores de plaguicidas y otros grupos profesionales, lo que implicaba una relación muy cercana con agencias estatales y locales, así como con representantes de la industria y de grupos profesionales.

Después de laborar por cinco años en esa universidad, se trasladó a la Universidad de Cornell, donde estuvo desde agosto de 1971 hasta diciembre de 1975, con el rango de profesor asociado. Ahí asumió la responsabilidad de trabajar en investigación, extensión y docencia referidas a cultivos de vivero, árboles de Navidad y arboricultura.

La investigación se concentró en la evaluación de insecticidas y sus métodos de aplicación, aunque también tuvo la oportunidad de efectuar estudios sobre biología y umbrales económicos para áfidos de la papa, así como sobre resistencia del maíz a barrenadores, esto último en cooperación con el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), ubicado en México. En cuanto a la extensión, al igual que en Washington, tenía la responsabilidad de escribir recomendaciones de manejo de plagas y adiestrar a agentes del condado, estatales, regionales y nacionales.

Además, participó como docente en varios cursos formales, los cuales incluyeron la coordinación del seminario en *Agricultura Internacional*, así como la participación en el seminario sobre *Problemas de la Agricultura en los Trópicos*, lo cual denota su vivo interés por las necesidades de las regiones tropicales, peculiares tanto en su biogeografía y agroecología como en sus dimensiones humanas.

### El magnetismo del trópico

Joe fue un científico exitoso en el mundo universitario norteamericano, como lo atestigua su trabajo en las dos universidades antes citadas. Además, había publicado 22 trabajos en revistas formales (aparte de 24 boletines, materiales divulgativos, etc.), tales como el *Journal of Economic Entomology* (12), *Annals of the Entomological Society of America* (6), *Environmental Entomology* (1), e incluso uno en la muy reputada *Science*.

En síntesis, con apenas 41 años de edad, su futuro era más que auspicioso en aquel mundo académico. Pero, curiosamente, estuvo dispuesto a cambiar todos esos logros por la posibilidad de volver a Turrialba, a pesar de que su familia estaba satisfecha viviendo en los EUA. Incluso alguna vez me comentó que, dada su experiencia en entomología forestal, había concursado para un puesto de entomólogo en el célebre proyecto del *Grupo de Trabajo Interamericano sobre Hypsipyla grandella*, radicado en el IICA (CATIE) en el decenio de los 70.

Su oportunidad llegaría en 1976, cuando fue contratado como entomólogo del proyecto de *Investigación en Sistemas de Producción de Cultivos Tropicales*. Sus actividades específicas en entomología se concentraron en estudios sobre plagas del suelo; las interacciones entre malezas, insectos y la labranza del suelo; la respuesta de las plagas a varios componentes de los sistemas de producción; y las causas de las pérdidas de rendimientos en maíz. Pero, en realidad, su perfil de entomólogo se desdibujó y disolvió, para acoplarse como miembro de un genuino equipo de trabajo que hiciera aportes realmente novedosos en la integración de los aspectos agronómicos con los sociales, recientemente resaltados por Moreno (2002).

La cobertura centroamericana de esta iniciativa permitió a Joe proyectarse fuertemente en todos los países de América Central, interactuando con numerosas organizaciones e individuos en dicha región, a través de actividades de fortalecimiento institucional, validación de tecnologías en campos de agricultores, programas de capacitación y adiestramiento, y preparación de materiales divulgativos.

Para un científico proveniente del competitivo mundo universitario norteamericano, en el cual el éxito normalmente se mide por el esfuerzo individual y por el número de artículos científicos formales publicados, no debe haber sido sencillo involucrarse en un trabajo de naturaleza colectiva. De hecho, alguna vez me contó que el organismo internacional que financiaba dicho proyecto había establecido desde el principio que deseaba ver logros concretos en los campos de agricultores y en el fortalecimiento de las instituciones nacionales, y no publicaciones en revistas de renombre.

Basta con una ojeada a su *curriculum vitae* para constatar que, desde esas fechas, el nombre de Joe prácticamente desapareció de este tipo de revistas. Pero, eso sí, puesto que uno de sus deberes en el citado proyecto era la organización de una base de datos sobre insectos plagas (con más de 800 especies que afectaban más de 40 cultivos en América Central), dedicó ingentes esfuerzos a convertir esta base en el embrión de la que sería su obra cumbre. Ya en 1979 había publicado un volumen mimeografiado de 130 páginas, titulado *Plagas insectiles de América Central* (Saunders 1979), que evolucionaría en contenido y nombre a través de dos publicaciones formales, efectuadas en años posteriores (Saunders *et al.* 1983, Coto *et al.* 1995).

Estas publicaciones representaron un aporte muy valioso en cuanto a la sistematización de la información sobre insectos plaga en nuestra región, pero Joe estaba consciente de que eran insuficientes para satisfacer las necesidades de los profesores, estudiantes y extensionistas. Por tanto, para complementarlas, junto con el Dr. Andrew King (entomólogo inglés que había llegado al CATIE para colaborar con el proyecto de Sistemas de Cultivos), emprendió la tarea de escribir el libro *Plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central*, que apareciera en 1984 (King y Saunders 1984).

La calidad de su contenido, con información sobre casi 400 especies de insectos, ácaros y moluscos que afectan a 37 cultivos anuales y de valor nutricional en América Central, así como las 425 fotografías a color que lo ilustran, causaron una demanda casi febril por el libro, que hizo que ambas versiones (en español e inglés) se agotaran rápidamente. No hay duda de que dicho libro es hoy un verdadero clásico en el campo de la fitoprotección vegetal en el ámbito neotropical. Esto justificó una nueva edición, 14 años después (incluyendo una versión en disco compacto), en la que se incorporó como coautor Daniel Coto (Saunders *et al.* 1998).

### **Su convergencia en el MIP**

A inicios de los años ochenta, el Consorcio Internacional para la Protección de Cultivos (CICP), cuyos líderes eran los doctores Ray F. Smith (de la Universidad de California, Berkeley) y Dale Bottrell (Universidad de Maryland), se propuso desarrollar un vasto proyecto de manejo integrado de plagas (MIP) para América Central (conocido después como "Proyecto MIP"). Hasta entonces, aunque había algunas iniciativas sobre MIP en varias universidades de la región, el único programa de MIP en gran escala había sido el del algodón en Nicaragua, originado por la grave crisis económica y ambiental derivada del sobreuso de insecticidas en dicho cultivo. En 1971, fue establecido con el patrocinio de la FAO y el apoyo de varias entidades agrícolas y financieras locales (Hilje *et al.* 2003).

En reconocimiento del carácter regional del CATIE, así como de su labor pionera en el manejo de plagas, encarnada en la persona de Joe Saunders, se decidió que la sede del Proyecto estuviera en Turrialba. Pronto se consiguió el apoyo financiero de la Agencia para el Desarrollo Internacional (USAID), a través de su oficina regional para Centroamérica y Panamá (ROCAP), iniciándose dicho proyecto en 1984 (Saunders 1989).

Cabe recordar que, aunque la formalización conceptual del MIP había cristalizado desde 1959 en un célebre artículo de cuatro investigadores de la Universidad de California (Stern *et al.* 1959), entre los que figuraba el Dr. Smith, no había sido lo suficientemente acogido en los círculos académicos y, menos aún, popularizado entre los agricultores y el público general. En realidad, el catalizador para su difusión fue el célebre libro *La primavera silenciosa*, de la escritora ecologista Rachel Carson (Carson 1962), quien alertó al gran público sobre el uso desmedido de plaguicidas y otros agentes contaminantes en los EUA (Kogan 1998). Pocos años después, la FAO convocó a un grupo de expertos mundiales para pronunciarse sobre el tema (FAO 1967), y lo propio hizo dos años después un panel de expertos de la Academia Nacional de Ciencias de los EUA (NAS 1969).

Visto en retrospectiva, creo que el establecimiento del Proyecto MIP en el CATIE fue un acontecimiento feliz en todo sentido, para el CICP, el CATIE, las instituciones y los agricultores de la región, para el cual Joe se había preparado quizás inadvertidamente.

En realidad, Joe tenía una amplia formación en fitoprotección, pues durante sus estudios de postgrado recibió un fuerte adiestramiento tanto en entomología como en nematología y fitopatología. Asimismo, desde muy joven y también en su vida profesional, había trabajado con todas las tácticas del MIP (control biológico, combate fitogenético, prácticas agrícolas y combate químico) y también había efectuado detallados estudios sobre la bioecología de algunos insectos y trabajado sobre los umbrales económicos de ciertas plagas. No obstante, la mayoría de sus trabajos versó sobre insecticidas, lo cual se explica porque, en los años en que laboró en la Universidad Estatal de Washington y en la Universidad de Cornell (y esa era la norma en esas épocas en los EUA y otros países), la investigación en fitoprotección dependía casi exclusivamente de las compañías agroquímicas.

Pienso que, sin embargo, quizás este rico bagaje carecía aún de la visión comprensiva u holística indispensable para entender y aplicar el MIP en el mundo real. Pero fue justo en este campo en el que Joe se benefició enormemente de su participación en el equipo de trabajo del proyecto de sistemas de cultivos en el CATIE.

En síntesis, cuando surgió la iniciativa del CICP, era evidente que el candidato natural y lógico para ejercer el liderazgo del Proyecto MIP era Joe, no solo por su sobrada trayectoria académica y profesional, sino también por su conocimiento de la agricultura y de la cultura centroamericana. Pero, además, aunque no se sentía a gusto en labores administrativas, tenía un excelente don de gentes, condiciones innatas de líder (a pesar de cierta timidez que lo caracterizaba) y una gran capacidad para construir equipos y hacerlos trabajar de manera eficiente y armónica (lo cual ya había demostrado en el proyecto de sistemas de cultivos). ¡En sus manos, el éxito futuro del Proyecto MIP estaba garantizado!

### Sus aportes al MIP

Maestro en el difícil arte de simplificar las cosas, Joe empezó su tarea de inmediato, reclutando un equipo capaz y eficiente y planificando actividades concretas. No se perdió en formalismos ni se enredó en cuestiones semánticas, sino que fue al grano. Al respecto, recuerdo que muchos años después (yo me incorporé al grupo en la segunda fase del Proyecto, en 1991), un día en que debatíamos con nuestros estudiantes ciertos aspectos conceptuales del MIP, con su pícaro y tímida sonrisa replicó: “No nos compliquemos con tanta terminología. Pienso que el MIP es la combinación del sentido común y las buenas prácticas agronómicas”. ¡Palabras de un agricultor!

Con su atinada conducción y el trabajo colectivo bien ejecutado, el equipo pronto rindió resultados. El Proyecto, que durara 11 años y fuera ejecutado en dos fases (1984-1989 y 1990-1995), permitió desarrollar numerosas actividades de educación, investigación y proyección externa. En cuanto a la educación, se estableció un programa formal y específico de *Magister Scientiae* en Fitoprotección, del cual ha habido más

de 100 egresados, quienes han contribuido de diversas maneras en la promoción del MIP en casi todos los países latinoamericanos. Asimismo, ofreció actividades de adiestramiento en servicio de corta duración, en el CATIE, así como numerosos cursos cortos sobre temas críticos, en varios países.

El Proyecto también permitió mejorar el diagnóstico e identificación de plagas, y promovió la investigación y validación de opciones de MIP para hortalizas, café y otros cultivos, haciendo aportes de gran valor práctico, muchos de ellos contenidos en las *Guías MIP* para tomate, chile dulce, repollo y maíz (publicadas por el CATIE), así como en la revista *Manejo Integrado de Plagas*, en varios libros (ácaros y mosca blanca) y textos para extensionistas (MIP, control biológico, etc.). Además de estas publicaciones, amplió la disseminación de información mediante publicaciones trimestrales como el *Boletín Informativo MIP*, las *Páginas de Contenido en MIP*, la *Serie Difusión Bibliográfica MIP* y el *Boletín de Tolerancias de Plaguicidas para Cultivos de Exportación*. También se fomentó el establecimiento de la *Red Centroamericana de Fitoprotección*, que involucró numerosas instituciones en cada país, y se impulsó la celebración del *Congreso Internacional de MIP*, que se efectúa bienalmente.

En síntesis, los aportes del Proyecto respaldaron y legitimaron al MIP como una opción viable en la fitoprotección y en la agricultura sostenible en América Central (Hilje *et al.* 2003). Con ello, también se logró su institucionalización en el CATIE más allá de la vida del Proyecto MIP, y se consolidó en muchas instituciones de la región y del continente, lográndose ganar la confianza de numerosas agencias donantes internacionales, como NORAD (Noruega), SIDA (Suecia), NRI-DFID (Inglaterra), DANIDA (Dinamarca), GTZ (Alemania), COSUDE (Suiza), CARE (EUA) y USDA (EUA), quienes han permitido continuar el desarrollo y promoción del MIP en América Latina y el Caribe.



Equipo de especialistas del Proyecto MIP del CATIE (Guatemala, 1988): Phil Shannon, Antonio Salas (administrador), Isabel Royo (secretaría en Turrialba), Joaquín F. Larios, Oralia Muralles (secretaría en Guatemala), Jim French, David Monterroso, Ramiro de la Cruz, Orlando Arboleda, Peter Rosset, Nahum Marbán, Joe Saunders, Mario Bustamante, Mario Pareja, Elkin Bustamante y Gabriel von Lindemann. También participaron en dicho equipo José Rutillo Quezada, Ramón Lastra, Jorge Pinochet, Edgar Alvarado, Róger Meneses y Tulio Ramírez (administrador).

## Colofón

Sería incompleto e injusto cerrar este recorrido por la vida de Joe sin destacar otros de sus atributos personales. Murió relativamente joven — a punto de cumplir 68 años —, aunque su vitalidad había desmejorado mucho. Sin embargo, a los procesos degenerativos causados por la enfermedad se enfrentó con una inmensa entereza y estoicismo, así como con su inigualable sentido del humor.

Tal era su deseo de vivir, que intentó curarse por todos los medios existentes y agotó todas las vías posibles. Un último recurso fue una operación inusitada y sumamente delicada, que se le practicara en Texas en setiembre de 1999, mediante la cual le implantaron unos electrodos en la cabeza. Pocos días después nos envió un correo, narrando la crudeza de dicha operación (durante las primeras cinco horas debió permanecer despierto, para ayudar al equipo médico a colocar adecuadamente los electrodos), pero salpicada con su ingenio y rico humor. Para quienes atestiguamos su sufrimiento de tantos años, en que sus brazos y piernas temblaban sin obedecer a su cerebro, sus palabras finales nos hicieron llorar de emoción: “Cuando desperté, no temblaba. ¡Qué alivio! ¡Hace mucho que no me sentía tan aliviado!”.

No obstante, esta alegría inicial se disiparía, ya que los muchos y fuertes medicamentos consumidos por tantos años dañaron otros órganos y, con el tiempo, derivaron en una cadena de enfermedades que lo llevarían a la muerte el 4 de julio, Día de la Independencia de su patria natal. Incansable en su misión científica, al morir estaba involucrado en la escritura de un libro sobre insectos plagas de cultivos de frutales, con Daniel Coto (el cual se publicará este año), así como en una antología sobre los aportes conceptuales en MIP en América Central que estábamos coeditando.

Por gratitud hacia el CATIE y hacia Turrialba, había pedido que al morir lo cremaran y que sus cenizas fueran esparcidas en el lago de nuestro campus, un sitio que solía visitar en sus caminatas matutinas (muchas veces en la madrugada, pues la enfermedad le negaba el sueño) para disfrutar de las aves que lo habitan y del reluciente espejo de sus serenas aguas. Lo hechizaba el agua, como excelente y apasionado pescador que fue. Es decir, eligió que sus restos mortales se integraran a las aguas y al cieno del lago, para fusionarse telúrica y cósmicamente con el mundo mineral de esta fértil tierra turrialbeña que tanto amó. Ivonne e hijos acataron su voluntad el 8 de julio, acompañados por gente de la comunidad del CATIE y sus amigos de Turrialba.

A pesar de su conocida renuencia a los homenajes públicos, desde hacía casi un año había aceptado nuestra pro-

puesta de bautizar con su nombre el edificio de Fitoprotección, construido por él, que fuera la sede principal del célebre Proyecto MIP. Dicho edificio había sido remodelado, y se había pactado con él que el homenaje se efectuaría el 8 de agosto pero, lamentablemente, murió un mes antes.

El 23 de julio, en una ceremonia concurrida por más de cien personas, se bautizó el edificio develando su nombre, así como un gran afiche que sintetiza sus aportes en MIP. Asimismo, se entregó a su familia un texto titulado *Tributo a Joe Saunders*, en el que unos 20 amigos expresamos los sentimientos que Joe indujo en cada uno de nosotros durante su noble existencia. Sin duda, aparte de su rica obra científica, ese es el mejor testimonio de la fecunda travesía vital de este campesino que llegó a ser un científico de renombre sin renegar nunca de sus raíces, sino que más bien las enalteció, humilde y generoso, en su trato cotidiano con sus semejantes.

## Agradecimientos

A Ivonne, compañera y esposa ejemplar, y a Isabel Royo, secretaria leal y agradecida, quienes tanto contribuyeron para que esta biografía fuera posible. A Joe, por las tantas y tan cálidas horas de tertulia que nos permitieron cultivar nuestra genuina amistad.

## Literatura citada

- Carson, R. 1962. *Silent spring*. New York, US. Fawcett Crest Books. 304 p.
- Coto, D.; Saunders, J.L.; Vargas, C.L.; King, A.B.S. 1995. Plagas invertebradas de cultivos tropicales, con énfasis en América Central; un inventario. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 66 p. (Manual Técnico No. 12).
- Food and Agriculture Organization (FAO). 1967. Informe de la primera reunión del cuadro de expertos de la FAO en lucha integrada contra las plagas. Roma, Italia.
- Hilje, L.; Araya, C.M.; Valverde, B.E. 2003. Pest management in Mesoamerican agroecosystems. In Vandermeer, J. ed. *Tropical agroecosystems*. Boca Raton, Florida, US. CRC Press. p. 59-93.
- King, A.B.S.; Saunders, J.L. 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. Londres, UK. Overseas Development Administration. 182 p.
- Kogan, M. 1998. Integrated pest management: Historical perspectives and contemporary developments. *Annual Review of Entomology* 43: 243-270.
- Moreno, R. 2002. Bob Hart: pionero de la agroecología en Latinoamérica. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 66: 1-3.
- National Academy of Sciences. 1969. *Insect-pest management and control*. Publ. 1695. Washington, DC, US. 508 p.
- Saunders, J.L. 1979. *Plagas insectiles de América Central*. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 130 p.
- \_\_\_\_\_. 1989. *Manejo integrado de plagas en Centroamérica: el Proyecto Regional MIP del CATIE. 1984-1989*. 13 p. (Mimeografiado).
- \_\_\_\_\_; Coto, D.T.; King, A.B.S. 1998. *Plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central*. 2 ed. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 305 p. (Manual Técnico No. 29).
- \_\_\_\_\_; King, A.B.S.; Vargas, C.L. 1983. *Plagas de cultivos en América Central; una lista de referencia*. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 66 p. (Boletín Técnico No. 9).
- Stern, V.M.; Smith, R.F.; Van den Bosch, R.; Hagen, K.S. 1959. The integrated control concept. *Hilgardia* 29(2): 81-101.

# Consideraciones sobre plaguicidas peligrosos en América Central<sup>1</sup>

Catharina Wesseling<sup>2</sup>, Aurora Aragón<sup>3</sup>, Luisa Castillo<sup>2</sup>,  
Marianela Corriols<sup>4</sup>, Fabio Chaverri<sup>2</sup>, Elba de la Cruz<sup>2</sup>,  
Matthew Keifer<sup>5</sup>, Patricia Monge<sup>2</sup>, Timo Partanen<sup>2</sup>,  
Clemens Ruedert<sup>2</sup>, Berna van Wendel de Joode<sup>2,6</sup>

**RESUMEN.** Los plaguicidas constituyen un riesgo ocupacional y ambiental muy bien documentado en América Central, pese a lo cual siguen presentando problemas severos. El uso de plaguicidas en la región se incrementó entre 1985 y 1999, y entre los productos más utilizados se encuentran compuestos de elevada toxicidad aguda y crónica. Los niveles elevados de exposición y la ineficacia de los equipos de protección personal evidencian la dificultad que ha habido para reducir los riesgos. Las intoxicaciones agudas continúan siendo un serio problema de salud pública y ocupacional. En estudios realizados en América Central sobre sus efectos crónicos en la salud, se ha demostrado que estos productos causan dermatosis, cáncer y efectos genotóxicos, neurotóxicos y respiratorios. Entre las razones por las cuales se siguen usando están las deficiencias en la evaluación y el manejo de riesgos por parte de los gobiernos; un enfoque excesivo en la estandarización centroamericana de regulaciones; intereses económicos en el corto plazo; estrecha relación entre gobiernos e industria; un mercadeo agresivo; asociaciones de trabajadores sin poder; incapacidad de las universidades para llegar hasta los decisores; y regulaciones que no se basan en información local. El acuerdo entre los Ministros de Salud para restringir los plaguicidas más tóxicos en América Central tiene potencial de implementación. La manera más eficaz para reducir los riesgos consiste en reducir significativamente el uso de plaguicidas. Entre las acciones necesarias están: a) el desarrollo de estrategias multidisciplinarias para el estudio local del impacto de los plaguicidas en la salud y el ambiente; b) el desarrollo de tecnologías agrícolas sostenibles que no estén basadas en el control químico; c) la evaluación de las intervenciones; d) aumentar y compartir la experiencia en la región; e) fortalecer las asociaciones de trabajadores y comunidades; y f) redefinir el papel de la industria en el desarrollo de productos más seguros y menos tóxicos, con un mercadeo responsable e información confiable.

**Palabras clave:** Sustancias peligrosas, efectos adversos, salud ambiental, salud ocupacional, exposición, evaluación de riesgos, políticas.

**ABSTRACT. Dangerous pesticides in Central America.** Pesticides are an extensively documented occupational and environmental hazard in Central America. Yet, severe problems persist. Pesticide use in the region increased during 1985-1999, compounds of high acute and chronic toxicity among the most widely used. High exposure levels and ineffectiveness of personal protective equipment evidence the difficulties for risk reduction. Acute poisonings remain a severe occupational and public health problem. Studies on delayed and/or long-lasting health effects in Central America have reported dermatoses, cancer and genotoxic, neurotoxic and respiratory effects. The reasons for persistence of use of hazardous pesticides include deficiencies in government-driven risk assessment and risk management; excessive focus on regional harmonization; short-term economic interests; strong links between industry and governments; aggressive marketing; weak trade unions; and failure of universities to reach decision makers. Regulation based on local data is lacking. An agreement among the Ministries of Health for restricting the most toxic pesticides in Central America has potential for progress. The most effective way to reduce risk is to greatly reduce pesticide use. Actions needed include development of multidisciplinary strategies for local studies on health and environmental impact of pesticides; development of sustainable non-chemical agricultural technologies; evaluation of interventions; extending and sharing of expertise within the region; strengthening of unions and communities; and redefining the role of industry toward development of less toxic and safer products, with responsible marketing and reliable information.

**Key words:** Adverse human effects, occupational exposure, environmental exposure, risk assessment, exposure, policies.

<sup>1</sup> Publicado en inglés en *International Journal of Occupational and Environmental Health* 2001. 7:287-294.

<sup>2</sup> Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET). Universidad Nacional, Costa Rica. cwesseli@una.ac.cr

<sup>3</sup> Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional Autónoma de León, Nicaragua.

<sup>4</sup> PLAGSALUD. Organización Panamericana de la Salud. Managua, Nicaragua.

<sup>5</sup> Programa Internacional de Estudiantes en Salud Ocupacional y Ambiental (ISOEH), Universidad de Washington, Seattle, EUA.

<sup>6</sup> División de Salud Ocupacional y Ambiental. Instituto de Ciencias para la Evaluación de Riesgos, Universidad de Utrecht, Utrecht, Holanda.

## Introducción

Aunque los plaguicidas representan el riesgo ocupacional y ambiental mejor documentado en América Central, continúan presentándose problemas muy serios en toda la región. Los plaguicidas se convirtieron en el blanco de grupos ecologistas hace ya varios decenios y fueron incluidos en los programas de investigación de universidades y en programas de desarrollo sostenible de los gobiernos de América Central desde antes de la Conferencia de las Naciones Unidas sobre Ambiente y Desarrollo (UNCED), celebrada en 1992.

Entre los esfuerzos de los gobiernos de la región para reducir los problemas relacionados con estos productos están: la capacitación de inspectores en salud ambiental y ocupacional; la implementación de sistemas de vigilancia de plaguicidas y, aunque de forma muy limitada, las mejoras en los sistemas de registro de plaguicidas y de las importaciones. Gran parte de la investigación regional sobre los efectos de los plaguicidas en la salud se ha realizado en Costa Rica y Nicaragua, y no se conoce mucho acerca de la situación del resto de los países de América Central, en particular en lo que respecta a los efectos en el largo plazo. No obstante, los resultados de las investigaciones realizadas en Costa Rica y Nicaragua han tenido poco impacto en las políticas sobre plaguicidas en la región. Durante los años 90, no hubo ninguna acción gubernamental importante para reducir el uso de los plaguicidas o para prohibir ciertos compuestos peligrosos.

Este artículo presenta datos sobre el uso de plaguicidas y sus efectos en la salud en América Central, y analiza el papel de los distintos actores en lo que concierne a esta temática.

### Exposición y uso de plaguicidas en América Central

En América Central, se han utilizado cantidades considerables de plaguicidas de alta toxicidad aguda y crónica a lo largo de varios decenios (Hilje *et al.* 1987, Wesseling y Castillo 1992, Murray 1994). Datos preliminares sobre la importación de plaguicidas durante 1999 muestran que su uso no ha disminuido desde 1989. El volumen de importación aumentó de casi 54 millones de kilogramos por año en el período 1980-1989 (Wesseling y Castillo 1992) a más de 60 millones de kilogramos durante 1999 (Fig. 1), a pesar de una disminución temporal en Honduras y Nicaragua, debido a los daños causados por el huracán Mitch a fines de 1998. En Costa Rica, Guatemala, y Belice, el uso de plaguicidas casi se duplicó. Muchos de los plaguicidas

más usados son altamente tóxicos (Ia, Ib en la clasificación de la Organización Mundial de la Salud) o tienen características toxicológicas preocupantes por otras razones (Cuadro 1) (IARC 1987, Ecobichon *et al.* 1990, Thomas *et al.* 1990, Wesseling y Castillo 1992, McConnell y Hruska 1993, Wesseling *et al.* 1993, McConnell *et al.* 1994, Bismuth y Hall 1995, Koch 1996, Langard *et al.* 1996, De Haro *et al.* 1997, Steenland *et al.* 1997, Wesseling *et al.* 1997a, Corriols 1999, McConnell *et al.* 1999a, Moraga 2001, Wesseling *et al.* 2001a, 2001b, Miranda *et al.* 2002).

Varios estudios que evalúan la exposición a plaguicidas por parte de pequeños productores y trabajadores agrícolas en Nicaragua y Costa Rica han demostrado que existen serias deficiencias en el manejo de estos productos, así como en la eficacia de los equipos de protección personal (Dijkstra y Timmermans 1993, Vaquerano 1995, van Wendel de Joode *et al.* 1996, Mata y van der Haar 1997, Aragón 1998, Spruyt y van Puyvelde 1998). Aunque una capacitación adecuada puede reducir, en alguna medida, el grado de exposición y riesgo, persiste la exposición a niveles muy elevados, a pesar de que actualmente los trabajadores son mucho más conscientes de los peligros inherentes al uso de plaguicidas (Aragón *et al.* 2001). Ciertas características de la producción (operaciones manuales, sistemas abiertos, presión de tiempo y pago por área rociada) y las tecnologías utilizadas para la aplicación de plaguicidas (bomba manual y aspersión aérea) todavía pueden provocar niveles altos de exposición y accidentes.

Incluso cuando se usan adecuadamente, los equipos para la protección personal no parecen ofrecer la protección necesaria. En climas calientes y húmedos, la ropa se moja por la transpiración o por el contacto con plantas húmedas, lo cual permite que los plaguicidas penetren la ropa. La oclusión de los plaguicidas bajo la ropa protectora puede incrementar en hasta diez veces la exposición dérmica (Brouwer *et al.* 2000). Además, los trabajadores que se sienten protegidos podrían aplicar los plaguicidas con menos precaución.

Después de que mejoraran las condiciones laborales en las plantaciones bananeras a inicios de los 90, se produjo una reducción notable en las intoxicaciones sistémicas con plaguicidas en Costa Rica (Wesseling *et al.* 2001a), pero no se han registrado más reducciones y la incidencia de intoxicación ha permanecido estable, en aproximadamente 7 por cada 1000 trabajadores bananeros en 1992, 1993 y 1996 (Wesseling *et al.* 2001b).

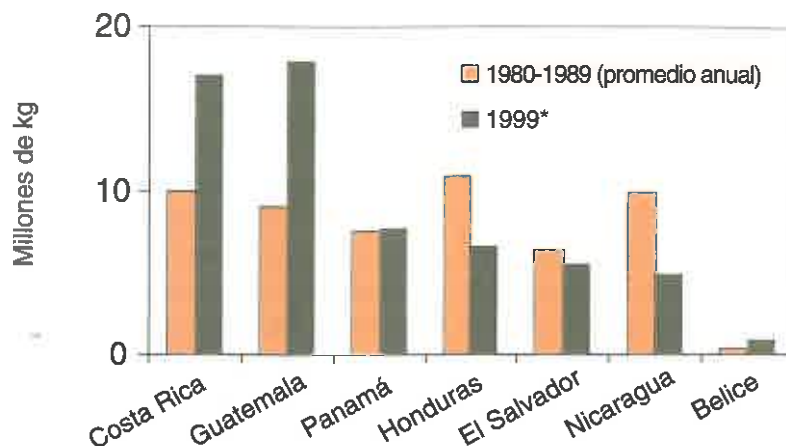


Figura 1. Importación de plaguicidas (en millones de kg) en América Central

\* La información sobre las importaciones en 1999 en Guatemala no está disponible y por tanto se presenta la información de 1998.

Cuadro 1. Plaguicidas muy tóxicos entre los 15 más importados por uno o más países de América Central, 1999.

Plaguicida	Países	Características toxicológicas preocupantes
Paraquat	Belice, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Panamá	Intoxicación ocupacional y accidental fatal, suicidios (Wesseling y Castillo 1992, Bismuth y Hall 1995, Wesseling <i>et al.</i> 1993 y 1997a), lesiones dérmicas y oculares (Wesseling <i>et al.</i> 2001a y 2001b).
Mancozeb	Belice, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Panamá	Cáncer *, tóxico para la glándula tiroides (Steenland <i>et al.</i> 1997), dermatitis (Koch 1996), neurotoxicidad (Ecobichon <i>et al.</i> 1990).
Terbufos	Belice, El Salvador, Guatemala, Nicaragua, Panamá	Intoxicación ocupacional fatal (WHO Ia) (Wesseling y Castillo 1992).
Metamidofos	Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua	Intoxicación aguda (WHO Ib) (Wesseling y Castillo 1992, Corriols 1999), neurotoxicidad periférica (McConnell <i>et al.</i> 1994 y 1999, Miranda 2002).
Bromuro de metilo	Costa Rica, Honduras, Guatemala	Intoxicación aguda (WHO Ib) (Langard <i>et al.</i> 1996), neurotoxicidad (De Haro <i>et al.</i> 1997).
Carbofurán	Costa Rica, El Salvador	Intoxicación aguda (WHO Ib) (Corriols 1999, McConnell y Hruska 1999).
Metil paratión	El Salvador, Guatemala	Intoxicación aguda (WHO Ia) (Wesseling y Castillo 1992, Wesseling <i>et al.</i> 1993, Corriols 1999).
Arseniato de cobre	Belice, Honduras	Cáncer (IARC 1987).
Aldicarb	Belice	Intoxicación aguda (WHO Ia) (Wesseling y Castillo 1992), inmunotoxicidad (Thomas <i>et al.</i> 1990).

\*[http://ntp.server.niehs.nih.gov/htdas/8\\_doc/RAC/ethylenethiourea.html](http://ntp.server.niehs.nih.gov/htdas/8_doc/RAC/ethylenethiourea.html): July 2001

Los estudios arriba mencionados evidencian las dificultades que hay para reducir los riesgos de los plaguicidas a niveles aceptables en los países en desarrollo (o a los mismos niveles que en países industrializados) si no se dan cambios en los sistemas de producción agrícola. Las estrategias de control de riesgos deben enfocarse principalmente en la eliminación y la reducción de la fuente, en lugar de la capacitación y la provisión de equipos de protección personal, y estas estrategias deben ser evaluadas cuando se implementan, lo cual rara vez sucede en la región.

### **Intoxicaciones agudas con plaguicidas en América Central**

Los registros de epidemias y estudios de intoxicaciones han identificado plaguicidas peligrosos específicos, como paraquat, carbofurán, terbufos, metomil, metamidofos, clorpirifos, metil paratión, y fosfuro de aluminio, todos muy usados en América Central (Cuadro 1) (Vergara y Fuortes 1998, Wesseling y Castillo 1992, Wesseling *et al.* 1993, McConnell *et al.* 1994, Bismuth y Hall 1995, Wesseling *et al.* 1997, Corriols 1999, Corriols 2001, Wesseling *et al.* 2001a, 2001b). Además, varios estudios han identificado exposiciones a plaguicidas, bajos niveles de colinesterasa y síntomas relacionados con los plaguicidas en comunidades y familias de agricultores expuestas a estos productos (McConnell y Hruska 1993, McConnell *et al.* 1994, Keifer *et al.* 1996c, Azaroff y Neas 1999, Azaroff 1999, McConnell *et al.* 1999b, Smits *et al.* 1999).

Los esfuerzos realizados por parte de los Ministerios de Salud de la región para diseñar e implementar sistemas de vigilancia de intoxicaciones con plaguicidas se iniciaron en Nicaragua a principios de los 80 (McConnell 1988, Keifer *et al.* 1996) y diez años más tarde en Costa Rica (Rodríguez *et al.* 1995). Más recientemente, el proyecto PLAGSALUD — un proyecto sobre plaguicidas en América Central, coordinado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y con financiamiento de la Agencia Danesa para el Desarrollo Internacional (DANIDA) — ha realizado esfuerzos para implementar estos sistemas en toda la región (Keifer *et al.* 1996b). En 1998, fueron reportadas a los sistemas de vigilancia de cinco de los siete países de América Central casi 6 000 intoxicaciones causadas por plaguicidas (Heno 1999). Recientemente, se realizaron estudios en todos los países centroamericanos, con excepción de Honduras, donde se hizo una encuesta en

muestras de la población general. Los resultados permitieron hacer una proyección regional de intoxicaciones, que sumó aproximadamente 400 000 episodios sintomáticos post-exposición a plaguicidas en el lapso de un año, equivalentes al 1,9% de la población centroamericana o el 5% de las personas expuestas a plaguicidas (Murray *et al.* 2002). La mayoría de los sistemas de vigilancia están actualmente en una fase inicial de implementación; por lo tanto, el análisis de los datos requiere mayor elaboración, pero el potencial para cuantificar los problemas agudos e identificar poblaciones en alto riesgo es excelente, con los consiguientes prospectos para intervenir eficazmente.

Como ejemplo de este potencial, en Nicaragua (el país con el sistema de vigilancia más desarrollado) fueron reportadas 3 440 intoxicaciones durante 1999 y 2000, continuando con una tendencia decreciente tanto en lo que respecta a incidentes como a muertes (Berroterán 2001). Varios casos de intoxicaciones múltiples fueron detectados por el sistema durante el 2000, incluyendo una intoxicación epidémica de 35 trabajadores de plantaciones de tabaco en Jalapa (el tabaco es uno de los cultivos más problemáticos en muchas regiones). Se detectaron también varios eventos de intoxicaciones con alimentos, debido a que se cocinó maíz tratado con metamidofos y DDT. Cuatro personas se intoxicaron cuando ingirieron, para combatir parásitos intestinales, un plaguicida para el control de ectoparásitos en caballos, y tres personas que dieron respiración artificial a una víctima de un intento de suicidio con fosfuro de aluminio también sufrieron intoxicación (Castillo y Boaca 2001, Molina 2001, Moraga 2001). Además, una revisión de estudios en países subdesarrollados evidenció que en muchos de ellos las mujeres tienen exposiciones más frecuentes y más elevadas de lo que comúnmente se cree, tanto en el trabajo como en el hogar, y que las intoxicaciones en mujeres no siempre son reconocidas como tales (London *et al.* 2002). Una revisión de los reportes del sistema de vigilancia en Nicaragua mostró que entre 1995 y el 2000 ocurrieron 2 035 intoxicaciones en mujeres. En ese estudio, se analizaron detalladamente las circunstancias de la intoxicaciones ocupacionales por plaguicidas en mujeres (16% de todas las intoxicaciones) y accidentales (20%), así como de las circunstancias en las intoxicaciones por intento de suicidio (64%) (Corriols 2001).



## Efectos crónicos y en el largo plazo de los plaguicidas en América Central

Las intoxicaciones agudas son el efecto más visible en la salud e indicadores de riesgos crónicos y en el largo plazo. Sin embargo, a menudo los efectos crónicos están asociados con plaguicidas menos tóxicos, comúnmente utilizados pero ausentes de las estadísticas de intoxicaciones. El clorotalonil ha sido identificado como un factor de riesgo para dermatitis cenicienta en trabajadores de plantaciones de banano en Panamá (Penagos *et al.* 1996). En Panamá y Costa Rica, varios estudios destacan la ocurrencia frecuente de dermatosis ocasionada por plaguicidas (O'Malley *et al.* 2001, Wesseling *et al.* 2001a, 2001b). Los hombres que trabajan en plantaciones bananeras, quienes están muy expuestos a los plaguicidas, tienen mayor riesgo de sufrir cáncer de pene, melanoma y cáncer de pulmón, mientras que las mujeres que laboran en estas plantaciones tienen más riesgo de sufrir cáncer de cérvix y leucemia (Wesseling *et al.* 1996). Los riesgos de cáncer en la población de cantones rurales donde se usan intensivamente los plaguicidas tienden a ser mayores que en las poblaciones de cantones rurales con bajo uso de estos, tanto en cuanto al riesgo de sufrir cáncer en general como para cánceres específicos, en especial cáncer de pulmón para hombres y mujeres y cánceres relacionados con hormonas en mujeres (Wesseling *et al.* 1999). Se han reportado efectos genotóxicos en mujeres que laboran en plantas empacadoras de banano (Ramírez *et al.* 1998) y en hombres que trabajan en plantaciones bananeras (Au *et al.* 1999). En Nicaragua se determinó una relación entre la exposición prolongada al paraquat y síntomas de enfermedades respiratorias (Castro-Gutiérrez *et al.* 1997).

Se han encontrado daños persistentes en el sistema nervioso central y periférico de trabajadores intoxicados con plaguicidas inhibidores de colinesterasa en Nicaragua y Costa Rica (Rosenstock *et al.* 1991, McConnell *et al.* 1994, Wesseling *et al.* 1997b, Miranda *et al.* 2002). También se han observado efectos neurotóxicos entre trabajadores que aplicaron DDT para el control de vectores en Costa Rica (van Wendel de Joode *et al.* 2001).

A pesar de la cantidad de publicaciones e investigaciones generadas en la región, el sistema de salud pública no ha logrado impactar significativamente el proceso de toma de decisiones que regula la importación, manufactura y uso de plaguicidas en los países de América Central.

## Información local ignorada por los gobiernos

Durante los años 90, en América Central no hubo ninguna acción gubernamental importante tendiente a reducir el uso de plaguicidas o a prohibir productos específicos. Los Ministerios de Salud, de Agricultura y, en menor grado, los de Trabajo y Ambiente, son las instituciones gubernamentales responsables de la regulación y el control de los plaguicidas en América Central. En la mayoría de los países, los Ministerios de Salud están autorizados para vetar la aprobación de los plaguicidas; sin embargo, en la práctica el registro de plaguicidas (la esencia del conjunto de regulaciones) se resuelve en los Ministerios de Agricultura. Los gobiernos de la región no están preparados para revisar e incorporar la información clave de disciplinas relevantes como la epidemiología, la toxicología, la evaluación y el manejo de riesgos. En perjuicio del proceso, no se aprovechan o se aprovechan muy poco los recursos que existen fuera de los ministerios, en las universidades y las organizaciones no gubernamentales (ONGs).

Los programas y estrategias internacionales para el control del uso de plaguicidas, como el Código de Conducta de la FAO, incluyendo los principios del Consentimiento de Información Previa (PIC) y las resoluciones sobre los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs), son respetados por todos los gobiernos de América Central, aunque el uso de compuestos organoclorados en agricultura ya había sido reducido considerablemente por regulaciones emitidas a inicios de los años 80. Se han emprendido esfuerzos de estandarización del etiquetado y medidas de control para la comercialización, transporte y manejo de plaguicidas, en parte para facilitar el comercio dentro de la región. Aun cuando estas políticas permiten llevar mejores registros del uso de los plaguicidas en la región, consumen muchos recursos y los beneficios para la salud de los trabajadores son pocos y retardados, si es que existen. Por ejemplo, los años de discusiones entre los encargados de establecer las políticas sobre el etiquetado de plaguicidas, principalmente en reuniones regionales e internacionales, no generarán ningún cambio importante en el manejo de los plaguicidas por parte del gran porcentaje de agricultores analfabetos de la región. En general, las deficiencias en la implementación de la legislación existente y la escasez de recursos disponibles para resolver los problemas locales no son resueltas mediante esos esfuerzos. Las acciones reguladoras de plaguicidas específicos se basan

normalmente en lineamientos internacionales, como el Programa Internacional de Seguridad Química de la Organización Mundial de la Salud (OMS), o en decisiones reguladoras de la Agencia para la Protección Ambiental de los Estados Unidos (US EPA). Otros datos científicos relevantes, incluyendo aquellos provenientes de América Central y los generados por los sistemas de vigilancia de los Ministerios de Salud, han sido ignorados o se les ha dado poca importancia.

Los intereses económicos en el corto plazo prevalecen en las discusiones sobre las políticas. Los intereses de los productores de bienes de exportación y los de la industria de plaguicidas han minimizado las preocupaciones de salud pública. Por ejemplo, un programa de intervención del Ministerio de Salud de Costa Rica, que procura el mejoramiento de las condiciones de salud ocupacional y ambiental en las plantaciones bananeras y zonas aledañas (Weinstock 1998), financiado por un impuesto al banano, fue reducido sustancialmente. Otro ejemplo son las importaciones de bromuro de metilo, las cuales aumentaron en un decenio desde casi cero hasta aproximadamente un millón de kg/año (Base de Datos del IRET), al mismo tiempo que este producto es progresivamente eliminado de los países industrializados. La exoneración de impuestos a la importación de plaguicidas es un incentivo para el uso de estos productos que solo favorece a la industria que los produce (CLACDS y HIID 1999).

A pesar del panorama oscuro, una primera señal de una disposición diferente por parte de las autoridades de salud pública emergió en setiembre del 2000 durante la Reunión del Sector Salud de América Central y República Dominicana (RESSCAD), celebrada en Tegucigalpa, Honduras. Los Ministros de Salud firmaron un acuerdo para iniciar acciones para restringir el uso de los 12 plaguicidas responsables de la mayoría de las intoxicaciones agudas en América Central, según los sistemas de vigilancia (metil paratión, terbufos, etoprofos, aldicarb, metamidofos, metomil, monocrotofos, carbofurán, endosulfán, clorpirifos, paraquat y fosfuro de aluminio), y para vedar 107 plaguicidas que ya están prohibidos en uno o más de los países de la región. Hasta ahora, no se ha implementado ninguna restricción para dichos plaguicidas, pero en Nicaragua se llegó a un acuerdo entre los Ministerios de Salud, Ambiente, y Agricultura con respecto al acuerdo de RESSCAD-2000.

## **Papel de la industria de los plaguicidas**

Las estrategias de mercadeo de esta industria son agresivas, camufladas bajo el disfraz de una dirección corporativa responsable y términos de moda como "manejo integrado de plagas" y "desarrollo sostenible". Los plaguicidas son llamados ahora "agentes para la protección de cultivos". La participación de fabricantes y distribuidores de plaguicidas en varias comisiones interinstitucionales, incluyendo comisiones de registro de plaguicidas donde es claro el conflicto de intereses, ha sido excesiva. Los miembros de la industria son omnipresentes en foros de discusión regional de cualquier tipo. El financiamiento de proyectos en universidades va en aumento. Los recursos financieros de la industria de plaguicidas para el cabildeo son ilimitados en comparación con los de otros actores.

En Costa Rica, hay una estrecha relación entre el gobierno y la industria de plaguicidas y la agroindustria. Un proyecto de educación agrícola y ambiental, "TEACH", diseñado e implementado conjuntamente por la Cámara de Insumos Agropecuarios y el Ministerio de Agricultura, tiene el objetivo de capacitar a la población de áreas agrícolas rurales sobre los riesgos y los beneficios de los plaguicidas y su manejo seguro. El ámbito de los grupos meta va desde los trabajadores agrícolas, expendedores de plaguicidas y personal médico, hasta los preescolares, maestros y amas de casa. Murray y Taylor (2000) describen una relación similar entre el gobierno de Guatemala y la Campaña Global de Uso Seguro de Plaguicidas llevada a cabo por la industria. En este costoso proyecto de capacitación, el impacto fue medido en términos de personas a las que llegó y no en términos de la reducción de los niveles de exposición o de los efectos adversos en la salud. Murray y Taylor (2000) señalan que puede existir un conflicto de intereses entre la industria y la salud pública, y que los mensajes enviados a los grupos meta podrían animarlos a usar más plaguicidas.

El herbicida paraquat constituye otro ejemplo. ZENECA, el fabricante (SYNGENTA desde 2000), ha insistido en que el plaguicida tenga un excelente registro de seguridad. La empresa ha cabildeado en los Ministerios de Salud de varios países en desarrollo para evitar y revertir restricciones y mantener baja la clasificación de toxicidad en la etiqueta. La compañía ha organizado seminarios para personal médico en América Central, donde los riesgos son minimizados y las opciones de tratamiento son descritas como si fueran eficaces. En este momento no existen datos que demuestren la

eficacia de las opciones terapéuticas. En esos cursos, así como en los medios de comunicación masiva (ZENECA 1993, Wesseling 1999), distribuye materiales que minimizan el impacto en la salud y el ambiente. Funcionarios importantes de Ministerios de Salud y otras instituciones gubernamentales y académicas han sido invitados a visitar las oficinas centrales de ZENECA en el Reino Unido.

A pesar de la evidencia de los efectos dañinos del paraquat (Wesseling *et al.* 1993, 1997a, 2001a, 2001b), se firmó un acuerdo entre el Ministerio de Salud de Costa Rica y ZENECA (SYNGENTA) para un programa de capacitación para capacitadores. Personal del Ministerio de Salud, capacitado por ZENECA en el uso seguro de Gramoxone (paraquat), podría ser capacitador de usuarios de este herbicida. ZENECA consiguió este acuerdo argumentando que los problemas con paraquat se debían al uso o prácticas inadecuadas no acordes con las instrucciones del fabricante incluidas en la etiqueta. No se incluyó ningún plan para evaluar la eficacia del programa. Esto ocurrió poco tiempo después del anuncio público del entonces Ministro de Salud, Dr. Herman Weinstock (Weinstock 1998), de que el uso de paraquat sería restringido. El decreto para la restricción de uso del paraquat nunca fue firmado.

### **El sector académico**

Las funciones principales del sector académico en lo concerniente a la problemática de los plaguicidas han sido las de generar datos sobre la exposición y los efectos en la salud y el ambiente, ofrecer soluciones para reducir los riesgos y transferir estos conocimientos a los sectores locales, nacionales e internacionales pertinentes. Las colaboraciones Norte-Sur y Sur-Sur han contribuido en gran medida a la recolección de información de calidad en Costa Rica y Nicaragua (Partanen *et al.* 1999, Hogstedt *et al.* 2001). Como se indicó en la primera parte de este artículo, investigadores de América Central han generado información sólida y suficiente sobre los plaguicidas en general y sobre algunos compuestos en particular, pero han fallado completamente en ponerla al alcance del conocimiento público y lograr que sea considerada en el proceso de formulación de políticas. Hasta la fecha, ninguna decisión reguladora se ha basado en datos locales. La aplicación del acuerdo de RESSCAD podría ser el primer paso en la dirección correcta.

Las universidades han tenido un papel importante en la investigación de tecnologías alternativas y la

difusión de esta información a los grupos meta del sector agrícola, aprovechando a menudo la investigación participativa. Al inicio de los 90, las universidades implementaron proyectos pioneros de agricultura orgánica en Costa Rica y programas de manejo integrado de plaguicidas en Nicaragua. Actualmente, las universidades de América Central colaboran en la búsqueda de alternativas al uso de bromuro del metilo, entre otros (Chaverri *et al.* 2000). También los sectores académicos del área de la economía están integrando cada vez más la salud en las políticas de desarrollo y generando información cualitativa y cuantitativa sobre costos y beneficios (Gatjens y Segura 2000). Un documento reciente sobre el futuro de América Central señala a la agricultura orgánica como una oportunidad para la inserción de los países de la región en mercados donde hay conciencia sobre los aspectos ambientales, con beneficios importantes tanto para la salud ambiental como la laboral (CLADS Y HIID 1999).

### **Trabajadores y organizaciones comunales**

Las organizaciones de trabajadores en América Central carecen de suficiente poder, en especial en el sector agrícola, y han ejercido muy poca presión para mejorar sus condiciones laborales o reducir los riesgos relacionados con los plaguicidas (Sass 2000). Algunas organizaciones de trabajadores, específicamente en las plantaciones bananeras, han exigido compensaciones por daños, por haber quedado estériles después de estar expuestos al nematicida DBCP (dibromocloropropano) (Thrupp 1991, Siegel y Siegel 1999). En Costa Rica, estos casos fueron presentados ante la Defensoría de los Habitantes, con la consecuencia de que a los trabajadores, sus esposas y los hijos nacidos durante el periodo en que se usó el DBCP se les otorgó el derecho de recibir una compensación, que aún está por definirse.

La relación entre los sindicatos y las organizaciones agrícolas y comunales con las universidades es necesaria para lograr cambios y, actualmente, existe un mayor interés por lograr estas alianzas. En América Central se realizaron dos talleres en el 2001 con el propósito de iniciar la discusión de una agenda de investigación (SID/COLSIBA 2001). Las ONGs tienen una función muy importante en la región en relación con la reducción de la dependencia de los plaguicidas. Varias ONGs nacionales y regionales ofrecen capacitación a los trabajadores y organizaciones de agricultores y colaboran con las instituciones gubernamentales y académicas. Después de la conducción de

estudios participativos sobre el uso de plaguicidas y sus efectos en la salud (Marín y Ulloa 1999), pequeños productores de hortalizas en Nicoya, Costa Rica, han iniciado un proyecto de agricultura orgánica sostenible. En Costa Rica, el Foro Emaus, una coalición de sindicatos, agricultores, organizaciones ambientales y comunales, grupos religiosos y estudiantes universitarios, originalmente fundada para mejorar las condiciones de los trabajadores en las plantaciones bananeras, está realizando una campaña para prohibir el paraquat. Ellos publicaron y distribuyeron un folleto con 18 razones contra el uso de paraquat, basado en datos científicos. La respuesta oficial del entonces Ministro de Agricultura, Ing. Alberto Dent, al Foro Emaus, negaba todos los riesgos asociados con el paraquat e insistía en que no había datos en Costa Rica o el resto de América Central que demostraran la existencia de problemas con este producto (Dent 2001).

### **Empleadores**

Los empleadores en actividades agrícolas en América Central son a menudo compañías multinacionales dedicadas a la producción de frutas y hortalizas, donde se utilizan intensivamente los plaguicidas. Normalmente, esas compañías tienen programas de salud ocupacional y tratan de mantener las normas ISO 14 000 o de cumplir con los requisitos de comercio justo por razones de exportación. Varias compañías han adaptado un poco sus métodos de trabajo, como la adopción de reglas más estrictas para el reingreso a áreas donde se aplicaron plaguicidas, evitando la aspersion sobre los pueblos durante las aplicaciones aéreas, y la introducción de un sistema de advertencia para sacar a los trabajadores de áreas donde se van a realizar aplicaciones. Sin embargo, la exposición ocupacional y la exposición ambiental en las comunidades cercanas a las plantaciones continúa porque las tecnologías utilizadas para la aplicación (aspersion extensiva, manual o aérea) dificultan la reducción de la exposición a plaguicidas y su emisión al ambiente. Además, las compañías multinacionales comercializan frutas y vegetales de productores locales, quienes tienen programas de salud ocupacional menos estrictos, sin responsabilizarse por las condiciones de trabajo. Los trabajadores tienen poca o ninguna participación en las decisiones de la compañía, incluyendo aquellas que tienen que ver con los riesgos ocupacionales relacionados con plaguicidas. Las consideraciones económicas tienen un gran peso tanto para los empleadores como para los trabajadores.

### **¿Qué mejoras se han logrado en seguridad y salud en relación con los plaguicidas?**

Analizando la situación actual, podemos ver que el uso de plaguicidas no ha disminuido y que la toxicidad de los productos más usados no es menor que hace 10 o 20 años, a pesar del Consentimiento con Información Previa y las resoluciones sobre los Contaminantes Orgánicos Persistentes. Si bien observamos menos intoxicaciones agudas que hace un decenio, los datos de los sistemas de vigilancia no son lo suficientemente confiables y, en el caso de que verdaderamente estén decreciendo, de ninguna manera las intoxicaciones son un problema del pasado. El reciente estudio llevado a cabo en Centroamérica por Murray *et al.* (2002) así lo confirma. Agricultores en Nicaragua expresaron que usan menos los servicios de salud, y la automedicación se ha convertido en una práctica común (Aragón *et al.* 2001). Los efectos crónicos y en el largo plazo por el uso de plaguicidas en los decenios anteriores ya son aparentes, pero la exposición continúa siendo elevada, y es probable que una diversidad de efectos adversos a la salud aparezca en el futuro como consecuencia de la exposición actual.

La complejidad de la evaluación de riesgo excede la capacidad interna actual de los gobiernos de la región. Las exposiciones químicas múltiples no se consideran del todo. No se está evaluando el riesgo local, y las regulaciones no están basadas en hechos locales, aún cuando hay datos confiables disponibles. A pesar de la cantidad de datos concretos sobre la exposición a y los efectos del metamidofos y del paraquat, estos plaguicidas continúan entre los más importados en la mayoría o en todos los países de América Central. La participación de los trabajadores en lo concerniente a seguridad ocupacional y salud y plaguicidas sigue siendo muy débil, mientras que la influencia de la industria en la toma de decisiones y patrones de uso es enorme.

Por otro lado, la problemática de los plaguicidas es un tema actual. Muchas organizaciones e instituciones están documentando sus efectos sobre la salud, el ambiente y la economía, así como estudiando y difundiendo soluciones alternativas. El acuerdo RESSCAD, si se implementara completamente, podría ser un punto de inflexión en la historia de los plaguicidas en América Central.

### **Acciones urgentes**

La lección más importante que debemos aprender es que una tecnología peligrosa, aplicada bajo condiciones que no pueden garantizar un nivel mínimo de

seguridad, tiene efectos deletéreos en la salud de los trabajadores, la población en general y el ambiente. Esto es incompatible con los principios del desarrollo sostenible. Después de decenios de esfuerzos para implementar prácticas agrícolas adecuadas, con un manejo seguro de plaguicidas como el principal componente, debería ser evidente para todos los que están relacionados con el tema que la manera más eficaz de reducir el riesgo en los países en desarrollo es reducir notablemente el uso de plaguicidas. Para avanzar en esta dirección, sugerimos lo siguiente:

- Se debe enfatizar el desarrollo de enfoques de investigación multidisciplinaria para entender plenamente las implicaciones del uso de plaguicidas y lograr soluciones aceptables y viables, con el objetivo de reducir y eliminar el uso de plaguicidas. Se necesita una estrecha relación entre investigadores, trabajadores y planificadores de políticas de desarrollo agrícola, de salud y económicas.
- En la selección de estrategias para lograr sistemas de producción adecuados que procuren reducir la dependencia a los plaguicidas se deben tomar en cuenta los resultados de los estudios locales, incluyendo no solamente aquellos que evalúan el impacto en la salud y el ambiente, sino también estudios sobre tecnologías que no estén basadas en el control químico de plagas, que promueven la salud y una agricultura sostenible. Además, se deben iniciar más estudios locales. Necesitamos analizar por qué, en los temas económicamente sensibles como el uso de plaguicidas, los esfuerzos anteriores no han sido exitosos. El apoyo del proyecto PLAGSALUD a los Ministerios de Salud de América Central, y en especial a los sistemas de vigilancia de intoxicaciones, pueden convertirse en el futuro en una fuente importante de datos que permitan mejorar la toma de decisiones.
- La capacidad de investigación en el campo de la salud ocupacional y ambiental de las universidades de Nicaragua y Costa Rica es suficiente para apoyar los gobiernos en la recolección sistemática y el análisis de datos, la ejecución de estudios *ad hoc* para la evaluación de nuevos problemas, y el apoyo a la evaluación del riesgo local. También en otros países de América Central hay una creciente experiencia en estos campos. Toda esta capacidad debe utilizarse y extenderse a toda la región.
- La capacidad de investigación que existe en la re-

gión debe utilizarse para la evaluación de cómo los factores culturales y la percepción del riesgo afectan la utilidad de, por ejemplo, los programas de seguridad y salud ocupacional o la implementación de programas de manejo integrado de plagas y tecnologías limpias. Este conocimiento también es importante para la transferencia de dichos programas en América Central.

- Deben fortalecerse el derecho a la información y el empoderamiento de los trabajadores. El sector académico debe apoyar a los trabajadores, comunidades en alto riesgo y el público en general, ofreciéndoles información correcta y dándoles las herramientas para poder participar acertadamente en la toma de decisiones. Es urgente la necesidad de proyectos creativos de extensión que promuevan el uso de alternativas y tecnologías más seguras; y su eficacia debe ser evaluada.
- Para lograr mejoras, la industria tiene un papel claro, pero este debe ser limitado al desarrollo de productos menos tóxicos y más seguros, acompañados por un mercadeo responsable con información confiable.

### Literatura citada

- Aragón, A. 1998. Assessment of dermal pesticide exposure and pesticide-related skin lesions: Implications for intervention. Doctoral Plan. Sweden, Karolinska Institutet.
- Aragón, A; Thörn, Å; Aragón, C. 2001 Pests, peasants and pesticides on the Northern Nicaraguan Pacific Plain. *International Journal of Occupational and Environmental Health* 7:295-302.
- Au, WW; Sierra-Torres, CH; Cajas-Salazar, N; Shipp, BK; Legator, MS. 1999. Cytogenetic effects from exposure to mixed pesticides and the influence from genetic susceptibility. *Environmental Health Perspectives* 107:501-505.
- Azaroff, LS. 1999. Biomarkers of exposure to organophosphorous insecticides among farmers' families in rural El Salvador: factors associated with exposure. *Environmental Resources* 80:138-147.
- Azaroff, LS; Neas, LM. 1999. Acute health effects associated with nonoccupational pesticide exposure in rural El Salvador. *Environmental Resources* 80:158-164.
- Berroterán, J. 2001. Resumen epidemiológico año 2000. *In* Programa de Plaguicidas. *Boletín Epidemiológico* 18:1.
- Bismuth, C; Hall, AH, eds. 1995. Paraquat poisoning: mechanisms, prevention and treatment. New York, Marcel Dekker.
- Brouwer, DH; De Vreede, JAF; Meuling, WJA; 2000. Determination of the efficiency for pesticide exposure reduction with protective clothing: a field study using biological monitoring. *In* Honeycutt, HC ed. *Worker exposure to agrochemicals*. Baton Rouge, ACS. p. 65-86.

- Castillo, R. 2001. Boaca. *In* Programa de Plaguicidas. Boletín Epidemiológico 18:3.
- Castro-Gutiérrez, N; McConnell, R; Andersson, K; Pacheco-Anton, F; Hogstedt, C. 1997. Respiratory symptoms, spirometry and chronic occupational paraquat exposure. *Scandinavian Journal of Work Environment and Health* 23:421-427.
- CLACDS & HIID. 1999. Centroamérica en el Siglo XXI: Una agenda para la competitividad y el desarrollo sostenible; bases para la discusión sobre el futuro de la región. Alajuela, Costa Rica, INCAE/Centro Latinoamericano para la Competitividad y el Desarrollo Sostenible/Harvard Institute for International Development.
- Corriols, M. 1999. Epidemiología y toxicología de plaguicidas: curso básico. Managua, PAHO/WHO.
- \_\_\_\_\_. 2001. Salud de la mujer: epidemiología de las intoxicaciones agudas por plaguicidas en mujeres nicaragüenses, 1995-2000. *In* Programa de Plaguicidas. Boletín Epidemiológico 18:20-22.
- Chaverri, F; Gadea, A; Umaña, J; Bravo, V, eds. 2000. Taller alternativas al uso de bromuro de metilo en el cultivo de melón. Heredia, Costa Rica, EUNA.
- De Haro, L; Gastaut, JL; Jouglard, J; Renacco, E. 1997. Central and peripheral neurotoxic effects of chronic methyl bromide intoxication. *Journal of Toxicology - Clinical Toxicology* 35:29-34.
- Dent, A. 2001. Letter to Gerardo Vargas Varela, Executive Secretary Foro Emaus. Office of the Minister of Agriculture, DM 311-2001.
- Dijkstra, E; Timmermans, H. 1993. Occupational exposure to pesticides in a chrysanthemum nursery in Costa Rica. Dermal exposure to chlorothalonil and methomyl of applicators and cutters. Wageningen, Netherlands, Wageningen Agricultural University.
- Ecobichon, DJ; Davies, JE; Doull, J; Ehrich, M; Joy, D; McMillan, R; MacPhail, LW; Reiter, W; Slikker, W; Tilson, H. 1990. Neurotoxic effects of pesticides. *In* Baker, R; Wilkinson, CF, eds. *The effects of pesticides on human health*. Princeton. p. 131-199. (Advances in Modern Toxicology; v. 18).
- Gatjens, VR; Segura, O. 2000. Metodología de valoración económica del impacto por uso de plaguicidas: el caso de las plantaciones bananeras. Heredia, Costa Rica, IRET/Universidad Nacional.
- Henao, S. 1999. Seminario sobre Legislación de Plaguicidas en el Istmo Centroamericano. Guatemala.
- Hilje, L; Castillo, LE; Thrupp, LA; Wesseling, I. 1987. El uso de plaguicidas en Costa Rica. San José, Costa Rica, EUNED/Heliconia.
- Hogstedt, C; Ahlbom, A; Aragón, A; Castillo, L; Kautsky, N; Lidén, C; Lundberg, I; Sundin, P; Tendengren, M; Thörn, A; Wesseling, C. 2001. Experiences from long-term research cooperation between Costa Rican, Nicaraguan, and Swedish institutions. *International Journal of Occupational and Environmental Health* 7:130-135.
- IARC (International Agency for Research on Cancer). 1987. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Suppl. 7: Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs 1-42, Lyon IARC.
- Keifer, M; McConnell, R; Pacheco, AF; Daniel, W; Rosentock, L. 1996. Estimating underreported pesticide poisonings in Nicaragua. *American Journal of Industrial Medicine* 30:195-201.
- \_\_\_\_\_; Murray, D; Amador, R; Corriols, M; González, D; Molieri, J; Rodríguez, AC; van der Haar, R; Wesseling, C; McConnell, R. 1996a. Solving the pesticide problem in Latin America: a model for health sector empowerment. *New Solutions* Winter:26-31.
- \_\_\_\_\_; Rivas, F; Moon, JD; Checkoway, H. 1996b. Symptoms and cholinesterase activity among rural residents living near cotton fields in Nicaragua. *Occupational and Environmental Medicine* 53:726-729.
- Koch, P. 1996. Occupational allergic contact dermatitis and airborne contact dermatitis from 5 fungicides in a vineyard worker. Cross-reactions between fungicides of the dithiocarbamate group? *Contact Dermatitis* 34:324-329.
- Langard, S; Rognum, T; Flotterod, O; Skaug, V. 1996. Fatal accident resulting from methyl bromide poisoning after fumigation of a neighboring house; leakage through sewage pipes. *Journal of Applied Toxicology* 16:445-448.
- London, L; de Grosbois, S; Wesseling, C; Rother, HA; Kisting, S; Mergler, D. 2002. Pesticide usage and health consequences for women in developing countries: Out of sight, out of mind? *International Journal of Occupational and Environmental Health* 8(1): 46-59.
- Marín, M; Ulloa, P. 1999. Estudio sobre la identificación de efectos neurotóxicos en los trabajadores que utilizan agroquímicos en la comunidad de Moracia, Juan Díaz y Cola de Gallo. San José, Costa Rica, ACEPESA.
- Mata, C; van der Haar, R. 1997. Efectividad del equipo de protección personal en trabajadores de paraquat. Heredia, Costa Rica, Universidad Nacional.
- McConnell, R. 1988. Epidemiology and occupational health in developing countries: pesticides in Nicaragua. *In* Hogstedt, C; Reuterwall, C, eds. *Progress in occupational epidemiology*. Amsterdam, Elsevier. p. 361-365.
- \_\_\_\_\_; Hruska, A. 1993. An epidemic of pesticide poisoning in Nicaragua: implications for prevention in developing countries. *American Journal of Public Health* 83:1559-1562.
- \_\_\_\_\_; Keifer, M; Rosenstock, L. 1994. Elevated quantitative vibrotactile threshold among workers previously poisoned with methamidophos and other organophosphate pesticides. *American Journal of Industrial Medicine* 25:325-334.
- \_\_\_\_\_; Delgado, E; Cuadra, R; Torres, E; Keifer, M; Al-mendarez, J; Miranda, J; El-Fawall, H; Wolf, M; Simpson, D; Lundberg, I. 1999a. Organophosphate neuropathy due to methamidophos: biochemical and neurophysiological markers. *Archives of Toxicology* 73:296-300.
- \_\_\_\_\_; Pacheco, F; Wahlberg, K; Klein, W; Malespin, O; Magnotti, R; Akerblom, M; Murray, D. 1999b. Subclinical health effects of environmental pesticide contamination in a developing country: cholinesterase depression in children. *Environmental Resources* 81:87-91.
- Miranda, J; Lundberg, I; McConnell, R; Delgado, E; Cuadra, R; Torres, E; Wesseling, C; Keifer, M. 2002. Onset of grip and pinch strength impairment after acute poisonings

- with organophosphate insecticides *International Journal of Occupational and Environmental Health* 8: 19-26.
- Molina, M. 2001. Nueva Segovia. *In* Programa de Plaguicidas. *Boletín Epidemiológico* 18:14-15.
- Moraga, H. 2001. Managua. *In* Programa de Plaguicidas. *Boletín Epidemiológico* 18:11.
- Murray, DL. 1994. Cultivating crisis: the human cost of pesticides in Latin America. Austin, Texas, University of Texas.
- Murray, DL; Taylor, PL. 2000. Claim no easy victories: evaluating the pesticide industry's Global Safe Use Campaign. *World Development* 28:1735-1749.
- \_\_\_\_\_; Wesseling, C; Keifer, M; Corriols, M; Henao, S. 2002. Surveillance of pesticide illness in the developing world: Putting the data to work. *International Journal of Occupational and Environmental Health* 8:243-248.
- O'Malley, M; Penagos, H; Conde Salazar, L; Cannavo, A; Mirande, L; Ferguson, TJ. 2001. International experience with the skin effects of pesticides: Latin America. *In* Penagos, H; Malley, M; Maibach, H. eds. *Pesticide dermatoses*. Boca Raton, CRC Press. p. 265-275.
- Partanen, T; Hogstedt, C; Aragón, A; Arroyave, ME; Jeyaratnam, J; Kurppa, K; Loewenson, R; Lundberg, I; Ngowi, V; Mbakaya, CFL; Stayner, L; Steenland, K; Weiderpass, E; Wesseling, C. 1999. Collaboration between developing and developed countries and between developing countries in occupational health research and surveillance. *Scandinavian Journal of Work Environment and Health* 25:296-300.
- Penagos, H; Jiménez, V; Fallas, V; O'Malley, M; Maibach, HI. 1996. Chlorothalonil, a possible cause of erythema dyschromicum perstans (ashy dermatitis). *Contact Dermatitis* 35:214-218.
- Ramírez, V; Cuenca, P; Castro, R. 1998. Evaluation of biological markers to assess genotoxic effects of pesticides. Evaluation of biological markers to assess genotoxic effects of pesticides. *Environ Mol Mutag.* 31 (Supplement 29):71.
- Rodríguez, AC; Ahlbom, A; Wesseling, C; Jarquín, C. 1995. A surveillance system for pesticide poisonings, Cariari, Costa Rica. *Epidemiology* 6 (suppl 4):S115.
- Rosenstock, L; Keifer, M; Daniell, WE; McConnell, R; Claypoole, K. 1991. Chronic central nervous system effects of acute organophosphate pesticide intoxication. *Lancet* 338:223-226.
- Sass, R. 2000. Agricultural "killing fields": the poisoning of Costa Rican banana workers. *Int J Health Serv.* 30:491-514.
- SID/COLSIBA (Federation of Specialized Workers of Denmark/Confederation of Banana Worker Trade Unions). 2001. Primer taller metodológico para planificar protocolo de investigación acerca de exposición laboral a plaguicidas y la salud de los trabajadores en las bananeras centroamericanas. Costa Rica.
- Siegel, CS; Siegel, DS. 1999. The history of DBCP from a judicial perspective. *International Journal of Occupational and Environmental Health* 5:127-135.
- Smits, N; Snippe, R; de Vries, J. 1999. Exposure to pesticides due to living next to a banana plantation. A pilot study. Wageningen, Netherlands, Wageningen Agricultural University. (Environmental and Occupational Health Group. Internal report N° 312).
- Spruit, O; van Puyvelde, M. 1998. Evaluation of the protective equipment used during herbicide application on banana plantations. Wageningen, Netherlands, Wageningen Agricultural University. (Environmental and Occupational Health Group. Internal report N° 304).
- Steenland, K; Cedillo, L; Tucker, J; Hines, C; Sorensen, K; Deddens, J; Cruz, V. 1997. Thyroid hormones and cytogenetic outcomes in backpack sprayers using ethylenebis (dithiocarbamate) (EBDC) fungicides in Mexico. *Environ Health Perspectives* 105:1126-1130.
- Thomas, PT; Busse, WW; Kerkvliet, NI; Luster, MI; Munson, AE; Murray, M; Roberts, D; Robinson, M; Silkworth, J; Sjoblad, R; Smialowicz, R. 1990. Immunologic effects of pesticides. *In* Baker, R; Wilkinson, CF. eds. *The effects of pesticides on human health*. Princeton. p. 262-295. (*Advances in Modern Toxicology*; v. 18).
- Thrupp, LA. 1991. Sterilization of workers from pesticide exposure: the causes and consequences of DBCP-induced damage in Costa Rica and beyond. *International Journal of Health Services* 4:731-757.
- van Wendel de Joode, BN; de Graaf, IAM; Wesseling, C; Kromhout, H. 1996. Paraquat exposure of knapsack applicators on banana plantations in Costa Rica. *International Journal of Occupational Environment and Health* 2:294-304.
- \_\_\_\_\_; Wesseling, C; Kromhout, H; Monge, P; García, M; Mergler, D. 2001. Chronic nervous system effects of long-term occupational exposure to DDT. *Lancet* 357:1014-1016.
- Vaquerano, BD. 1995. Caracterización de la exposición ocupacional dermal en una plantación bananera en Costa Rica. Tesis Mag. Sc. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica.
- Vergara, A. 1993. Agrochemical injuries in banana plantations in Costa Rica: a study of neurobehavior and other health effects. Thesis. Iowa, University of Iowa.
- Vergara, AE; Fuortes, L. 1998. Surveillance and epidemiology of occupational pesticide poisonings on banana plantations in Costa Rica. *International Journal of Occupational Environment and Health* 4:199-201.
- Weinstock, W. 1998. Ministry of Health strengthens pesticide control systems. *In* International Conference on Pesticide Use in Developing Countries: Impact on Health and Environment (1998, San José, Costa Rica). Final proceedings. Ed. Astorga, Y. Heredia, Costa Rica, IRET/Universidad Nacional.
- Wesseling, C; Castillo, L. 1992. Plaguicidas en América Central: algunas consideraciones sobre las condiciones de uso. *In* Conferencia Centroamericana sobre Ecología y Salud (ECOSAL I). (1, 1992, San Salvador, El Salvador). Memoria .PAHO. p. 83-112.
- \_\_\_\_\_; Castillo, L; Elinder, CG. 1993. Pesticide poisonings in Costa Rica. *Scandinavian Journal of Work Environment and Health* 19:227-235.
- \_\_\_\_\_; Ahlbom, A; Antich, D; Rodríguez, AC; Castro, R. 1996. Cancer in banana plantation workers in Costa Rica. *International Journal of Epidemiology* 1125-1131.

- \_\_\_\_\_; Hogstedt, C; Picado, A; Johansson, L. 1997a. Non-intentional fatal paraquat poisonings among agricultural workers in Costa Rica: A report of fifteen cases. *American Journal of Industrial Medicine* 433-441.
- \_\_\_\_\_; Keifer, M; Ahlbom, A; McConnell, R; Moon, JD; Rosenstock, L; Hogstedt, C. 1997b. Long-term neurobehavioral effects of mild poisoning with organophosphate and n-methyl carbamate pesticides among banana workers. In Wesseling, C. Health effects from pesticide use in Costa Rica: an epidemiologic approach. Thesis. Stockholm, Karolinska Institutet, National Institute for Working Life.
- \_\_\_\_\_. 1999. Gramoxone: una peligrosa realidad en Costa Rica. *LA NACIÓN*, San José, Costa Rica. Agosto 15: 14A.
- \_\_\_\_\_; Antich, D; Hogstedt, C; Rodríguez, AC; Ahlbom, A. 1999. Geographical differences of cancer incidence in Costa Rica in relation to environmental and occupational pesticide exposure. *International Journal of Epidemiology* 28:365-374.
- \_\_\_\_\_; Hogstedt, C; Fernández, P; Ahlbom, A. 2001a. Time trends of occupational pesticide related injuries in Costa Rica, 1982-1992. *International Journal of Occupational Environ Health* 7:1-6.
- Wesseling, C; van Wendel de Joode, B; Monge, P. 2001b. Pesticide-related illness among banana workers in Costa Rica: A comparison between 1993 and 1996. *International Journal of Occupational and Environmental Health* 7:90-97.
- ZENECA Agrochemicals. 1993. Paraquat: su seguridad en el uso (con pertinencia especial para Centroamérica). Document GAW/BJS/cw, GAW33. Fernhurst, England, ZENECA Agrochemicals.
- \_\_\_\_\_. 1999. Gramoxone Super: Ventajas y beneficios únicos. *LA NACIÓN*, San José, Costa Rica. Mayo 21.



## Material compostado y *Trichoderma harzianum* como supresores de *Rhizoctonia solani* y promotores del crecimiento de la lechuga

Yossen, V.<sup>1</sup>  
Vargas Gil, S.<sup>1</sup>  
Díaz, M. del P.<sup>1</sup>  
Olmos, C.<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Corteza de pino, viruta de pino y viruta de algarrobo compostados, junto con un aislado de *Trichoderma harzianum* Rifai, fueron evaluados para la supresión de *Rhizoctonia solani* Kühn y el crecimiento de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en almacigueras. La supresión del patógeno se evaluó a través de los síntomas de la enfermedad hasta los 20 días del cultivo. Los compost de madera de pino mostraron un mayor efecto supresor del patógeno y el de viruta de algarrobo favoreció su desarrollo. Todos los compost promovieron el crecimiento de las plantas, pero los de viruta de pino y algarrobo triplicaron el peso y aumentaron la altura de las mismas, en un suelo desinfectado con bromuro de metilo. La inoculación de los semilleros con *T. harzianum* disminuyó la incidencia de la enfermedad y restituyó o aumentó los valores de peso y altura de las plantas.

**Palabras clave:** Compost, control biológico, promoción del crecimiento, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma harzianum*.

**ABSTRACT.** Composts and *Trichoderma harzianum* as suppressors of *Rhizoctonia solani* and promoters of lettuce growth. Pine bark wood, pine wood shavings, carob wood shavings and a *Trichoderma harzianum* Rifai isolate were evaluated for the suppression of *Rhizoctonia solani* Kühn and the promotion of lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth. The pathogen's suppression was evaluated through the assessment of symptoms of the disease during twenty days. Pine wood compost showed the best suppressive effects on the pathogen, while carob wood shavings promoted its development. All the composts tested promoted plant growth. However, pine and carob wood shavings tripled the weight and increased plant height values in soil disinfected with methyl bromide. When *T. harzianum* was added to the seed beds, the disease incidence decreased and the weight and height values were restored and/or increased.

**Key words:** Composts, biological control, growth promotion, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma harzianum*.

### Introducción

El "cinturón verde" de la ciudad de Córdoba, ubicada en el centro de la República Argentina, se caracteriza por el cultivo de una gran variedad de hortalizas en el campo y bajo cobertura plástica. Unas 60 ha de invernaderos se destinan a estos cultivos. La lechuga, *Lactuca sativa* L., tradicional en esta zona, experimenta una demanda creciente en los mercados nacionales

por su consumo durante todo el año. El manejo sencillo, su ciclo vegetativo corto y la amplia gama varietal existente convierten esta especie en una buena alternativa en la rotación de cultivos dentro de los invernaderos (Barón y Bares 1996, Kebat y Lázzaro 1997).

Enfermedades como la caída en los almárgos (*damping-off*), provocadas por *Rhizoctonia solani*

<sup>1</sup> Laboratorios de Manejo Integrado de Plagas y Estadística, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. viyossen@agro.uncor.edu.

Kühn y *Pythium* spp., constituyen el factor más importante de pérdidas en la producción de lechuga (Mitidieri 1995).

*R. solani* es un patógeno frecuentemente encontrado en los suelos del cinturón hortícola de la ciudad de Córdoba (Haplustol típico con textura franco-arenosa) (Gasoni *et al.* 1997). Este patógeno encuentra un ambiente ideal para su desarrollo en los cultivos bajo cobertura plástica, lo que dificulta su control. La alta humedad relativa y las temperaturas extremas, aunadas a la ventilación escasa, crean un microclima que facilita el establecimiento. El efecto del monocultivo y el uso indiscriminado de fungicidas favorecen la aparición de razas resistentes a los químicos (Mitidieri 1995).

En Argentina, el sistema productivo en invernaderos es totalmente dependiente de la desinfección de sus suelos con bromuro de metilo. El esfuerzo por reducir el uso de productos químicos por su impacto tóxico en estos agroecosistemas y el difícil control del patógeno aumentaron el interés, en los últimos años, por el uso del control biológico, con aparente inocuidad para el medio ambiente (Cook 1993).

Varias especies de *Trichoderma* sp. son enemigas naturales de *R. solani*, y su efecto promotor del crecimiento de las plantas es ya conocido (Henis *et al.* 1978, Elad *et al.* 1980, 1981, Harman *et al.* 1980, 1989, Kloper y Schroth 1981, Lewis y Papavizas 1985).

Existen distintas enfermedades producidas por patógenos que habitan en el suelo, que pueden ser controladas mediante el uso de compost supresores, es decir, sustratos que resultan de la descomposición de materiales orgánicos en condiciones controladas de temperatura y aireación (Hoitink y Pool 1980, Stephens *et al.* 1981, Nelson y Hoitink 1983, Hoitink y Fahy 1986, Kleifeld y Chet 1992, Hoitink *et al.* 1996). La calidad de los productos obtenidos en el proceso de compostaje varía en función del origen del material inicial, la granulometría, la aireación, la acidez y el contenido de nutrientes, entre otros, por lo que se hace necesario recurrir a análisis fisicoquímicos de un costo elevado para el productor. Es por esto que varios subproductos de la industria y los desechos de la actividad agropecuaria no son utilizados como enmiendas en el suelo en nuestros sistemas productivos. Debido a lo anterior, se comenzó a trabajar en una granja de la zona para determinar si era factible producir compost sin que esta actividad fuera dependiente de la caracterización físico-química del suelo.

Materiales como la corteza de árboles y la mayoría de los subproductos y residuos orgánicos tienen que sufrir la descomposición microbiana antes de poder ser empleados como sustratos. Si este compostaje no es adecuado, se producirán fenómenos de fitotoxicidad a las plantas, como en el caso de los compuestos fenólicos de la corteza de pino. Por otro lado, materiales con una elevada relación carbono/nitrógeno, como la corteza de pino y la viruta de madera, disminuyen considerablemente la cantidad de nitrógeno soluble cuando se utilizan como sustratos, por lo cual es importante que en el proceso de compostaje se logre una adecuada mineralización de la materia orgánica.

En el marco de un proyecto institucional para generar y transferir tácticas de manejo alternativas al control químico tradicional de enfermedades en cultivos bajo cobertura plástica, en la provincia de Córdoba, Argentina, los objetivos propuestos en este trabajo consisten en evaluar el efecto de tres materiales compostados, utilizados en los sustratos de almacigueras de lechuga, sobre la incidencia de la caída de almárgos y el crecimiento de las plantas; y cuantificar el efecto combinado de un aislamiento de *T. harzianum* y de los tres materiales compostados sobre la incidencia de la enfermedad y en el crecimiento de las plantas de lechuga.

## Materiales y métodos

Los experimentos se llevaron a cabo en un invernadero ubicado en el cinturón verde de la ciudad de Córdoba (latitud 30° 59' S, longitud 64° 6' O), Argentina.

La producción de los compost se realizó durante los meses de verano (noviembre y diciembre), en la finca donde se instalaron los ensayos, como un experimento demostrativo para los productores de hortalizas del cinturón fruti-hortícola de Córdoba, con el objetivo de producir estos sustratos con materiales que están normalmente a disposición de los agricultores y a muy bajo costo.

Se utilizó corteza (C1) y viruta de madera (C2) de pino (*Pinus elliotii* Engelm.) y viruta (C3) de algarrobo (*Prosopis alba* Grisebach), subproductos de deshecho en los aserraderos de nuestra ciudad.

Se construyeron pilas de 1,50 m de alto; cada material orgánico se mezcló con estiércol de cabra (3/1; v/v) para favorecer su descomposición y se mojó con abundante agua. Se dejó orear por una hora y se cubrieron las pilas con nailon transparente. Se colocó un caño de 10 cm de diámetro en la parte central para

asegurar la aireación (Labrador Moreno *et al.* 1993). Se registraron las temperaturas a los 10 y 20 cm de profundidad en las pilas durante todo el proceso. La finalización del compostaje se determinó por la estabilización de las temperaturas.

Se le dio especial importancia a la aireación y la humedad del material durante todo el proceso, con el fin de que no se produjeran sustancias fitotóxicas provenientes de los procesos fermentativos. Esto se logró removiendo cada dos días el material de la pila y aplicando riegos suplementarios para evitar que se secase.

Se utilizaron 36 bandejas plásticas de 50 x 30 cm como almacigueras. Estas fueron llenadas con los diferentes sustratos, compuestos por compost, perlita y suelo esterilizado con bromuro de metilo (5:1:4, v/v). Como testigo se empleó suelo esterilizado. A la semana de instalados en las bandejas y al final de las evaluaciones se registraron los valores de pH en los sustratos.

Los tratamientos fueron:

- C1: compost de corteza de pino; C2: de viruta de pino; y C3: de viruta de algarrobo
- C1 R, C2R y C3R : Composts + *R. solani*
- C1RTh; C2RTh; C3RTh: Composts + *R. solani* + *T. harzianum*
- T: Suelo esterilizado
- TR: Suelo esterilizado + *R. solani*

La distribución de los tratamientos en los ensayos fue en bloques completos al azar, con 3 repeticiones.

Se utilizó un aislamiento de *T. harzianum* (TL 98) obtenido de la rizosfera de plantas de lechuga, en un cultivo del "cinturón verde" de Córdoba, Argentina, con probada capacidad como biocontrolador de *R. solani*, *in vitro* y en ensayos en invernaderos. La producción de su biomasa se realizó por medio de fermentación sólida en granos de trigo (Lewis y Papavizas 1983). La concentración final de una suspensión de propágulos de *T. harzianum* en agua destilada se ajustó a  $1 \times 10^{10}$  conidios/ml mediante una cámara de Neubauer. Con esta suspensión, se regaron los sustratos en el momento de instalación de los ensayos con aproximadamente 400 ml por bandeja. A los cinco días, se colocaron discos de 5 mm de diámetro de un cultivo de *R. solani* en agar-papa-glucosado (APG) al 2%, a razón de nueve discos por bandeja.

En cada bandeja se sembraron cuatro hileras, en las que se colocaron 200 mg de semillas (154 semillas) de le-

chuga var. criolla, previamente desinfectadas en una solución de hipoclorito de sodio al 2% durante dos minutos y posteriormente enjuagadas en agua destilada esterilizada (ADE). A los 20 días de la siembra se realizó un raleo de plántulas, y se contaron 60 por bandeja.

A partir de semillas podridas y plántulas caídas en las almacigueras, se realizaron aislamientos en APG al 2% y en el medio selectivo de Ko y Hora (1971), para identificar el agente causal. A lo largo de los ensayos, se registraron las temperaturas diarias, máximas y mínimas, en el invernadero.

La incidencia de la enfermedad se evaluó a los 20 días de cultivo, determinando el porcentaje de semillas podridas y plántulas caídas en los almácigos. Los resultados se sometieron a análisis de variancia y prueba de comparación de las medias de los tratamientos.

El efecto sobre el crecimiento de las plantas, en todos los tratamientos, se evaluó a los 60 días de la siembra por medio de la altura (cm) y el peso de las mismas (g).

Con los valores de incidencia de la enfermedad se realizó el análisis de variancia (ANAVA), con un diseño de experimento en bloques completamente al azar con tres repeticiones, y se determinaron las diferencias entre medias de tratamientos por la prueba de Duncan ( $P < 0,05$ ).

Para las variables altura y peso de las plantas, se evaluó primeramente la estructura de correlación entre ambas, mediante coeficientes de correlación de Pearson (Draper y Smith 1981) y su prueba de significancia, con el fin de establecer el tipo de análisis por realizar, esto es, si hay necesidad de utilizar métodos para variables multidimensionales, con vistas al estudio de los efectos de los tratamientos ensayados. Posteriormente, se realizó el análisis mediante un modelo lineal generalizado, con un factor de tratamiento con 12 niveles y una estructura de parcelas correspondientes a tres bloques completos. Los ajustes fueron realizados en GLIM, versión 4.09 (Francis *et al.* 1994).

La construcción de contrastes específicos fue posible mediante la estimación de la matriz de variancia y covarianza de los parámetros estimados.

Para el diagnóstico del modelo se usaron las técnicas usuales, según sugieren Díaz y Demetrio (1998).

## Resultados y discusión

El material se obtuvo a los dos y tres meses del tratamiento (para viruta y corteza, respectivamente). Se registraron temperaturas medias máximas de 50°C a los

20 cm de profundidad de la pila, y 40°C a los 10 cm. En esta etapa, el material fue removido varias veces, para homogeneizarlo y airearlo, paso fundamental para evitar los procesos fermentativos que pudieran ser fitotóxicos (Hoitink y Fahy 1986). El final del proceso fue determinado por la estabilización de la temperatura dentro de la pila, la cual se mantuvo constante, a 20°C, durante 20 días. Los materiales obtenidos fueron de un color oscuro intenso, sin mantener su forma original.

Se registraron pocas diferencias entre los valores de pH al comienzo y al final de los ensayos: 6,8 en viruta y corteza de pino y 7 en viruta de algarrobo. El pH es uno de los parámetros más importantes para caracterizar un sustrato, ya que de su valor dependerá la presencia de compuestos de aluminio o manganeso, tóxicos para las plantas, así como la disponibilidad de nutrientes minerales que se encuentren retenidos como reserva en el complejo de intercambio (Ansorena Miner 1994). Los valores encontrados en los materiales compostados favorecieron la disponibilidad de estos nutrientes para la planta.

En el análisis de incidencia (%) de la enfermedad, las diferencias entre medias de los tratamientos fueron significativas ( $P > 0,05$ ).

En los análisis de correlación de las variables altura y peso de plantas, los coeficientes de correlación de Pearson (Draper 1981) fueron significativos, lo que permitió ajustar el modelo de análisis de varianza multivariado (SAS Institute 1987), siguiendo el diseño de bloques completamente al azar, con estructura de grupos de experimentos.

El modelo adoptado,  $Y = (y_1, y_2) = (\text{altura}, \text{peso})$  consideró época = primavera e invierno, como factor local o grupo y, dentro del mismo, el factor tratamiento, con 12 niveles y 3 repeticiones o bloques cada uno.

Posteriormente, las respuestas de altura y peso de la planta fueron sometidas a un análisis de agrupamiento de tratamientos utilizando el método de Ward (Jonson y Wichern 1989), con el fin de establecer grupos semejantes de tratamientos (Cuadro 2). En este análisis, la correlación entre las variables fue del 0,93 y, en el análisis de la varianza, la interacción de los tratamientos con el grupo (época) fue significativa ( $F = 11,10; P = 0,0001$ ).

En los ensayos se observó muy baja incidencia de la enfermedad en los dos períodos evaluados. Sin embargo, se apreciaron diferencias significativas entre las medias de los tratamientos (Cuadro 1). Se encontró un porcentaje menor de semillas podridas y plántulas caídas en las almácigueras con compost de viruta de pino, comportándose este último como el mejor supresor de *R. solani*. El compost de corteza de pino también mostró una cierta capacidad supresiva del patógeno en los ensayos de invierno y primavera. La mayor incidencia de la enfermedad se observó sobre el compost de viruta de algarrobo, en las dos estaciones evaluadas (Cuadro 1).

Los tres sustratos compostados favorecieron el crecimiento de las plantas de lechuga en invierno y en primavera, estimado por medio de las variables altura y peso de las plantas, con respecto al suelo esterilizado con bromuro de metilo (Cuadro 2). Estas diferencias fueron más evidentes en la variable peso de las plantas que en la de altura.

**Cuadro 1.** Incidencia de la podredumbre de semillas de lechuga y caída de almácigos causada por *Rhizoctonia solani* en los distintos tratamientos sustrato-*Trichoderma harzianum*.

Tratamiento	Porcentaje (%) de semillas podridas y plántulas con síntomas					
	Invierno			Primavera		
	S	SR	SRTh	S	SR	SRTh
T	0	5,2 <sup>a*</sup>	2,6 <sup>a</sup>	0	5,2 <sup>a</sup>	3,2 <sup>a</sup>
C1	0	3,2 <sup>b</sup>	1,3 <sup>b</sup>	0	3,9 <sup>b</sup>	2,6 <sup>a</sup>
C2	0	1,9 <sup>c</sup>	1,3 <sup>b</sup>	0	2,6 <sup>c</sup>	1,3 <sup>b</sup>
C3	0	4,5 <sup>a</sup>	1,3 <sup>b</sup>	0	5,2 <sup>a</sup>	3,9 <sup>a</sup>

Nota: Observaciones realizadas hasta los 20 días del cultivo. S: sustrato; SR: sustrato + *R. solani*; SRTh: sustrato + *R. solani* + *T. harzianum*; T: testigo (suelo esterilizado con bromuro de metilo); C1: compost de corteza de pino; C2: compost de viruta de pino; C3: compost de viruta de algarrobo.

\*Medias seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente en cada columna ( $P = 0,05\%$ ).

**Cuadro 2.** Grupos homogéneos de tratamientos considerando la respuesta bivariada ( $y_1$ ,  $y_2$ ) de medias, mediante  $y_1$ = altura (cm),  $y_2$  = peso (g) de plantas, sometidas a un análisis de agrupamiento mediante el método de Ward\* (Johnson y Wichern 1989).

Grupos	Tratamientos	Invierno		Primavera	
		Peso (g)	Altura (cm)	Peso (g)	Altura (cm)
1	C2	78,10 ± 0,27	14,10 ± 0,12	315,74 ± 9,36	18,90 ± 0,30
	C3	74,18 ± 4,01	13,23 ± 0,68	306,93 ± 4,95	18,38 ± 0,33
	C2RTh	74,18 ± 4,01	13,22 ± 0,60	303,44 ± 4,89	17,87 ± 0,50
2	C3RTh	61,92 ± 2,10	12,50 ± 0,50	259,17 ± 3,85	16,96 ± 0,93
	C2 R	58,20 ± 6,49	11,08 ± 0,13	294,38 ± 6,21	17,32 ± 0,75
	C1	55,00 ± 0,92	10,53 ± 0,41	220,00 ± 6,17	14,82 ± 0,44
	C1RTh	54,76 ± 1,66	11,36 ± 0,40	233,40 ± 6,84	15,88 ± 0,34
	C3R	49,00 ± 0,95	11,70 ± 0,36	218,34 ± 6,90	16,90 ± 0,38
3	C1R	47,38 ± 2,44	10,40 ± 1,15	206,15 ± 7,77	17,77 ± 0,44
	TRTh	49,18 ± 1,51	11,03 ± 0,64	170,00 ± 7,54	14,10 ± 2,10
4	T	24,67 ± 3,0	8,84 ± 0,05	113,20 ± 4,80	11,36 ± 0,15
	TR	24,50 ± 1,50	8,72 ± 0,02	99,93 ± 0,20	11,12 ± 0,11

\*Se utilizó el método de Ward para identificar grupos homogéneos de tratamientos evaluados en función de una respuesta bivariada, altura y peso de las plantas.

Los compost de viruta de pino (C2) y algarrobo (C3) promovieron el crecimiento de las plantas, triplicando sus valores de peso y aumentando los de altura, en relación con el testigo (grupo 1 de tratamientos homogéneos de medias, Cuadro 1). El de corteza de pino (C1) también aumentó los valores de las variables analizadas respecto al testigo (T) (Cuadro 1).

Con respecto a la altura de las plantas, en invierno se observó un incremento de un 59%, 50,8% y 19,7% en C2, C3 y C1, respectivamente, en comparación con el valor obtenido en el testigo. En primavera, el aumento fue de 66,4 %, 61,8 % y 30,2 %, en C2, C3 y C1, respectivamente, con relación al testigo (Cuadro 2).

En los análisis realizados con el peso de las plantas, en invierno se observó un aumento del 209%, 192% y 117%, en C2, C3 y C1, respectivamente, en comparación con el valor obtenido en el testigo. En primavera, los valores fueron de 178%, 171% y 82% en C2, C3, y C1, respectivamente, en relación con el testigo (Cuadro 2).

Papavizas (1963), Hoitink y Pool (1980) y Kuter *et al.* (1983) toman en cuenta una serie de características determinantes para que un compost sea considerado adecuado para el crecimiento de las plantas: contenido de celulosa, capacidad de intercambio catiónico y proporción carbono/nitrógeno, entre otras. De acuerdo con esos autores, la viruta contiene un mayor porcentaje de material celulósico en comparación con la corteza del árbol, lo cual facilita su degradación. Por

consiguiente, favorece el desarrollo de gran cantidad de microorganismos que prevalecen en el compost y estimulan el crecimiento de las plantas. En los compost de corteza de árbol, con sustancias menos degradables, como la lignina, y con una proporción alta de carbono/nitrógeno, se produce una deficiencia de nitrógeno, lo cual trae como consecuencia menor crecimiento de la población microbiana y de las plantas (Harada e Inoko 1980, Chanyasak *et al.* 1983). Lo anterior se demostró en este trabajo, donde los compost de viruta de madera (C2 y C3) fueron los que promovieron más el crecimiento de las plantas, sin mostrar diferencias significativas de medias de tratamientos (Cuadro 2).

La madera utilizada como material fresco posee inhibidores del crecimiento de las plantas, como sustancias fenólicas, resinas (madera de pino) y taninos (madera de algarrobo), que pueden ser eliminados mediante el proceso de compostaje (Hoitink y Fahy 1986); en este trabajo queda demostrado que estos materiales, así tratados, pueden ser utilizados como enmiendas al suelo, para promover el crecimiento de plantas de lechuga, sin desarrollar características indeseadas en el cultivo.

Las diferencias entre los valores de peso y altura de plantas en ambas estaciones se deben fundamentalmente a diferencias de temperatura y fotoperíodo correspondientes para cada época del año analizada. En primavera, las temperaturas más altas

registradas en el invernadero (media máxima de 34°C y mínima de 14°C), y la mayor cantidad de horas de luz, permitieron un mayor desarrollo de las plantas. En el invierno, las temperaturas máximas y mínimas registradas fueron de 26°C y 5°C, respectivamente.

En las evaluaciones de incidencia de pudrición de semillas y caída de plántulas en las almáciguas, *T. harzianum* + compost, en todos los sustratos y en las dos estaciones evaluadas, mostró reducción de la incidencia de la enfermedad. En invierno, la incidencia fue igual en los tres compost. En primavera fue menor en C2RTh y mayor en C3RTh (Cuadro 1).

En las evaluaciones de altura y peso de las plantas, el agregado del antagonista a las bandejas con los sustratos solos y con el patógeno restituyó o mejoró dichos valores, en comparación con los obtenidos en los materiales compostados (C1, C2, C3) (Cuadro 2).

Cuando *T. harzianum* y *R. solani* fueron colocadas en suelo esterilizado con bromuro de metilo (TRTh), los valores de altura y peso de las plantas superaron a aquellos del sustrato solo (T) y del sustrato con el patógeno (TR).

En el compost de corteza de pino (C1RTh) también se detectaron ambos efectos, donde el valor de la variable altura de las plantas superó a los del compost solo (C1). Este material tiene un alto contenido de lignina, donde especies de *Trichoderma* pueden desarrollarse mejor que *R. solani* (Stephens *et al.* 1981, Nelson y Hoitink 1983, Ogoshi 1987).

Cuando esta compleja interacción compost - patógeno - antagonista se evaluó considerando las variables de crecimiento, la combinación C2RTh resultó ser la mejor, dando mayores valores de altura y peso de planta. Estos valores se obtienen gracias a las características intrínsecas de los compost de viruta. A esto se le agrega la presencia de un microorganismo con conocido efecto como promotor del crecimiento, que encuentra en este sustrato un ambiente ideal para desarrollarse.

Las características físico-químico-biológicas de los diferentes sustratos no fueron analizadas en este trabajo, por ser muchas y muy costosas para los productores que quieren adoptar esta tecnología. Además, no existen en el país métodos normalizados de análisis que permitan un adecuado control de calidad de los sustratos. Los productores demandan análisis

que permitan, en un breve plazo y con el mínimo costo, un diagnóstico preciso. Existen en nuestro medio una gran variedad de materiales orgánicos, subproductos de la industria local, que podrían ser utilizados en los cultivos en invernaderos. Con el conocimiento adecuado del proceso de compostaje de estos materiales y realizando el seguimiento de las temperaturas alcanzadas durante el mismo (Labrador Moreno *et al.* 1993), sería posible para nuestros productores de hortalizas lograr sus propios sustratos.

Sin embargo, la utilización de materiales orgánicos compostados en la producción de plantas debe ser cuidadosa. Aquellos que favorecen el crecimiento de las plantas, también favorecen el crecimiento de los microorganismos, incluyendo los patógenos. Materiales que tienen un efecto menor en el crecimiento de las plantas suprimen más el patógeno. En estos últimos se hace factible su inoculación con microorganismos con capacidad supresora del patógeno, ofreciendo así una alternativa más segura para el control de la enfermedad.

Se concluye así que es posible producir compost en el campo sin realizar un control de calidad del material resultante, siempre y cuando se tenga en cuenta la aerobiosis del proceso, como condición necesaria para obtener un buen producto, homogéneo y sin fitotoxicidad.

De los tres materiales compostados, el de madera de pino se comporta como mejor supresor de la pudrición de semillas y caída de plántulas causada por *R. solani*. El aislamiento TL 98 de *T. harzianum* tiene un efecto supresor sobre *R. solani*, mostrando mayor eficiencia en el control del patógeno cuando crece sobre el compost de viruta de pino.

Los materiales compostados de viruta de pino y algarrobo y corteza de pino promueven el crecimiento de plántulas de lechuga. El compost de corteza de pino no favorece el crecimiento de las plantas de igual manera que los de viruta de pino y algarrobo. La promoción del crecimiento de plántulas de lechuga es mayor cuando se utilizan como sustrato materiales con alto contenido de celulosa, pero también estos sustratos pueden favorecer el desarrollo del patógeno. El aislamiento TL 98 de *T. harzianum* promueve el crecimiento de las plantas. Este efecto se observa tanto en suelo esterilizado como en sustratos no esterilizados, con una alta microflora.

## Literatura citada

- Ansorena Miner, J. 1994. Sustratos. Propiedades y Caracterización. Madrid, ES. Mundi-Prensa. p. 172.
- Barón, J; Bares, M. 1996. INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). p. 37-42. (Boletín Hortícola 12).
- Cook, R.J. 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. Annual Review of Phytopathology 31: 53-80.
- Chanyasak, V; Katayama, A; Hirai, MF; Mori, S; Kubota, H. 1983. Effects of compost maturity on growth of komatsuna in Newbauer's pot II. Growth inhibitory factors and assessment of degree of maturity by org.C/org.N ratio of water extract. Soil Science and Plant Nutrition 29: 251-259.
- Díaz, MP; Demetrio, CGB. 1998. Introducción a los modelos lineales generalizados: Su aplicación a las ciencias biológicas. Córdoba, AR. Screen. 112 p.
- Draper, NR; Smith, H. 1981. Applied Regression Analysis. 2 ed. New York, US. Wiley. 325 p.
- Elad, Y; Chet, Y; Katan, J. 1980. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol effect against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 70: 119-121.
- \_\_\_\_\_; Hadar, Y; Hadar, E; Chet, I; Henis, Y. 1981. Biological control of *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* in carnation. Plant Disease 65: 675-677.
- Francis, B; Payne, J; Green, P. 1994. The GLIM 4 system. UK. Oxford University. 881 p.
- Gasoni, L; Cozzi, J; Kobayashi, K; Yossen, V; Zumelzu, G. 1997. Suppressive effect of antagonistic agents on *Rhizoctonia* isolates on lettuce and potato in Argentina field plots. In International Congress of Plant Pathology (7, 1997, Edimburgo, UK). p. 71.
- Harada, Y; Inoko, A. 1980. Relationship between cation exchange capacity and degree of maturity of city refuse composts. Soil Science and Plant Nutrition 26: 353-362.
- Harman, GE; Chet, Y; Baker, R. 1980. *Trichoderma hamatum* effects on seed and seedling disease induced in radish and pea by *Pythium* spp. and *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 70: 1167-1172.
- \_\_\_\_\_; Taylor, AG; Stasz, TE. 1989. Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and solid matrix priming to improve biological seed treatments. Plant Disease 73: 631-637.
- Henis, Y; Graffar, A; Baker, R. 1978. Integrated control of *Rhizoctonia solani* damping-off of radish: Effect of successive plantings, PCNB and *Trichoderma harzianum* on pathogen and disease. Phytopathology 68: 900-907.
- Hoitink, HAJ; Fahy, PC. 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. Annual Review of Phytopathology 24: 93-114.
- \_\_\_\_\_; Pool, HA. 1980. Factors affecting quality of composts for utilization in container media. Horticultural Science 15: 171-173.
- \_\_\_\_\_; Madden, LV; Boehm, MJ. 1996. Relationships among organic matter decomposition level, microbial species diversity, and soilborne disease severity. In Hall, R. ed. Principles and practice of managing soilborne plant pathogens. St. Paul, MN, US. APS. p. 237-249.
- Johnson, R; Wichern, G. 1989. Applied Multivariate Statistical Methods. New York, US. Wiley. p. 120.
- Kebat, C; Lázzaro, M. 1997. INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, AR) Balcarce. p. 67-71. (Boletín hortícola no. 14).
- Kleifeld, O; Chet, Y. 1992. *Trichoderma harzianum* interaction with plants and effect on growth response. Plant and Soil 144: 267-272.
- Klopper, JW; Schroth, MN. 1981. Plant growth promoting rhizobacteria: Evidence that the mode of action involves root microflora interactions. Phytopathology 69: 10-34.
- Ko, W; Hora, FK. 1971. A selective medium for the quantitative determination of *Rhizoctonia solani* in soil. Phytopathology 61: 707-710.
- Kuter, GA; Nelson, EB; Hoitink, HAJ; Madden, LV. 1983. Fungal populations in container media amended with composted hardwood bark suppressive and conducive to *Rhizoctonia* damping-off. Phytopathology 73: 1450-1456.
- Labrador Moreno, J; Guibertean Cabanillas, A; Lopez Benitez, L; Reyes Pablos, JL. 1993. La materia orgánica en los sistemas agrícolas. Manejo y utilización. Madrid, ES. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. p. 2-43. (Hojas Divulgadoras 3/93).
- Lewis, JA; Papavizas, GC. 1983. Production of chlamidospores and conidia by *Trichoderma* spp. in liquid and solid growth media. Soil Biology and Biochemistry 15: 351-357.
- \_\_\_\_\_. 1985. Effect of mycelial preparations of *Trichoderma* and *Gliocladium* on populations of *Rhizoctonia solani* and the incidence of damping-off. Phytopathology 75: 812-817.
- Mitideri, I. 1995. INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, AR) San Pedro. p. 136-143 (Boletín Hortícola no. 5).
- Nelson, EN; Hoitink, HAJ. 1983. The role of microorganisms in the suppression of *Rhizoctonia solani* in container media amended with composted hardwood bark. Phytopathology 73: 274-278.
- Ogoshi, A. 1987. Ecology and Pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. Annual Review of Phytopathology 25: 125-143.
- Papavizas, GC. 1963. Microbial antagonism in bean rhizosphere as affected by oat straw and supplemental nitrogen. Phytopathology 53: 1430-1435.
- SAS (SAS Institute Inc, US). 1987. SAS Introductory Guide for personal computers. Version 6.03. Cary, NC, US. 111 p.
- Stephens, CT; Herr, LJ; Hoitink, HAJ; Schmitthenner, AF. 1981. Suppression of *Rhizoctonia solani* damping-off by composted hardwood bark medium. Plant Disease 65: 796-797.

# Distribución agroecológica de enfermedades del frijol en Costa Rica

Carlos Manuel Araya F.<sup>1</sup>  
Juan Carlos Hernández F.<sup>2</sup>

**RESUMEN.** El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es un componente importante en la dieta del costarricense. Su consumo, sobre todo en zonas rurales, alcanza los 15,6 kg *per capita*, con una demanda nacional de alrededor de 40 000 t/año. Es un cultivo muy susceptible a las enfermedades, las cuales se extienden por las principales regiones agrícolas del país, causando pérdidas de rendimiento que varían en magnitud, dependiendo de las condiciones agroecológicas y del sistema de cultivo empleado. En este artículo, se describen las condiciones climáticas de las regiones agrícolas de Costa Rica donde se cultiva el frijol en mayores extensiones, y se analizan los diferentes sistemas de cultivo. Las enfermedades se discuten de acuerdo con su distribución geográfica e importancia relativa en cada región, y se comentan algunas medidas de combate de uso frecuente por los agricultores de la zona.

**Palabras clave:** Regiones agrícolas, clima, enfermedades del frijol, medidas de combate, *Phaseolus vulgaris*.

**ABSTRACT.** Agroecological distribution of bean diseases in Costa Rica. The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is an important component of Costa Rica's diet. Its *per capita* consumption is about 15.6 kg and national demand approaches 40 000 t/year. *P. vulgaris* is susceptible to several diseases, which are distributed in the most important bean growing regions and cause significant losses, depending on both environmental conditions and crop system. This paper describes climate conditions in bean-growing agricultural regions and analyses cropping systems. The most important bean diseases are discussed according to their geographical distribution and relative importance in each region. The most frequent control measures used by growers are also commented upon.

**Key words:** Agricultural regions, climate, bean diseases, control measures, *Phaseolus vulgaris*.

## Introducción

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es un componente importante de la dieta del costarricense, sobre todo en las zonas rurales, donde el consumo *per capita* anual se mantiene en alrededor de 15,6 kg (Rodríguez y Dumani 2000). Hasta hace unos años, el cultivo del frijol estaba concentrado en manos de pequeños y medianos productores, que utilizaban el grano para su propio consumo y para abastecer el mercado local a pequeña escala, lo que ayudaba a mejorar los ingresos familiares. Sin embargo, a partir de los años 90, la actividad se ha ampliado y los grandes productores también participan de la producción nacional, sobre todo en la zona norte del país. Pese al aumento en el área sembrada y mejores rendimientos, aún no se ha logra-

do satisfacer las necesidades de consumo nacional. Por esta razón, se ha recurrido a importaciones, que en el 2001 alcanzaron las 23 154 t (Salazar 2002).

En Costa Rica, el área de siembra de frijol sufrió una disminución importante a mediados de la década de los 90 cuando, por políticas gubernamentales, se pasó de 69 580 ha a inicio de la década a solo 32 477 ha en 1996. Esta tendencia no se ha podido revertir, y para el período 2001-2002 el país logró cosechar apenas 19 250 ha (Mora *et al.* 1999, Salazar 2000, Salazar 2002).

Existe una serie de factores que inciden en la producción de frijol. Algunos son de origen externo, como la apertura de mercados y la política del gobierno de favorecer la importación del grano, que han causado

<sup>1</sup> Escuela de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional. Costa Rica. caraya@una.ac.cr

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Innovación y Trasferencia en Tecnológica Agropecuaria. Costa Rica. j.hernandez@costarricense.cr



desazón e incertidumbre entre los productores. Otros factores están relacionados con el manejo agronómico del cultivo, como las épocas de siembra, las variedades utilizadas, los problemas nutricionales y las plagas. Dentro de estas últimas, las enfermedades presentan una vasta distribución geográfica y causan enormes pérdidas en el rendimiento.

Entre los granos básicos, el frijol es uno de los cultivos más susceptibles a las enfermedades, las cuales reducen significativamente el rendimiento en la mayoría de las zonas productoras (Schoonhoven y Voysest 1994). En Costa Rica se tienen informes de la presencia de mustia hilachosa (*Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk), antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Mang.) Scrib), roya (*Uromyces appendiculatus* (Pers.) Ungers), mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferraris), y virus del mosaico común. Sin embargo, más recientemente, debido al cambio en las variedades comerciales, a las alteraciones en el clima, y a la incorporación de nuevas áreas de cultivo, otras enfermedades se presentan con frecuencia y en ocasiones causan severas epifitias, como la pudrición radicular (*Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* (Burk.) Snyder & Hans.), pudrición gris (*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid), y el añublo sureño (*Sclerotium rolfsii* Sacc.).

### Zonas de producción de frijol

Gracias a su variabilidad genética, el frijol es un cultivo que se adapta a diversas condiciones climáticas, existiendo desde variedades propias de las zonas andinas hasta las mesoamericanas, que crecen en condiciones de temperatura más alta. En Costa Rica, el frijol se cultiva desde los 40 hasta los 1200 msnm. Sus requerimientos de agua van de 300 a 400 mm de lluvia, esenciales durante las etapas de floración, formación y llenado de vainas; el exceso de agua afecta el desarrollo de la planta y favorece el ataque de patógenos de la raíz (MAG 1991). La temperatura óptima se encuentra entre los 16 y 25°C, con una máxima alrededor de 27°C; las temperaturas inferiores a los 15°C retardan la germinación y el desarrollo de la planta. Las temperaturas demasiado altas suelen inducir el aborto de flores y vainas (Michaels 1991).

Costa Rica está dividida en seis regiones agrícolas: Huetar Norte, Chorotega, Pacífico Central, Huetar Atlántica y Brunca (Fig. 1). Gracias a la amplia adaptabilidad del frijol, su cultivo se presenta en las seis regiones agrícolas, pero la Región Huetar Norte

es la que actualmente cuenta con la mayor extensión de área sembrada, seguida por la Región Brunca. En cuanto a la producción, las demás regiones representan porcentajes muy bajos, como la Chorotega, con 4,4%, y el Pacífico Central, con 5,0% (Salazar 2000).

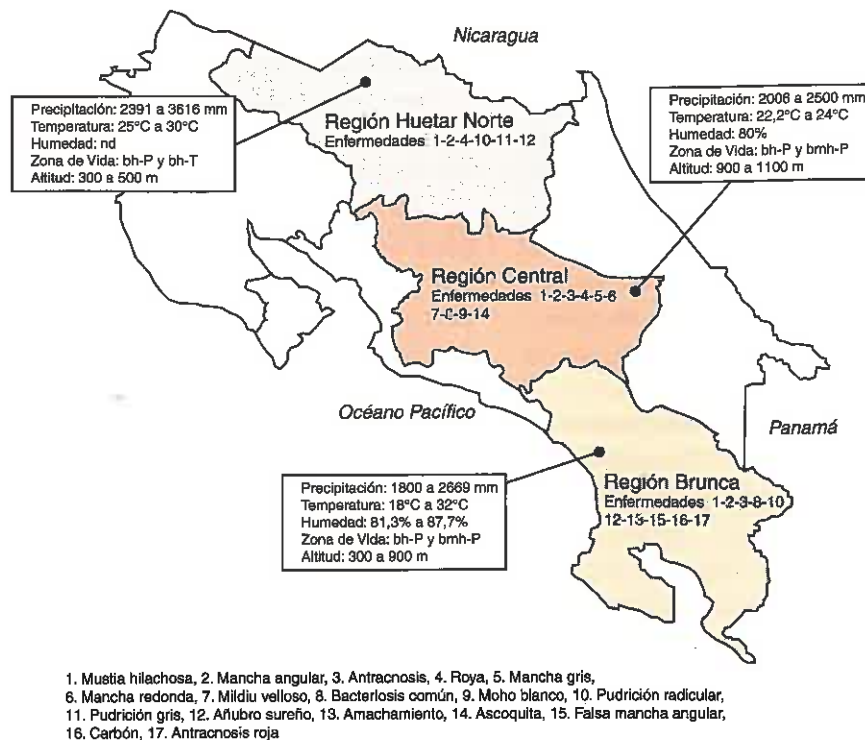
De acuerdo con Herrera (1985), estas zonas poseen condiciones climáticas que las caracterizan. Así, por ejemplo, la Región Huetar Norte (RHN) presenta condiciones de clima húmedo, temperatura de 25–30°C, con una estación seca moderada o corta, que va desde 70 a 35 días con déficit de agua, o menos de 35 días intermitentes con déficit de agua, respectivamente. Las principales áreas productoras de frijol se encuentran en las zonas de vida clasificadas como bosque húmedo tropical (bh-T) y bosque húmedo pre-montano (bh-P) (Holdridge 1978). Los terrenos para la siembra se ubican en altitudes entre los 300 y 500 m.

La Región Brunca (RB) es muy variada en cuanto al tipo de suelo, altitud, topografía y tamaño de las fincas. El clima se caracteriza por ser húmedo, muy caliente, con una estación seca de más de 70 días con déficit de agua, y un período mayor de alta precipitación. El frijol es sembrado en terrenos ubicados entre los 300 y 900 msnm (Herrera 1985). La precipitación promedio anual varía entre 2424 mm en Pejibaye de Pérez Zeledón a 3970 mm en Puerto Jiménez. Asimismo, la temperatura oscila entre 18 y 32°C (Hernández *et al.* 1999). De acuerdo con Holdridge (1978), las áreas productoras se ubican en las zonas de vida bh-T y bosque muy húmedo pre-montano (bmh-P). Los principales cantones productores son Pérez Zeledón, Buenos Aires y Coto Brus.

La Región Central abarca varios cantones de la Meseta Central. El clima es húmedo o subhúmedo seco, templado o caliente, con estación seca moderada o muy larga (Herrera 1985). En términos de suelo, se caracteriza por pendientes de 15 a 30%, fertilidad aparente moderada y acidez con pH entre 5,5 y 6,4. El frijol se encuentra sembrado desde los 900 hasta los 1100 msnm, la temperatura oscila entre 22 y 24°C (Herrera 1985). El cultivo está ubicado en las zonas de vida bh-P y bmh-P (Holdridge 1978).

### Sistemas de siembra

En Costa Rica se distinguen tres sistemas de siembra del frijol: tapado, a espeque y semi-mecanizado. La modalidad del tapado fue ampliamente utilizada en terrenos de topografía quebrada que limitaban no solo el uso de otros sistemas de producción de frijol, sino de



**Figura 1.** Regiones agrícolas de mayor producción de frijol en Costa Rica, sus características climáticas y enfermedades más importantes.

cualquier otro cultivo. Es un sistema seguido por productores de escasos recursos con terrenos de reducido potencial agrícola, que en muchas ocasiones buscan nuevos terrenos o los alquilan para continuar con su actividad (Araya y González 1992). Las variedades utilizadas son de hábito de crecimiento indeterminado.

Este sistema no demanda mucha mano de obra y el cultivo se desarrolla sin la aplicación de pesticidas u otros insumos, pero los rendimientos no superan los 300 kg/ha. Parte del sistema es el uso reiterado de variedades criollas, lo que favorece la acumulación de poblaciones de patógenos transmitidos por semilla, como, por ejemplo, los que causan antracnosis y bacteriosis. El sistema tiene la ventaja de reducir la infección por mustia hilachosa, al formarse una cobertura vegetal que impide la salpicadura de inóculo del suelo.

Las áreas sembradas de frijol tapado han disminuido debido a la reducción de la frontera agrícola, lo que provocó una reducción en los ciclos de rotación de los terrenos y su fertilidad se erosionó hasta llegar a niveles de deficiencia crónica de los nutrimentos básicos (Araya y González 1992). Actualmente, el área de frijol tapado no supera el 5% del total del área sembrada.

El sistema a espeque se presta para ser empleado cuando el productor cuenta con recursos para enfren-

tar mayores costos, pero no dispone de terrenos aptos para la siembra mecanizada, o el acceso a este servicio es limitado. Este sistema contempla el uso de variedades mejoradas, fertilizante, herbicidas y fungicidas. Es usado por pequeños productores con áreas de 2 a 4 ha, con amplio uso de mano de obra familiar.

La siembra a espeque tradicional contempla la preparación del terreno con un arado tirado por bueyes, siembra con el espeque o chuzo, aplicación de herbicida y fertilización a los ocho o diez días después de la siembra. Este sistema es altamente erosivo, por lo que el agricultor tiene que introducir variantes para reducir ese efecto. Además, se favorece el ataque de patógenos por la salpicadura de lluvia.

Una variante del sistema es el espeque con mínima labranza, utilizado en terrenos con pendiente alta (ladera). Consiste en sembrar sobre los residuos de cosecha del cultivo previo, que en la mayoría de los casos es maíz. Bajo estas condiciones, el espeque es sustituido por el golpe con macana, que permite cortar la cobertura y las paredes del hoyo de siembra no son compactadas. Otra variante es la quema con fuego de la cobertura existente y posterior siembra.

La modalidad semi-mecanizada está muy difundida en la RHN, donde ha permitido obtener rendi-

mientos de hasta 1,6 t/ha, sobre todo debido al uso de semilla certificada de variedades mejoradas (Carrillo 1999). El terreno se prepara con una arada y dos rastreadas y la aplicación de un herbicida pre-emergente. La siembra y la fertilización son mecanizadas y se aplican plaguicidas durante el ciclo del cultivo.

En el cultivo semi-mecanizado también existe la variante de mínima labranza, donde la siembra se hace con equipo especializado. El sistema expone muy poco el suelo a la erosión, ya que prácticamente la mayor parte del rastrojo de la cosecha anterior queda sobre su superficie, lo que reduce el proceso de degradación de sus propiedades físicas, químicas y biológicas.

Debido a la influencia climática del Caribe, en los últimos años se ha limitado la oportuna preparación del terreno y la definición de una época de siembra estable para la RHN. La oscilación en la fecha de siembra ha ocasionado dificultades para secar el grano durante la cosecha, lo que en muchas ocasiones es causa de rechazo de lotes reproductores de semilla, por el deterioro del grano (Carrillo 2000).

### **Enfermedades frecuentes en la Región Huetar Norte**

La RHN comprende los cantones de Upala, Guatuso, Los Chiles y San Carlos. En la actualidad, es la principal zona productora de frijol, aportando 9 680 ha, que representan el 67% de la producción nacional (Salazar 2002). Desde inicios de la década de los 90, se ha presentado un desplazamiento de la producción hacia esta Región, en detrimento de la RB, principalmente.

El 5% del área sembrada en Upala y Guatuso corresponde al sistema de frijol tapado, y 90% al sistema a espeque; por su parte, en Santa Rosa y Los Chiles, el 90% de las explotaciones se dan bajo el sistema semi-mecanizado (Ledezma 2000).

Las enfermedades prevalecientes en la RHN, en orden de importancia, son: mustia hilachosa, mancha angular, pudrición radicular, roya, pudrición gris y el añublo sureño.

La mustia hilachosa se encuentra distribuida por toda la región, donde las condiciones de mucha precipitación y temperatura elevada favorecen el patógeno. Todas las variedades comerciales sembradas son susceptibles a la enfermedad; sin embargo, los agricultores han encontrado en la variedad Guaimí un material con resistencia intermedia al patógeno. También la variedad Huasteco constituye una opción para reducir la severidad de mustia por el mayor grosor y consistencia de las valvas, lo que reduce la dehiscencia natural

de la vaina y el deterioro del grano en condiciones de mucha humedad.

Para manejar la mustia hilachosa, el productor de la zona utiliza dos prácticas fundamentales: aplicación de funguicidas y labranza mínima. Los funguicidas de mayor uso son mancozeb, aplicado en forma preventiva, y carbendazim, con aplicaciones de dos a tres semanas después. El uso de la labranza mínima es una práctica que se ha difundido en los últimos años. Se ha observado que la incidencia y la severidad de la mustia hilachosa es menor en campos bajo ese sistema de cultivo, probablemente debido al efecto de la cobertura vegetal del suelo, que reduce la salpicadura por lluvia y la consecuente diseminación de esclerocios de *T. cucumeris* (Rojas y Chávez 2002).

La incidencia y severidad de la mancha angular ha experimentado un aumento significativo, no solo en esta Región, sino en todo el país. En lotes reproductores de semilla, es una de las principales causas de rechazo por defoliación precoz de la planta (Carrillo 2000). Actualmente no se cuenta con variedades comerciales resistentes; no obstante, el plan de mejoramiento que coordina el Programa de Investigación y Transferencia de Tecnología (PITTA frijol) cuenta con un grupo de líneas que han mostrado resistencia a la enfermedad (Araya y Orozco 2002). Hasta la fecha, la aplicación de funguicidas es la práctica más común para combatirla; entre los más usados sobresalen benomil y mancozeb. Recientemente, se obtuvieron buenos resultados experimentales con azoxistrobina, pero aún no se ha implementado su uso en siembras comerciales.

Con menor frecuencia, se puede encontrar la roya. En general, esta no es una enfermedad primaria del frijol en Costa Rica, donde las condiciones ambientales parecen no ser las óptimas para el desarrollo de epifitias. La roya se ha detectado en algunas siembras comerciales, pero su incidencia y severidad no alcanzan niveles de importancia económica.

Los patógenos que causan pudrición de raíz se encuentran distribuidos por toda la RHN y su incidencia está íntimamente ligada a condiciones climáticas favorables. *F. solani* se observa con frecuencia en los campos, pero si el cultivo se desarrolla bajo condiciones adecuadas de nutrición y humedad, la reducción en el rendimiento es mínima. La severidad aumenta bajo condiciones de estrés por sequía o condiciones de alta humedad del suelo y temperatura de alrededor de 22°C. En el período 1997-1998, cuando el país sufrió la influencia del fenómeno del Niño, las pudriciones

radicales causadas por *Fusarium*, *Sclerotium* y *Macrophomina*, fueron las principales causas de pérdidas en esta región. La alta temperatura y la sequía favorecieron el ataque de *Sclerotium* y *Macrophomina*, dos patógenos que no son frecuentes bajo las condiciones climáticas normales de la zona. Así, la presencia de pudriciones radicales es variable y obedece a factores ambientales que favorezcan la infección.

### Enfermedades frecuentes en la Región Brunca

Actualmente, la RB es la segunda en importancia como productora de frijol. Durante el ciclo 2001-2002 se sembraron 5 515 ha y la región aportó el 20% de la producción nacional (Salazar 2002). La RB comprende los cantones de Pérez Zeledón, Buenos Aires, Corredores, Osa y Coto Brus, donde predominan los pequeños productores bajo el sistema de siembra en espeque y tapado. En esta zona está más extendido el uso de variedades criollas (Cuadro 1).

El frijol se siembra en la primera época (mayo) en Pejibaye de Pérez Zeledón y algunas áreas de Buenos Aires, mientras que en el resto de las localidades se acostumbra sembrar solo en la segunda época (octubre), alternando en los terrenos dedicados a la siembra de maíz durante la primera época. El agricultor prefiere el uso de variedades criollas por su precocidad y mayor adaptación a las condiciones de cultivo en la Región. Estos factores han desfavorecido a las variedades mejoradas con mayor potencial de rendimiento, pero con un ciclo de hasta 23 días más (Hernández *et al.* 1999).

Las enfermedades más comunes en la RB son: mustia hilachosa, antracnosis, mancha angular, amachamiento (virus moteado clorótico del caupí (CCMV)), pudriciones radicales causadas por

*Fusarium* y *Rhizoctonia solani* Kühn, falsa mancha angular (*Aphelenchoides besseyi* Christie), *S. rolfsii*, bacteriosis común (*Xanthomonas axonopodis* (= *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye)) y carbón (*Entyloma* sp.).

Históricamente, la mustia y la antracnosis son las enfermedades más frecuentes y severas. La mustia se encuentra distribuida en diferentes zonas ecológicas y ataca la mayoría de las variedades criollas cultivadas en la Región. Esta enfermedad causa infección severa en la mayoría de los materiales comerciales. En el año 2000, se liberó en esta zona la variedad Bribri, que posee resistencia intermedia al patógeno (Rosas *et al.* 2003). La infección por *T. cucumeris* se debe principalmente a inóculo residual (microesclerocios) en el suelo. Excepcionalmente, durante el 2001 se observó una mayor incidencia de mustia causada por basidiospora, la fase sexual del hongo. En este caso, la lesión es circular (2-3 mm de diámetro), necrótica, de color pardo con centro más claro (el síntoma se conoce como "ojo de gallo").

En la RB se ha extendido más el uso del combate químico de la mustia. Los agricultores de las zonas de mayor producción de frijol acostumbran realizar entre una y cuatro aplicaciones de fungicidas, como fentin-hidróxido, benomil, mancozeb o propineb.

La antracnosis se encuentra en niveles elevados de infección en la mayoría de las áreas sembradas, con excepción de la zona de San Vito y Ciudad Neily, donde su incidencia es menor debido, probablemente, a que la alta temperatura prevaleciente la mayor parte del año no favorece el desarrollo de la enfermedad. Las poblaciones de *C. lindemuthianum* han mostrado ser muy variables en todo el mundo, por lo que la presencia de diversas razas fisiológicas es normal en el campo (Araya y Cárdenas 1999, Araya *et al.* 2001).

**Cuadro 1.** Variedades criollas utilizadas en la Región Brunca y sus principales características agronómicas.

Variedad	Características agronómicas
Sacapobres	Susceptible a mustia y antracnosis, alto rendimiento, ciclo 60 días
Aguacatillo	Susceptible a mustia y antracnosis, alto rendimiento, ciclo 60 días
Chimbolo negro	Alto rendimiento
Chimbolo rojo	Alto rendimiento
Kiubra	Tolerante a enfermedades, bajo rendimiento
Vaina blanca	Susceptible a mustia y antracnosis, buena adaptación
Multilínea	Mezcla física de variedades, amplia adaptación
Otras criollas	Susceptible a enfermedades e insectos, bajo costo de producción

Fuente: Hernández *et al.* 1999.

Esta diversidad se ha detectado en parcelas experimentales y campos comerciales.

La antracnosis es endémica debido al uso continuo de grano comercial, sin control de sanidad, como semilla para la siembra. Otro factor incidente es el intercambio de semilla contaminada entre agricultores, muchas veces de zonas distantes.

En los últimos años, en la RB, se ha presentado una variante de la antracnosis, con síntomas ligeramente diferentes a los normalmente descritos para la enfermedad. Se caracteriza por producir lesiones necróticas de color pardo-rojizo sobre las venas, visibles tanto en el haz como en el envés de la hoja; la lesión causa también necrosis en el tejido circundante a las venas, el cual se rasga y origina perforaciones a lo largo de ellas. La enfermedad no se presenta con tanta frecuencia en las vainas. El análisis microscópico de muestras de tejidos infectados reveló la presencia de *Colletotrichum dematium* f. sp. *truncata* (Schw.) Von arx. Esta enfermedad ha sido descrita en Brasil y Colombia como "antracnosis roja", pero en ningún caso alcanzó niveles epifitóticos (Pastor-Corrales y Tu 1994).

El amachamiento es un síndrome detectado en la Región a inicios de los años 90, en el que la planta es de color verde oscuro, con guías anormalmente más largas. En la mayoría de las plantas afectadas se aprecian diversos grados de deformación foliar, sin manifestación de algún tipo de mosaico o variegación. Excepcionalmente, algunas plantas muestran diversos grados de clorosis foliar. La producción de vainas es nula o muy reducida, pero las pocas que hay no siempre presentan deformación. En la variedad Sacapobres algunas vainas presentan textura coriácea.

La enfermedad se encuentra principalmente en los cantones de Pérez Zeledón y Buenos Aires. El principal virus causante de la pérdida de rendimiento en las variedades de frijol afectadas por el amachamiento es el virus del moteado clorótico de cau-pí (CCMV). En las variedades criollas de frijol, como Sacapobres y Generalito, el virus del mosaico común contribuye a incrementar las pérdidas de rendimiento causadas por el CCMV (Morales *et al.* 1999). Se ha observado que la incidencia del amachamiento es mayor en lotes donde la rotación maíz-frijol y la labranza mínima son frecuentes, sistemas de cultivo que favorecen el desarrollo de altas poblaciones de crisomélidos, insectos citados como vectores del CCMV.

La estrategia de combate está dirigida hacia la reducción de las poblaciones de los vectores. El uso de insecticidas sistémicos y la sustitución de variedades susceptibles por otras, más resistentes, han reducido la incidencia de la enfermedad. Sin embargo, el impacto de estas medidas sobre la incidencia de amachamiento ha sido parcial, por lo que es necesario intensificar el trabajo sobre la etiología y la epidemiología de la enfermedad.

Las pudriciones radicales son comunes en las primeras cinco semanas del cultivo; más adelante, la planta logra desarrollar mecanismos para superar el ataque y consigue continuar con su desarrollo hasta la cosecha. En la RB abundan los suelos Ultisoles e Inceptisoles, de textura arcillosa o arcillo-limosa, que favorecen la retención de humedad y, consecuentemente, el ataque de *Fusarium* y *R. solani*. A pesar de su elevada incidencia, estos patógenos no llegan a causar pérdidas económicas de importancia, probablemente por factores genéticos presentes en las variedades criollas utilizadas, que reducen la severidad de las pudriciones.

La falsa mancha angular es una enfermedad causada por el nematodo *A. besseyi* (Salas y Vargas 1984), que por varios años se ha presentado en la RB, pero no se conocen informes de su presencia y efecto sobre la producción de frijol en Costa Rica. Es muy posible que su gran similitud con la mancha angular de origen fungoso haya inducido a un diagnóstico errado. En las hojas se observan lesiones necróticas, oscuras, de forma angular, especialmente en la parte inferior de la planta; las hojas son aguzadas hacia el pecíolo y, frecuentemente, presentan necrosis en esa área. Las lesiones de la falsa mancha angular se diferencian de la mancha angular fungosa por la ausencia de coremios en el envés de la hoja. En algunos campos, la incidencia es alta aunque la distribución geográfica de la enfermedad en la Región es bastante restringida: lo más frecuente es encontrar focos de la enfermedad.

El carbón del frijol es ocasional en la Región. Inicialmente, se presentó en lotes experimentales donde se evaluaron viveros internacionales, pero en los últimos años su ataque se ha extendido a las variedades comerciales, tanto mejoradas como criollas. En hojas primarias, causa clorosis y defoliación precoz. La bacteriosis común es la enfermedad menos frecuente en campos comerciales, por lo que no existen medidas específicas de combate.

## Enfermedades frecuentes en la Región Central

La Región Central (RC) está formada por las subregiones Oriental y Occidental. Algunos de los cantones más relevantes como productores de frijol son Acosta, Puriscal, San Ramón, Palmares, la zona de Los Santos y el cantón central de Alajuela. En el ciclo agrícola 2001-2002, esta zona aportó el 3,6% de la producción nacional (Salazar 2002). Por lo general, la siembra se realiza mediante el sistema a espeque o semi-mecanizado, aunque el sistema tapado aún se observa en Acosta y Puriscal, por la topografía quebrada de los terrenos dedicados al cultivo.

En la RC es donde más enfermedades del frijol se han encontrado, por las condiciones de clima tropical benigno imperantes en esta zona; sin embargo, no todas alcanzan niveles de importancia económica. Las enfermedades de mayor importancia económica son la mustia hilachosa, mancha angular y antracnosis; otras, de importancia secundaria por su incidencia y severidad, son la roya, la mancha de ascoquita (*Ascochyta bolthausen* Sacc.), la mancha gris (*Cercospora vanderysti* P. Henn), la mancha redonda (*Chaetoseptoria wellmanii* Stevenson), el mildiu veloso (*Phytophthora* spp.), la bacteriosis común y el moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary).

Las enfermedades primarias se encuentran distribuidas por toda la Región y su incidencia y severidad varían dependiendo de las condiciones climáticas de cada zona en particular. Por ejemplo, la mustia hilachosa es más severa en las tierras bajas y calientes del Valle Central, como Alajuela; la antracnosis se presenta en regiones de clima fresco, como las partes altas de Cartago y Heredia, en Mora, Puriscal, Acosta y la zona de Los Santos.

La distribución de la mancha angular es casi uniforme, y su severidad ha aumentado en los últimos años, como ha sucedido en otras regiones. Esta enfermedad fue considerada de tipo secundario, razón por la que no se tomó en cuenta en los programas de mejoramiento durante las evaluaciones para selección de germoplasma. Esta situación y los cambios severos en el clima regional han contribuido para que la población de *P. griseola* aumente y alcance el nivel de enfermedad primaria en estos momentos.

Las enfermedades de importancia secundaria se encuentran localizadas en zonas más restringidas, obedeciendo a las condiciones ambientales favorables al patógeno. La roya del frijol no ha llegado a convertirse

en un problema prioritario en Costa Rica, a pesar de ser una de las enfermedades más importantes en América Central y el Caribe, probablemente porque las condiciones ambientales no favorecen la reproducción del hongo. Se puede encontrar en todos los campos, pero en focos aislados, sin causar mayores inconvenientes al productor.

La mancha de ascoquita es común en condiciones húmedas y frescas como las de las zonas altas de Cartago (Tierra Blanca, Pacayas, Cervantes) y Alajuela (Frajanes), en altitudes mayores a los 1200 m. Presenta lesiones necróticas de forma irregular, de color café, con anillos concéntricos. En Cartago se observa atacando plantaciones de frijol tierno y vainica, mientras que en Frajanes la enfermedad es la más importante en viveros internacionales de adaptación y rendimiento, evaluados por el Programa de Mejoramiento.

La mancha gris es una enfermedad endémica en las condiciones de Barva de Heredia, con humedad elevada y temperaturas entre los 15 y los 22°C. Se presenta cíclicamente, afectando las variedades de frijol y vainica sembradas en esa zona. Se caracteriza por producir lesiones ligeramente angulares de color verde claro (2-5 mm de diámetro), que pueden unirse y cubrirse con una masa polvorienta de color gris. En el envés de la hoja se observa una masa densa de color gris más oscuro.

La mancha redonda es otra enfermedad endémica, con distribución geográfica muy localizada. Ataca con bastante severidad viveros internacionales que se evalúan en los campos experimentales de la Estación Fabio Baudrit, en la Garita de Alajuela, y en plantaciones comerciales en zonas intermedias de Heredia. Produce lesiones circulares que pueden mostrar una superficie gris con puntos oscuros (picnidios) en el centro, las cuales pueden estar rodeadas de un borde oscuro y un ligero halo clorótico. Los síntomas se concentran en la parte inferior de la planta y causa una severa defoliación. Las condiciones de alta humedad y temperaturas moderadas favorecen el desarrollo de la enfermedad.

El mildiu veloso es común en sitios con temperatura fresca y alta humedad. El patógeno ataca el tejido nuevo y destruye las vainas en formación. El micelio blanco y algodonoso de *Phytophthora* se puede observar sobre los tejidos infectados. Es una enfermedad frecuente en las condiciones de Cartago, donde ataca vainica, y en Puriscal y partes intermedias de Heredia, donde ataca diferentes variedades de frijol y vainica.

El moho blanco se presenta en la zona de Cartago, en terrenos intensamente utilizados para la siembra de hortalizas. *Sclerotinia* es un hongo que ataca una amplia gama de hospedantes y tiene una alta capacidad de supervivencia en el suelo. Por eso, la infección en frijol se debe a inóculo residual de cultivos anteriores.

### Enfermedades en otras Regiones

Como se mencionó al inicio, en las Regiones Huetar Norte, Brunca y Central se concentra la mayor producción de frijol, y por ende se encuentra la mayor diversidad de enfermedades. Dada la reducida área de siembra en las otras Regiones, no se cuenta con registros sobre la presencia de enfermedades diferentes a las citadas anteriormente, ni se han observado epifitias de algún patógeno que afecte significativamente el rendimiento.

### Literatura citada

- Araya, CM; Cárdenas, C. 1999. Variabilidad patogénica y fuentes de resistencia a poblaciones de *Colletotrichum lindemuthianum* en Costa Rica. In Resúmenes XXXIX Reunión Anual. APS-CD. Puerto Rico. p. 72.
- Araya, CM; Cárdenas, C; Palacios, N; Arauz, W; Doohan, F. 2001. Pathogenic and molecular diversity of *Colletotrichum lindemuthianum* in the domestication centers of common bean. *Phytopathology* 91:S3.
- Araya, CM; Orozco, S. 2002. Potenciales fuentes de resistencia a las principales enfermedades de frijol para uso en América Central. In Resúmenes LXVIII Reunión Anual PCCMCA. República Dominicana. p. 24.
- Araya, R; González, W. 1992. La historia y futuro del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) tapado en Costa Rica. *Boletín Técnico Estación Experimental Fabio Baudrit* 25(2):107-103.
- Carrillo, O. 2000. Certificación de semilla de frijol. In PITTA frijol. Memorias IV Taller Anual de Resultados de Investigación y Transferencia de Tecnología. Costa Rica. p. 31-33.
- Carrillo, O. 1999. Programa de certificación de semilla de frijol. In PITTA frijol. Memorias III Taller Anual de Resultados de Investigación y Transferencia de Tecnología. Costa Rica. p. 19-23.
- Hernández, JC; Araya, R; González, W. 1999. Diagnóstico de la actividad productiva del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en la Región Brunca de Costa Rica: cosecha 1995 - 1996. *Agronomía Mesoamericana* 10(2):75-84.
- Herrera, W. 1985. Clima de Costa Rica; vegetación y clima de Costa Rica. Costa Rica, UNED. v. 2. 118 p.
- Holdridge, LR. 1978. Ecología basada en zonas de vida. Costa Rica, IICA 216 p. (Serie Libros y Materiales Educativos no. 34).
- Ledezma, E. 2000. Situación actual del cultivo del frijol: Región Huetar Norte. In PITTA Frijol. Memorias IV Taller Anual de Resultados de Investigación y Transferencia de Tecnología. Costa Rica, p. 15-21.
- MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería, CR). 1991. Aspectos técnicos sobre cuarenta y cinco cultivos agrícolas de Costa Rica. San José, Costa Rica. p. 261-273.
- Michaels, TE. 1991. The Plant Bean. St. Paul, Minnesota, APS Press. p. 1-4.
- Mora, F; Abdelnour, A; Herrera, F; Salazar, JJ. 1999. El Consorcio Cooperativo de Comercialización R.L. Costa Rica: frijol. *Agronomía Mesoamericana* 10(1):91-98.
- Morales, FJ; Araya, CM; Hernández, JC; Arroyave, JA; Cuervo, M; Velasco, AC; Castaño, M. 1999. Etiología del Amachamiento del frijol común en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas* 52:42-48.
- Pastor-Corrales, MA; Tu, JC. 1994. Antracnosis. In Problemas de Producción de Frijol en los Trópicos. Colombia, CIAT. p. 87-119.
- Rodríguez, L; Dumani, M. 2000. Campaña educativa con respecto al consumo de frijoles. In PITTA Frijol. Memorias IV Taller Anual de Resultados de Investigación y Transferencia de Tecnología. Costa Rica. p. 31-45.
- Rojas, LA; Chávez, G. 2002. Efecto de la labranza mínima y la convencional en frijol (*Phaseolus vulgaris*) en la Región Huetar Norte de Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana* 13:105-110.
- Rosas, JC; Hernández, JC; Araya, R. 2003. Registration of "Bribri" Small Red Bean (Race Mesoamerica). *Crop Science* 43:430-431.
- Salas, LA; Vargas, E. 1984. El nematodo foliar *Aphelenchoides besseyi* Christie (NEMATODA: Aphelenchoididae) como causante de la falsa mancha angular del frijol en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 8:65-68.
- Salazar, JJ. 2000. La actividad de frijol en Costa Rica en el año 2000. In PITTA Frijol. Memorias IV Taller Anual de Resultados de Investigación y Transferencia de Tecnología. Costa Rica. p. 7-13.
- Salazar, JJ. 2002. La actividad de frijol en Costa Rica en el ciclo 2001-2002. In PITTA Frijol. Memorias VI Taller Anual de Resultados de Investigación y Transferencia de Tecnología. Costa Rica. p. 7-15.
- Schoonhoven, A; Voysest, O. 1994. El frijol común en América Latina y sus limitaciones. In Pastor-Corrales, MA; Schwartz, HF. eds. Problemas de producción del frijol en los trópicos. 2 ed. Colombia. CIAT p. 39-66.

## Evaluación de extractos de meliáceas para el control de *Heterotermes tenuis*

Enrique Castiglioni<sup>1</sup>  
José Djair Vendramim<sup>2</sup>

**RESUMEN.** Se estudió en el laboratorio la bioactividad de extractos de meliáceas para *Heterotermes tenuis*. Se evaluó el efecto de extractos acuosos de diversas estructuras de *Melia azedarach*, *Trichilia pallida* y *Azadirachata indica* (nim) (1 y 5% p/v), así como el aceite de nim (1 y 2% v/v) y la formulación comercial Nimkol<sup>®</sup> de hojas de nim (0,5 y 1% i.a.), en la supervivencia de las termitas. Asimismo, se evaluó la transmisión del Nimkol<sup>®</sup> entre diferentes proporciones de individuos tratados y no tratados. El Nimkol<sup>®</sup> causó mortalidad significativa de *H. tenuis* a partir del tercer día de alimentación (1% i.a.). No se determinó actividad tóxica significativa para los demás extractos evaluados. No hubo evidencias de transmisión de ingredientes activos desde los insectos tratados con Nimkol<sup>®</sup> hacia otros individuos.

**Palabras clave:** *Azadirachata indica*, *Melia azedarach*, nim, Nimkol<sup>®</sup>, termitas, *Trichilia pallida*.

**ABSTRACT.** Evaluation of meliaceae extracts in the control of *Heterotermes tenuis*. The biological activity of extracts of Meliaceae in relation with *Heterotermes tenuis* was studied in the laboratory. The effect of aqueous extracts from various structures of *Melia azedarach*, *Trichilia pallida* and *Azadirachata indica* (neem) (1 and 5% w/v), neem oil (1 and 2% v/v) and the commercial formula Nimkol<sup>®</sup>, obtained from neem leaves (0.5 and 1% a.i.), were measured for the survivability of termites. The transmission of Nimkol<sup>®</sup> between different proportions of treated and untreated individuals was also evaluated. Nimkol<sup>®</sup> caused a significant mortality of *H. tenuis* after the third day of feeding (1% a.i.). No significant toxic activity was determined for the other extracts. There was no evidence of transmission of active ingredients from insects treated with Nimkol<sup>®</sup> to other individuals.

**Key words:** *Azadirachata indica*, plant extracts, *Melia azedarach*, neem, Nimkol<sup>®</sup>, termites, *Trichilia pallida*.

### Introducción

La termita subterránea *Heterotermes tenuis* Hagen (Isoptera: Rhinotermitidae) es una de las plagas más importantes de la caña de azúcar en el Brasil. De acuerdo con Novaretti (1985), los ataques producidos en la época de plantío, en el período de maduración y después del corte, pueden motivar pérdidas en la producción de hasta 10 t·ha<sup>-1</sup>·año<sup>-1</sup>. El control de las termitas subterráneas es costoso y poco eficiente, debido a la dificultad para localizar las colonias difusas que estos insectos habitan.

Tras la Resolución N° 329 del Ministerio de Agricultura, que prohibió el uso y la distribución de productos organoclorados destinados a la actividad agropecuaria en el Brasil, se eliminó una de las alternati-

vas más eficientes de control de termitas subterráneas, debido al largo efecto residual de esos productos. En la búsqueda de nuevas alternativas, se procuran productos más específicos y menos nocivos para el ambiente.

Los productos con actividad insecticida derivados de vegetales son considerados como apropiados para su uso en el manejo integrado de plagas, debido a su menor agresión al ambiente y, como en el caso del nim, por la selectividad para una serie de organismos benéficos (Schmutterer 1997). Sin embargo, esas características favorables son parcialmente debidas a la rápida descomposición de esos productos en condiciones de campo.

<sup>1</sup> Facultad de Agronomía, Universidad de la República Oriental del Uruguay. C.P. 60000, Ruta 3, km 363, Paysandú, Uruguay. bbcast@fagro.edu.uy

<sup>2</sup> Departamento de Entomología, Fitopatología e Zoología Agrícola. ESALQ/USP, C.P. 9, CEP: 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil. jdvendra@esalq.usp.br



Los extractos vegetales, en general, no presentan efecto tóxico instantáneo (*knockdown*), lo cual los hace poco atractivos para los agricultores acostumbrados al uso de insecticidas sintéticos (Schmutterer 1997). Sin embargo, esa misma característica es favorable para el empleo de tales productos en trampas atractivas para el control de termitas, ya que el objetivo consiste en provocar una baja mortalidad en el local de alimentación y actuar sobre la mayor parte de los individuos dentro de la colonia.

La eficacia de los productos utilizados en las trampas puede aumentar si el intercambio de fluidos corporales, que se produce normalmente en las tareas de alimentación y limpieza mutua entre individuos, determina el pasaje de la sustancia tóxica entre ellos. El contacto frecuente entre termitas de una misma comunidad posibilita el pasaje de los agentes estresantes de un individuo a otro. Tal efecto ya fue comprobado para hongos entomopatógenos (Kramm *et al.* 1982, Gusmão *et al.* 1999), debido probablemente a los hábitos de limpieza mutua del cuerpo y de intercambio de alimentos. Las esporas de los hongos pueden pasar de individuos contaminados a sanos, aumentando la eficacia de la contaminación de los integrantes de la colonia. El intercambio de fluidos corporales puede determinar también el pasaje de sustancias tóxicas entre individuos, como demostraron Logan y Abood (1990) para hidrametilnon en *Reticulitermes santonensis* y *Microtermes lapidus*.

En este trabajo, se evaluaron extractos de meliáceas en relación con su toxicidad para *H. tenuis*, y la transmisión entre individuos de esta especie de la formulación Nimkol-L®, de hojas de nim.

### Materiales y métodos

Los experimentos de evaluación de la toxicidad de extractos y derivados de meliáceas fueron realizados en el Laboratorio de Plantas Insecticidas del Departamento de Entomología, Fitopatología e Zoología Agrícola, ESALQ/USP, Piracicaba, SP, Brasil.

Los insectos utilizados en los experimentos (obreras y soldados) fueron obtenidos de un campo de producción de caña de azúcar, a aproximadamente 20 km SO de Piracicaba, con trampas de cartón del tipo Termitrap®, desarrolladas por Almeida y Alves (1995).

El material vegetal, constituido por hojas, ramas y frutos de *Trichilia pallida* Swartz, *Melia azedarach* L. y *Azadirachta indica* A. Juss (nim), fue colectado del Parque de la ESALQ. Para la preparación de los ma-

teriales vegetales en polvo, las hojas, ramas y frutos fueron secados por separado en un horno con circulación de aire (a 45°C, por 48-72 horas) y triturados con molino de cuchillas hasta la obtención de un polvo fino. Los polvos fueron almacenados en frascos herméticamente cerrados y debidamente identificados, hasta la preparación de los extractos. Se evaluaron también un aceite de extracto de semillas de nim, proveniente de Trinidad y Tobago, y una formulación comercial de extracto acuoso de hojas de nim (Nimkol-F® en los dos primeros experimentos y Nimkol-L® en los restantes).

Los extractos, en las concentraciones de 1 y 5% (p/v), fueron preparados adicionando 10 y 50 g de polvo seco, respectivamente, a un litro de agua destilada, y agitando manualmente hasta la homogeneización completa. Las suspensiones así preparadas fueron mantenidas en reposo durante 24 horas y después filtradas para eliminar las partículas sólidas. Las concentraciones de aceite de nim y de Nimkol® fueron preparadas en la base v/v. El aceite de nim fue obtenido de semillas con azadiractina como principal compuesto activo, en concentración desconocida. El Nimkol®, formulado por la empresa Quinabra (Brasil) con una concentración de 10% (p/v) de hojas de nim, contiene una serie de limonoides de acción insecticida, en concentración desconocida. De manera paralela, también fueron obtenidos extractos preparados en agua caliente (infusiones) de las hojas de nim y los frutos de las tres especies. Para ello, las proporciones de polvo y agua anteriormente descritas se calentaron hasta la ebullición, momento a partir del cual se retiraron de la fuente de calor y se dejaron enfriar.

### Experimento 1

La aplicación de los extractos y del agua destilada (testigo) fue realizada por inmersión de discos de cartón de aproximadamente 5 cm de diámetro. Una vez secados al aire, un conjunto de dos discos, constituyendo una parcela, fue dispuesto en una caja plástica de 6 cm de diámetro, con orificios para el intercambio gaseoso en la tapa superior. En cada parcela fueron acondicionadas 24 obreras y uno o dos soldados de *H. tenuis*, con tres repeticiones para cada tratamiento (productos y testigo). Después de la aplicación, las cajas fueron colocadas en bandejas metálicas, cubiertas con plástico negro y mantenidas en sala climatizada (entre 22±1°C y 26±2°C, HR 65±15% a 70±10%, dependiendo del ensayo, y escotofase continua, lograda con el plástico negro). Para garantizar condiciones

adecuadas de humedad en el interior de las cajas, se añadieron diariamente de tres a cinco gotas de agua destilada en un trozo de algodón. Todos los días se evaluó la supervivencia de los insectos, se eliminaron los insectos muertos y se anotaron las observaciones sobre el comportamiento (alimentación, movimiento) de los sobrevivientes.

En función de la disponibilidad de insectos colectados del campo, se llevaron a cabo cuatro pruebas diferidas en el tiempo, evaluando los diferentes productos. En la primera prueba se utilizaron dos testigos: con alimento (insectos alimentados con discos de cartón inmersos en agua destilada) y sin alimento (solamente agua en un trozo de algodón). El objetivo fue descartar la ausencia de alimento como factor de mortalidad, eliminando la posibilidad de que algún producto causara la mortalidad por repelencia y no por toxicidad. Esta prueba se mantuvo durante 30 días, pero la evaluación se realizó a los 15 días, ya que tras ese momento, la mortalidad en el testigo resultó elevada. En las demás pruebas, el período de evaluación fue de seis o siete días, lo cual se justifica por el estado del tratamiento testigo, variable en función del vigor, en el laboratorio, de los insectos provenientes de las distintas recolectas.

El diseño experimental fue de parcelas al azar. Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza y las medias comparadas por la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

### Experimento 2

Para evaluar la existencia de transferencia de Nimkol-L<sup>®</sup> entre las termitas, proporciones variables (0:100, 10:90, 25:75, 50:50, 75:25, 100:0) de insectos alimentados durante dos días con el producto (tratados) y sin el producto (sin tratar), fueron colocadas posteriormente en cajas de plástico con discos de cartón no tratados, con tres repeticiones para cada proporción. Durante los dos días iniciales de alimentación, los insectos tratados fueron alimentados con discos de cartón previamente inmersos en Nimkol-L<sup>®</sup> (0,5% i.a.), antes de mezclarlos en un mismo recipiente con los insectos sin tratar, alimentados durante esos dos días con discos de cartón inmersos en agua destilada. Se establecieron dos grupos en la proporción 100:0: uno de ellos recibió el mismo tratamiento que las demás proporciones (dos días de alimentación en los discos inmersos en el producto y luego pasados a discos inmersos en agua destilada), en tanto que el otro fue alimentado en discos de cartón tratado con el producto durante

todo el período de evaluación. Las cajas fueron mantenidas en una sala climatizada ( $26 \pm 3^\circ\text{C}$ ; HR  $65 \pm 15\%$ ) y cubiertas con plástico negro para provocar una escotofase continua. La humedad en el interior de las cajas fue mantenida como se describió en el ítem anterior.

La mortalidad fue registrada durante siete días, incluyendo los dos días de alimentación inicial en los discos tratados (cinco días después de mezclar los insectos tratados con los no tratados). Transcurrido ese período, se comparó la mortalidad real observada con la teórica esperada, en función de la proporción de insectos alimentados con el producto, en el caso de que hubiera pasaje del ingrediente activo de unos individuos a otros, como consecuencia del normal intercambio de alimento entre estos insectos.

Los valores observados de mortalidad fueron comparados con los esperados por prueba de  $\chi^2$ , para un grado de libertad ( $P \leq 0,05$ ).

### Resultados y discusión

#### Efecto tóxico de derivados de meliáceas sobre *H. tenuis*

Entre los derivados de meliáceas probados, se constató la acción tóxica del producto comercial Nimkol<sup>®</sup> sobre *H. tenuis* (en las dos formulaciones empleadas), en concentraciones de 0,5 a 1% de ingrediente activo. La supervivencia de las termitas alimentadas con discos de cartón impregnados con los demás derivados, en concentraciones de 1, 2 y 5%, no se diferenció del testigo al final del período de evaluación de cada experimento (Cuadro 1).

En algunas de las pruebas se observó que el aceite de nim y los extractos de frutos de *T. pallida* y de nim afectaron la morfología o el comportamiento de las termitas. En dichos tratamientos, se observó una menor actividad por parte de los insectos, los cuales tenían, además, el abdomen más corto y aplanado (posibles síntomas de estrés). Esos síntomas fueron semejantes a los observados en los insectos tratados con Nimkol-L<sup>®</sup> antes de morir y a los descritos por Bao y Yendol (1971) para termitas inoculadas con *Beauveria bassiana*. Sin embargo, con aceite de nim y los extractos de frutos de *T. pallida* y nim, a pesar de esos síntomas, la supervivencia no fue afectada durante el período de evaluación.

Las deformaciones de los abdómenes y los cambios de comportamiento, como la menor movilidad, pueden haberse debido a la falta de alimentación, pero estos síntomas no fueron observados en el testigo sin alimento.

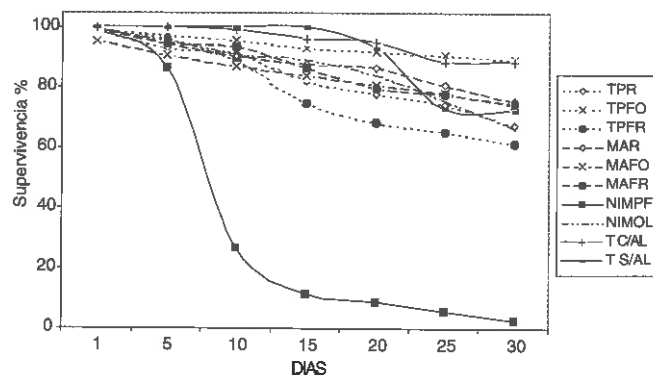
**Cuadro 1.** Supervivencia (media  $\pm$  s<sup>1</sup>) de *Heterotermes tenuis* alimentados con extractos acuosos, infusiones y derivados de meliáceas.

Producto	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Prueba 4
	15 dpi <sup>2</sup>	6 dpi	6 dpi	7 dpi
Testigo s/alimento	100,0 $\pm$ 0,00 a	-	-	-
Testigo c/alimento	96,2 $\pm$ 1,72 a	85,9 $\pm$ 1,81 a	98,1 $\pm$ 1,11 a	91,2 $\pm$ 3,95 a
<i>T. pallida</i> – hoja 5%	93,3 $\pm$ 1,76 a	78,1 $\pm$ 4,87 a	-	-
<i>T. pallida</i> – rama 5%	82,1 $\pm$ 5,34 a	89,6 $\pm$ 3,77 a	-	-
<i>T. pallida</i> – fruto 5%	74,8 $\pm$ 13,84 a	-	-	89,4 $\pm$ 3,28 a
<i>T. pallida</i> – fruto inf. <sup>3</sup> 5%	-	-	-	89,4 $\pm$ 2,88 a
<i>M. azedarach</i> – hoja 5%	84,0 $\pm$ 2,81 a	87,4 $\pm$ 3,62 a	-	-
<i>M. azedarach</i> – rama 5%	87,9 $\pm$ 2,30 a	91,1 $\pm$ 2,22 a	-	-
<i>M. azedarach</i> – fruto 5%	86,6 $\pm$ 6,55 a	86,8 $\pm$ 3,42 a	-	88,5 $\pm$ 3,60 a
<i>M. azedarach</i> – fruto inf. 5%	-	-	-	91,3 $\pm$ 0,97 a
Aceite de nim 1%	89,1 $\pm$ 2,68 a	-	-	-
Aceite de nim 2%	-	-	-	-
Nim – hoja 1%	-	-	92,3 $\pm$ 3,51 a	-
Nim – hoja 5%	-	-	89,4 $\pm$ 4,26 a	-
Nim – hoja inf. 5%	-	-	-	88,2 $\pm$ 1,59 a
Nim – fruto 1%	-	-	94,3 $\pm$ 2,47 a	-
Nim – fruto 5%	-	89,7 $\pm$ 3,92 a	95,2 $\pm$ 1,84 a	-
Nim – fruto 5%	-	-	-	90,5 $\pm$ 1,95 a
Nimkol-F <sup>®</sup> 1%	-	2,2 $\pm$ 2,01 b	-	-
Nimkol-L <sup>®</sup> 1%	-	-	6,7 $\pm$ 4,54 b	0,0 $\pm$ 0,00 b
Nimkol-F <sup>®</sup> 0,5%	11,4 $\pm$ 4,10 b	-	-	-
C.V. %	17,19	9,68	8,15	6,96
s	26,81	15,14	14,86	12,75

<sup>1</sup> media  $\pm$  s = media  $\pm$  desvío estándar de la media    <sup>2</sup> d.p.i. = días post-instalación    <sup>3</sup> inf. = infusión  
Resultados seguidos de la misma letra, en las columnas, no difieren estadísticamente por la prueba de Tukey (P  $\leq$  0,05)

Los valores de supervivencia final fueron analizados 15 días después de la instalación, cuando se constató que la mortalidad se mantenía baja en los testigos (Fig. 1). En los ensayos restantes, las evaluaciones fueron realizadas 6 o 7 días después de la instalación del experimento. Ese período fue suficiente para la manifestación de la acción tóxica del Nimkol<sup>®</sup> en las concentraciones probadas, y la mortalidad en el testigo no superó el 15%.

En el primer ensayo se observó, entre 15 y 20 días después de la instalación, un aumento de la mortalidad de *H. tenuis* en los testigos, principalmente en el testigo sin alimentación. El Nimkol-F<sup>®</sup> (0,5% i.a.) provocó una mortalidad significativamente mayor que el resto de los tratamientos, siendo que el efecto comenzó a evidenciarse a partir del 5° día de evaluación. A partir del 15° día, también se observó una tendencia (sin significación estadística) a la toxicidad del extracto de frutos de *T. pallida* en la supervivencia de las termitas.

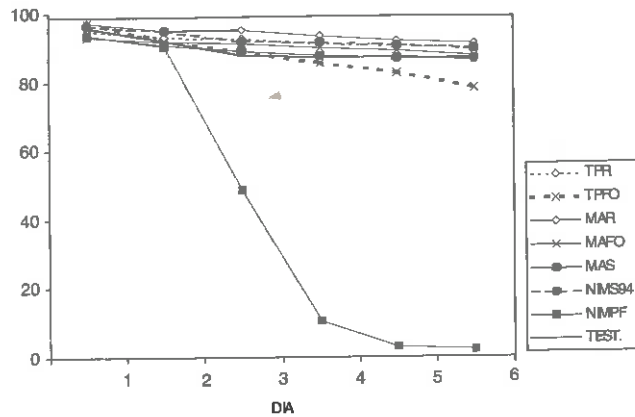


T S/AL=testigo sin alimento    MAR=*Melia azedarach* ramas 5%  
T C/AL=testigo con alimento    MAFO=*M. azedarach* hojas 5%  
TPR=*Trichilia pallida* ramas 5%    MAFR=*M. azedarach* frutos 5%  
TPFO=*T. pallida* hojas 5%    NIMP=Nimkol-F<sup>®</sup> 0,5% i.a.  
TPFR=*T. pallida* frutos 5%    NIMOL = Aceite de nim 1%

**Figura 1.** Supervivencia de *Heterotermes tenuis* alimentado con discos de cartón con extractos acuosos y derivados de meliáceas.

En las pruebas subsiguientes, se confirmó el efecto tóxico del Nimkol® sobre *H. tenuis*, pero no se constató efecto tóxico del aceite de nim o de los extractos acuosos, preparados en frío o en caliente (Fig. 2 y 3).

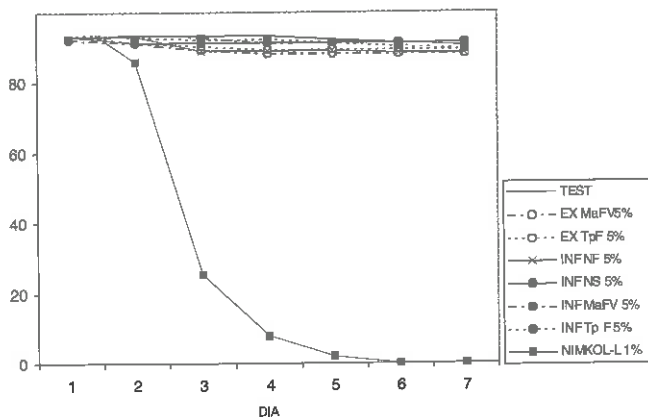
El efecto de las infusiones de hojas y frutos de nim fue semejante al observado con los extractos preparados a temperatura ambiente (Fig. 3).



TEST = testigo  
TPR = *Trichilia pallida* ramas 5%  
TPFO = *T. pallida* hojas 5%  
MAR = *Melia azedarach* ramas 5%

MAFO = *M. azedarach* hojas 5%  
MAS = *M. azedarach* frutos 5%  
NIMPF = Nimkol-F® 1% i.a.  
NIMS94 = Frutos de nim 1%

Figura 2. Supervivencia de *Heterotermes tenuis* alimentado con discos de cartón con extractos acuosos y derivados de meliáceas.



TEST=testigo  
EX MaFV= extracto de frutos verdes de *Melia azedarach*  
EX Tp5= extracto de frutos de *Trichilia pallida*  
INF NF= infusión de hojas de nim

INF NS= infusión de frutos de nim  
INF MaFV= infusión de frutos verdes de *M. azedarach*  
INF Tp= infusión de frutos de *T. pallida*

Figura 3. Supervivencia de *Heterotermes tenuis* alimentado con discos de cartón con extractos acuosos e infusiones de meliáceas y Nimkol-L®.

Ningún extracto o infusión provocó mortalidad significativa de *H. tenuis*. El Nimkol®, por su parte, confirmó valores de mortalidad próximos al 100% al final de aproximadamente una semana de alimentación de las termitas, para la concentración de 1% de i.a.

La falta de constatación de la acción tóxica de los extractos evaluados sobre *H. tenuis* fue, de cierta forma, inesperada, ya que los mismos son activos contra varias especies de insectos (Rodríguez y Vendramim 1997, Souza y Vendramim 2000, Brunherotto y Vendramim 2001). Es interesante observar, además, la discrepancia entre los resultados obtenidos con los extractos de hojas de nim y con el Nimkol®, el cual también es un extracto acuoso de hojas de nim, pero en formulación comercial.

El efecto tóxico de los extractos vegetales depende de la especie de artrópodo sobre la cual actúan. Ese efecto, además, varía para un mismo insecto, entre las diferentes partes de una especie vegetal o diferentes especies vegetales. Así, por ejemplo, el extracto de ramas de *T. pallida* es más eficiente que el extracto de hojas de esa especie, para *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Torrecillas y Vendramim 2001) y *Bemisia tabaci* (Souza y Vendramim 2000), ocurriendo lo contrario con *Tuta absoluta* (Thomazini et al. 2000).

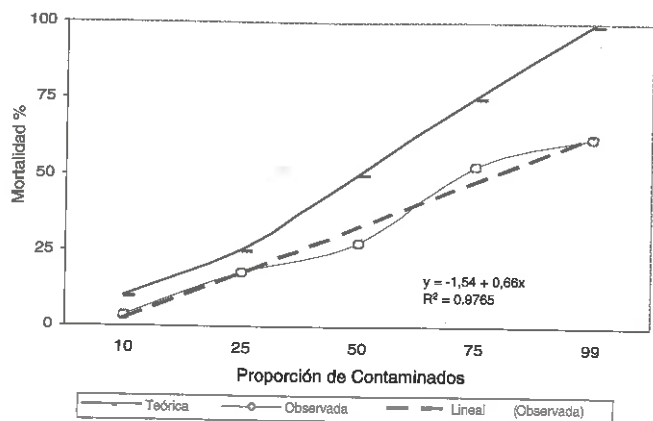
Dependiendo de su origen, el efecto diferenciado de los extractos de hojas de nim es común en los productos biológicos, ya que la concentración de sustancias activas varía en función de las condiciones ambientales y probablemente también por razones genéticas (Schmutterer 1990). Podría sugerirse que en los insecticidas botánicos— que al igual que los denominados biológicos también son naturales— la falta de padronización de las sustancias activas y la formulación afecten drásticamente el efecto tóxico de esos productos. La identificación de las sustancias activas, mínimas condiciones de padronización en la preparación y la repetición de ensayos con los insectos de interés son indispensables para la utilización práctica de extractos vegetales en el manejo de plagas.

Los resultados de Delate y Grace (1995) y Grace y Yates (1992) sugieren que la actividad tóxica de extractos de nim para *C. formosanus* no se debe a la azadiractina, que es la sustancia activa más reconocida y estudiada de esta especie, sino a otros componentes.

Los solventes utilizados en la preparación de los extractos constituyen otro factor de importancia en la explicación de la actividad tóxica de los mismos, como explican Adams et al. (1988) en su discusión sobre el efecto termicida de extractos de diversas especies de *Juniperus*.

### Transmisión de Nimkol-L® entre obreras de *H. tenuis*

En el experimento realizado con Nimkol-L® no fueron constatados indicios de la transmisión de las sustancias responsables de la toxicidad entre los individuos de *H. tenuis* (Fig. 4).



**Figura 4.** Mortalidad teórica esperada y real observada, al 7º día, según la proporción de insectos alimentados en discos tratados con Nimkol-L® 0,5% i.a. durante dos días y, posteriormente, alimentados solo con cartón y agua destilada.

En la hipótesis de ocurrencia de transmisión de los compuestos activos del Nimkol-L®, se debía esperar una mayor proporción de individuos muertos que aquella inicialmente contaminada por la alimentación con el producto. Los valores de mortalidad en todos los casos fueron inferiores a los teóricamente esperados de acuerdo con la proporción de contaminación.

La comprobación de la acción tóxica del Nimkol-L®, en la concentración utilizada, se visualiza con el tratamiento de 100% de individuos alimentados en todo el período de evaluación con discos impregnados con el producto, en el cual se alcanzó una mortalidad casi total (98%) en el 7º día de evaluación (Cuadro 2). Sin embargo, cuando el 100% de los insectos fueron alimentados con discos con el producto (durante los dos primeros días del ensayo) y pasados después a discos sin tratar, la mortalidad corregida observada en el 7º día fue de apenas el 62,2%. Los resultados indican que los dos días iniciales de alimentación con Nimkol-L® no fueron suficientes para que la totalidad de los individuos del tratamiento alcanzase la dosis letal o bien, que los insectos fueron capaces de librarse del agente tóxico antes de morir.

Con excepción del tratamiento con 25% de individuos inicialmente contaminados con Nimkol-L® (25/75) y el tratamiento con la totalidad de insectos

siempre alimentados con ese producto (100/0<sup>1</sup>), en los restantes tratamientos ocurrió mortalidad significativamente inferior a la mortalidad teórica esperada (prueba de  $\chi^2$ ), lo que sugiere que no hubo transferencia del tóxico entre individuos.

Se puede establecer que la acción del Nimkol-L® fue ineficaz, porque los valores de mortalidad observados (MOC) fueron menores que las proporciones iniciales de contaminación (MTE) en casi todos los tratamientos con apenas dos días de alimentación inicial con el producto. Sin embargo, el método y el tiempo de contacto inicial empleados con el producto parecen apropiados para representar lo que ocurre en condiciones naturales en el campo, donde los insectos se alimentan en las trampas y después vuelven a la colonia, donde deberían transmitir el agente tóxico para contaminar otros individuos. Los resultados sugieren que esto no ocurre en el caso de los ingredientes activos tóxicos del Nimkol-L® y *H. tenuis*.

**Cuadro 2.** Mortalidad observada (MOC) (corregida por Abbott 1925) y mortalidad teórica esperada (MTE), en el 7º día, para las diferentes proporciones de termitas alimentadas con discos tratados (P) con Nimkol-L® 0,5% i.a. a los dos días iniciales y no tratados (NP) con el producto.

Tratamiento	P/NP	MOC	MTE	$\chi^2$ 1
2	10/90	3,5	10	5,28 **
3	25/75	17,8	25	2,74 *
4	50/50	27,6	50	20,13 **
5	75/25	53,0	75	25,01 **
6	100/0	62,2	100	1334,52 **
7 <sup>2</sup>	100/0	97,8	100	1,38 ns

<sup>1</sup> Prueba  $\chi^2$  entre MOC y MTE, para 1 grado de libertad, valores de tabla de  $\chi^2(0,05; 1) = 3,48$ ;  $\chi^2(0,10; 1) = 2,71$ .

<sup>2</sup> Testigo 100% siempre alimentado con Nimkol-L® 0,5% i.a.

La hipótesis de desintoxicación no puede ser descartada ya que las termitas, a lo largo de su evolución, desarrollaron adaptaciones bioquímicas que las capacitan para desintoxicar los venenos de contacto que producen. Para los rinotermítidos, los estudios acerca de esos mecanismos han comprobado la eficacia de la desintoxicación para los venenos de origen co-específico, pero no para las secreciones de otras especies. No obstante, estos insectos están sobre presión evolutiva para desarrollar otros medios de desintoxicación, como por ejemplo medios que permitan una mayor conservación de nitrógeno, necesario para la síntesis de proteínas, que determinan que algunas especies presenten sorprendentes habilidades de desintoxicación, inéditas en el mundo de los insectos (Costa-Leonardo 1989).

Nimkol-L<sup>®</sup> es tóxico para *H. tenuis*. Los extractos acuosos y las infusiones de nim, *M. azedarach* y *T. pallida*, así como el aceite de nim, no afectan significativamente la supervivencia de la especie.

No hay evidencias de transmisión de los ingredientes activos de Nimkol-L<sup>®</sup> entre individuos.

### Literatura citada

- Abbott, WS. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18:265-267.
- Adams, RP; Mcdaniel, CA; Carter, FL. 1988. Termiticidal activities in the heartwood, bark/sapwood and leaves of *Juniperus* species from the United States. *Biochemical Systematics and Ecology* 16:453-456.
- Almeida, JEM; Alves, SB. 1995. Seleção de armadilhas para captura de *Heterotermes tenuis* (Hagen). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 24:619-624.
- Bao, L; Yendol, WG. 1971. Infection of the Eastern Subterranean Termite *Reticulitermes flavipes* (Kollar) with the fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. *Entomophaga* 16:343-352.
- Brunherotto, R; Vendramim, JD. 2001. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae) em tomateiro. *Neotropical Entomology* 30:455-459.
- Costa-Leonardo, AM. 1989. A guerra química dos cupins. *Ciência Hoje* 10:26-34.
- Delate, KM; Grace, JK. 1995. Susceptibility of neem to attack by the Formosan subterranean termite, *Coptotermes formosanus* Shir. (Isopt., Rhinotermitidae). *Journal of Applied Entomology* 119:93-95.
- Grace, JK; Yates, JR. 1992. Behavioral effects of a neem insecticide on *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Tropical Pest Management* 38:176-180.
- Gusmão, LG; Castiglioni, E; Alves, SB. 1999. Diseminación de *Beauveria bassiana* entre *Heterotermes tenuis*. *Manejo Integrado de Plagas* 52:89-92.
- Kramm, KR; West, DF; Rockenbach, PG. 1982. Termite pathogens: transfer of the entomopathogen *Metarhizium anisopliae* between *Reticulitermes* sp. termites. *Journal of Invertebrate Pathology* 40:1-6.
- Logan, JWM; Abood, F. 1990. Laboratory trials on the toxicity of hydramethylnon (Amdro; AC 217,300) to *Reticulitermes flavipes* Feytaud (Isoptera:Rhinotermitidae) and *Microtermes lepidus* Sjöstedt (Isoptera:Termitidae). *Bulletin of Entomological Research* 80:19-26.
- Novaretti, WRT. 1985. Controle de cupins em cana-de-açúcar através do emprego de inseticidas de solo. *Boletim Técnico Copersucar* 33:39-44.
- Rodríguez, C; Vendramim, JD. 1997. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *Revista de Agricultura* 72:305-318.
- Schmutterer, H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology* 35:271-297.
- Schmutterer, H. 1997. Side-effects of neem (*Azadirachta indica*) products on insect pathogens and natural enemies of spider mites and insects. *Journal of Applied Entomology* 121:121-128.
- Souza, AP; Vendramim, JD. 2000. Efeito de extratos aquosos de meliáceas sobre *Bemisia tabaci* biótipo B em tomateiro. *Bragantia* 59:173-179.
- Thomazini, APBW; Vendramim, JD; Lopes, MTR. 2000. Extratos aquosos de *Trichilia pallida* e a traça-do-tomateiro. *Scientia Agricola* 57:13-17.
- Torrecillas, SM; Vendramim, JD. 2001. Extrato aquoso de ramos de *Trichilia pallida* e o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*. *Scientia Agricola* 58:27-31.

# Combate de *Liriomyza* spp. en crisantemo mediante el uso de una aspiradora

Roberto Antonio Huerta P.<sup>1</sup>  
J. Refugio Lomeli Flores<sup>1</sup>  
Javier Trujillo A.<sup>1</sup>  
Alberto Hernández C.<sup>2</sup>

**RESUMEN.** Las condiciones fitosanitarias del cultivo del crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) determinan el precio de la flor, tanto por su apariencia como por los costos de producción. El crisantemo en la región de Texcoco, México, es afectado por varias plagas, entre ellas el minador de la hoja *Liriomyza* spp., cuyos daños son las marcas de alimentación causadas por adultos y las minas causadas por larvas. En la región de Texcoco, su combate se realiza utilizando plaguicidas sintéticos y no se consideran otros métodos, por lo que en este trabajo se probó el uso de la aspiradora entomológica. Los resultados del estudio indican que los daños por marcas de alimentación fueron 23,72% ( $\alpha=0,05$ ) menores con el uso de la aspiradora que con el de cirmazina, y los daños por minas fueron 72,72% ( $\alpha=0,05$ ) menores con la aspiradora que con el insecticida. Económicamente, el costo de las aplicaciones de insecticidas con respecto a las aspiraciones fue alrededor de 13% mayor. Además, al combatir mecánicamente los insectos, se obtienen beneficios ecológicos y sobre la salud humana.

**Palabras clave:** Aspiradora entomológica, control biológico, minador de la hoja, *Liriomyza*, plagas del crisantemo.

**ABSTRACT. Controlling the leafminer *Liriomyza* spp. in chrysanthemum with a suction machine.** The sanitary conditions under which chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) is grown play an important role in determining its price, because of the resulting appearance and production costs of the plant. In Texcoco, Mexico, chrysanthemum is damaged by many kinds of insects and mites, and one of the most important ones is the leafminer *Liriomyza* spp. Leafminer damages are feeding marks caused by adults and mines caused by larvae. Chemical control has been the only method used in its management, but nowadays sprays are no longer effective against leafminers, and farmers are looking for new technologies to control the pest. The objective of this study was to evaluate the relative efficacy of a suction machine in the control of *Liriomyza* spp., compared to a conventional pesticide regimen. Results indicated that feeding damages were 23.72% ( $\alpha=0.05$ ) fewer than with the use of cyromazine, and damage from mines was 72.72% ( $\alpha=0.05$ ) less than with the same insecticide. Economically, the cost of insecticide applications was 13% higher than the suction. Moreover, the suction has ecological and health benefits.

**Key words:** Entomological suction machine, biological control, leafminer, *Liriomyza*, chrysanthemum pests.

## Introducción

Durante los últimos años, el combate de plagas en los cultivos florícolas se ha basado en el uso de plaguicidas sintéticos. En la zona florícola de Texcoco se realizan hasta 25 aplicaciones en el cultivo de crisantemo durante un ciclo de 12 semanas en los períodos del año de máxima incidencia de plagas, lo cual ha generado consecuencias negativas, como: a) desarrollo de

resistencia en la mayoría de las plagas; b) incremento de la importancia de especies que antes no eran un problema, debido a la eliminación de sus enemigos naturales; c) reacciones de fitotoxicidad en plantas tratadas; d) contaminación del ambiente y mantos acuíferos; e) aumento en los costos de producción; y f) intoxicación de los trabajadores del campo (Lomeli *et al.* 1999).

<sup>1</sup> Instituto de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados. Km 35.5 Carretera México- Texcoco, Montecillo, Texcoco, C.P. 56230, México. huerta01@colpos.colpos.mx  
<sup>2</sup> ICAMEX. Dirección General. Conjunto Sedagro s/n. Metepec, C.P. 52140. México. alheca@prodigy.net.mx

Lo anterior ha llevado a los floricultores a buscar nuevas alternativas para el control de plagas, que sean ecológica y económicamente más aceptables.

El cultivo de crisantemo propicia la proliferación de plagas, ya que proporciona recursos concentrados y condiciones uniformes favorables para los organismos fitófagos. Además, la simplicidad biótica del cultivo no favorece los depredadores y parasitoides, ya que no les ofrece refugio ni condiciones para su reproducción. Como resultado, hay un desbalance y las plagas alcanzan niveles económicos indeseados (Altieri 1992).

En los estudios realizados en las zonas florícolas del estado de México (Huerta 1997, 2000, Alcántara 1998, Lomeli *et al.* 1999), se ha determinado que las principales plagas del crisantemo son ácaros de la familia Tetranychidae, principalmente *Tetranychus urticae* Koch; trips de las especies *Frankliniella occidentalis* (Pergande), *F. helianthi* Multon, *F. brunnescens* Priesner y *F.* grupo *vespa*; gusano soldado *Spodoptera exigua* (Hübner); mosquita blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood); áfidos *Aphis gossypii* Glover y *Macrosiphum rosae* (L.); y los minadores *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) y *Liriomyza sativae* (Blanchard).

En los últimos años, floricultores de la región de Texcoco, Tenancingo y Villa Guerrero, tres de las más importantes regiones productoras de crisantemo en México, han señalado que hoy en día los minadores (*Liriomyza* spp.) se han constituido en uno de los problemas más serios de la floricultura de cada región, ya que han presentado resistencia a casi todos los plaguicidas químicos del mercado, incluyendo productos tan específicos como la ciromazina<sup>3</sup>, por lo que urge encontrar alternativas para el manejo de la plaga.

Los daños causados al crisantemo por los minadores de la hoja no se manifiestan directamente en la flor, se concentran en las hojas. Hay dos tipos de daños: a) marcas de alimentación causadas por los adultos, que consisten en punteados blanquecinos sobre la superficie de la hoja, y b) minas causadas por las larvas, las cuales son galerías construidas por estas. Ambos tipos de daños, si bien no afectan la apariencia de la flor directamente, sí disminuyen la calidad del follaje, lo que ocasiona una baja considerable del precio de la flor en el mercado.

Dentro de las alternativas no químicas para el combate del minador de la hoja, se encuentran los métodos de control biológico, los físicos y los agronómicos, los cuales han sido poco estudiados y reconocidos

en México, pero que han demostrado su eficiencia en otras partes del mundo, como es el caso de la fresa en California, EUA, donde se ha utilizado la aspiradora para el combate de la chinche ligus *Lygus hesperus* (Knight), con buenos resultados (Pickel *et al.* 1995).

En 1959, un grupo de investigadores norteamericanos del estado de California, EUA, propuso el uso de una aspiradora con motor de gasolina para el muestreo de insectos en campos de alfalfa (Dietrick *et al.* 1959). A partir de ese momento, varios investigadores en diversas partes del mundo se dieron a la tarea de evaluar esta herramienta e incluso diseñar implementos que, adaptados a un tractor, permitieran manejar las plagas en campo abierto (Pickel *et al.* 1995); sin embargo, varios intentos por desarrollar aspiradoras portátiles, capaces de ser manejadas en ambientes florícolas, terminaron en la propuesta de una aspiradora muy pesada (aproximadamente 15 kg), lo cual hacía difícil su adopción por los floricultores. En la mayoría de los casos se han lanzado al mercado modelos cuya principal función es la del muestreo de insectos (Hendricks 1995).

El objetivo de este trabajo fue probar la efectividad biológica del aspirado mecánico de minadores de la hoja en crisantemo. La hipótesis de trabajo fue que el método de combate físico-mecánico del aspirado de plagas, además de ser económicamente viable, tiene la misma efectividad biológica que el método de combate químico de plagas.

## Materiales y métodos

La literatura sobre las plagas del crisantemo en la región de Texcoco reporta la presencia de minadores de la hoja del género *Liriomyza*, sin confirmar las especies involucradas, por lo que se decidió identificarlas como parte del conocimiento básico para su manejo. La identificación fue realizada por Michael von Tschirhaus (Universidad de Bielefeld, Alemania).

Los trabajos de campo se realizaron en Boyeros, Texcoco, Estado de México, dentro de invernaderos con producción comercial de crisantemo, de tipo túnel, de 8 m x 42 m, estructura metálica y cubierta de plástico tratada contra rayos ultravioleta. Las unidades experimentales fueron camas de cultivo a ras del suelo de 1,2 m x 20 m, con sustrato de tezontle (material rojizo de origen volcánico).

El trabajo comenzó en noviembre de 1999 y concluyó al inicio del corte de flor en enero del 2000. Se eligieron dos invernaderos; en uno se implementó el combate mecánico (tratamiento 1), con la ayuda de

<sup>3</sup> Segura, A. 2000. Texcoco, México. Comunicación personal; Migota, J. 2000. Tenancingo, Estado de México. Comunicación personal.



una aspiradora entomológica diseñada en el Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas (patente en trámite), y en el otro se procedió como tradicionalmente se combate esta plaga en la región (tratamiento 2), es decir, haciendo uso del insecticida sintético ciromazina. En ambos invernaderos se utilizó la variedad Indianápolis de crisantemo, en etapa fenológica de desarrollo vegetativo, aproximadamente 20 días después del trasplante. En cada invernadero se escogieron cuatro camas de cultivo, cada una de ellas se consideró como una repetición. Las variables por analizar fueron marcas de alimentación y minas por hoja. En los dos invernaderos comenzaba la infestación de la plaga.

En el combate mecánico se realizaron 14 aspiraciones, una cada siete días. Los minadores adultos capturados se sacrificaron por congelación, se cuantificaron y posteriormente se seleccionaron algunos especímenes para su envío a especialistas para su identificación taxonómica. En el conteo se consideró el número de parasitoides capturados, con el objeto de inferir el impacto de esta tecnología sobre la fauna benéfica. Las aspiraciones se realizaron entre las ocho y las diez de la mañana, recorriendo las tinas por ambos lados y dirigiendo la boca de la aspiradora a las terminales de las plantas y lados de la tina.

En el combate químico, se realizaron 14 aplicaciones, una cada siete días. Tres fueron de ciromazina (750 g i.a./kg) en la dosis de 0,15 g/l de agua, dirigidas contra los minadores de la hoja; las aplicaciones se realizaron el 19 de noviembre, 8 de diciembre y 30 de diciembre. El resto de las aplicaciones fueron de insecticidas para el combate de plagas que no son objeto de este estudio y fertilizantes para la adición de nutrientes por vía foliar.

Para el conteo de marcas de alimentación y minas, de las tinas de cada tratamiento (de cada invernadero), se seleccionaron 10 plantas al azar. Estas se dividieron en tres estratos: inferior, medio y superior. De cada estrato se tomó una hoja al azar y en esta, en un área de dos cm<sup>2</sup>/hoja, se contó el número de marcas de alimentación y minas. Los datos obtenidos del conteo de los daños de cada una de las poblaciones fueron analizados estadísticamente mediante las pruebas de *t* y la de Mann y Whitney.

## Resultados y discusión

Se procedió a la identificación taxonómica de las especies y los ejemplares identificados fueron *Liriomyza*

*huidobrensis* (Blanchard) y *Liriomyza* sp., posiblemente *sativae* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae).

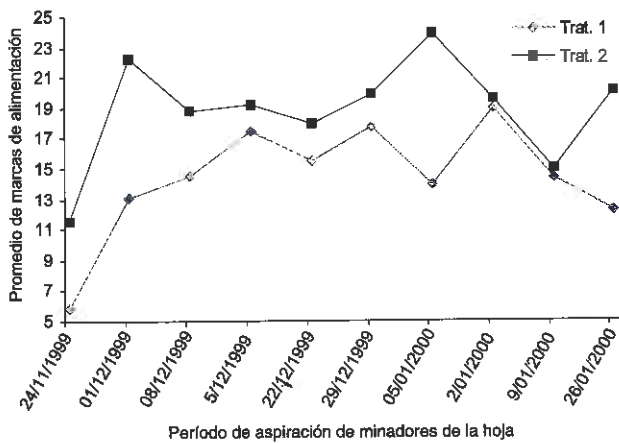
En el invernadero en donde se utilizó el combate mecánico (tratamiento 1), el promedio de marcas de alimentación causadas por los adultos del minador de la hoja fue de 14,34 marcas por cada 2 cm<sup>2</sup>/hoja; y en el invernadero donde los minadores fueron combatidos químicamente siguiendo la experiencia del productor (tratamiento 2), el promedio fue 18,80 marcas por cada 2 cm<sup>2</sup>/hoja. En otros términos, en el invernadero bajo combate mecánico las marcas de alimentación fueron 23,72% menores que en el invernadero donde se aplicaron insecticidas. Con respecto a las minas causadas por las larvas, en el tratamiento 1 el promedio fue de 0,42 minas por 2 cm<sup>2</sup>/hoja, y en el tratamiento 2 fue de 1,54 minas por 2 cm<sup>2</sup>/hoja, es decir, en el tratamiento 1 las minas fueron 72,72% menores que en el tratamiento 2.

La prueba estadística de  $t_{(\alpha=0,05)}$  para las medias de las variables marcas de alimentación causadas por los adultos y minas causadas por las larvas del minador de la hoja, indicó que hubo diferencias altamente significativas entre los tratamientos. Para el caso de las marcas de alimentación, la  $\text{Prob}>t$  fue igual a 0,0032 y para las minas la  $\text{Prob}>t$  fue igual a 0,0004. Además, la prueba estadística no paramétrica de Mann y Whitney, para ambas variables respectiva, al nivel de significancia de 0,05, indicó que las poblaciones correspondientes a cada tratamiento tuvieron diferente distribución; por lo tanto, de acuerdo con esta prueba, sí hubo diferencias significativas entre tratamientos.

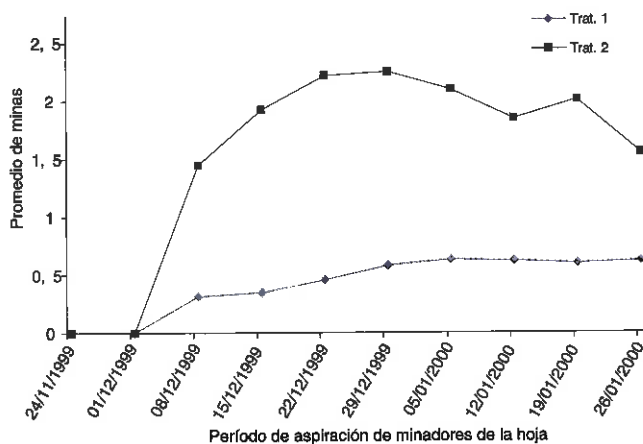
Ambas pruebas indican que el uso del aspirado mecánico de insectos, en esta ocasión, fue más eficiente que el uso de insecticidas sintéticos contra los minadores de la hoja en crisantemo cultivado dentro de invernadero en producción comercial.

En los conteos que se realizaron cada siete días, siempre hubo, en promedio, un número menor de marcas de alimentación en el invernadero en donde se aplicó el tratamiento 1, es decir, en donde se realizó el aspirado mecánico, que en donde se aplicó el tratamiento 2, esto es, en donde se aplicaron insecticidas sintéticos (Fig. 1).

El número promedio de minas causadas por las larvas en las hojas de crisantemo, cuantificadas semanalmente, fue menor en el invernadero en donde se aplicó el tratamiento 1 (con aspirado) que en donde se aplicó el tratamiento 2 (Fig. 2).



**Figura 1.** Número promedio de marcas de alimentación en hojas de crisantemo, causadas por adultos de *Liriomyza* spp., en la región de Texcoco, México.

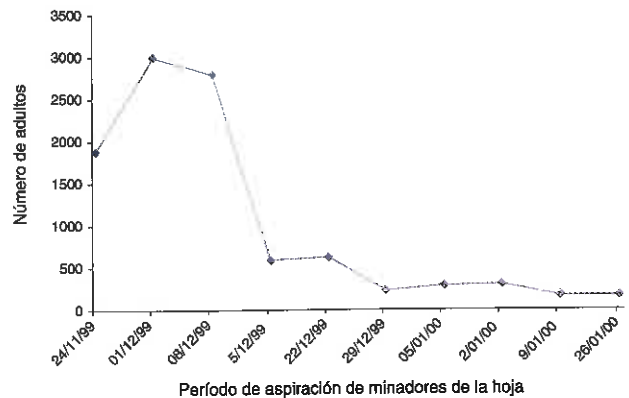


**Figura 2.** Número promedio de minas causadas en las hojas por larvas del minador de la hoja *Liriomyza* spp. en crisantemo, en la región de Texcoco, México.

Al comparar las gráficas de las fluctuaciones de marcas de alimentación y minas, resulta evidente que hay mayor fluctuación en la primera (Fig. 1) que en la segunda (Fig. 2); esto se debe a que las marcas de alimentación son causadas por adultos que llevan una vida libre y están expuestos con más facilidad a los cambios climáticos y las prácticas de combate de plagas emprendidas por el ser humano. Las minas, en cambio, son causadas por las larvas, las cuales se encuentran dentro de las hojas y están más protegidas del ambiente y los controles implementados por el ser humano. De ahí la tendencia suavizada de estas curvas.

En un principio, se incrementaron las poblaciones de adultos y, por efecto del combate mecánico, empezaron a disminuir durante la segunda semana de apli-

cación. En la tercera semana, la disminución de adultos fue muy marcada y alcanzó niveles que se mantuvieron hasta el momento del corte de la flor. Es importante señalar que estos datos representan el número de adultos atrapados en las aspiraciones, por lo cual no se incluyen datos del tratamiento químico (Fig. 3).



**Figura 3.** Fluctuación poblacional de adultos del minador de la hoja *Liriomyza* spp. en crisantemo en la región de Texcoco, México.

Respecto al número de parasitoides (Braconidae) capturados durante las aspiraciones, este fue bajo, con no más de 5 por aspiración. Este número se debió, posiblemente, a que el aspirado se realizó durante el invierno, cuando la temperatura baja y la falta de huéspedes no favorecen el desarrollo de parasitoides. La aspiración de insectos puede tener implicaciones ecológicas, debido a que sin distinción se pueden capturar organismos tanto dañinos como benéficos, pero se considera que los impactos de esta práctica son mucho menores a los de la aplicación de insecticidas.

De acuerdo con los datos obtenidos, el aspirado mecánico de insectos puede ser una práctica eficiente de combate del minador de la hoja en crisantemo, bajo condiciones de invernadero, que encaja bien dentro de los programas de manejo integrado de esta plaga. Por otra parte, su adopción es más amigable con el ambiente, ya que no implica el uso de sustancias tóxicas como los insecticidas (sólo requiere de combustible para un motor de dos tiempos).

Con el objeto de tener un panorama más amplio de la posible adopción del aspirado mecánico de plagas como alternativa de combate, se realizó un análisis económico para comparar los costos de cada tratamiento.

Para combatir el minador de la hoja en crisantemo, los floricultores de la región de Texcoco generalmente realizan por lo menos seis aplicaciones de ciro-mazina en las dosis de 12 a 25 g/100 litros de agua, y aplican de 500 a 1 000 litros de la mezcla, equiparado esto a una hectárea. Se eligió la hectárea como unidad de comparación, debido a la forma en la cual los floricultores locales aplican los plaguicidas (sin dosificación exacta ni referencia alguna a unidad de superficie). Con base en el costo del insecticida ciro-mazina y otros insecticidas, y las dosis utilizadas por los floricultores de la región para combatir el minador de la hoja y otras plagas, por un lado, y en el costo de las aspersoras de mochila en las casas locales de agroquímicos en el momento del análisis, por el otro, el costo del combate de los minadores de la hoja con base en insecticidas (tratamiento 2) fue de \$424,4, y el de la aspiradora mecánica (tratamiento 1), de \$375,45, esto es, \$48,94 menos que el tratamiento 2.

El daño por marcas de alimentación en las hojas causado por los adultos del minador de la hoja en crisantemo fue 23,72% menor ( $\alpha=0,05$ ) con el aspirado mecánico de insectos que con insecticidas sintéticos.

El daño por minas, causado por las larvas del minador de las hojas, fue 72,72% menor ( $\alpha=0,05$ ) con la aspiración que con los plaguicidas sintéticos.

Económicamente, al comparar el mismo número de aspiraciones con el de aspersiones de insecticidas, el costo de las aplicaciones de insecticidas con respecto a las aspiraciones es alrededor de un 13% mayor.

### Literatura citada

Alcántara, HF. 1998. Las plagas del crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat): una base para su manejo en el área florícola de Texcoco, México. Tesis profesional. Chapingo, México. Universidad Autónoma Chapingo. 108 p.

- Altieri, MA. 1992. Biodiversidad, agroecología y manejo de plagas. Valparaíso, Chile Centro de Estudios en Tecnologías Alternativas para América Latina. 162 p.
- Dietrick, EJ; Schlinger, EI; van den Bosh, R. 1959. A new method for sampling arthropods using a suction collecting machine and modified berlese tunnel separator. *Journal of Economic Entomology* 52(6):1085-1091.
- Hendricks, LC. 1995. Almond growers reduce pesticide use in Merced Country field trials. *California Agriculture* 49(1):5-10.
- Howell Jr, HN; Andrews, KL. 1989. Utilización de métodos físicos y mecánicos. In Andrews, KL; Quezada, JR eds. 1989. Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura: estado actual y futuro. Departamento de Protección Vegetal. Honduras, Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano. p. 255-260.
- Huerta H, JM. 1997. Evaluación de insecticidas microbiales para el control de plagas en crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat), en Chapingo, Méx. Tesis profesional. Chapingo, México. Universidad Autónoma Chapingo. 77 p.
- Huerta RA. 2000. Diagnóstico agroecológico del cultivo de crisantemo en Texcoco, Méx. y propuestas de manejo para el control de plagas. Tesis de maestría. Montecillo, Texcoco, México, Instituto de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados. 171 p.
- Lomeli, JR; Pérez, A; Trujillo, J; Hernández, A. 1999. Efectividad de *Phytoseiulus persimilis* Athias-Herriot y avermectina en el control de *Tetranychus urticae* Koch en crisantemo bajo condiciones de invernadero. In Congreso Nacional de Entomología (34, 1999, Aguascalientes, México). Memoria. p. 435-440.
- Martínez, DF; Trujillo, FJ; Alberti, P; García, R; Martínez, A. 2000. Diagnóstico y diseño de estrategias de manejo del agroecosistema rosal en el estado de Puebla. In Manzanilla, RH; Ochoa, D; García, R; Equihua A. comps. Avances de Investigación 1999. Montecillo, Texcoco, México, Instituto de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados. p. 13-14.
- Metcalfe, L; Luckmann, WH. 1990. Introducción al manejo de plagas de insectos. México, DF, LIMUSA. 710 p.
- Pickel, C; Zalom, FG; Walsh, DB; Welch, NC. 1995. Vacuums provide limited Lygus control in strawberries. *California Agriculture* 49(2): 19-22.
- Raya, MA. 1996. Control químico de la roya blanca (*Puccinia horiana* P. Henn.) en Nativitas, Estado de México. Tesis profesional. Chapingo, México, Universidad Autónoma de Chapingo. 47 p.

# Escala para estimar el daño de insectos en el maíz almacenado

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

**RESUMEN.** Los métodos utilizados tradicionalmente para estimar el porcentaje de grano dañado por insectos suelen ubicar el estado del grano en dos categorías únicamente: sano y dañado. Esto conduce, con frecuencia, a que se sobreestime el nivel real de daño al igualar en condición un grano que presenta horadaciones en un 1% de su volumen con uno que lo hace en un 50%. Con el fin de estimar con mayor confiabilidad el estado real de la calidad del grano, se propone el uso de una metodología de evaluación que toma en cuenta el nivel de daño del grano y lo relaciona con su calidad alimenticia. Dicha metodología involucra el uso de una escala con cinco índices de daño; en cada índice se presenta una descripción detallada del porcentaje de daño y el aspecto del grano, así como de su calidad como alimento y semilla. Esta metodología de evaluación refleja con mayor precisión el nivel real de daño en el grano.

**Palabras clave:** Granos almacenados, plagas, evaluación, muestreo.

**ABSTRACT.** A scale to estimate damage by insects in stored grain corn. The methods traditionally used to estimate the percentage of grain damaged by insects usually classify grain quality into two distinct categories: damaged and undamaged, thus overestimating the grain damage. A grain that shows holes in 1% of its volume cannot be in the same category as a grain with holes in 50% of its volume. This paper suggests a new methodology to estimate the real damage caused by insects in the grain. The proposed methodology takes into account the level of damage and relates it to alimentary quality. This methodology involves the use of a scale with five indexes of damage, each index containing a detailed description of the aspect and level of damage, as well as of the quality of the grain as food and seed. We believe that this methodology is more accurate than those presently available.

**Key words:** Stored grains, pests, evaluation, sampling.

## Introducción

Aunque los cereales constituyen una parte fundamental de la dieta de los seres humanos, se estima que anualmente se pierde entre un 9 y un 50% de las cosechas almacenadas en el mundo (Sinha 1995). Los factores más comúnmente evaluados para determinar el impacto de los insectos plaga en los granos almacenados son la pérdida de peso y el porcentaje de grano dañado. Lamentablemente, dichos parámetros no sue-

len ser confiables (Hagstrum y Flinn 1992). En consecuencia, se hace necesaria una metodología más precisa para la estimación del porcentaje de grano dañado. En este trabajo, se propone una escala para determinar el impacto de los insectos plaga sobre la calidad del grano. No se pretende imponer un criterio rígido y definitivo, sino un punto de partida que puede, y debe, ser adaptado y mejorado según las condiciones lo ameriten.

<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. CP 56230. Texcoco, México. alagunes@colpos.colpos.mx

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

<sup>4</sup> Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Veracruzana. CP 94500. Córdoba, México. darola@correoweb.com

## Materiales y métodos

### Descripción de los niveles de la escala

Para la elaboración de los diferentes niveles de la escala, se tomaron como puntos de referencia los umbrales máximos de daño por insectos permitidos en México y Estados Unidos. En ambos países se utilizan varios umbrales de daño, pero la mayoría de ellos no cuantifica directamente el número de insectos, sino que considera medidas indirectas, tales como granos dañados por insectos, fragmentos de insectos en harina o granos consumidos (Hagstrum y Flinn 1992). En trigo, el umbral utilizado en la exportación es de dos o más insectos vivos de una especie considerada como

dañina por kg de producto (Hagstrum y Flinn 1996). En este mismo cereal, también se considera como límite de aceptabilidad 32 granos dañados por insectos en 100 g de muestra (Hagstrum y Flinn 1992). Considerando que en 100 g de trigo hay aproximadamente 3 000 granos, este límite corresponde aproximadamente al 1%. Cabe destacar que estos umbrales también se pueden utilizar como criterio discriminatorio para maíz almacenado<sup>5</sup>. En México, se considera como apto para consumo humano aquel maíz que presente un porcentaje de granos dañados por insectos menor o igual al 5,5% (González 1995).

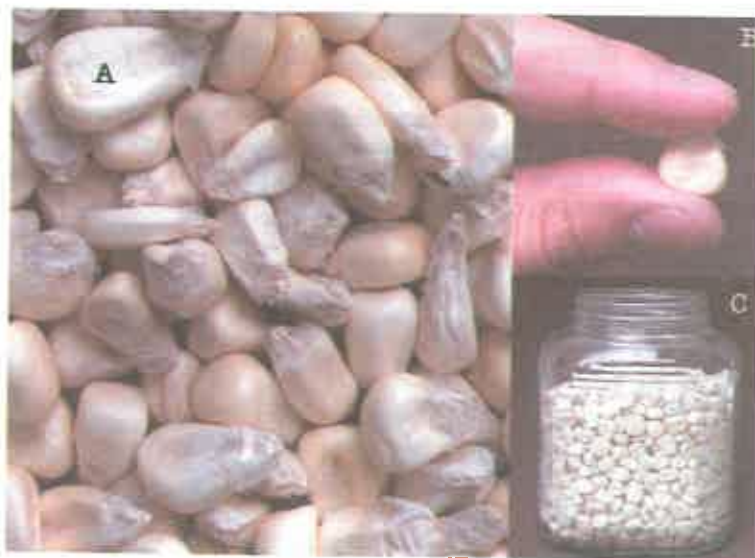
### Nivel 0 (grano completamente sano):

#### Características

- No se observan granos dañados por insectos (Fig. 1a).
- No se advierte la presencia de insectos adultos.
- Los granos no presentan horadaciones.
- El grano soporta la presión de los dedos sin sufrir daños (Fig. 1b).
- No se observa polvo (harina) en el fondo de los recipientes de almacenamiento o en el piso de las bodegas o silos (Fig. 1c).

#### Grado de aceptabilidad

Excelente. Apto para consumo humano, animal, y como semilla.



**Figura 1.** Nivel 0. A. Aspecto general del grano (0% de grano dañado). B. El grano soporta la presión de los dedos. C. No se observa presencia de polvo en el recipiente o lugar de almacenaje.

<sup>5</sup> Dr. Frank Arthur. 2000. US Grain Marketing Research Laboratory. Agricultural Research Service. US Department of Agriculture. (Comunicación personal) Kansas, EUA.

### ***Nivel 1 (grano ligeramente dañado):***

#### ***Características***

- Se observa menos de un 5% de granos dañados por insectos (Fig. 2a).
- Se encuentran menos de 2 insectos plaga adultos vivos por kilogramo de grano.
- Menos del 5% de los granos de la muestra presenta horadaciones menores al 5% del volumen del grano.
- El grano soporta la presión de los dedos sin sufrir daños (Fig. 2b).
- No se observa polvo (harina) en el fondo de los recipientes de almacenamiento o en el piso de las bodegas o silos (Fig. 2c).

#### ***Grado de aceptabilidad***

Aceptable para consumo humano, animal y como semilla.



**Figura 2.** Nivel 1. A. aspecto general del grano (menos del 1% de daño). B. El grano soporta la presión de los dedos. C. No se observa la presencia de polvo en el recipiente o lugar de almacenaje.

### ***Nivel 2 (grano medianamente dañado):***

#### ***Características***

- Se observa a simple vista entre un 5-10% de granos dañados por insectos (Fig. 3a).
- Se encuentran más de 2 insectos plaga adultos vivos por kilogramo de grano.
- Más del 5% pero menos de un 10% de los granos de la muestra presenta horadaciones menores al 20% del volumen del grano.
- El grano soporta la presión de los dedos sin sufrir daños (Fig. 3b).
- Se observa polvo (harina) en un volumen menor al 10% del recipiente de almacenaje o silo (Fig. 3c).

#### ***Grado de aceptabilidad***

Inaceptable para el consumo humano. Apto para el consumo animal y como semilla.



**Figura 3. Nivel 2.** A. Aspecto general del grano (menos de un 5% de daño). B. El grano soporta la presión de los dedos. C. Se observa la presencia de polvo en una concentración menor al 1% del recipiente o lugar de almacenaje.

### **Nivel 3 (grano muy dañado):**

#### *Características*

- Se observa a simple vista entre un 11 y un 50% de granos dañados por insectos (Fig. 4a).
- Se encuentran más de 2 insectos plaga adultos vivos por kilogramo de grano.
- Más de un 10% pero menos de un 50% de los granos presenta horadaciones de hasta un 50% del volumen del grano.
- Los granos no soportan la presión de los dedos sin sufrir daños (Fig. 4b).
- Se observa polvo (harina) en un volumen entre un 10 y un 20% del recipiente de almacenaje, bodega o silo (Fig. 4c).

#### *Grado de aceptabilidad*

Inaceptable para el consumo humano. Apto para el consumo animal. Inaceptable como semilla.



**Figura 4. Nivel 3.** A. Aspecto general del grano (hasta un 20% de daño). B. El grano no soporta la presión de los dedos. C. Se observa la presencia de polvo en una concentración entre un 10-20% del recipiente o lugar de almacenaje.

#### Nivel 4 (grano completamente dañado)

##### Características

- Se observa a simple vista más de un 50% de los granos dañados por insectos (Fig. 5a).
- Se encuentran más de 2 insectos plaga adultos vivos por kilogramo de grano.
- Más del 50% de los granos presenta horadaciones mayores al 50% del volumen del grano.
- Los granos quedan destruidos al presionarlos con los dedos (Fig. 5b).
- El volumen de polvo (harina) supera el 20% del recipiente de almacenaje, bodega o silo (Fig. 5c).

##### Grado de aceptabilidad

Inaceptable para el consumo humano. Apto para el consumo animal. Inaceptable como semilla.



**Figura 5.** Nivel 4. A. Aspecto general del grano (más de un 50% de daño). B. El grano no soporta la presión de los dedos. C. Se observa la presencia de polvo en una concentración mayor al 20% del recipiente o lugar de almacenaje.

#### Aplicación práctica de la escala

##### Cálculo del porcentaje de daño

Cuando se realiza una inspección de granos almacenados mediante un proceso de muestreo compuesto de varias submuestras, no necesariamente todas las muestras van a pertenecer al mismo índice. En consecuencia, se debe utilizar la ecuación (1) para obtener un valor único que refleje la condición real del grano:

$$P = \left[ \frac{\sum(nt)}{5N} \right] \times 100 \quad (1)$$

Donde:

P: Porcentaje de daño

n: Número de submuestras en cada categoría

t: Valor numérico de cada categoría según la escala

N: Número total de submuestras en la muestra

El valor que se obtenga mediante este procedimiento se diferencia del de otras metodologías que consideran los niveles de daño como criterio de calidad. A pesar de ello, se reconoce la existencia de otros criterios de calidad ajenos a la que resulta de la interacción del grano con los insectos. Una vez aplicada la ecuación (1), el valor de porcentaje obtenido deberá ser ubicado en una de las categorías indicadas, para así juzgar la condición total del grano que es objeto de muestreo.

##### Validación

Para la validación de la escala propuesta, se compararon los valores con los obtenidos mediante la fórmula más comúnmente utilizada (2) para evaluar este parámetro (Sample *et al.* 1992). Los datos tomados como base corresponden a cuatro tratamientos más el testigo



de Silva (2001), quien evaluó diferentes vegetales pulverizados solos y en mezcla con inertes minerales para el control del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* M).

$$\text{Porcentaje grano dañado} = \frac{\text{Número granos dañados}}{\text{Número total de granos}} \times 100 \quad (2)$$

### Resultados y discusión

En los cuadros 1 y 2 se resumen los valores obtenidos por el método de Sample *et al.* (1992) y con la escala propuesta, respectivamente. Se puede observar que los valores obtenidos por la escala propuesta son menores a los estimados por el método tradicional. Si consideramos el umbral de 5,5%, el límite máximo de daño por insectos permitido en México para considerar un grano como apto para consumo, la situación cambia diametralmente. De acuerdo con este criterio, en el método tradicional únicamente las muestras correspondientes al tratamiento con *Peumus boldus* se

encuentran bajo este umbral, mientras que el resto lo supera por bastante. En cambio, la escala propuesta muestra que únicamente *Citrus sinensis* y el testigo superan este umbral. Consideramos que esto último se ajusta mucho más a la realidad, porque discrimina o clasifica el aspecto del grano con base en diferentes niveles de daño. Esto último se debe a que el método tradicional sólo presenta dos niveles de discriminación en relación con el daño (sano o dañado), por lo que no considera niveles intermedios, conduciendo así a la sobrestimación del daño. En realidad, en ningún caso un grano con 1% de daño es equivalente a otro con 50% de daño. En este sentido, consideramos que la escala propuesta es superior a la que tradicionalmente se utiliza; además, beneficia al agricultor que vende su grano.

### Agradecimientos

Los autores agradecen al Sr. Raymundo Alvarado y al M. Sc. Jorge Valdez Carrasco por su ayuda en la toma y procesamiento de las fotografías.

**Cuadro 1.** Estimación del porcentaje de grano dañado por el método de Sample *et al.* (1992).

Tratamiento	Granos sanos*	Granos dañados*	Total de granos*	Porcentaje de grano dañado (%)
Testigo	340	213	553	38,5
<i>Azadirachta indica</i>	347	124	471	26,32
<i>Peumus boldus</i>	561	4	565	0,71
<i>Citrus sinensis</i>	317	176	493	35,69
Inertes minerales	483	52	535	9,71

\* Se considera el número total de granos de tres repeticiones.

**Cuadro 2.** Estimación del porcentaje de grano dañado por la escala propuesta.

Tratamiento	Número de granos*					Porcentaje de grano dañado (%)
	0	1	2	3	4	
Testigo	1019	256	229	154	0	14,18
<i>Azadirachta indica</i>	1039	223	104	44	0	5,26
<i>Peumus boldus</i>	1684	13	0	0	0	0,15
<i>Citrus sinensis</i>	951	80	184	264	0	15,44
Inertes minerales	1449	79	59	19	0	3,16

\* Se considera el número total de granos de tres repeticiones.

## Literatura citada

- González, AU. 1995. El maíz y su conservación. México, DF. Editorial Trillas. 399 p.
- Hagstrum, D; Flinn, P. 1992. Integrated pest Management of Stored-Grain insects. In Sauer DB. ed. Storage of cereal grains and their products. St. Paul, Minnesota. American Association of Cereal Chemists, INC. p. 535-562.
- Hagstrum, D; Flinn, P. 1996. Integrated pest management In Subramanyam, B; Hagstrum, D. eds. Integrated Management of insects in stored products. Marcel Dekker. p. 399-408.
- Sample, RL; Hicks, PA; Lozare, JV; Castemans, A. (eds). 1992. Towards integrated commodity and pests management in grain storage. (En línea). Revisado el 22 Noviembre del 2000. Disponible en [http://www.fao.org/inpho/vlibrary-x0048e/x0048E00.htm#Contents](http://www.fao.org/inpho/vlibrary/x0048e/x0048E00.htm#Contents).
- Silva, G. 2001. Evaluación de polvos vegetales solos y en mezcla con inertes minerales para el combate de *Sitophilus zeamais* en maíz almacenado. Tesis M. Sc. Texcoco, México. Colegio de Postgraduados. 75 p.
- Sinha, R. 1995. The Stored-Grain Ecosystem. In Jayas,D; White, N.; Muir, W. eds. Stored-Grain Ecosystems. Marcel Dekker. p. 1-32.

# Avaliação de óleos vegetais de diferentes características secantes sobre *Bemisia tabaci*, em melão

Francisco Leandro de Paula Neto<sup>1</sup>

Ervino Bleicher<sup>2</sup>

**RESUMEN.** Evaluación de aceites vegetales de diferentes características secantes sobre *Bemisia tabaci*, en melón. El melón es una de las hortalizas de mayor importancia en NE de Brasil. La mosca blanca (*Bemisia tabaci*) se ha convertido en una plaga que afecta su sistema de producción. La investigación tuvo como objetivo evaluar a la eficiencia de aceites vegetales del tipo no secante (ricino), semisecante (ajonjolí) y secante (soya) sobre *B. tabaci* en melón. El experimento se realizó en invernadero, en Embrapa Agroindustria Tropical, en Fortaleza-Ceará, Brasil. El diseño experimental fue de bloques al azar con seis tratamientos y cuatro repeticiones. Los tratamientos fueron: testigo, aceite a 0,25 %, aceite a 0,50%, aceite a 1,00%, aceite a 2,00% y el producto comercial Thiamethoxam (Actara 250 WG) en las dosis de 0,2 gpc/l (gramos del producto comercial en el litro). El análisis de los resultados muestra que los aceites de ricino y ajonjolí fueron eficientes en el control de ninfas de mosca blanca; el aceite de soya tuvo baja eficiencia; el aceite del tipo no secante fue más eficiente que los semisecante y secante; todos los aceites presentaron fitotoxicidad creciente, según aumentase su concentración.

**Palavras chaves:** *Bemisia tabaci*, inseticidas botânicos, *Cucumis melo*.

**ABSTRACT.** Evaluation of the effect of different types of vegetable oils on whitefly control, on melon. Melon is an important crop for the Northeastern region of Brazil. However, insect pests like the whitefly, *Bemisia tabaci*, have been a problem for producers. The main objective of this research was evaluating the efficacy of different types of oils, represented by castor bean, sesame seed and soybean oil, on melon whitefly. Field data for this research was collected at Embrapa - Agroindústria Tropical, at Fortaleza, Ceará State, Brazil, from November 2000 through February 2001. A completely randomized design was used, with four replicates and six treatments. Treatments were: untreated (control), oil at 0.25, 0.50, 1.00 and 2.00%, and the standard Thiamethoxam (Actara 250 WG) at 0.2 g.c.p./L. According to the results, castor bean and sesame oil were efficient in controlling whitefly nymphs; soybean oil showed low efficiency; the non-drying oil was much more efficient than the semi-drying and drying types. All oils showed an increase of phytotoxic action when concentration was increased.

**Key words:** *Bemisia tabaci*, botanical insecticides, *Cucumis melo*.

## Introdução

O meloeiro, *Cucumis melo* L., tem despertado grande interesse por parte dos produtores no Nordeste brasileiro, devido ao seu grande mercado tanto para consumo interno como para exportação. É uma cultura de retorno rápido, 60 e 70 dias, contudo, a rentabilidade depende investimentos em alta tecnologia para irrigação, adubação e controle de pragas e doenças (Sousa et al. 1999).

A mosca-branca, *Bemisia tabaci* Genn., 1889 (Homoptera: Aleyrodidae), é primariamente polífaga, ocorrendo em todas as zonas tropicais e sub-tropicais, podendo causar danos diretos pela sucção de seiva, empobrecendo nutricionalmente a planta, redução da produção, queda de folhas e frutos, redução do porte, alongamento do ciclo, menor tamanho de frutos, redução no grau brix e menor conservação. A praga

<sup>1</sup> Banco do Nordeste do Brasil. Avenida Paranjana, 5700-Passaré-A1 superior, Fortaleza-Ceará, CEP: 60.035-120. Brasil. fleandro@bnb.gov.br

<sup>2</sup> Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará. Caixa Postal 12 168 60.356-001, Fortaleza-Ceará. Brasil. ervino@ufc.br

em questão pode ainda causar danos estéticos, apresentando uma aparência desagradável ao consumidor pela presença da mela, fumagina, manchas cloróticas e deformações. Como danos indiretos em culturas como o tomate têm-se a transmissão de viroses de uma planta infectada para plantas sadias (Villas-boas *et al.* 1997).

O manejo inadequado de agroquímicos tem contribuído para o aumento da resistência do inseto, para o aumento da contaminação do solo e do lençol freático além dos riscos para os consumidores que são ameaçados pelo acúmulo de resíduos do produto nos frutos, causando intoxicações agudas e crônicas (Alencar 1998).

O uso de produtos alternativos, dentro das práticas utilizadas no manejo integrado de pragas (MIP), tem interessado aos pesquisadores e produtores assim como a comunidade consumidora de produtos de origem agrícola. Rheenen (1984) relata que o uso de óleos vegetais para proteção no armazenamento de arroz e feijões é comum em países orientais como China, Índia e Indonésia. Por outro lado o uso de óleos vegetais diretamente sobre as plantas tem sido pouco estudado.

A forma de ação dos óleos também foi comentada por Villas-boas *et al.* (1997) segundo o qual o provável modo de ação dos óleos é o dano causado à película de cera sobre a cutícula que interfere no metabolismo e na respiração do inseto, além de provocar mudanças na estrutura da folha e causar repelência. Algumas características o fazem um potencial produto para uso de sistemas orgânicos tais como: seu caráter não-tóxico, são biodegradáveis e geralmente baratos além e menos agressivos ao ambiente.

Os óleos vegetais podem ser classificados como secantes, semi-secantes e não-secantes quanto ao tempo de permanência no ambiente sem apresentar modificações nas suas características físicas, notadamente a perda de líquidos, a qual deixa o produto menos viscoso e mais quebradiço (Jamieson, 1938). A secatividade dos óleos pode ser medida através do índice de iodo.

O índice ou valor de iodo pode ser definido como o número de gramas de iodo (halogênio) absorvidos por 100 gramas de gordura ou de qualquer outra substância. Esse índice indica a classe em relação a secatividade na qual está inserido. Óleos que tem um número de iodo abaixo de 100 podem ser

considerados como do tipo não-secante. Aqueles que vão de 100 a 130 indicam óleos semi-secantes e os que estão acima de 130 são do tipo secante. Podem haver grandes variações com relação a esse índice. Para os óleos vegetais estão envolvidas duas variáveis: o ambiente e as variações com relação a época de produção (Moretto & Fett 1998).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de óleos vegetais do tipo não-secante (mamona), semi-secante (gergelim) e secante (soja) sobre a mosca-branca, *B. tabaci*, no meloeiro.

## **Materiais e métodos**

Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação da Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza (Brasil) (3° 45' Sul e 38° 33' Oeste), entre novembro de 2000 e janeiro de 2001.

Foi plantado o híbrido de melão "Gold Mine", cujas sementes foram semeadas em cones plásticos de 250 cm<sup>3</sup> (tubetes) com substrato à base de casca de arroz, esterco bovino e solo. Estas plantas foram mantidas em casa de vegetação, irrigadas diariamente e adubadas com solução com uréia (1g/L) aos 10, 17 e 24 dias após o plantio.

Foram realizados três experimentos independentes em casa de vegetação onde o delineamento utilizado foi de blocos ao acaso com seis tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos utilizados foram: testemunha sem aplicação, óleos de mamona (*Ricinus communis* L.), gergelim (*Sesamum indicum* L.) e soja (*Glycine max* L.) nas concentrações de 0,25%, óleo a 0,50%, óleo a 1,0%, óleo a 2,0%, e Thiamethoxam (ACTARA 250 WG) na dose de 0,2 g do produto comercial por litro (g.p.c./L).

As plantas no estágio de duas folhas verdadeiras 14 dias após plantio (dap) foram infestadas em gaiolas teladas com 50 adultos por planta, coletados em colônia mantida na Embrapa Agroindústria Tropical. Estas plantas foram desinfestadas após 24 horas e colocadas em área isenta de adultos do inseto. Os tratamentos à base de óleo foram preparados a partir de uma solução estoque preparada usando-se 10 mL de óleo adicionando-se 2 mL do espalhante Extravon e 10 mL de água (pH= 6,0). Esta mistura foi, agitada em um tubo de ensaio de 70 mL, até a completa emulsificação e transferida para um Becker e adicionado água (pH 6,0) até completar 500 mL, tendo-se então uma solução a 2%. Desta solução foram retiradas as alíquotas para preparo das

concentrações dos diversos tratamentos para um volume de 100 mL de água de pH 6,0.

As aplicações foram realizadas 21 dias nas horas mais frescas do dia para evitar agravar um possível efeito fitotóxico do produto. Foi utilizado um pulverizador caseiro de êmbolo para o inseticida e outro para os tratamentos contendo óleo; os tratamentos foram aplicados iniciando-se pela menor concentração.

A avaliação da eficiência dos tratamentos foi realizada sete dias após a pulverização (28 dias), contando-se as ninfas em uma área circular de 2,8 cm<sup>2</sup> da folha verdadeira mais velha. A avaliação da fitotoxicidade foi realizada segundo uma escala de notas segundo a área foliar queimada (0 – ausência de “queima”; 1- 0 a 25% de área foliar “queimada”; 2- 25 a 50% de área foliar “queimada” e 3- 50% ou mais de área foliar “queimada” com encarquilhamento).

Os tratamentos foram avaliados usando-se análise de variância e as médias separadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. A eficiência foi calculada segundo a fórmula de Abbott (1925) apresentada a seguir:

% de eficiência do produto =  $(T-I/T) \times 100$ , onde:

T = número de insetos vivos na testemunha

I = número de insetos vivos no produto testado

## Resultados e discussão

Como foi comentado por Villas-boas *et al.* (1997) o princípio de ação dos óleos sobre os insetos é formação de uma película sobre sua cutícula, sendo que a boa formação desta, aliado a permanência de sua atividade estão ligadas a secatividade apresentada por cada óleo. Observando os dados do quadro 1, onde são mostrados os resultados dos três óleos vegetais, pode ser observado que o produto não-

secante, que foi o óleo de mamona, apresentou maiores valores com relação a eficiência no controle da mosca-branca, seguido do óleo semi-secante e por fim ficou evidenciado que o óleo de soja, que representou a classe secante, obteve níveis de eficiência mais baixo. Como já foi relatado, esse fato pode ser explicado pela maior ou menor duração da película formada após a aplicação, ligada diretamente com a secatividade do produto, onde o não-secante teve uma maior período de permanência no seu estado ativo sobre as ninfas dos insetos. Segundo Mariconi (1988) os melhores resultados são conseguidos na pulverização de óleos em concentrações que variam de 1 a 3%; sendo que no Brasil, são mais usados de 1 a 1,5% e, as vezes, a 2%. Essas indicações se enquadram na faixa de maior eficiência apresentada pelos óleos testados. Os resultados obtidos fazem transparecer a existência de uma escala decrescente de eficiência para o controle de ninfas de mosca-branca iniciando pelo óleo não-secante, vindo em segundo o semi-secante e em último caso o secante, como o menos eficaz.

O fator fitotoxicidade não se mostrou ligado ao caráter secante, estando possivelmente associado a cada óleo isoladamente. Ressalta-se para todos os óleos, que no campo, as respostas podem depender dos fatores climáticos do momento. Ocorreu ascendência gradativa dos valores de fitotoxicidade apresentada pelos os óleos estudados segundo a concentração utilizada (Quadro 2). Prefere-se valores próximos a 1% pois essas concentrações geralmente proporcionam menor incidência de queima, ou melhor, reação fitotóxica sobre a superfície foliar que pode se apresentar também na forma de encarquilhamento (Mariconi, 1988).

**Quadro 1.** Número médio de ninfas e eficiência de Thiamethoxam e óleos de mamona, gergelim e soja sobre *Bemisia tabaci* em experimentos independentes. Fortaleza, CE. 2000.

Tratamentos	Mamona		Gergelim		Soja	
	Nº de ninfas	Eficiência(%)	Nº de ninfas	Eficiência(%)	Nº de ninfas	Eficiência(%)
Testemunha	29,25	-	10,75a	-	8,375a	-
Óleo a 0,25%	7,75b	73,50	5,75b	44,58	4,5b	46,27
Óleo a 0,50%	4,75b	83,76	3,75b	63,86	5,5ab	34,33
Óleo a 1,00%	5,25b	82,05	4,25b	59,04	4,25b	49,25
Óleo a 2,00%	4,25b	85,47	0,25b	97,59	3,5b	58,21
Thiamethoxam	10,75b	63,25	3,25b	68,67	4,625ab	44,78

\* Médias não seguidas da mesma letra diferem estatisticamente entre si segundo Duncan 5%.

**Quadro 2.** Fitotoxicidade de Thiamethoxam e óleos de mamona, gergelim e soja sobre *Bemisia tabaci* obtidas através de escala de notas. Fortaleza, CE. 2000.

Tratamentos	Mamona	Gergelim	Soja
Testemunha	0,00c	0,00c	0,00b
Óleo a 0,25%	0,50bc	1,50b	1,00ab
Óleo a 0,50%	0,25bc	0,50c	0,50ab
Óleo a 1,00%	0,75b	2,25ab	1,00ab
Óleo a 2,00%	1,75a	2,75a	1,75a
Thiamethoxam	0,00c	0,00c	0,00b

\* Médias não seguidas da mesma letra diferem estatisticamente entre si segundo Duncan 5%.

Os óleos de mamona, gergelim mostraram eficiência de média a alta em todas as concentrações enquanto que o óleo de soja apresentou eficiência de média a baixa em todas as concentrações estudadas. Os óleos vegetais utilizados apresentam um gradativo aumento de eficiência partindo do óleo secante até o não-secante em todas as concentrações. De forma genérica pode-se afirmar que, até 0,50% foi verificada baixa fitotoxicidade, para os óleos estudados.

## Literatura citada

- Abbott, NS. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267.
- Alencar, JA de. 1998. Manejo de agroquímicos para o controle de mosca-branca *Bemisia tabaci* Bellows & Perring. In Cosenza, GW; Gomes, DT. eds. Manejo integrado da mosca-branca: Plano emergencial para a o controle da mosca-branca *Bemisia*: EMBRAPA. Brasil, spi, 1998: 69-87.
- Jamieson, GS. 1932. Vegetable fats and oils. New York, EUA, The Chemical Catalog Company, Inc. 444 p.
- Mariconi, FAM. 1988. Inseticidas e seu emprego no combate as pragas. São Paulo, Brasil. Nobel. 305 p.
- Moretto, E; Fett, R. 1998. Tecnologias de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos. São Paulo, Brasil. Varela Editora e Livraria LTDA. 150 p.
- Rheenen, HA Van. 1984. Proceedings of the integrated pest control for Grain legumes: Oil treatments for protection against insects. Goiânia: Embrapa-CNPAP: 269-286. Brasil.Embrapa-CNPAP. Documentos no. 2.
- Souza, VF; de Rodrigues, BHN; Athayde de Sobrinho, C; Coelho, EF; Viana, FMP; Silva, PHS da. 1999. Cultivo do meloeiro sob fertirrigação por gotejamento no Meio-Norte do Brasil. Teresina: Embrapa Meio-Norte. Brasil. 68 p. (Circular técnica no. 21).
- Villas-Boas, GL; França, FH; Ávila, AD de; Bezerra, IC. 1997. Manejo integrado da mosca-branca *Bemisia tabaci*. Brasília: Brasil. EMBRAPA-CNPAP: 11. (Circular técnica no. 9).

# *Colletotrichum gloeosporioides*, patógeno de orquídeas en el noreste de Argentina

Cabrera, María G.<sup>1</sup>  
Galmarini, María R.<sup>1</sup>  
Flachsland, Eduardo<sup>2</sup>

**RESUMEN.** El objetivo de este trabajo fue identificar el agente causal de manchas foliares detectadas en plantas Orchidaceae del noreste (NE) de Argentina. Desde el 2001, se recolectaron muestras con síntomas de enfermedad en invernaderos de las ciudades de Corrientes, Resistencia (Chaco) y Formosa, y muestras procedentes de Esteros de Iberá (Corrientes). Los cultivos sobre agar-papa-glucosa produjeron abundantes colonias de micelio aéreo gris y conidios unicelulares, oblongos, hialinos, con extremos redondeados de 16,0 a 24,0  $\mu\text{m}$  x 4,0 a 6,0  $\mu\text{m}$ . Las setas fueron rectas y oscuras. Sobre la base de características morfológicas, el hongo se identificó como *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Sacc. Se manifestó el teleomorfo *Glomerella cingulata*. Se determinó la patogenicidad de un aislamiento sobre hojas de *Cattleya intermedia* x *C. walkeriana*, *Dendrobium nobile* Lind. y *Miltonia flavescens* Lind. en inoculaciones con heridas, y se observaron síntomas una semana después de la inoculación. Se reaisló a *C. gloeosporioides* como patógeno. Este es el primer informe de *C. gloeosporioides* afectando diversas especies de orquídeas en el NE de Argentina.

**Palabras clave:** Orquídeas, antracnosis, *Colletotrichum*, *Glomerella*.

**ABSTRACT.** *Colletotrichum gloeosporioides*, pathogen of orchids in the northeast of Argentina. The aim of this study was to identify the causal agent of leaf spots detected in Orchidaceae plants from the Argentinian northeast (NE). Since 2001, samples with symptoms were collected in greenhouses from the cities of Corrientes, Resistencia (Chaco) and Formosa, and from Esteros del Iberá (Corrientes). Cultures on potato-glucose-agar yielded abundant, gray aerial mycelium and unicellular, hyaline, oblong conidia, with rounded ends. Conidial size ranged from 16.0 to 24.0  $\mu\text{m}$  x 4.0 to 6.0  $\mu\text{m}$ . Setae were straight and dark. Based on morphological characteristics, the fungus was identified as *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Sacc. The teleomorph *Glomerella cingulata* was developed. Pathogenicity of the fungus was determined on leaves of *Cattleya intermedia* x *C. walkeriana*, *Dendrobium nobile* Lind. and *Miltonia flavescens* Lind. Seven days after inoculation, symptoms appeared that were similar to those originally observed on the orchid leaves. *C. gloeosporioides* was isolated again from infected leaves, confirming it as the pathogen. The fungus was reported as a pathogen on 19 genera and species of orchids. This is the first report of *C. gloeosporioides* as a pathogen of several orchid species in the Argentinian NE.

**Key words:** Orchids, anthracnose, *Colletotrichum*, *Glomerella*.

## Introducción

Las orquídeas (Orchidaceae) componen un grupo numeroso de géneros y especies botánicas adaptadas a distintos tipos de hábitats de climas tropicales y subtropicales. La región NE de Argentina posee una abundante población nativa de orquídeas, las cuales incluyen plantas epifitas y terrestres y hasta lacustres, como *Habenaria* sp., y se enriquece día tras día con la introducción de especies exóticas.

Desde el 2000, se observaron diversas especies de orquídeas con síntomas de enfermedad, pero durante el 2001, en reconocimientos realizados en orquidarios e invernaderos de Corrientes, Chaco y Formosa, se detectaron con frecuencia plantas de este tipo con lesiones necróticas y manchas foliares agresivamente destructoras.

Debido al daño observado en ejemplares valiosos, se inició este trabajo con el objeto de identificar el

<sup>1</sup> Cátedra de Fitopatología. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del NE (UNNE), Sargento Cabaral 2131. C.P. 3400, Corrientes, Argentina. cabrera@agr.unne.edu.ar

<sup>2</sup> Cátedra de Fisiología Vegetal. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del NE (UNNE). Sargento Cabaral 2131, C.P. 3400. Corrientes, Argentina.

agente causal de las manchas observadas en diversas especies de orquídeas en la región.

Las observaciones preliminares de los materiales enfermos revelaron la presencia de un hongo con características de *Colletotrichum* Cda. (Barnet y Hunter 1972). Los aislamientos obtenidos resultaron siempre en un hongo del género *Colletotrichum*.

La realización del trabajo se vio obstaculizada, pues la bibliografía disponible sobre patologías causadas por *Colletotrichum* sp. en orquídeas es escasa, (Agricultural Researches Service 1960, Adaskaveg y Hartin 1997, Freeman *et al.* 2000), más aún cuando se intentó encontrar trabajos sobre las enfermedades que afectan este tipo de plantas. No se hallaron referencias en la literatura nacional sobre esta relación hospedante-patógeno. Por este motivo, se iniciaron los estudios con el objetivo de identificar el agente causal de la enfermedad detectada afectando Orchidaceae en el NE de Argentina.

### Materiales y métodos

Se recolectaron 60 muestras de plantas de la familia Orchidaceae, con síntomas de enfermedad, en orquídeas de los siguientes géneros y especies: *Cattleya* sp., *Cattleya* var. *Joan Antonio Nicoli* (híbrido), *Colmanara* Wild. Cats., *Cymbidium* sp., *Dendrobium* sp., *D. nobile* Lindl., *Epidendrum pseudoepidendrum* Reichb., *Habenaria gourlieana* Gillies ex Lind., *Laelia purpurata* Lindley, *Miltonia* sp., *M. flavescens* Lind., *Odontoglossum* sp., *Oncidium bifolium* Sims, *O. lanceanum* Lindley, *O. ornithorhynchum* (H.B.K.), *Paphiopedilum spicerianum* (Pfitz.), *Phalaenopsis* sp., *Phaius thankervillae* (Banks ex L'Her) Blume, *Trigonidium obtusum* Lindl y *Vanilla* sp.

Para recolectar las muestras, se hicieron reconocimientos tanto en invernaderos comerciales como en orquidarios particulares de las ciudades de Corrientes, Resistencia (Chaco) y Formosa (Capital), y también se recibieron para su estudio muestras procedentes de los Esteros del Iberá (Corrientes).

Las muestras recolectadas consistieron en algunos casos de una planta completa y en otros de hojas enfermas, exceptuando siempre los órganos florales. Se registraron los datos sobre las características de los materiales observados.

Se emplearon métodos y técnicas comunes en el estudio de enfermedades de plantas causadas por microorganismos parásitos patógenos, como los postulados de Koch (Commonwealth Mycological Institute 1986).

Para precisar los síntomas y signos asociados con la enfermedad en estudio se realizaron observaciones macroscópicas y microscópicas de muestras frescas, con infección natural. En todos los casos se prepararon también cámaras húmedas y se hicieron cortes histológicos de los tejidos enfermos.

Se llevaron a cabo aislamientos en placas Petri, sobre un medio agarizado (agar-papa-glucosado (APG) al 1,5%, pH=7). Se registró gráficamente la sintomatología en distintas muestras.

En cuanto a la etiología, los tejidos con síntomas de la enfermedad se examinaron microscópicamente, suspendiendo los cortes histológicos y material de raspados con aguja histológica en agua destilada estéril.

Las muestras de cámaras húmedas se examinaron a las 24, 48 y 72 horas, en busca de la manifestación de los diferentes estadios de formación de signos sobre o dentro de los tejidos de los hospedantes. Desde allí también se realizaron los preparados microscópicos para establecer las características morfométricas de las estructuras vegetativas y de fructificación de los microorganismos que se desarrollaron sobre esos tejidos necrosados. De igual modo, se analizó el material obtenido del cultivo en placas de Petri con medio APG (von Arx 1970).

Se llevaron a cabo pruebas de patogenicidad con individuos de *Cattleya intermedia* x *C. walkeriana*, *D. nobile* Lind. y *M. flavescens* Lind. La metodología empleada para las inoculaciones consistió en aplicar, sobre hojas sanas de las plantas de orquídeas, discos de agar con cultivos del hongo con 7 días de desarrollo, cubriéndolos con apósitos de algodón embebidos en agua.

Se hicieron dos tipos de tratamientos: en un caso se practicaron ligeras heridas con una aguja histológica sobre las hojas a las que adosaron los discos agarizados con el desarrollo fúngico; en el otro, solo se aplicaron los discos de inóculo sobre la superficie foliar sana. Se llevaron los testigos correspondientes.

Las plantas se embolsaron por 72 horas y se mantuvieron en condiciones de temperatura ambiente durante todo el experimento. El riego aplicado a las plantas del experimento fue por aspersion diaria de agua con aspersor multiuso manual. Asimismo, se expusieron conidios en cámara húmeda para que germinaran y se desarrollaran los apresorios. Se realizaron estudios microscópicos para determinar las características morfométricas del microorganismo patógeno.



En la determinación etiológica se consultó toda la bibliografía disponible, atendiendo especialmente los trabajos de Mordue (1971), Sutton (1980), von Arx (1981), Adaskaveg y Hartin (1997), Freeman *et al.* (2000) y López (2001).

### Resultados y discusión

De las 60 muestras de orquídeas examinadas, procedentes de distintas localidades del NE argentino, se manifestaron síntomas similares a los de las enfermedades conocidas como antracnosis en 32 oportunidades.

Los síntomas de enfermedad observados en las diversas especies estudiadas se manifestaron como lesiones oscuras, que variaron solo en el tamaño y la tonalidad, según el género y el lugar donde se localizaron. Estas lesiones necróticas fueron observadas en distintos órganos de las orquídeas. Las hojas carnosas pueden presentar daños tanto en el limbo foliar como en la base y el ápice, o como lesiones extensivas que se originan en los márgenes, llegando a cubrir la superficie o causando canchales en el pseudobulbo.

La necrosis en hojas generalmente comienza como "motas" o áreas de color pardo uniforme, sin margen marcado, y al envejecer se bordean de una zona clorótica. Este síntoma se observa tanto en el haz como en el envés de las hojas (Fig.1). Otras veces, las hojas aparecen afectadas longitudinalmente sobre la nervadura central y alrededor de ella.



**Figura 1.** Síntomas de la enfermedad en el envés de hojas de *Cattleya* sp.

Cuando las lesiones envejecen, el centro de las lesiones se torna grisáceo y seco sobre las hojas carnosas, y fructificaciones negruzcas, subepidérmicas, de apariencia globosa y errumpentes se forman en la zona necrosada. En algunos casos, las lesiones oscuras se

presentan con halos de tonalidad parda rojiza, como se manifestó en uno de los ensayos de patogenicidad, donde la clorosis se extendió con rapidez (Fig. 2).



**Figura 2.** *C. intermedia* con síntomas de infección por inoculación con *C. gloeosporioides*.

En las escamas y hojas de parénquimas delgadas, las lesiones aparecen avanzando desde el ápice, desde donde avanzan también las fructificaciones. Algunas de estas últimas se disponen sin orden y presentan setas negras; otras aparecen alineadas, formando circunferencias concéntricas sin setas.

En los pseudobulbos se observaron tejidos oscurecidos que abarcaban grandes sectores del órgano, o lo invadían por completo, ennegreciéndolo completamente. Al llegar a este estado, se los observó contraídos, mustios y secos.

Las hojas carnosas presentaron daños en la base, con lesiones que ascendían por los márgenes, llegando a cubrir toda la superficie. La lesión necrótica fue siempre de color pardo, castaño oscuro o negro, uniforme, inicialmente sin margen marcado y bordeada por una zona clorótica. Este daño se observó tanto en haz de las hojas como en el envés.

En cortes histológicos, el tejido afectado se encontró necrosado, oxidado y surcado por hifas del patógeno. Otras hojas aparecían afectadas longitudinalmente en la zona central, presentando en uno de los márgenes una tonalidad parda rojiza. Sobre las lesiones más avanzadas de las hojas carnosas aparecieron, en todas las muestras, fructificaciones negruzcas de aspecto globoso, generalmente en el centro de la zona enferma (Fig.3).

En las brácteas que recubren los tallos y pseudobulbos, las fructificaciones fueron más evidentes, por ser estos órganos de textura más seca. Las lesiones necróticas aparecían avanzando desde el ápice, desde donde también avanzaba la necrosis. Las fructificaciones se

disponían en el tejido enfermo, unas sin orden, presentando setas negras, y otras alineadas, formando círculos concéntricos, sin setas. Los pseudobulbos recién afectados se tornaron amarillentos, de color pardo-crema y consistencia blanda. En los casos en que fueron afectados, los más jóvenes quedaron sin engrosar y de menor tamaño. El tallo en desarrollo quedó necrosado y presentó también fructificaciones subepidérmicas globosas, oscuras, observables solo con microscopio estereoscópico (40x).



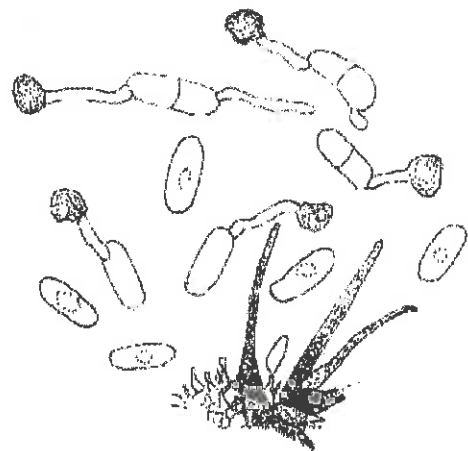
**Figura 3.** Síntomas de infección por *C. gloeosporioides* en hojas de *Oncidium* sp.

En algunos casos de infecciones severas, se pudieron ver lesiones oscuras extensivas en las raíces donde, con la ayuda del microscopio, se observaron las fructificaciones del patógeno. La raíz principal aparecía con la mitad del tejido vascular necrosado longitudinalmente y con aspecto parduzco. Las raíces secundarias se observaban necrosadas, pardas y la corteza se desprendía con facilidad.

Las fructificaciones oscuras observadas en los tejidos enfermos correspondieron a órganos fructíferos de hongos, del tipo acérvulos (Fig. 4).

Algunas cepas del hongo, en sustrato natural, presentaron cortas setas pardas oscuras, con extremos más claros, mezcladas con setas más largas, también oscuras y en número variable, según el hospedante. Por ejemplo, de la cepa aislada de *Dendrobium* sp. se produjeron en promedio 20 setas; en *Cymbidium* sp., 24 setas; y en *L. purpurata*, 17 setas. El largo promedio de las setas fue de 30  $\mu\text{m}$ . Los aislamientos correspondientes mostraron el mismo comportamiento.

En algunos casos, en el mismo hospedante (*Cattleya* sp., *Epidendrum* sp.), el hongo no presentó setas o, si se formaron, fueron escasas, lo cual corresponde con una característica del género *Gloeosporium*, cuya diferencia con *Colletotrichum* es la ausencia de setas en los soros. Sin embargo, autores como Sutton (1980), Hawksworth *et al.* (1995) y López (2001) consideran esta característica como insuficiente para separar géneros, puesto que el número de setas también varía cuando se cultivan en medios artificiales (Arx 1981).



**Figura 4.** Acérvulo con setas, conidióforos, conidios y apresorios de *C. gloeosporioides*.

Las dimensiones de los conidios del primer tipo en sustrato natural oscilaron entre 16-24  $\mu\text{m}$  x 4-6  $\mu\text{m}$ . Los conidios de ambos tipos de acérvulos son hialinos, oblongos o cilíndricos, unicelulares, de extremos redondeados. Los conidios depositados en cámaras húmedas formaron una proporción variable de apresorios coloreados, globosos a irregulares. El tamaño de los apresorios fue de 8,25(12,7)13,50  $\mu\text{m}$  x 8(7,5)11  $\mu\text{m}$ . Los conidios del segundo tipo fueron algo menores y las dimensiones de sus apresorios también (8-10  $\mu\text{m}$  x 6-8,5  $\mu\text{m}$ ). En sustrato artificial, el largo de los conidios osciló entre 16,30(17,41)18,52  $\mu\text{m}$  x 4,62(4,82)5,02  $\mu\text{m}$ .

Los dos tipos del hongo patógeno de orquídeas estudiados en esta oportunidad se identificaron como Coelomycetes del orden Melanconiales, de acuerdo con Hawksworth *et al.* (1995) quienes, al igual que Sutton (1980), consideran insuficientes las características analizadas para separarlos en géneros o especies diferentes, por lo que se los mantuvo como *Colletotrichum*.

Las variaciones sectoriales presentes en las colonias desarrolladas en medio de cultivo y la presencia o no de setas de acuerdo con la información de Arx (1970), referida a los cambios que este tipo de hongos manifiesta en cultivos artificiales, nos inducen a considerar que se trataría de cepas o formas especiales del mismo agente.

En cultivos de más de 25 días en medio agarizado, se observó la formación de cuerpos oscuros, globosos a obpiriformes, ostiolados, esparcidos en el substrato y bajo el micelio. En las preparaciones microscópicas se revelaron peritecios castaños, de 85-95 x 130-200 µm. También se observaron los ascos hialinos con 8 ascosporas elipsoidales, hialinas, unicelulares, de 17 x 4,5 µm en promedio.

En el material de hojas puestas en cámaras húmedas, luego de dos semanas también se observaron peritecios, con las características ya señaladas, sobre el material en vías de descomposición. Estas características del agente coinciden con las de *Glomerella cingulata* (Ston.) Spauld y Schrenk, estado teleomórfico de *C. gloeosporioides*, de acuerdo con Arx (1981) y Mordue (1971).

De las observaciones y exámenes morfométricos de los aislamientos del patógeno, de acuerdo con las descripciones de Mordue (1971) y Sutton (1980) para *C. gloeosporioides* sobre forma y tamaño de conidios, y con la variabilidad en medios artificiales estudiadas por Arx (1981), se interpreta que el hongo estudiado es el mismo hongo melanconiáceo.

Debido a las exigencias de temperatura y luz de las especies de Orchidaceae, y al tipo de manejo delicado necesario para su cultivo, es frecuente observar patologías que devienen por el manejo inadecuado, especialmente por el riego excesivo, pues modifican la susceptibilidad de dichas especies ante los microorganismos del ambiente. Muchas infecciones por *Colletotrichum* spp. son consecuencia de ello. Las plantas debilitadas son el asentamiento predilecto de hongos parásitos facultativos como los del género *Colletotrichum*.

Las pruebas de patogenicidad resultaron positivas a los 7 días de la inoculación en el tratamiento con heridas, con manifestación de síntomas similares a los originales, y los reaislamientos y estudios de laboratorio demostraron la patogenicidad de las cepas, confirmando así los postulados de Koch. Los testigos y las plantas inoculadas sin heridas no manifestaron síntomas durante ese lapso.

Las inoculaciones sin heridas continuaron sin presentar síntomas transcurridos 25 días de la inoculación. Esto indica la importancia de las heridas en las infecciones. Asimismo, el estrés al que se someten las plantas en los invernaderos genera a menudo las condiciones necesarias para que se produzcan infecciones parasitarias.

Los estudios morfométricos y el uso de claves señalaron a *C. gloeosporioides* como el agente etiológico de la antracnosis en orquídeas de diversos géneros y especies que se cultivan en la región NE de Argentina.

Los resultados del trabajo y el análisis de la información bibliográfica permiten concluir que el agente etiológico de la enfermedad observada en las plantas de diversos géneros de orquídeas en la región NE del país es *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.

Se concluye también que, bajo las circunstancias en las que se realizó el trabajo, el desarrollo de la enfermedad está considerablemente influenciado por la elevada humedad del ambiente donde crecieron las plantas, debido al manejo del riego al que estuvieron sujetos los individuos enfermos, predisponiendo en alguna forma la penetración del patógeno en los tejidos del hospedante. Este es el primer informe de *C. gloeosporioides* afectando orquídeas en el país.

## Literatura citada

- Adaskaveg, JE; Hartin, RJ. 1997. Characterization of *Colletotrichum acutatum* isolates causing Anthracnose of almond and peach in California. *Phytopathology* 87(9): 979-987.
- Agricultural Researches Service. 1960. Index of Plant Diseases in the United States. Agriculture Handbook N° 165. Washington, US, Agricultural Research Services. 531 p.
- Arx, JA von. 1981. The genera of fungi sporulating in pure culture. Cramer, Lehre. 315 p.
- Barnet, HL; Hunter, BB. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Minneapolis, US, Burgess Publishing Company. 241 p.
- Commonwealth Mycological Institute. 1986. Manual para patólogos vegetales. Trad. de la 2a. ed. inglesa, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Santiago, Chile. Pedro G. Aguilar. 438 p.
- Freeman, S; Minz, D; Jurkevich, E; Marymon, M; Shabi, E. 2000. Molecular Analyses of *Colletotrichum* species from almond and other fruits. *Phytopathology* 90(6):608-614.
- Hawksworth, DL; Kirk, PM; Sutton, BC; Pegler, DN. 1995. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. 8 ed. International Mycological Institute, UK. CAB International. 616 p.
- López, AMQ. 2001. Taxonomía, patogénesis e controle de espécies do gênero *Colletotrichum*. In Ed. Luz, WC. Revisão Anual de Patología de Plantas RAPP Passo Fundo, Brasil. 9 :291-318.
- Mordue, JEM. 1971. *Glomerella cingulata*. C.M.I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria N° 315.
- Sutton, BC. 1980. The Coelomycetes. Surrey, England. Commonwealth Mycological Institute. 696 p.

# Fagodisuasión de tres extractos vegetales sobre los adultos de *Bemisia tabaci*

Alana Aguiar<sup>1</sup>  
Donald C. Kass<sup>2</sup>  
Gerardo A. Mora<sup>3</sup>  
Luko Hilje<sup>4</sup>

**RESUMEN.** Se evaluó la fagodisuasión (y posible ovidisuasión) causada por extractos metanólicos de *Canavalia ensiformis*, *Tephrosia vogelii* y *Tithonia diversifolia* sobre adultos de la mosca blanca *Bemisia tabaci*, en un invernadero en Turrialba, Costa Rica. Se hicieron dos tipos de experimentos, uno de escogencia restringida y otro de escogencia irrestricta. En el de escogencia restringida, cada extracto se evaluó en cuatro dosis (0,1, 0,5, 1,0 y 1,5% v/v), y se comparó con un tratamiento testigo (aceite mineral Volck 100 Neutral). Se asperjaron plantas de tomate, colocadas dentro de jaulas de manga, donde se liberaron 50 adultos de *B. tabaci* 30 min después. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones, y cada experimento se hizo dos veces. Para determinar si existía fago y ovidisuasión, se utilizó el número de adultos y huevos de *B. tabaci* a las 48 h, y para la mortalidad se contó el número total de adultos vivos en ese intervalo. Todos los extractos causaron fago y/o ovidisuasión a las dos dosis más altas (1,0 y 1,5%). Por tanto, para el experimento de escogencia irrestricta, se utilizaron ambas dosis de cada extracto, y se compararon con dos testigos (agua y Volck), mediante un diseño de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones. Se registró el número de adultos posados en las hojas asperjadas, a los 1, 2, 8 y 15 días después de la aplicación del extracto, así como el número de ninfas a los 15 días. Ninguno de los extractos causó fago u ovidisuasión, a diferencia del Volck, lo cual posiblemente se debió a la volatilización de los principios disuasivos.

**Palabras clave:** *Bemisia tabaci*, mosca blanca, fagodisuasión, ovidisuasión, extractos vegetales.

**ABSTRACT.** Feeding deterrence of three vegetable extracts on *Bemisia tabaci* adults. Methanolic extracts of *Canavalia ensiformis*, *Tephrosia vogelii* and *Tithonia diversifolia* were tested for their possible feeding and oviposition deterrence on whitefly (*Bemisia tabaci*) adults in a greenhouse in Turrialba, Costa Rica. Both restricted-choice and free-choice experiments were conducted. In the first case, each extract was tested at four doses (0.1, 0.5, 1.0 and 1.5% v/v) and compared to a control treatment (Volck 100 Neutral mineral oil). Pairs of treated and untreated potted tomato plants were placed inside sleeve cages, where 50 whitefly adults were released 30 min later. A randomized complete block design with four replicates was used, and each experiment was run twice. Feeding and oviposition deterrence were appraised by counting the number of landed adults and laid eggs at 48 h; mortality was determined by counting the number of living adults at 48 h. All extracts caused feeding and/or oviposition deterrence at the two highest doses (1.0 and 1.5%). Therefore, for the free-choice experiment those doses of each extract were selected and compared to two control treatments (water and Volck) by means of a randomized complete block design, with four replications. The number of landed adults in all treated leaves was counted 1, 2, 8 and 15 days after treatment (dat), as well as the number of nymphs 15 dat. Not one extract caused feeding or oviposition deterrence, in opposition to Volck, which could be explained because of possible volatilization of active principles.

**Key words:** *Bemisia tabaci*, whitefly, feeding deterrence, oviposition deterrence, botanical extracts.

<sup>1</sup> Departamento de Produção Vegetal, Universidade Estadual Paulista, Brasil. alana@fca.unesp.br

<sup>2</sup> Área de Agroforestería, CATIE. Turrialba, Costa Rica.

<sup>3</sup> Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA) y Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

<sup>4</sup> Unidad de Fitoprotección, CATIE. Turrialba, Costa Rica. lhilje@catie.ac.cr

## Introducción

Varias especies vegetales, tales como canavalia (*Canavalia ensiformis*, Fabaceae), tefrosia (*Tephrosia vogelii*, Fabaceae) y titonia (*Tithonia diversifolia*, Asteraceae) pueden ser importantes en sistemas agroforestales tropicales, por su contribución a la conservación del suelo, como cobertura y como abonos verdes (Aymard y Cuello 1991, Buresh y Nang 1997, Rao *et al.* 1998, Jama *et al.* 2000). Asimismo, algunas de ellas contienen principios activos que causan efectos adversos sobre algunas especies de insectos y de otros animales (Grainge y Ahmed 1988, NAPRALERT 2001).

Por tanto, además de estudiar estas especies en cuanto a su potencial para enriquecer la fertilidad del suelo en comunidades agrícolas de Costa Rica donde se siembran hortalizas (Aguiar y Kass, 2002), se evaluaron extractos de todas ellas como posibles disuasivos o repelentes de la mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). Este insecto actúa como vector de varios geminivirus que afectan seriamente tomate y frijol, comúnmente sembrados en dichas comunidades.

El objetivo de esta investigación fue evaluar la fagodisuasión de estos extractos vegetales sobre los adultos de *B. tabaci*, para evitar que inoculen los virus en las plantas. Eventualmente, dichos extractos se podrían aplicar durante las primeras semanas de desarrollo de las plantas (período crítico), cuando estas son más susceptibles, complementados por otras prácticas enmarcadas en el manejo integrado de plagas (Hilje 1993).

## Materiales y métodos

### Localización

Los experimentos se realizaron en un invernadero de la Unidad de Fitoprotección, en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), en Turrialba, Costa Rica, entre marzo y setiembre de 2001.

### Extractos evaluados

Se evaluó la actividad fagodisuasiva (y la posible ovidisuasión) de los siguientes tres extractos metanólicos de follaje: canavalia (*C. ensiformis*), tefrosia (*T. vogelii*) y titonia (*T. diversifolia*). Las muestras se recolectaron en San Juan Sur, Turrialba, en plantaciones agroforestales del CATIE.

La preparación de los extractos se realizó en el Centro de Investigaciones en Productos Naturales

(CIPRONA), de la Universidad de Costa Rica. El follaje se secó en un horno de convección (Mem Mert®), a 40°C. Se tomó una muestra de 100 g de follaje molido, y se maceró en metanol al 70% por 24 h, a temperatura ambiente. La disolución obtenida se filtró y el material sólido se extrajo de nuevo con metanol al 70%, para aumentar el rendimiento de la extracción. La disolución obtenida se filtró a través de papel Whatman No. 4. Los extractos se mezclaron y concentraron al vacío, en un baño de agua a 40°C, utilizando un evaporador rotatorio. Posteriormente, el residuo se liofilizó, para eliminar el agua remanente y evaluar la masa extraída. El material liofilizado se transfirió inmediatamente a frascos sellados. Los frascos se pesaron antes y después de introducir la muestra, para determinar la masa de material.

### Tratamientos y diseño experimental

Se efectuaron dos tipos de experimentos, uno de *escogencia restringida* (planta tratada con una sola concentración vs. testigo, en un espacio cerrado) y otro de *escogencia irrestricta* (plantas tratadas con varias concentraciones vs. testigos, en espacio abierto). En ambos se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar y la unidad experimental correspondió a cada planta que recibió el tratamiento respectivo.

#### *Escogencia restringida*

Cada extracto se evaluó en cuatro dosis (0,1, 0,5, 1,0 y 1,5% p/v), para cuya preparación se pesó la cantidad del extracto en polvo (0,1, 0,5, 1,0 o 1,5 g) en 100 ml de agua. Cada uno se evaluó por separado y se le comparó con un tratamiento testigo, el aceite mineral Volck 100 Neutral (1,5% v/v) (Chevron Chemical Co., California), de repelencia o disuasión demostrada (Hilje y Stansly 1999). En todos los tratamientos, las sustancias se mezclaron con un agente tensoactivo (Citowett, 0,025%) (BASF, Alemania), para mejorar su adherencia al follaje. La preparación de las disoluciones en agua destilada se hizo el mismo día de su aplicación.

#### *Escogencia irrestricta*

Para este experimento se seleccionaron las dosis más eficaces (1,0 y 1,5%) de los experimentos previos. Se realizó en el invernadero, en macetas descubiertas, para exponer las plantas a la colonia de *B. tabaci* allí presente. Las macetas, cada una con una planta de tomate,

se colocaron sobre una mesa rodeada por plantas infestadas por ninfas y adultos del insecto. Dentro de cada bloque, cada planta recibió el tratamiento respectivo (las dosis pertinentes de cada extracto), incluyendo un testigo relativo (Volck) y uno absoluto (agua). Se colocaron sobre la mesa 30 min después de asperjadas. En este caso, la preparación de las disoluciones también se hizo el mismo día de su aplicación.

### Plantas y aspersión

Los extractos se asperjaron en plantas de tomate (var. Hayslip) con tres hojas verdaderas, mediante un atomizador DeVilbiss 15, de punta ajustable (The DeVilbiss, Somerset, PA, EUA), conectado a una bomba de vacío (Cubillo e Hilje 1996), con una presión constante de 10 kg/cm<sup>2</sup>. Las plantas de cada tratamiento se asperjaron en forma separada, en una sala para aplicaciones, para lo cual se colocaron sobre una mesa y se rociaron por el envés y el haz del follaje.

Para el experimento de escogencia restringida, las plantas se introdujeron, 30 min después de asperjadas, en jaulas de manga de 30 x 30 x 45 cm, las cuales tienen paredes de madera, malla fina y vidrio (Serra 1996); en cada caja se colocaron dos macetas, una asperjada con el tratamiento respectivo y la otra con agua destilada. Para el de escogencia irrestricta, las macetas que contenían las plantas se expusieron a los adultos de *B. tabaci* presentes en el invernadero.

### Manipulación de los insectos

Los adultos de *B. tabaci*, de edad desconocida y sin sexar, se capturaron con un succionador manual, de una colonia criada en tomate y berenjena en un invernadero. Para el experimento de escogencia restringida, se liberaron 50 adultos dentro de cada jaula.

### Variables de respuesta y análisis estadístico

En el experimento de escogencia restringida, para determinar si existía fagodisuasión se utilizó como criterio el número de adultos de *B. tabaci* posados sobre cada una de las tres plantas (tratada vs. testigo), 48 h después de aplicado cada extracto. Estos se contaron entre las 10-12 h, cuando la actividad del insecto es menor. El criterio para la ovidisuasión fue el número de huevos depositados en una hoja de cada planta, hasta las 48 h, lo cual se hizo con un estereoscopio. La

mortalidad se determinó contando el número total de adultos vivos dentro de cada jaula (tras verificar que los demás habían muerto) hasta las 48 h, y la comparación se hizo entre jaulas, independientemente de la planta donde estuvieran posados los adultos; es decir, la unidad experimental correspondió a cada jaula.

En el experimento de escogencia irrestricta, se registró el número de adultos posados en las hojas asperjadas, a 1, 2, 8 y 15 días después de aplicado cada extracto. El número de ninfas grandes (3° y 4° instar) se contó a los 15 días en una cuadrícula de 1 cm<sup>2</sup> de una de las dos hojas, utilizando un estereoscopio.

### Análisis

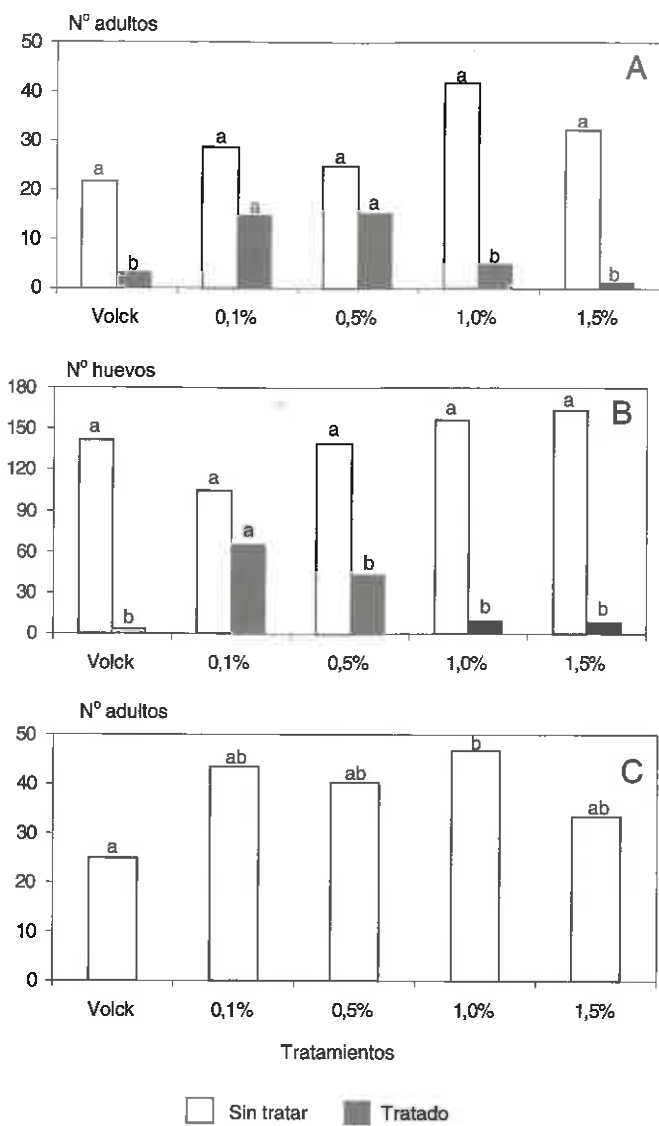
Para determinar la fago u ovidisuasión, los números de adultos o huevos presentes en cada planta dentro de cada jaula se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA), y las medias de cada tratamiento se compararon mediante la prueba de Tukey, con un nivel de significancia de 0,05%, utilizando el paquete estadístico SAS (SAS Institute 1985). Para determinar la mortalidad, el número total de adultos vivos en cada jaula (en ambas plantas) se sometieron a un ANDEVA, y las medias se compararon mediante la prueba de Tukey. Para el análisis, cuando fue pertinente, los datos se transformaron a  $\sqrt{(x+50)}$ .

## Resultados

### Escogencia restringida

#### *Canavalia*

Las plantas tratadas con el extracto de canavalia siempre tuvieron menos adultos de *B. tabaci* posados (Fig. 1A), pero las diferencias entre la planta tratada y la sin tratar no siempre fueron significativas, excepto en las dos dosis mayores (1,0 y 1,5%), cuando fueron muy notorias ( $P < 0,01$ ); en el caso del Volck, las diferencias entre ambas plantas fueron muy grandes ( $P < 0,01$ ). Por su parte, las plantas tratadas con el extracto siempre tuvieron menos huevos, con grandes diferencias ( $P < 0,01$ ) entre la planta tratada y sin tratar a dosis iguales o superiores al 0,5% (Fig. 1B); en cuanto al Volck, las diferencias entre ambas plantas también fueron muy grandes ( $P < 0,01$ ). En relación con la mortalidad, no hubo diferencias entre tratamientos ( $P > 0,05$ ), exceptuando la dosis del 1,0% y el Volck (Fig. 1C).



**Figura 1.** Número promedio de adultos de *B. tabaci* posados (A) y de huevos depositados (B) a las 48 h de aplicado el extracto de canavalia (*C. ensiformis*), así como el número total de adultos (C) en ese intervalo. Los promedios seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente ( $P > 0,05$ ).

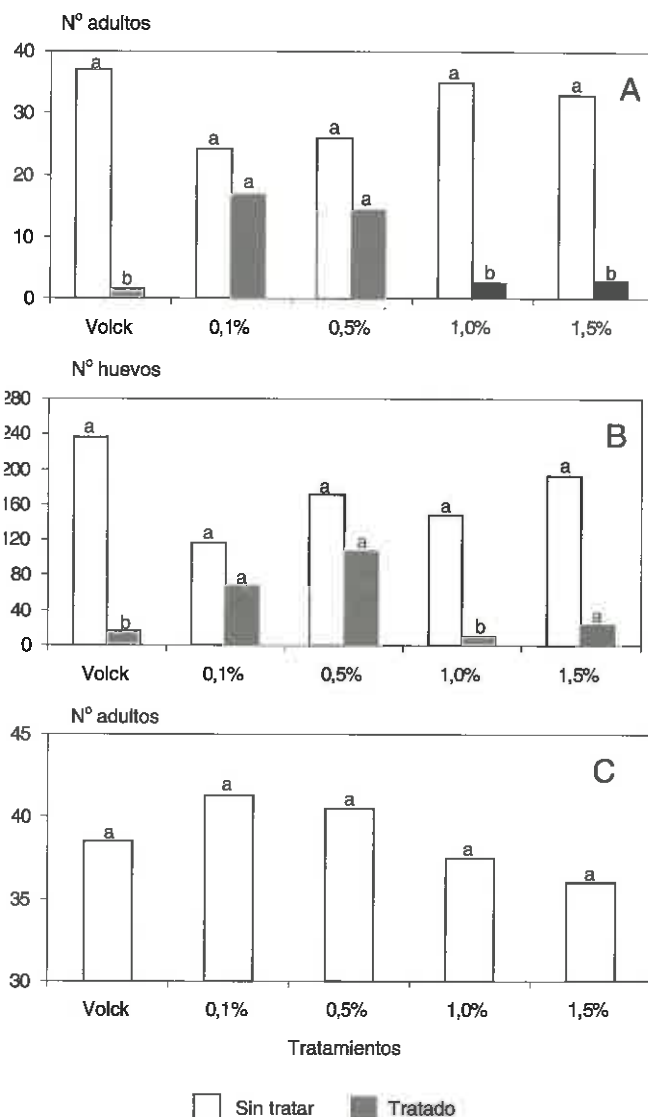
### Tefrosia

Las plantas asperjadas con este extracto siempre tuvieron menos adultos (Fig. 2A), pero las diferencias entre ellas y las no tratadas fueron muy marcadas ( $P < 0,01$ ) solamente a las dos dosis mayores (1,0 y 1,5%); en cuanto al Volck, las diferencias entre ambas plantas fueron muy grandes ( $P < 0,01$ ). Asimismo, las plantas tratadas con el extracto siempre tuvieron menos huevos (Fig. 2B), pero las diferencias entre la planta tratada y sin tratar no fueron significativas, excepto al 1,0%, cuando fueron muy grandes ( $P < 0,01$ );

para el Volck, las diferencias entre ambas plantas fueron muy significativas ( $P < 0,01$ ). En cuanto a la mortalidad, no hubo diferencias entre los tratamientos ( $P > 0,05$ ) (Fig. 2C).

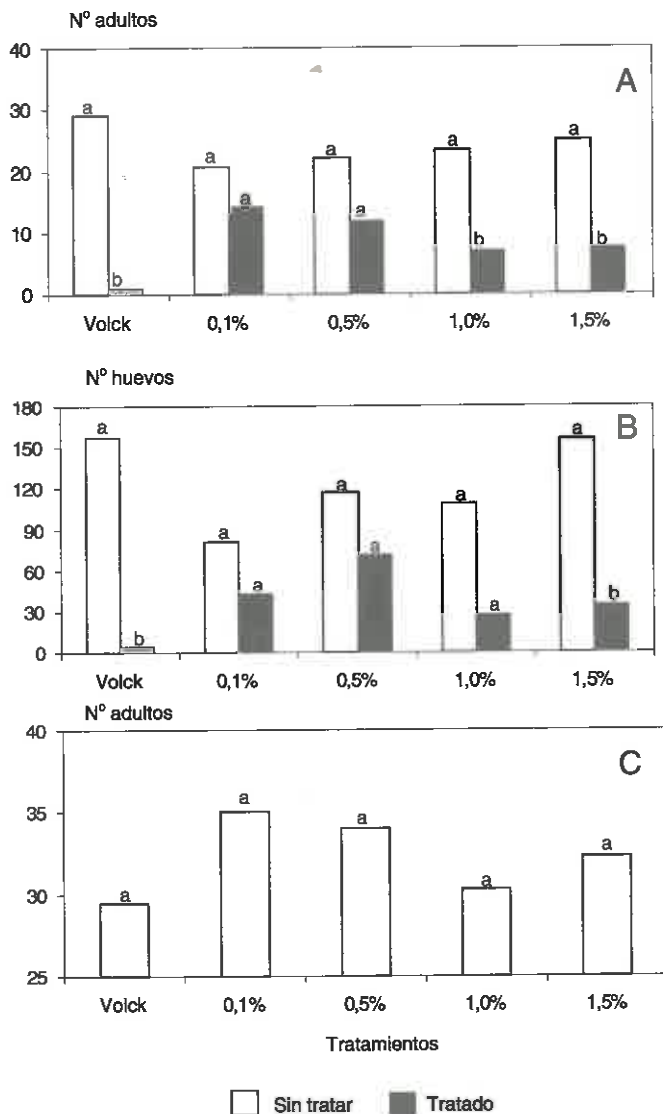
### Titonia

Las plantas tratadas con dicho extracto siempre tuvieron menos adultos (Fig. 3A), aunque las diferencias entre ellas y las no tratadas fueron muy marcadas ( $P < 0,01$ ) solamente a las dos dosis mayores (1,0 y 1,5%); para el Volck, las diferencias entre ambas plantas fueron



**Figura 2.** Número promedio de adultos de *B. tabaci* posados (A) y de huevos depositados (B) a las 48 h de aplicado el extracto de tefrosia (*T. vogelii*), así como el número total de adultos (C) en ese intervalo. Los promedios seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente ( $P > 0,05$ ).

muy pronunciadas ( $P < 0,01$ ). Asimismo, las plantas tratadas con el extracto siempre tuvieron menos huevos (Fig. 3B), pero las diferencias entre la planta tratada y sin tratar fueron muy notorias solamente al 1,5% ( $P < 0,01$ ); en cuanto al Volck, las diferencias entre ambas plantas también fueron muy significativas ( $P < 0,01$ ). En relación con la mortalidad, no hubo diferencias entre los tratamientos ( $P > 0,05$ ) (Fig. 3C).



**Figura 3.** Número promedio de adultos de *B. tabaci* posados (A) y de huevos depositados (B) a las 48 h de aplicado el extracto de titonia (*T. diversifolia*), así como el número total de adultos (C) en ese intervalo. Los promedios seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente ( $P > 0,05$ ).

### Escogencia irrestricta

En el primer recuento de adultos posados, a las 24 h de asperjadas las sustancias, solamente el testigo rela-

tivo (Volck) mostró un notorio efecto disuasivo ( $P < 0,05$ ), con un promedio (11,50 adultos) muy contrastante con el testigo absoluto (agua) (107 adultos) (Fig. 4A). El Volck fue seguido de cerca por el extracto de tefrosia, a ambas concentraciones, pero éstas, a su vez, no difirieron de los demás tratamientos ( $P > 0,05$ ), excepto de la titonia al 1%. Ninguna de las concentraciones de titonia y canavalia difirieron ( $P > 0,05$ ) del testigo absoluto.

Para el segundo recuento, a las 48 h, los números de adultos posados aumentaron en todos los tratamientos. Las diferencias entre el Volck y el testigo absoluto se acentuaron mucho (Fig. 4B), y los valores del Volck fueron cercanamente seguidos por ambas concentraciones del extracto de tefrosia y la menor concentración de canavalia ( $P > 0,05$ ). Sin embargo, ningún extracto, en ninguna de sus concentraciones, difirió ( $P > 0,05$ ) del testigo absoluto.

Para el tercer recuento, una semana después, los números de adultos posados aumentaron aún más en todos los tratamientos. Las diferencias entre el Volck y el testigo absoluto no fueron significativas ( $P > 0,05$ ), y solamente la mayor concentración de titonia y ambas de canavalia difirieron ( $P < 0,05$ ) del Volck (Fig. 4C).

Para el cuarto recuento, dos semanas después, los números de adultos posados disminuyeron en todos los tratamientos (Fig. 4D). No hubo diferencias entre el Volck y los tratamientos ( $P > 0,05$ ), incluyendo al testigo absoluto, excepto la titonia al 1,5%, la cual no difirió de ninguno de los tratamientos ni del testigo absoluto.

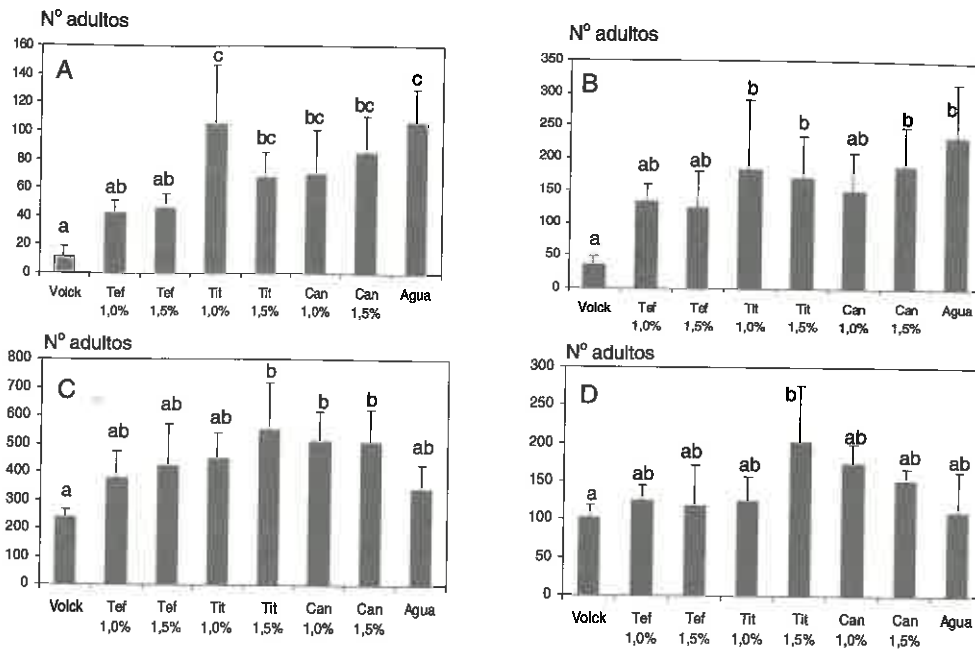
Por su parte, la cantidad de ninfas difirió fuertemente ( $P < 0,01$ ) entre el Volck y todos los tratamientos, incluyendo al testigo absoluto, y no hubo diferencias entre éste y todos los tratamientos con extractos ( $P > 0,05$ ) (Fig. 5).

### Discusión

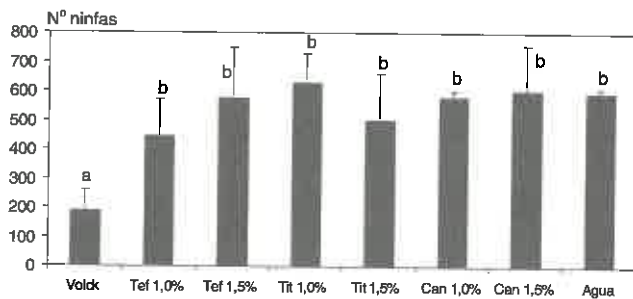
De los extractos evaluados, solamente para la canavalia había evidencias de sus efectos sobre los adultos de *B. tabaci*. En un experimento previo, mostró que podía matar a los adultos (Gómez *et al.* 1997). Sin embargo, en realidad, la metodología empleada entonces (experimento de no escogencia) no era adecuada para discriminar entre la toxicidad y los efectos de fago u ovi-disuasión.

Por el contrario, los dos tipos de experimentos realizados en esta investigación (de escogencia restringida





**Figura 4.** Número promedio de adultos de *B. tabaci* en el intervalo de 1 (A), 2 (B), 8 (C) y 15 días (D). Los promedios seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente ( $P > 0,05$ ).



**Figura 5.** Número promedio de ninfas de *B. tabaci* en un 1 cm<sup>2</sup> de una de las hojas de tomate, después de 15 días de la aplicación de los extractos vegetales. Los promedios seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente ( $P > 0,05$ ).

y de escogencia irrestricta) (Hilje y Stansly 1999), que son complementarios, sí permitieron discriminar entre tres tipos de efectos (fagodisuasión, ovidisuasión y toxicidad); estos podrían manifestarse solos o combinados, pero no fue posible determinarlo.

Un disuasivo o supresor es una sustancia que inhibe ciertas actividades, como la alimentación o la oviposición, una vez que el insecto entra en contacto con la sustancia (Matthews y Matthews 1978), en lo cual contrasta con un repelente, que actúa a distancia. En todos los experimentos de escogencia restringida, fue claro que las plantas tratadas con cualquiera de los tres extractos siempre tuvieron menos adultos de *B.*

*tabaci* posados, lo cual sugiere que hubo fagodisuasión. Por tanto, es claro que todos ellos poseen sustancias que causan fagodisuasión (y quizás ovidisuasión) en los adultos de *B. tabaci*.

No obstante, puesto que cada extracto contiene un amplio complejo de sustancias, es difícil o imposible determinar cuáles de ellas provocan estos efectos; por ejemplo, canavalia contiene triterpenos y alcaloides, tefrosia posee flavonoides, y titonia contiene sesquiterpenos y monoterpenos (NAPRALERT 2001). Algunas de estas sustancias pueden ser estimulantes de la oviposición en varias especies de insectos (Morgan y Mandava 1990).

Antes de insertar su estilete en la planta, los adultos de *B. tabaci* palpan la superficie del follaje o la frotran con la punta del labio, donde poseen setas sensoriales pequeñas, cuya ultraestructura sugiere que son receptores químicos (quimiorreceptores), o químicos y mecánicos a la vez (mecano-quimiorreceptores) (Walker y Gordh 1989). Por su parte, la menor cantidad de huevos depositados posiblemente no obedece a la ovidisuasión *sensu stricto* sino a que, al haber menos hembras posadas, la oviposición en esas plantas fuera menor. En ambos casos, el hecho de que las diferencias entre las plantas tratada y sin tratar no siempre fueran significativas en términos estadísticos puede explicarse por la variabilidad entre las repeticiones.

Para distinguir el efecto disuasivo de la mortalidad directa, en prácticamente ningún caso hubo diferencias estadísticas con respecto al Volck 100 Neutral (en cuanto al número de adultos sobrevivientes hasta las 48 h), que es un fuerte disuasivo de *B. tabaci* (Hilje y Stansly 1999). Puesto que el aceite se aplicó antes de liberar los adultos dentro de las jaulas de manga, este no podía causar mortalidad directa como insecticida físico. Los bajos números de adultos posados en las plantas tratadas con Volck, al igual que en experimentos anteriores, sustentan la hipótesis de que la mortalidad observada obedece al estrés térmico, el agotamiento de las reservas de energía o la deshidratación (Veierov 1996). La mortalidad observada con los extractos podría atribuirse a dichas causas, aunque no puede descartarse que hubiese algún nivel de toxicidad en individuos más susceptibles.

El hecho de que la mortalidad fuera independiente de la dosis, es decir, que no aumentara conforme lo hizo la dosis, refuerza la idea del efecto fagodisuasivo de los extractos. Podría ser que la inanición fuera consecuencia de una primera experiencia desagradable al contactar el extracto, lo cual a su vez podría desestimular al adulto para alimentarse incluso en la planta alternativa no tratada, o a una sobreestimulación que indujera al adulto a volar, causando su muerte por el agotamiento de sus reservas o por deshidratación. En realidad, en el caso de la toxicidad, la muerte de los adultos de *B. tabaci* se puede detectar rápidamente, como se ha demostrado para varios insecticidas comerciales en este tipo de experimentos (Cubillo y Hilje 1996, Gómez *et al.* 1997).

Ahora bien, puesto que los experimentos de escogencia restringida no permiten comparar la eficacia relativa de cada extracto, se debió recurrir al experimento de escogencia irrestricta, en el invernadero, en el cual se expusieron las plantas a los adultos que volaban libremente en un invernadero. Los resultados de este experimento indican que los tratamientos con extractos vegetales no sobresalieron por su efecto fagodisuasivo o repelente, aunque el Volck sí lo hizo. Solamente el extracto de tefrosia, a ambas concentraciones, mostró fagodisuasión, pero su efecto se desvaneció rápidamente, y ya a las 48 h de aplicado no se diferenciaba del testigo absoluto (agua).

*T. vogelii*, al igual que algunas otras fabáceas, contiene rotenona. En su follaje aparecen compuestos rotenoides, como la deguelina, rotenolona, rotenona y sus derivados hidroxilados en las posiciones 5 y 6

(NAPRALERT 2001), los cuales interfieren en el sistema de transporte electrónico, provocando la interrupción del proceso de respiración. Además, hay varios flavonoides (alliptona, 3-O-arabinopiranosido de la quercetina, isoquercetina, rutina y tephrosina) (Morgan y Mandava 1990), a los que se asocia con efectos repelentes y estimulantes de la oviposición en algunas especies de insectos. Estos compuestos se encuentran en toda la planta y no solamente en las semillas.

La falta de eficacia observada no se podría explicar por la calidad de los extractos, pues se encontraban en refrigeración, y su disolución en agua se hizo el mismo día en que se aplicaron a las plantas. Por tanto, quizás los principios fagodisuasivos presentes en el extracto se volatilizaron, debido a la alta temperatura en el invernadero. La rotenona (y posiblemente todos los rotenoides) son inestables a la luz y al aire. Es probable que lo que se haya observado es el efecto inicial de los compuestos, el cual se perdió por la acción de la luz y el aire sobre los rotenoides. Es muy arriesgado extender esta explicación a otros flavonoides, ya que aunque algunos son inestables, otros no lo son tanto. Aunque esto también habría ocurrido dentro de las jaulas en los experimentos de escogencia restringida, es posible que la condición algo hermética de las jaulas contribuyera a mantener la eficacia de dichos principios activos.

En el caso de *C. ensiformis*, no está claro cuáles sustancias podrían ser las activas biológicamente pues, en realidad, no ha habido estudios al respecto sobre insectos (NAPRALERT 2001); más bien, los extractos de semillas de *C. macropleura* y *C. virosa* no han mostrado actividad insecticida ni inhibición de la oviposición en otros insectos.

En las hojas o las partes aéreas, o en toda la planta de *C. ensiformis*, hay flavonoides como la rotenona (NAPRALERT 2001), algunos de los cuales podrían ser tóxicos para especies de insectos. Es probable, sin embargo, que los efectos de mayor toxicidad en extractos acuosos frescos se deban a lectinas, como la concanavalina A y otras, clasificadas como "proteidos", glicoproteínas normalmente presentes en las semillas, pero que podrían estar en el follaje. La extracción con etanol no justificaría atribuir el efecto a este tipo de sustancias, debido a la desnaturalización que se provocaría. Sin embargo, la l-canavanina, que puede actuar como fagodisuasivo (Morgan y Mandava 1990), es un péptido pequeño, que no se degradaría fácilmente y que es extraíble con etanol. Por su parte, la

rutina es un flavonoide que estimula la oviposición (Morgan y Mandava 1990).

Es interesante que tanto canavalia como tefrosia (Fabaceae, antes Leguminosae), así como titonia (Asteraceae, antes Compositae), pertenecen a dos de las familias cuyos miembros son más gustados por *B. tabaci* como hospedantes, pues entre las más de 500 especies reportadas mundialmente como tales, sobresalen Leguminosae (96 especies), Compositae (56), Malvaceae, Solanaceae y Euphorbiaceae (32-35 especies) (Greathead 1986). En América, se ha hallado en cuatro especies de Leguminosae y en 17 especies de Compositae, incluyendo a *Tithonia* sp. (girasol) (Hilje 1995).

Es importante destacar que cuando los compuestos fagodisuasivos puros se estudian individualmente, a la misma concentración en que aparecen en las plantas, son menos activos que en la planta en sí, y que tales sustancias siempre son disuasivas, pero a alta dosis (Warthen 1990); sin embargo, cuando todos los componentes individuales se combinan, puede haber un efecto aditivo que produce una disuasión comparable al efecto causado por la planta misma.

Curiosamente, al sembrar plantas de *T. diversifolia* en el invernadero, hubo una gran afluencia de adultos de *B. tabaci* hacia éstas, lo cual indica que los principios disuasivos o repelentes no actúan en la planta viva, aunque sí en el extracto. Esto podría deberse a que los principios bioactivos presentes en el extracto no sean los mismos que se encuentran en la planta, sino el producto de una degradación o transformación, por ejemplo, de un glicósido a la glicona libre. También podría obedecer a una distribución diferencial de estos principios en los distintos órganos de la planta, o incluso a diferencias fisiológicas causadas por la edad de la planta o una respuesta diferente de las plantas silvestres en comparación con las plantas de invernadero.

El caso de *T. diversifolia* es más complejo. Los estudios de actividad insecticida que han dado resultados positivos se refieren a extractos de flores, tanto polares como no polares, sobre algunas especies de cucarachas; en algunos casos se informa de actividad molusquicida, que podría ser afín a una posible actividad insecticida. Los extractos del follaje contienen citronelal en el aceite esencial, así como limoneno, linalool, nerolidol, alfa y beta pinenos, y verbenona, todos los cuales son repelentes de varias especies de insectos (Morgan y Mandava 1990). Asimismo, algunos, como

los cadinenos, óxido de cariofileno, citronelal, limoneno, linalool, alfa y beta pinenos, espatulenol, tagitinas, terpinen-4-ol y alfa terpineol pueden actuar como fagodisuasivos sobre otros insectos (Morgan y Mandava 1990). Algunos de estos también funcionan como atrayentes, lo cual podría explicar la afluencia de adultos de *B. tabaci* hacia las plantas de invernadero.

Finalmente, en cuanto a la residualidad, fue muy baja para todos los extractos, e incluso para el Volck, pues a la semana de asperjados las cantidades de adultos posados fueron tan altas como las del testigo absoluto. Solamente el Volck, dos semanas después, causó un efecto en la disminución de la cantidad de ninfas de *B. tabaci*, lo cual no parece ser un efecto directo del producto *per se* sobre las ninfas, sino de la menor oviposición ocurrida en los primeros días en las plantas tratadas con Volck.

En cuanto a la aplicabilidad de estos resultados en términos prácticos, sería necesario clarificar si el efecto de los extractos es disuasivo o repelente, lo cual se podría hacer mediante investigaciones detalladas del comportamiento de alimentación y oviposición de *B. tabaci*, con dispositivos tales como los gráficos de penetración eléctrica (Walker y Perring 1994). En el segundo caso, prácticamente no habría posibilidad de que, como vector, *B. tabaci* inoculara los geminivirus a los cultivos de importancia, mientras que en el primer caso siempre existiría tal posibilidad.

En realidad, los estudios en las jaulas y en el invernadero no son totalmente representativos de la realidad del campo, pues en ambos las plantas estaban expuestas directamente a los adultos de *B. tabaci*. En cambio, en el campo, se esperaría que la colonización de los cultivos fuera lenta y gradual, y el disuasivo o repelente tendría mejor oportunidad para ejercer su efecto. Por tanto, desde el punto de vista práctico, se recomienda realizar experimentos de campo con los extractos crudos, para determinar si efectivamente pueden impedir que *B. tabaci* inocule los geminivirus en las plantas de los cultivos de interés, y si éstas aporten rendimientos satisfactorios.

No obstante, aunque existiría la opción de que los agricultores de escasos recursos los utilizaran en forma artesanal, habría altos riesgos de degradación en el campo, debido a la temperatura, luz, precipitación y agentes bióticos, entre otros. Para resolver esta situación, sería pertinente la participación de la industria agroquímica, que podría formular adecuadamente algunas de estas

sustancias, o utilizarlas como modelos para la síntesis química, en lo cual ha demostrado un interés creciente (Hall y Menn 1999). Sin embargo, antes habría que efectuar bioensayos con varias fracciones de cada extracto (en agua, alcohol y éter), para verificar dicho efecto y seleccionar las mejores dosis para realizar pruebas de invernadero y campo.

### Agradecimientos

Esta investigación se realizó como parte de la tesis de *Magister Scientiae* de la primera autora, en el CATIE, para lo cual recibió el apoyo de la Fundación Konrad Adenauer. Se agradece a Juan Carlos Brenes (CI-PRONA) la preparación de los extractos vegetales, y a Arturo Ramírez y Manuel Carballo (CATIE) su apoyo logístico. Además, a Norman R. Farnsworth (College of Pharmacy, University of Illinois, Chicago) el acceso a la base de datos NAPRALERT.

### Literatura citada

- Aguiar, A; Kass, D. 2002. Enriquecimiento de la fertilidad del suelo en condiciones de invernadero con especies usadas como abono verde. *Revista Agroforestería en las Américas* 35-36(9):16-22.
- Aymard, GC; Cuello, NA. 1991. Catálogo y adiciones a las especies neotropicales del género *Canavalia* (Leguminosae-Papilionoideae-Phaseoleae-Diocleinae). In *Canavalia ensiformis* (L.) DC: producción, procesamiento y utilización en alimentación animal. RE Vargas, A León y A Escobar (eds.). Seminario-Taller sobre *Canavalia ensiformis*. Maracay, Venezuela. p. 45-64.
- Buresh, RJ; Niang, AI. 1997. *Tithonia diversifolia* as a green manure: Awareness, expectations and realities. *Agroforestry Forum* 8 (3):29-31.
- Cubillo, D; Hilje, L. 1996. Repelentes. In *Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus*. L Hilje (ed.). CATIE. Turrialba, Costa Rica. p. 77-83. (Serie Materiales de Enseñanza No. 37).
- Gómez, P; Cubillo, D; Mora, G; Hilje, L. 1997. Evaluación de posibles repelentes de *Bemisia tabaci*: II. Extractos vegetales. *Manejo Integrado de Plagas* 46:17-25.
- Grainge, M; Ahmed, S. 1988. Handbook of plants with pest-control properties. New York, US, John Wiley & Sons. 470 p.
- Greathead, AH. 1986. Host plants. In *Bemisia tabaci*- A literature survey. MJW Cock. (ed.). CAB Intl. Inst. Biol. Control. Silwood Park. UK. p. 17-26.
- Hall, FR; Menn, JJ. 1999. Biopesticides: Use and delivery. Humana Press, New Jersey. 626 p.
- Hilje, L. 1993. Un esquema conceptual para el manejo de integrado de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en el cultivo de tomate. *Manejo Integrado de Plagas* 29:53-60.
- Hilje, L. 1995. Aspectos bioecológicos de *Bemisia tabaci* en Mesoamérica. *Manejo Integrado de Plagas* 35:46-54.
- Hilje, L; Stansly, PA. 1999. Development of crop associations for managing geminiviruses vectored by whiteflies in tomatoes. Second Annual Progress Report. US Department of Agriculture (USDA). CATIE. Turrialba, Costa Rica. 98 p.
- Jama, B; Palm, CA; Buresh, RJ; Niang, A; Gachengo, C; Nziguheba, G; Amadalo, B. 2000. *Tithonia diversifolia* as a green manure for soil fertility improvement in western Kenya: A review. *Agroforestry Systems* 49:201-221.
- Matthews, RW; Matthews, JR. 1978. Insect behavior. New York, US, John Wiley & Sons, 507 p.
- Morgan, E; Mandava, NB. (eds.). 1990. CRC Handbook of natural pesticides, V. 6: Insect attractants and repellents. Boca Ratón, Florida, CRC Press. 249 p.
- NAPRALERT (Natural Products Alert). 2001. College of Pharmacy. University of Illinois, Chicago. (Base de datos: nap@pcog1.pmp.uic.edu).
- Rao, MR; Niang, A; Kwesiga, F; Duguma, B; Franzel, S; Jama, B; Buresh, R. 1998. Soil fertility replenishment in sub-Saharan Africa. *Agroforestry Today*. 10 (2):3-8.
- SAS Institute Inc. 1985. Guide for personal computers. Version 6 ed. Cary, North Carolina, US. SAS Institute Inc. 378 p.
- Serra, C. 1996. Biología de moscas blancas. In *Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus*. L. Hilje (ed.). CATIE. Turrialba, Costa Rica. p. 11-21. (Serie Materiales de Enseñanza No. 37).
- Veierov, D. 1996. Physically and behaviorally active formulations for control of *Bemisia*. In *Bemisia 1995: Taxonomy, biology, damage control and management*. D. Gerling & R.T. Mayer (eds.). Andover, Hants, UK. p. 557-576.
- Walker, GP; Gordh, G. 1989. The occurrence of apical labial sensilla in the Aleyrodidae and evidence for a contact chemosensory function. *Ent. Exp. et Appl.* 51:215-224.
- Walker, GP; Perring, TM. 1994. Feeding and oviposition behavior of whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae) interpreted from AC electronic feeding monitor waveforms. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 87(3):363-374.
- Warthen, JD. 1990. Part A: Insect feeding deterrents (1976-1980). In Morgan, ED and Mandava, NB (eds.) CRC Handbook of natural pesticides, V. 6: Insect attractants and repellents. Boca Ratón, Florida, CRC Press. p. 23-134.

# Efecto de la toxina beauvericina sobre *Hypothenemus hampei*

Jorge W. Arboleda V.<sup>1</sup>  
Fernando Delgado B.<sup>2</sup>  
Arnubio Valencia J.<sup>3</sup>

**RESUMEN.** El estudio de la toxina beauvericina (BEA) producida por *Beauveria bassiana* es de suma importancia en el ámbito entomológico, no solo porque este organismo forma parte del control biológico de muchos insectos plaga, sino también porque este tipo de biomoléculas tóxicas participa activamente en los mecanismos de infección de hongos entomopatógenos. En este estudio, se evaluó el efecto de la BEA sobre larvas de primer instar y adultos de *Hypothenemus hampei*, por inmersión y aplicación tópica, respectivamente, utilizando concentraciones de 25, 50 y 75 ng/ml de toxina al 1, 3 y 5 día. Los bioensayos se incubaron en un cuarto climatizado, a 27 °C ± 1° y HR de 75 - 80%, y se realizaron evaluaciones diarias de mortalidad y desplazamiento de los individuos. Los resultados muestran que no hubo diferencia estadística significativa en el efecto de la toxina sobre adultos, pero sí en los efectos sobre larvas de primer instar. Se sugiere que la acción de la BEA fue más activa en larvas que en adultos; alcanzando mortalidades inferiores al 10% al día 1 de evaluación, mayores al 30% para los días 3 y 5, y superiores al 50% al día 8.

**Palabras clave:** BEA, broca del café, micotoxina, *Beauveria bassiana*.

**ABSTRACT.** Effect of the toxin beauvericin on *Hypothenemus hampei*. Beauvericin (BEA) is a toxin produced by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*, a pathogenic agent used in the biological control of plagues. It has been demonstrated that this toxin is involved during the infection process of the host insect by *B. bassiana*. In this study, the effect of beauvericin was evaluated by immersion and topical application on larvae and adults of *Hypothenemus hampei*, respectively, by using concentrations of 25, 50 and 75 ng/ml of toxin in days 1, 3 and 5. The bioassays were incubated at 27 ± 1°C and a RH of between 75-80%. Mortality and individual displacement were evaluated daily. Results did not show significant statistical difference of the toxic effect on adults, but effects on first instar larvae were detected. These results suggest that the toxic effect of BEA was more effective on larvae than on the adults, showing a mortality rate of less than 10% on day 1, more than 30% on days 3 and 5, and more than 50% on day 8.

**Keywords:** BEA, coffee berry borer, mycotoxin, *Beauveria bassiana*.

## Introducción

El cultivo del café constituye uno de los sectores más amplios de la economía de Colombia. Este producto genera grandes fuentes de empleo al sector agroindustrial, y su participación en mercados nacionales e internacionales sitúa al país como uno de los más competitivos en esta área, cuya característica se atribuye al cultivo no sólo de diferentes variedades, sino también al manejo y beneficio de las cosechas.

En los últimos años, el café se ha visto seriamente afectado por la aparición de plagas que deterioran tanto la calidad como la producción en un buen número de hectáreas del cultivo. Actualmente, los centros de investigación y el gremio cafetalero en general centran su atención en el estudio y control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), insecto coleóptero que ingresó a Colombia

<sup>1</sup> Centro Nacional de Investigaciones de Café (CENICAFE). Apartado 2427 Manizales, Caldas, Colombia. JorgeWilliam.Arboleda@cafedecolombia.com

<sup>2</sup> Centro Nacional de Investigaciones de Café (CENICAFE). Apartado 2427 Manizales, Caldas, Colombia. fdelgado@ucaticolcamz.edu.co

<sup>3</sup> Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Caldas. Apartado 275, Manizales. Colombia. arnubio@laciudad.com

en 1988, proveniente de Brasil y Ecuador. Este insecto ataca el grano del café donde deposita sus huevos y se reproduce en forma masiva; el daño se traduce en serios problemas económicos, expresados en la disminución de la producción de café y las exportaciones del mismo (Bustillo *et al.* 1998). Uno de sus métodos de combate consiste en la utilización de hongos entomopatógenos para el control de plagas (Ferrón 1981), aspecto que recibe cada día mayor atención debido a sus efectos sobre el insecto.

Uno de los factores relevantes durante el proceso de infección llevado a cabo por los hongos entomopatógenos es la acción enzimática que se presenta sobre la cutícula del insecto, la cual facilita la degradación de los substratos cuticulares y la producción de micotoxinas, como la beauvericina. Este ciclopéptido juega un papel importante en la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre el insecto, dado que, al parecer, determina la capacidad real del hongo para afectar de manera negativa al insecto y bloquear sus mecanismos de respuesta inmunológica (Vey *et al.* 1985, Ignoffo y Mandava 1988, Eyal *et al.* 1994).

El hongo *B. bassiana* produce la beauvericina (BEA), una toxina bioactiva de naturaleza peptídica, a la que se le atribuyen propiedades insecticidas y antimicrobiales (Thakur y Smith 1997, Nilanonta *et al.* 2000). En 1973, Zacharuk observó que existe una relación directa entre la cantidad de toxina y la patogenicidad producida por el hongo, causando en el huésped la degeneración progresiva de los tejidos, cambios estructurales de las membranas y deshidratación. Asimismo, se evidencian cambios en la actividad eléctrica de los nervios causada por el incremento del consumo de oxígeno en un intento del insecto por restablecerse (Evlakhova y Rakitin 1968). Zizca y Weiser (1993) probaron el efecto de la beauvericina sobre larvas de *Culex pipiens*, encontrando que aun con bajas concentraciones de la toxina (0,1 mg/ml) aplicadas tópicamente sobre el

insecto, se obtiene una mortalidad del 44% en 48 horas. De igual forma, encontraron que el principal síntoma de intoxicación presentado fue la vacuolización generalizada y el efecto tóxico en las mitocondrias, las cuales se hincharon y tomaron el aspecto de vacuolas esféricas; además, la cromatina de los núcleos se concentró en forma de gránulos alargados a lo largo de la membrana nuclear, siendo más afectado el epitelio de las moscas y rompiéndose la membrana basal.

La necesidad de encontrar o desarrollar un mejor bioinsecticida contra la broca del café a partir de *B. bassiana* exige un análisis detenido de los mecanismos de patogenicidad de este hongo; en especial, la participación de la toxina en el proceso degenerativo que se lleva a cabo en el insecto tratado con ella. Por tal motivo, en éste estudio se pretende evaluar el efecto de la BEA sobre adultos jóvenes de *H. hampei* y larvas de primer instar.

### Materiales y métodos

Se utilizaron larvas de primer instar y adultos recién emergidos de *H. hampei*, procedentes de la unidad de cría de parasitoides adscrita a la disciplina de entomología del Centro Nacional de Investigaciones de Café (CENICAFE) (Fig. 1a). Las larvas y adultos del insecto se obtuvieron por disección de granos de café pergamino seco, mantenidos en la oscuridad a 25°C y HR de 75%. Se seleccionaron los adultos que mostraron mayor actividad de vuelo en la colonia (Fig. 1b).

Para la desinfección de las brocas, los adultos activos seleccionados de la colonia se sumergieron durante 10 minutos en una solución de hipoclorito de sodio al 0,5%; se lavaron 3 veces con agua destilada estéril (ADE) y, posteriormente, fueron separados con una malla de muselina. Con la ayuda de un pincel y una toalla estéril, se retiraron los individuos y se secaron durante 2 minutos a temperatura ambiente.

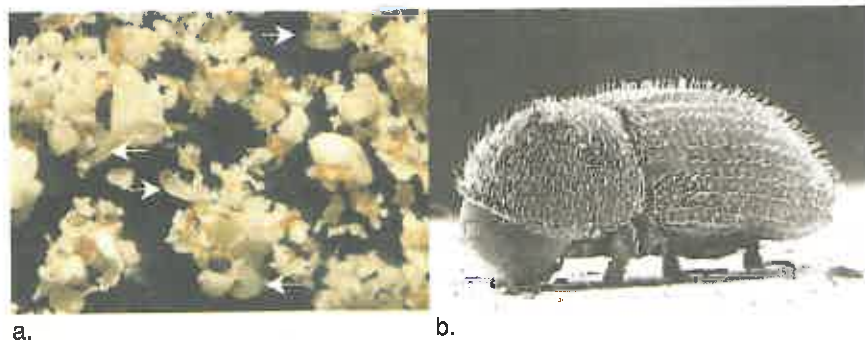


Figura 1. a. Larvas de primer instar de *Hypothenemus hampei* consumiendo café molido. b. Adulto recién emergido.

Se disolvió BEA (cyclo(D-alpha-Hydroxyisovaleryl-L-N-methyl-Phe)<sub>3</sub>) comercial obtenida de Sigma Chemical co. B7510, con masa molecular de 784 y una pureza del 97%, se disolvió inicialmente con metanol puro (Sigma 2001) y, posteriormente, se prepararon soluciones de la toxina a concentraciones de 25, 50 y 75 ng/ml en una mezcla de metanol y agua destilada estéril (30:70). Estas soluciones se aplicaron sobre los adultos y las larvas.

Para el montaje de los ensayos de toxicidad en los adultos, se utilizó una metodología modificada de Vélez *et al.* (1997), mediante la cual se transfirieron los insectos con pinceles estériles en forma individual a viales de vidrio que contenían tres discos de papel húmedo y una mota de algodón estéril a manera de tapa. Se distribuyeron los insectos en cajas plásticas en grupos de 15 individuos, y se realizaron tres aplicaciones tópicas de 2 µl a cada insecto en la parte posterior del tórax, utilizando concentraciones de 25, 50 y 75 ng/ml al 1, 3 y 5 día. Los controles se trataron con aplicación tópica de metanol/agua (30:70) y sin ella. Se depositaron 10 larvas de primer instar de *H. hampei* en cajas de Petri completamente estériles, que contenían 0,5 gramos de café molido; cada una de ellas fue inmersa durante 1' en una solución que contenía 25, 50 y 75 ng/ml de la toxina, al 1, 3 y 5 día. Los controles se trataron con inmersión y sin ella en una mezcla de metanol y agua (30:70). Ambos bioensayos fueron incubados en un cuarto climatizado a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  y HR del 80%.

Para el bioensayo con adultos de *H. hampei*, la unidad experimental constó de 15 viales de vidrio, con cuatro repeticiones por tratamiento distribuidos en dos cajas plásticas que contenían papel toalla para conservar la humedad. En el bioensayo con las larvas de primer instar fueron usados 10 individuos por caja de Petri como unidad experimental, usando tres repeticiones para todos los tratamientos. Para ambos bioensayos, la variable por evaluar fue el porcentaje de mortalidad en diferentes tiempos y, cualitativamente, el comportamiento de los individuos observados por microscopía de luz.

Las evaluaciones de la mortalidad se realizaron durante 20 días, registrando la mortalidad diaria y el desplazamiento de los individuos mediante microscopía óptica de luz. Se calcularon los porcentajes de mortalidad para los 3, 5, 10 y 15 días en insectos adultos y a los 1, 3, 5 y 8 días para las larvas de primer instar. Los individuos se consideraban muertos cuando al

ser observados por el microscopio no presentaban desplazamiento ni respondían a estímulos físicos con el pincel. Además, se evaluaron los individuos muertos por ahogamiento y los contaminados con hongos entomopatógenos. La actividad biológica de la toxina se determinó mediante tres aplicaciones tópicas de 2 µl con una solución de 75 ng/ml, la cual había sido sometida previamente a ebullición durante 10 minutos.

## Resultados y discusión

Existen dos formas por las cuales un producto químico puede penetrar el cuerpo de un insecto: por ingestión directa a través del tubo digestivo, o por los intersticios y poros presentes en la cutícula (Perrot 1996). Por eso, la metodología para la aplicación de la toxina en ambos bioensayos es apropiada y recomendada para estudiar el efecto de la beauvericina sobre larvas de primer instar y adultos de *H. hampei*, porque se obtuvieron resultados similares a los de modelos de campo derivados de las dinámicas de penetración de los insecticidas. Es importante tener en cuenta que para que un producto insecticida sea considerado en el manejo integrado de plagas, su aplicación tópica requiere de la incorporación de otros factores, tales como luz, clima, temperatura y humedad (Stark *et al.* 1995). Por otro lado, este estudio permite conocer aún más la acción insecticida de la BEA y su potencial uso en programas de transformación genética de café.

Al iniciar los bioensayos, los adultos de la broca del café mostraron permanente actividad motora y de desplazamiento, la cual fue disminuyendo gradualmente. En este caso, no se observaron signos de parálisis en los insectos después de cada aplicación de la toxina. Los insectos tratados con 25 ng/ml presentaron una mortalidad de 8,47% y 28,21% al 3 y 10 día, respectivamente. En los insectos tratados con 50 ng/ml no se detectó ningún efecto de mortalidad, pero en el tratamiento de 75 ng/ml se presentó mortalidad al 3, 5 y 10 día, siendo más baja que en el testigo para el día 15 (Cuadro 1).

No se detectaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y el testigo, lo que denota ausencia de efecto de la toxina. Lo anterior muestra una alta variación de la mortalidad en el bioensayo, lo cual puede deberse a la escasa penetración de la toxina, por factores como la fuerte esclerotización de los adultos de broca, sumada a la pérdida del producto por absorción o evaporación, aspecto diferente al que se presenta en larvas, donde una mayor

presencia de proteínas debilita la cutícula, permitiendo la penetración de los productos (Miller 1980).

Durante el bioensayo con adultos, se registró un porcentaje de mortalidad por *B. bassiana* del 1,15% y 0,25% por *Aspergillus* sp., y 0,51% de mortalidad debida a otras causas.

Durante el bioensayo con larvas de primer instar, estas presentaron signos de parálisis y escasa actividad motora. Con el tiempo, las larvas de color blanco lechoso se tornaron amarillas y posteriormente tomaron un color pardo oscuro en todo el cuerpo (Baker 1999) (Fig. 2a). Asimismo, se observó crecimiento de la cápsula cefálica, acortamiento de los segmentos abdominales, disminución del tamaño de la larva tratada y, por último, su muerte (Fig. 2b). Estos resultados son similares a los re-

portados por París y Ferrón (1981) sobre parálisis y muerte en larvas de *Bombix mori*, evaluando el efecto de la toxinas destruxina B y protodestruixina (Suzuki y Tamura 1972), ambas obtenidas de *Metarhizium anisopliae*.

En larvas de primer instar, se observó a las 24 horas (día 1) un incremento en la mortalidad, directamente proporcional a la concentración usada. Este fue el caso contrario a lo sucedido el día 3, donde no se presentaron diferencias entre tratamientos, pero sí diferencias significativas con respecto al testigo para todos los días. La mayor mortalidad acumulada fue de 53,33% al día 8, correspondiente con el tratamiento de 25 ng/ml con tres aplicaciones, pero este valor no difiere estadísticamente de los demás tratamientos en sus respectivas frecuencias (Cuadro 2).

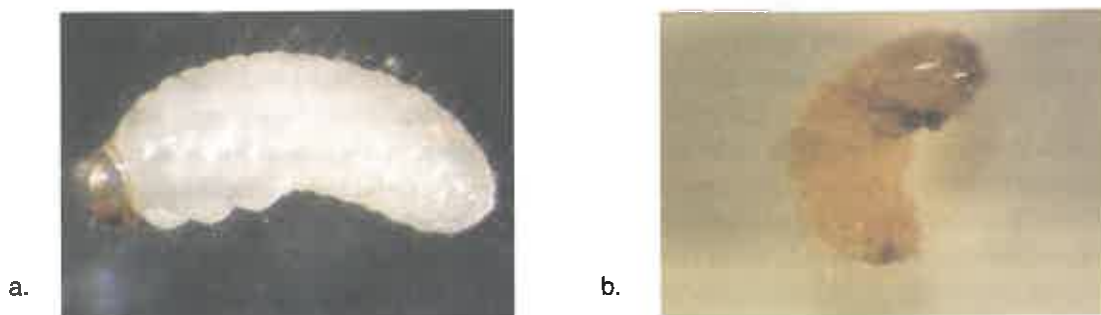


Figura 2. Larvas de primer instar de *Hypothenemus hampei* a. Sin tratar. b. Tratada con 75 ng/ml de una solución de beauvericina (BEA).

Cuadro 1. Mortalidad de adultos de *Hypothenemus hampei* durante los días de evaluación.

Día de evaluación	N° de aplicaciones	Mortalidad (%)			Control (metanol y agua 30:70)
		25 ng/ml	50 ng/ml	75 ng/ml	
3	1	3,87366	1,89707	1,27183	2,03830
5	1	8,47343	3,42132	3,81550	2,98249
	2	4,50535	2,00535	0	1,78562
10	1	20,31845	8,24500	17,84971	13,50618
	2	2,22779	9,04264	0,00170	9,09044
	3	28,21127	8,92862	3,57066	3,57124
15	1	29,19129	19,24044	17,84971	31,50090
	2	25,61410	13,87885	8,06528	27,73732
	3	28,21127	14,74192	25,08039	9,96796



**Cuadro 2.** Mortalidad de larvas de primer instar de *Hypothenemus hampei* durante los días de evaluación.

Día de evaluación	N° de aplicaciones	Mortalidad (%)			Control (metanol y agua 30:70)
		25 ng/ml	50 ng/ml	75 ng/ml	
1	1	2,22222	2,22222	4,44444	1,11111
3	1	25,38586	21,82265	18,40450	2,46579
5	1	32,14290	32,14290	17,85710	1,19048
	2	27,73810	18,45238	18,67820	3,10345
8	1	46,42857	50	42,857143	11,30952
	2	50	42,85714	25	7,14286
	3	53,33333	50	36,66667	10

El efecto de la beauvericina ya ha sido evaluado previamente sobre larvas de otros insectos y sobre bacterias, haciendo uso de diferentes métodos de aplicación: por aspersión en hojas contra *Leptinotarsa decemlineata* (Gupta *et al.* 1991); con pruebas directas en líneas celulares de *Aedes albopictus* (Uribe *et al.* 1997); y a través de bioensayos de toxicidad sobre bacterias (Castlebury *et al.* 1999). En todos los casos, las alteraciones morfológicas fueron similares a las reportadas en este estudio con larvas de primer instar de *H. hampei*. Estudios similares evaluaron el efecto de destruxina B sobre larvas de *Galleria mellonella*, presentando una mortalidad del 50% (Tamura y Suzuki 1978, Paris *et al.* 1981). Aplicaciones tópicas de la misma toxina sobre larvas de *C. pipiens* mostraron porcentajes de mortalidad similares (Tamura y Takahashi 1971).

Los resultados de este estudio indican que, además de la acción enzimática que ejercen los hongos patogénicos como *B. bassiana* sobre *H. hampei* (Delgado *et al.* 2001), las toxinas que estos organismos producen cumplen una función muy importante dentro de los mecanismos de infección de los hongos entomopatógenos (Kucera 1971), en virtud del incremento en la mortalidad a través del tiempo para todos los tratamientos sobre larvas de primer instar; así como por su poca movilidad y los cambios en la coloración de las larvas tratadas, posiblemente por la presencia de la toxina en sus tejidos.

Se considera que factores como el grosor de la cutícula, la presencia de melanina, la fuerte esclerotización en coleópteros adultos, la detoxificación de la mo-

lécula y la mayor permeabilidad de la cutícula, entre otros, inciden de manera diferencial con respecto a la eficiencia de la toxina sobre larvas y adultos.

La baja mortalidad de adultos de *H. hampei* causada por la aplicación tópica de beauvericina se debió a factores como la vía de penetración, el grosor de la cutícula, la notable presencia de melanina en el insecto adulto, la fuerte esclerotización que se presenta en coleópteros y la mayor capacidad del adulto para metabolizar la toxina a través de su respuesta de defensa. Todos los tratamientos y dosis de beauvericina usadas en los bioensayos con larvas de primer instar sugieren que la penetración de la toxina es mucho más rápida y activa en estas que en los adultos, debido a que en ellas existen las condiciones que favorecen o incrementan la permeabilidad y circulación del compuesto a través de la cutícula.

El estudio de biomoléculas de interés entomológico, como las toxinas, permitirá plantear nuevas alternativas en la lucha contra los insectos plaga. Los resultados de este estudio permiten profundizar más en el conocimiento de los mecanismos de infección de los hongos entomopatógenos, especialmente en *B. bassiana*, agente biológico productor de toxinas tipo beauvericina y patógeno de la broca del café *H. hampei*.

### Agradecimientos

El presente estudio se realizó gracias al apoyo financiero del Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología "Francisco José de Caldas" (CONCIENCIAS) y la Federación Nacional de Cafeteros, a través de su Centro Nacional de Investigaciones de Café (CENICAFE).

## Literatura citada

- Bustillo, AE; Cárdenas, MR; Villalba, DA; Benavides P; Orozco, J; Posada, FJ. 1998. Manejo Integrado de la Broca del Café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Chinchiná, CO. Centro Nacional de Investigaciones en Café CENICAFE. 134 p.
- Baker, PS. 1999. La broca del Café en Colombia; Informe final del proyecto MIP para el Café. Chinchiná, CO. DIFD – CENICAFE – CABI Bioscience. 154 p.
- Castlebury, LA; Sutherland, JB; Tanner, LA; Henderson, AL; Cerniglia, CE. 1999. Use of a bioassay to evaluate the toxicity of beauvericin to bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 15:119-121.
- Delgado, F; López, Y; Girado EM. 2001. Actividad enzimática de hongos y su patogenicidad sobre *Hypothenemus hampei*. *Manejo Integrado de Plagas* 60: 43-49.
- Evlakhova, A; Rakitin, A. 1968. Insecticidas biológicos y sus aplicaciones. *Doklady Akademii Nauk*. 178:485-488.
- Eyal, J; Mabud, KJ; Fischbein, JF; Walter, JF; Osborne, LS. 1994. Assessment of *Beauveria bassiana*. Eco-1 strain, which produces a red pigments for microbiological control. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 44:65-79.
- Ferrón, P. 1981. Pest control by the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. In BURGESS, H. ed. *Microbial control of pest and plant diseases. 1970-1980*. New York, US. Academic Press. p. 465-482.
- Gupta, S; Krasnoff, SB, Underwood, NL, Renwick, JAA; Roberts, DW. 1991. Isolation of beauvericin as an insect toxin from *Fusarium semitectum* and *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. *Mycopathologia* 115:185-189.
- Ignoffo, CM; Mandava, NB. 1988. *Handbook of natural pesticides. v. 5 Microbial Insecticides. Part A. Entomogenous protozoa and fungi*. Boca Raton, US. CRC Press. 243 p.
- Kucera, M. 1971. Toxins of the entomogenous fungus *B. bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology* 17:211-215.
- Miller, TA. 1980. *Cuticle techniques in arthropods*. New York, US. Springer-Verlag. 410 p.
- Nilanonta, Ch; Isaka, M; Kittakoop, P; Palittapongarnpim, P; Kamchonwongpaisan, S; Pittayakhajonwut, D; Tanticharoen, M; Thebtaranonth, Y. 2000. Antimycobacterial and Antiplasmodial Cyclodepsipeptides from the Insect Pathogenic Fungus *Paecilomyces tenuipes* BCC 1614. *Planta Medica* 66:756-758.
- Paris, M; Das, BC; Ferrón, P. 1981. Depsipeptides from *Metarhizium anisopliae*. *Phytochemistry* 20(4): 715-723.
- Perrot, M. 1996. Les insectes font de la résistance. *Science & Vie mars* 942: 92-97.
- Sigma (SIGMA, US). 2001. *Catalog Sigma - Aldrich 2000 - 2001*. US. 2843 p.
- Stark, DJ; Jepson, CP; Mayer, FD; 1995. Limitations to use of topical toxicity data for predictions of pesticide side effects in the field. *Journal of Economic Entomology* 88 (5):1081-1088.
- Suzuki, A; Tamura, T. 1972. *Agricultural biological chemistry* (36): 896.
- Tamura, T; Suzuki, A. 1978. *Bioactive peptides*. Tokio. 105 p.
- Thakur, R; Smith, J. 1997. *Liquid Chromatography / Thermospray / Mass Spectrometry Analysis of Beauvericin*. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 45:1234-1239.
- Uribe, SS; Saldarriaga, Y; Pineda, F; Arango, J; Vélez, I. 1997. Producción de beauvericina por *Beauveria bassiana* 9401 aislada sobre *Lutzomya* sp. *Revista Colombiana de Entomología* 23:3-4.
- Vélez A, PE; Posada F, FJ; Marín M, P; Gonzáles, MT; Osorio V, E; Bustillo P, AE. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Chinchiná, CENICAFE. p. 1-34. (Boletín Técnico Cenicafé N° 17).
- Vey, A; Quiot, JM; Vago, C; Farges, J. 1985. Effect immunodépresseur de toxines fongiques inhibition de la reaction de encapsulement multicellulaire par les destruxines. *Comptes Rendus de l'academie des Séances*, 300: 647-651.
- Zacharuk, R. 1973. Penetration of the cuticular layers of elaterid larvae (Coleoptera) by the fungus *Metarhizium anisopliae* and notes on bacterial invasion. *Journal of Invertebrate Pathology* 21: 01-106.
- Zizca, J; Weiser, J. 1993. Effect of beauvericin a toxic metabolite of *Beauveria bassiana*, on the ultrastructure of *Culex pipiens* autogenicus larvae. *Cytobios* 75:13-19.

## Aportes al conocimiento del manejo del complejo mosca blanca-geminivirus en Costa Rica

Pilar Ramírez<sup>1</sup>  
Claudia Zúñiga<sup>2</sup>

**RESUMEN.** Las enfermedades asociadas con el complejo mosca blanca-geminivirus en diferentes cultivos constituyen uno de los problemas más apremiantes de la agricultura mundial. Este complejo está distribuido en las regiones tropicales y subtropicales. El control de la diseminación de la enfermedad es complicado, pues en él intervienen varios factores. Desde 1994, en la Universidad de Costa Rica, el Programa de Investigación de Control Molecular de Geminivirus (PROGEMINI-UCR) desarrolla una estrategia molecular de diagnóstico y caracterización de nuevos geminivirus, contribuyendo así al manejo de este complejo.

Los proyectos desarrollados, asociados al Plan de Acción Regional para el Manejo de Moscas Blancas y Geminivirus, incluyen: la identificación de nuevos geminivirus en frijol, cucurbitáceas, soya, tomate, chile dulce, papaya y plantas silvestres; la determinación de fuentes de inóculo; estudios de traslocación y cuantificación de geminivirus asociados al cultivo; severidad y reducción del rendimiento en la producción; y el desarrollo de metodologías para el estudio y manejo del complejo. Las secuencias virales descubiertas dentro del Programa constituyen un banco de genes fundamental para el desarrollo de plantas transgénicas resistentes a estos patógenos y se pueden usar como sondas específicas de diagnóstico.

PROGEMINI-UCR ha apoyado la formación de científicos y técnicos en América Latina. Los nexos de cooperación interinstitucional establecidos permiten el desarrollo de investigaciones pertinentes y la transferencia exitosa de tecnología, lo que contribuye a aumentar la competitividad de la agricultura costarricense frente a los retos de una economía globalizada.

**Palabras clave:** Complejo mosca blanca-geminivirus, PROGEMINI, estrategia molecular.

**ABSTRACT.** Contributions to whitefly-geminivirus management in Costa Rica. The diseases associated with the whitefly-geminivirus complex in different crops are one of the most important problems facing agriculture worldwide. This complex is distributed among tropical and subtropical regions. The control of the disease's dissemination is complicated due to several intervening factors. Since 1994, the University of Costa Rica research program for the molecular control of geminivirus (PROGEMINI-UCR) has been developing a molecular strategy for the diagnosis and characterization of new geminiviruses, contributing to the management of the whitefly-geminivirus complex.

The project's development, associated with the Regional Action Plan for the management of whitefly and geminivirus, included: identification of new geminiviruses infecting beans, cucurbits, soy, tomatoes, pepper, papaya and wild plants; determination of the inoculum's sources; translocation and quantification studies associated to crop, severity and yield reduction; and development of management methodologies for the study of the complex. Viral sequences discovered within the Program constitute a gene bank for the development of transgenic plants resistant to these pathogens. These sequences could also be used as specific diagnostic probes.

PROGEMINI-UCR has supported the training of new scientists and technicians in Latin America. Interinstitutional cooperation links allow the development of pertinent research projects and the successful transference of technology, helping to increase the competitiveness of Costa Rican agriculture facing the challenge of a globalized economy.

**Key words:** Whitefly-geminivirus complex, PROGEMINI, molecular strategy.

<sup>1</sup> Escuela de Biología, Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. pramirez@biologia.ucr.ac.cr.

<sup>2</sup> Centro de Investigación en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica. czuniga@itcr.ac.cr

## Introducción

Las enfermedades producidas por geminivirus transmitidos por moscas blancas (*Bemisia tabaci* Gennadius) en diferentes cultivos constituyen uno de los problemas más importantes de la agricultura mundial. El complejo mosca blanca-geminivirus está distribuido en todas las regiones tropicales y subtropicales, infectando principalmente tomate (Czosnek y Laterrot 1997, Polston y Anderson 1997), cucurbitáceas (Polston y Anderson 1997) y frijoles (Gálvez y Morales 1989). Las enfermedades causadas por las infecciones con estos virus provocan verdaderas catástrofes en la producción de algunos cultivos, con pérdidas extremadamente severas, especialmente para los pequeños agricultores, en América Central, Suramérica y el Caribe (Gálvez y Morales 1989, Brown y Bird 1992, Polston y Anderson 1997, Morales y Anderson 2001).

En Costa Rica, el problema fitosanitario generado por dicho complejo en diferentes cultivos llevó al Gobierno de la República a decretar, en 1997, "el combate particular y obligatorio de la plaga conocida como Mosca Blanca" (Decreto Ejecutivo #27051).

El control de la diseminación de la enfermedad es complicado, pues en él intervienen varios factores, como insectos vectores, virus, cultivares y malezas que podrían ser reservorios del patógeno. Dichos factores forman relaciones complejas, dinámicas y cambiantes (Zúñiga y Ramírez 2002). La información sobre el tipo de geminivirus asociado a las enfermedades en los cultivos es importante para orientar las medidas preventivas y correctivas y así disminuir el impacto negativo de las enfermedades producidas por el complejo mosca blanca-geminivirus.

Los métodos de control del complejo más utilizados en Costa Rica han sido:

1. El control químico, mediante aplicaciones sucesivas de insecticidas, lo cual podría tener serias consecuencias para el ambiente, la salud humana y la biodiversidad (Hilje 2001).
2. El empleo de métodos preventivos, bajo la noción del manejo integrado de plagas (MIP), para limitar la reproducción o la diseminación de las moscas blancas y los geminivirus, entre los que destacan el uso de semilleros cubiertos con mallas y las coberturas vivas del suelo (Hilje 2001). Sin embargo, para mejorar los programas de MIP, es necesario comprender mejor ciertos aspectos epidemiológicos de las relaciones que se dan dentro del complejo mosca blanca-geminivirus como, por ejemplo, la

distribución geográfica de la infección, y las correlaciones entre la abundancia del insecto vector, la incidencia de la enfermedad y la diversidad del patógeno. La información epidemiológica se podría usar para predecir epidemias del virus (Salati *et al.* 2002).

Desde 1994, el Programa de Investigación de Control Molecular de Geminivirus (PROGEMINI-UCR) tiene como objetivo general desarrollar una estrategia molecular de diagnóstico y caracterización de nuevos geminivirus, para así contribuir al control del complejo mosca blanca-geminivirus en cultivos de importancia económica y alimentaria. Sus principales actividades son:

- Apoyar proyectos sobre la evaluación de la resistencia de plantas a la infección, y la determinación del ámbito de hospedantes y malezas reservorios de estos patógenos.
- Generar clones de genes virales, que permitan diseñar estrategias biotecnológicas de control, como podría ser la producción de plantas transgénicas resistentes (Clough y Hamm 1995, Hanson y Maxwell 1999).
- Contribuir al desarrollo tecnológico de Costa Rica y la región centroamericana, al implementar y transferir tecnologías nuevas mediante la formación de recursos humanos.
- Acumular infraestructura y una amplia experiencia en el uso y desarrollo de métodos moleculares para la detección y caracterización molecular de geminivirus (Ramírez y Rivera 1996, Ramírez 1997, Ramírez *et al.* 2000) presentes en diferentes cultivos y malezas en América Central.
- Desarrollar cooperación interinstitucional e internacional, especialmente con la Universidad de Madison, EUA, el CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza), el Instituto Tecnológico de Costa Rica y otras agencias internacionales.

En este artículo se describe la estrategia molecular aplicada, los resultados obtenidos y el impacto ejercido en los últimos años por PROGEMINI-UCR.

## Estrategia molecular

La estrategia molecular utilizada por el Programa está constituida por un conjunto coordinado de técnicas del ADN recombinante. Las metodologías incluyen: toma y preservación de la muestra, extracción del ADN total de la planta infectada, hibridación molecular para

la detección del ADN viral y PCR (reacción en cadena de la polimerasa) para la amplificación del ADN viral (Fig. 1). Además de la clonación del ADN viral amplificado, su secuenciación y posterior análisis bioinformático, lo que permite la caracterización molecular del virus involucrado en la enfermedad.

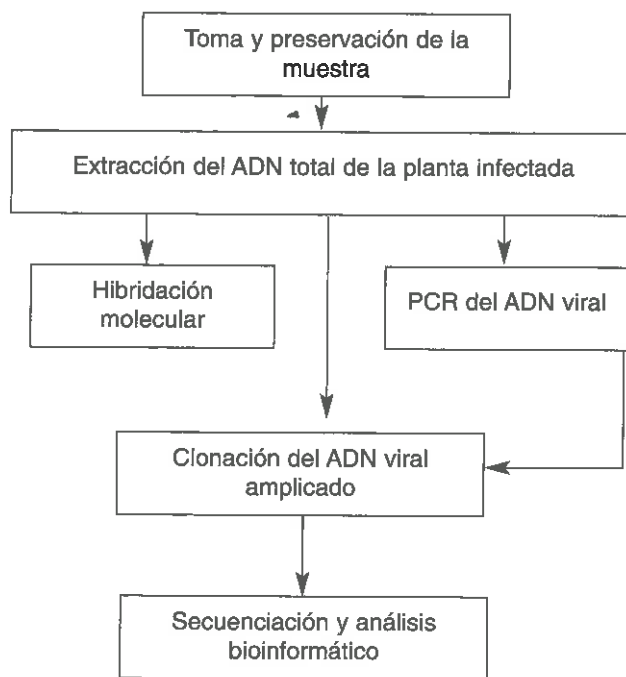


Figura 1. Estrategia molecular utilizada para el diagnóstico y la caracterización de geminivirus.

#### Toma y preservación de la muestra

Las muestras foliares se obtienen de los cultivos que se desea analizar para detectar la presencia de los patógenos. Cada una va acompañada de una ficha en donde se indica el tipo de cultivo, la localidad, la fecha y los síntomas presentes. Estas se transportan al laboratorio dentro de bolsas plásticas en hielo, donde se colocan en tubos Falcon® de 50 ml, se liofilizan por 16 horas y se guardan en un sitio fresco y seco, selladas con papel Parafilm®. También se pueden utilizar las muestras frescas, recién recolectadas, o desecadas con sílice gel.

Para poder reproducirse, estos virus deben inducir las células a duplicar el ADN. Por eso, además de provocar enfermedades, los geminivirus son una herramienta valiosa para estudiar la relación virus-planta, la duplicación del ADN y la regulación del ciclo celular vegetal (Hanley-Bowdin *et al.* 1999).

Para evitar la hidrólisis de los ácidos nucleicos y las proteínas de los tejidos, las muestras se deben congelar y secar a bajas temperaturas (liofilizar) o secar rápidamente a temperatura ambiente.

#### Extracción del ADN total de la planta infectada

La extracción es un procedimiento básico y fundamental para separar las proteínas de los ácidos nucleicos. Se utiliza 0,5 g de material vegetal por el método Dellaporta *et al.* (1983). Los botones obtenidos se resuspenden en 50 µl de agua destilada y se congelan a -20°C. Este proceso es más eficiente cuando se usa fenol y cloroformo que cuando se usa sólo uno de los solventes. El fenol desnaturaliza eficientemente las proteínas, pero no inhibe la actividad de las ARNasas (Sambrook *et al.* 1989). De esta forma, se extrae el ADN de la planta, el ADN viral simple banda y el ADN doble banda o forma replicativa del virus.

#### Hibridación molecular para la detección del ADN viral

La técnica de hibridación molecular se basa en la capacidad de renaturalización que poseen las cadenas complementarias de simple banda de los ácidos nucleicos. Para que se dé este proceso, no es necesario que las cadenas provengan de la misma fuente de ácidos nucleicos.

La hibridación se puede realizar en solución o sobre una matriz sólida. El ARN o ADN de simple banda que se agrega, marcado previamente, se denomina "sonda". Las muestras por analizar sólo se hibridarán con las secuencias específicas para las que son complementarias. Existen diferentes métodos para el marcado de la sonda, que conllevan el uso de radiactividad, fluorescencia o quimioluminiscencia (Amersham Bioscience 2002).

Actualmente se usa el procedimiento de detección "Gene Images AlkPhos Direct" (N° cat: RPN 3680/3681/3690/3691/3692), basado en un sistema de dioxina quimioluminiscente, donde se marca el ADN o ARN con fosfatasa alcalina.

Para controlar la eficiencia de la hibridación, se pueden alterar la temperatura y la concentración de sales. La detección de la señal quimioluminiscente se da cuando la sonda, unida a la fosfatasa alcalina, cataliza la descomposición de un sustrato (dioxetano). Esta descomposición emite una señal de luz que es detectada en una autoradiografía.

Para la detección de geminivirus, se utilizan sondas universales y específicas. Las primeras permiten

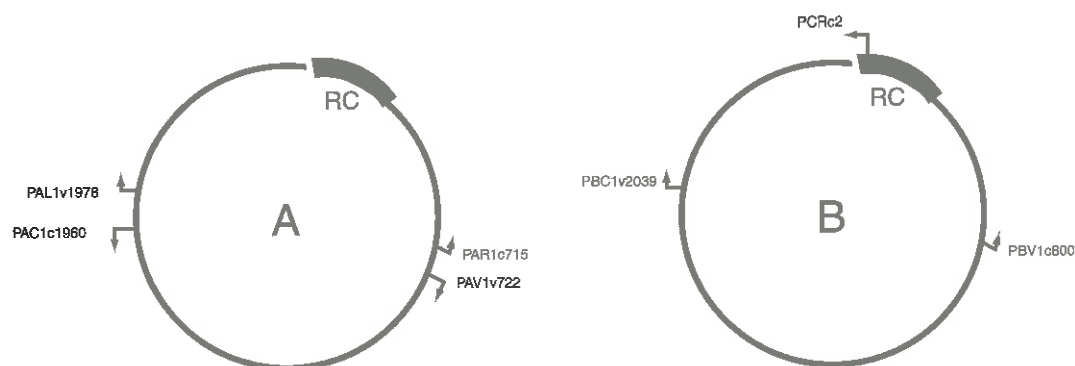
detectar la mayoría de los geminivirus conocidos; por ejemplo, una sonda universal puede estar compuesta por el componente A de los virus BGMV-GA, BGMV-BZ, BDMV y del mosaico dorado del *Calopogonium* (CalGMV). Por otro lado, una sonda específica suele reconocer un virus en particular.

La hibridación molecular, a diferencia de la de PCR, permite analizar una gran cantidad de muestras en menos tiempo y a un costo más bajo.

### PCR para la amplificación del ADN viral

El método de la reacción de polimerización en cadena del ADN (PCR) se utiliza para obtener copias *in vitro*

de una molécula de ADN a partir de cantidades pequeñas de material. En PROGEMINI, se aplica siguiendo el protocolo descrito por Gilbertson *et al.* (1991). Para la amplificación de fragmentos del genoma de geminivirus, se emplean pares de iniciadores que reconocen la parte superior e inferior del componente A, en donde se localizan la región común (RC), el gen *rep* en sentido complementario y el gen *cp* en sentido viral, además de la parte superior del componente B, que incluye la región común (RC) y los genes *mp* en sentido complementario y el *nsp* en sentido viral (Zúñiga y Ramírez 2002), bajo las condiciones definidas por Rojas *et al.* (1993) (Fig. 2, Cuadro 1).



**Figura 2.** Esquema que representa la localización aproximada de los fragmentos que se amplifican con algunos de los pares de iniciadores en los componentes A y B, utilizados para la detección de geminivirus bipartitas. Se incluye la región común (RC) y el nombre de cada iniciador. Las flechas indican la dirección de la síntesis del ADN por los iniciadores.

**Cuadro 1.** Secuencias de nucleótidos de los iniciadores degenerados utilizados frecuentemente para la detección de geminivirus.

Nombre	Secuencia	Región amplificada
PAL1V1978	5'GCATCTGCAGGCCACATYGTCTTYCCNGT 3'	Parte superior A D N A
PARc715	5'GATTTCTGCAGTTDATRTTYTCRCCATCCA 3'	Parte superior A D N A
PBC1v2039	5'GCCTCTGCAGCARTGRTCKATYTTTCATAC 3'	Parte superior A D N B
PBV1c800	5'ACGACTGCAGTTVACMGTCCTTTGAAACG 3'	Parte superior A D N B
PCRc2	5'CTAGCTGCAGCATATTTACRARWATGCC 3'	Región común
PAC1C1960	5'TGGACTGCAGACNNGNAARACNATGTGGGC 3'	Parte inferior A D N A
PAV1v722	5'ATATCTGCAGGGNAARATHGGATGGA 3'	Parte inferior A D N A
PBGGTv647	5'TATGTGTATATCCGATGTCACACGTGG3'	Gen cubierta proteica
PBGGTc1048	5'CGAATTTTCAATGTCGCATATACAGGG3'	Gen cubierta proteica

Los nucleótidos en las posiciones degeneradas se representan por una letra, según el siguiente código: D=A,G,T H=A,C,T K= G,T M=A,C N=A,C,G,T R=A,G W=A,T Y=C,T. A=adenina, G=guanina, T=timina, C=citosina

El ADN viral se amplifica en un termociclador PTC100 (M.J. Research Inc.) por 30 ciclos de desnaturalización, hibridación y extensión. En el Cuadro 2 se incluyen las secuencias de nucleótidos de los iniciadores degenerados más utilizados. Los productos de PCR así obtenidos se analizan por la técnica de electroforesis en geles de agarosa (Sambrook *et al.* 1989).

### **Clonación del ADN viral amplificado**

Para analizar más detalladamente los productos de PCR, principalmente en muestras que se consideran muy interesantes por el cultivo de donde provienen o por la sintomatología que presentaba la planta infectada, resulta imprescindible efectuar una clonación. Esta tecnología permite disponer de copias idénticas del ADN viral.

Una vez amplificado el ADN de interés, se liga con un vector de clonación (plásmidos bacterianos). Los recombinantes obtenidos se introducen dentro de células bacterianas competentes por el método de transformación, para su reproducción masiva. Luego, los plásmidos recombinantes se aíslan de las bacterias y se purifica el ADN viral (Sambrook *et al.* 1989).

La clonación permite continuar con la caracterización molecular de nuevos geminivirus y contar con una fuente de sondas para el diagnóstico de virus identificados.

### **Secuenciación y análisis bioinformático**

El ADN clonado y purificado se secuencia por el método de la terminación de la cadena por dideoxynucleótidos de Sanger *et al.* (1977).

Posteriormente, se realiza una comparación de la secuencia obtenida (*sequence similarity searching*, BLAST), con la base de datos existente en el banco de genes mundial GenBank, del National Center for Biothecnology Information (NCBI). Esta colección de secuencias de ADN está disponible para todo el público (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Incluye más de 2 billones de bases nitrogenadas. Este banco de genes forma parte de un esfuerzo internacional denominado "Colaboración Internacional en Secuencias de Nucleótidos", que también incluye el DataBank de Japón y el European Molecular Biology Laboratory (EMBL).

Un problema frecuente consiste en determinar si un nuevo virus es realmente una nueva especie, o una raza de una especie existente. Desde el punto de vista de la patología vegetal, la existencia en el campo de

razas de virus que causan diferentes clases de enfermedades tiene una importancia práctica considerable, por lo que se necesitan criterios confiables para distinguir las e identificarlas (Hull 2002).

Una especie viral no es una población uniforme sino una cuasiespecie. Este término describe un tipo de estructura poblacional, en la cual varios genomas estrechamente relacionados están sujetos a un proceso continuo de variación genética, competencia y selección (Hull 2002). Esto se da porque en las poblaciones de virus se acumulan errores continuamente durante la duplicación del genoma viral.

Para confirmar que un virus es nuevo, se debe caracterizar molecularmente por secuenciación, diseñando iniciadores específicos que permitan amplificar, clonar y secuenciar la totalidad del genoma (Patel *et al.* 1993). Tal es el caso de Zúñiga (2001), quien utilizó este tipo de metodología para caracterizar un geminivirus encontrado en papaya.

El análisis filogenético del virus nuevo que se está investigando se realiza con algunos de los programas informáticos disponibles (GENSCAN, GeneWise, Procustes, Fasta), que alinean las secuencias y determinan la relación existente cuando se comparan los genomas de diferentes geminivirus.

Los clones de virus nuevos se pueden utilizar como sondas de ADN específicas en la técnica de hibridación molecular. De esta forma, pueden utilizarse en el diagnóstico del geminivirus, la evaluación de prácticas agrícolas y germoplasma resistente o susceptible a estos patógenos y en los estudios epidemiológicos (Navas-Castillo *et al.* 1999).

### **Aportes de PROGEMINI al conocimiento del manejo del complejo mosca blanca-geminivirus**

La utilización de una estrategia molecular en el PROGEMINI-UCR ha contribuido exitosamente a la búsqueda de soluciones para resolver los problemas ocasionados por el complejo mosca blanca-geminivirus.

En el Cuadro 2 se resumen algunas de las investigaciones realizadas en el PROGEMINI-UCR. Los proyectos apoyados incluyen temáticas como la identificación de nuevos geminivirus en frijol en Costa Rica (Díaz *et al.* 2002); la determinación de las fuentes de inóculo en tomate, así como estudios de traslocación y cuantificación de geminivirus asociados al cultivo y severidad y reducción del rendimiento en su producción (Rivas *et al.* 1995, Salazar *et al.* 1998, Jovel *et al.* 1999); la detección de geminivirus en cultivos de

soya en Argentina (Ploper *et al.* 1998, Rodríguez *et al.* 1998) y en plantas silvestres asociadas con el tomate y el chile (Rivas *et al.* 1996); y el uso de metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus (Ramírez y Rivera 1996), incluyendo detección e identificación en frijol, chile dulce y papaya (Zúñiga 2001). También se descubrió un geminivirus nuevo, asociado a una enfermedad importante en el cultivo del melón en el estado de Lara, Venezuela, denominado “virus del mosaico clorótico del melón” (MCMV) (Cuadro 3). Recientemente, se han estado caracterizando los geminivirus asociados con enfermedades

emergentes de importancia económica y social en cucurbitáceas como el melón, la sandía, el pipián y el ayote (Karkashian *et al.* 2002).

En el Cuadro 3 se presentan las secuencias moleculares con que el PROGEMINI-UCR ha contribuido al NCBI, incluyendo el nombre del virus y el número de accesión. Estas secuencias incluyen diferentes genes virales que se usan como sondas específicas en la hibridación molecular, y constituyen un banco de genes virales fundamental para el futuro desarrollo de plantas transgénicas resistentes a dichos patógenos.

**Cuadro 2.** Investigaciones realizadas en el PROGEMINI-UCR, según tipo de cultivo, virus encontrado y cita bibliográfica.

Cultivo	Geminivirus	Cita bibliográfica
Cucurbitáceas (melón, sandía, ayote, pepino, minicucurbitáceas)	Virus del moteado amarillo leve del ayote (SqYMMoV)	Karkashian <i>et al.</i> 2002
Frijol	Virus del mosaico dorado del <i>Calopogonium</i> (CaIGMV) Virus del mosaico dorado amarillo del frijol (BGYMV)	Díaz <i>et al.</i> 2002
Papaya	Virus del moteado amarillo leve del ayote (SqYMMoV)	Zúñiga 2001
Plantas silvestres	Geminivirus en <i>Bidens pilosa</i> , <i>Desmodium</i> sp., <i>Sida rhombifolia</i> y <i>Spermacoce latifolia</i>	Jovel <i>et al.</i> 1999 Rivas <i>et al.</i> 1995
Soya	Geminivirus en soya	Ploper <i>et al.</i> 1998 Rodríguez <i>et al.</i> 1998
Tomate	Virus del mosaico amarillo del tomate (ToYMV) Virus del moteado amarillo del tomate (ToMoTMV)	Rivas <i>et al.</i> 1995 Rivas <i>et al.</i> 1996 Jovel <i>et al.</i> 1999 Salazar <i>et al.</i> 1998
No específico		Nakhla <i>et al.</i> 1998 Ramírez y Rivera 1996 Ramírez <i>et al.</i> 2003



**Cuadro 3.** Secuencias moleculares de genes virales de geminivirus, caracterizadas en PROGEMINI-UCR, provenientes de diferentes países y accesadas en el (NCBI).

Nombre del geminivirus	Número de accesión	Siglas
Calopogonium golden mosaic virus*	AF 439402	CaIGMV
Squash yellow mild mottle virus	AF 440790	SqYMMoV
Squash yellow mild mottle virus	AY 005134	SqYMMoV
Tomato severe leaf curl virus	AF 131735	ToSLCV
Tomato mosaic Havana virus	AF 139078	ToMHV
Tomato mild mottle virus	AF 131071	ToMMoV
Tomato leaf curl Sinaloa virus	AF 131213	ToLCSinV
Tomato golden mottle virus	AF 138298	ToGMoV
Pepper golden mosaic virus	AF 136404	PepGMV
Tomato severe leaf curl virus	AF 130416	ToSLCV
Tomato severe leaf curl virus	AF 130415	ToSLCV
Squash yellow mild mottle virus	AF 136447	SqYMMoV
Squash yellow mild mottle virus	AF 124846	SqYMMoV
Tomato yellow mottle virus	AF 112981	ToYMoV
Squash yellow mild mottle virus	NC 003865	SqYMMoV
Squash yellow mild mottle virus	NC 003860	SqYMMoV
Tomato golden mottle virus	NC 003829	ToGMoV
Squash yellow mild mottle virus	AY 064391	SqYMMoV
Tomato golden mottle virus	AF 132852	ToGMoV
Melon chlorotic mosaic virus*	AF 453445	MCMV
Melon chlorotic mosaic virus*	AF 453447	MCMV

\*Nombre en proceso de aprobación por el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV).

Las numerosas capacitaciones ofrecidas a agrónomos, agricultores y personeros del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica (MAG) relacionados con este complejo han incidido en un mejor manejo del patosistema y la búsqueda de soluciones acordes con el desarrollo sostenible. Asimismo, contribuyen con el desarrollo tecnológico de Costa Rica y la región centroamericana, al implementar y transferir tecnologías nuevas mediante la formación de recursos humanos (Zúniga y Ramírez 2002, Ramírez *et al.* 2003). Su función como ente multiplicador para América Latina ha quedado demostrada con su apoyo a la formación de profesionales de Nicaragua, Panamá, Honduras, Venezuela y Costa Rica. La calidad de las capacitaciones ofrecidas está garantizada por la estrecha colaboración de PROGEMINI-UCR con los mejores centros mundiales de investigación en esa área y el uso de tecnologías de punta de ADN recombinante (Nakhla *et al.* 1998).

Desde hace más de una década, se configuró el Plan de Acción Regional para el Manejo de Moscas Blancas, bajo el liderazgo del CATIE. El propósito de este plan ha sido coordinar esfuerzos entre países para la validación y transferencia hacia los agricultores de tecnologías de MIP del complejo mosca blanca-geminivirus, complementadas con actividades de diagnóstico, investigación y capacitación (Hilje 2002).

PROGEMINI ha apoyado, desde su creación, tan importante iniciativa.

El establecimiento de nexos de cooperación interinstitucional con varias instituciones costarricenses, así como la participación en la Comisión de Moscas Blancas y Geminivirus, permiten el desarrollo de investigaciones pertinentes y la transferencia exitosa de tecnología.

El PROGEMINI, con la capacidad instalada y experiencia desarrollada, disponibles tanto para entidades gubernamentales como instituciones autónomas y la empresa privada, contribuye a aumentar la competitividad de la agricultura costarricense frente a los retos de una economía globalizada.

### Literatura citada

- Amersham Bioscience. 2002. The Guide to Nucleic Acid Labeling and Detection 39 p.
- Brown, JK; Bird, J. 1992. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease* 76(3):220-225.
- Clough, GH; Hamm, PB. 1995. Coat protein transgenic resistance to watermelon mosaic and zucchini yellow mosaic virus in squash and cantaloupe. *Plant Disease* 79:1107-1109.
- Czosnek, H; Laterrot, H. 1997. A worldwide survey to tomato yellow leaf curl viruses. *Archives of Virology* 142:1392-1406.
- Dellaporta, SL; Woods, J; Hicks, JB. 1983. A plant DNA mini-preparation: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter* 1:19-21.

- Díaz, M; Maxwell, DP; Karkashian, JP; Ramírez, P. 2002. *Calopogonium* golden mosaic virus identified in *Phaseolus vulgaris* from western and northern regions of Costa Rica. *Plant Disease* 86(2):188.
- Gálvez, GE; Morales, FJ. 1989. Whitefly-transmitted viruses. In Schwartz, HF; Pastor-Corrales, MA. Eds. *Bean Production Problems in the Tropics*. Cali, Colombia, CIAT. p. 379-390.
- Gilbertson, RL; Faria, JC; Hanson, SF; Morales, FJ; Ahlquist, P; Maxwell, DP; Russell, DR. 1991. Cloning of the complete DNA genomes of four bean-infecting geminiviruses and determining their infectivity by electric discharge particle acceleration. *Phytopathology* 81: 980-985.
- Hanson, SF; Maxwell, DP. 1999. trans-Dominant inhibition of geminiviral DNA replication by bean golden mosaic geminivirus rep gene mutants. *Phytopathology* 89: 480-486.
- Hanley-Bowdin, L; Settlage, SB; Orozco, BM; Nagar, S; Robertson, D. 1999. Geminivirus: Models for plant DNA replication, transcription and cell cycle regulation. *Critical Reviews in Plant Sciences* 18:71-106.
- Hilje, L. 2001. Avances hacia el manejo sostenible del complejo *Bemisia tabaci*-geminivirus en tomate, en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas* 61: 70-81.
- \_\_\_\_\_. 2002. Manejo de *Bemisia tabaci* en América Central y el Caribe: la experiencia de un decenio. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 65:102-108.
- Hull, R. 2002. *Matthews' Plant Virology*. ISBN 0-12-361160-1. UK, Academic Press. 1001 p.
- Jovel, J; Ramírez, P; Valverde, B; Hilje, L. 1999. Determinación de las fuentes de inóculo del moteado amarillo del tomate (ToYMoV), en Guayabo, Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas* 54: 20-26.
- Karkashian, JP; Maxwell, DP; Ramírez, P. 2002. Squash yellow mottle virus: a new cucurbit-infecting geminivirus from Costa Rica. *Phytopathology* 92(6): S125.
- Morales, FJ; Anderson, PK. 2001. The emergente and dissemination of whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. *Archives of Virology* 146:415-441.
- Nakhla, M; Maxwell, D; Ramírez, P. 1998. Workshop on Detection and Identification of Whitefly-Transmitted Geminivirus. 2nd. International Workshop on *Bemisia* and Geminiviral Diseases. San Juan, Puerto Rico.
- Navas-Castillo, J; Sánchez-Campos, S; Díaz, JA. 1999. Tomato yellow leaf curl virus is causes a novel disease of common bean and severe epidemics in tomato in Spain. *Plant Disease* 83:29-32.
- Patel, VP; Rojas, MR; Paplomatas, E; Gilbertson, RL. 1993. Cloning biologically active geminivirus DNA using PCR and overlapping primers. *Nucleic Acids Research* 21: 1325-1326.
- Ploper, L; Rodríguez, P; Laguna, I; Truol, G; Hanada, K; Rivas, G; Ramírez, P; Herrera, P. 1998. Presencia de un geminivirus en cultivos de soja del Noroeste Argentino. *EAAOC-Avance Agroindustrial* 74: 38-41.
- Polston, JE; Anderson, PK. 1997. The emergence of whitefly-transmitted geminiviruses in tomato in the Western Hemisphere. *Plant Disease* 81:1358-1369.
- Ramírez, P. 1997. Los geminivirus. *Manejo Integrado de Plagas* 43:40-54.
- \_\_\_\_\_; Rivera-Bustamante, R. 1996. Identificación de geminivirus. In Hilje, L. ed. *Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus*. Costa Rica, CATIE. (Serie de materiales de enseñanza).
- \_\_\_\_\_; Karkashian, J; Zúñiga, C; Díaz, M; Rojas, R; Maxwell, D; Serrano, A; Collado, O; Rivera, C. 2000. Estrategias Moleculares para el Control de Geminivirus (PROGEMINI-UCR). In *Primer Congreso de Investigación Costa Rica en el año 2000, los retos y propuestas de investigación en el III Milenio* (2000, San José, Costa Rica).
- \_\_\_\_\_; Mora, F; Chicas, M. 2003. Curso de capacitación de técnicas de muestreo de moscas blancas y material vegetativo. Costa Rica, Ministerio de Agricultura y Ganadería. Servicio Fitosanitario del estado de vigilancia y control de plagas.
- Rivas, G; Ramírez, P; Cubillo, D; Hilje, L. 1995. Translocación y cuantificación del ADN viral de geminivirus asociados con el mosaico amarillo del tomate. *Manejo Integrado de Plagas* 38: 20-24.
- \_\_\_\_\_; Ramírez, P; Cubillo, D; Hilje, L. 1996. Detección de virus en plantas silvestres asociadas con el tomate y el chile en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas* 38:37-39.
- Rodríguez, P; Daniel P, L; Truol, GA; Hanada, K; Rivas P, G; Ramírez F, P; Herrera, PS; Laguna, IG. 1998. Detección de geminivirus en cultivos de soja del noroeste argentino. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán* 75(1-2):51-56.
- Rojas, MR; Gilbertson, RL; Russell, DR; Maxwell, DP. 1993. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. *Plant Disease* 77:340-347.
- Salati, R; Nahkla, MK; Rojas, MR; Guzmán, P; Jaquez, J; Maxwell, DP; Gilbertson, RL. 2002. Tomato yellow leaf curl virus in the Dominican Republic: Characterization of an infectious clone, virus monitor in whiteflies, and identification of reservoir hosts. *Phytopathology* 92:487-496.
- Salazar, E; Cubillo, D; Ramírez, P; Rivas, G; Hilje, L. 1998. Severidad del moteado amarillo del tomate y reducción del rendimiento del cultivo en respuesta a la densidad de adultos virulíferos (*Bemisia tabaci*). *Manejo Integrado de Plagas* 50:42-50.
- Sambrook, J; Fritsch, EF; Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning. A laboratory manual*. 2 ed. New York, US. Cold Spring Harbor Laboratory. New York Book.
- Sanger, F; Nicklen, S; Coulson, AR. 1977. DNA sequencing with chain-termination inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences. US.* 74: 5463-5467.
- Zúñiga, C. 2001. Detección e identificación de geminivirus en cuatro cultivos de importancia económica y alimentaria. Tesis Mag. Sc. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 90 p.
- \_\_\_\_\_; Ramírez, P. 2002. Los geminivirus, patógenos de importancia mundial. *Manejo Integrado de plagas y Agroecología* 64:25-32.

## Nuevos híbridos de tomate, tolerantes al TYLCV

M. Piñón<sup>1</sup>O. Gómez<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Seis híbridos F<sub>1</sub> nacionales de tomate para consumo fresco, de crecimiento determinado, para ser usados en campo abierto y resistentes al virus del encrespamiento amarillo de las hojas del tomate (TYLCV), fueron incluidos en un experimento de competitividad conjuntamente con el híbrido israelí 'ARO 8479', tolerante al TYLCV. La variedad 'Campbell 28' se utilizó como control susceptible a la virosis. El ensayo se efectuó durante dos años seguidos (2001 y 2002), con trasplantes en el mes de octubre. Se midieron la severidad e incidencia del virus en todos los cultivares ensayados a los 60 días del trasplante, así como la productividad en el momento de la cosecha. La infección natural del TYLCV fue alta, lo que se evidenció en el control susceptible, mientras que los nuevos híbridos se mostraron asintomáticos y en 'ARO 8479' solamente se observaron síntomas suaves. En el experimento se demostró que cinco de los seis híbridos nacionales ensayados muestran mayor adaptación climática que el híbrido importado, tal como se refleja en los porcentajes de fructificación logrados (84,6-95,8) y, por ende, en el número de frutos por planta (35,3-53,5). Igualmente, el rendimiento por planta de cinco de estos seis híbridos fue significativamente superior al de aquel. Sin embargo, sólo el híbrido 5 lo superó en cuanto al peso promedio del fruto. Por otro lado, los nuevos híbridos fueron menos afectados por hongos del follaje.

**Palabras clave:** Geminivirus, *Lycopersicon esculentum*, control genético, adaptación climática.

**ABSTRACT.** **New tomato hybrids, symptomless to TYLCV.** Six national tomato F<sub>1</sub> hybrids, of known growth habits, grown in open field conditions and destined for fresh consumption, resistant to tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), were included in a competitiveness trial together with the tolerant Israeli hybrid 'ARO 8479'. The cultivar 'Campbell 28' was also included as a susceptible control. TYLCV severity and incidence were measured 60 days after transplant in all cultivars, and productivity was measured at harvest time. Natural infection was high in the susceptible control, in these conditions, and the new hybrids were symptomless, while only mild symptoms were observed in 'ARO 8479'. Five out of six of the national hybrids showed a higher climate adaptation level than the foreign hybrid, yielding more fruits per plant (35.3-53.5) and showing higher fructification percentages (84.6- 95.8). Yield per plant was also significantly higher in five out of six combinations than in the foreign hybrid. Nevertheless, only one national hybrid showed a mean fruit weight value higher than that of 'ARO 8479'. In addition, the new hybrids were less affected by leaf fungi.

**Key words:** Geminivirus, *Lycopersicon esculentum*, genetic management, adaptation.

### Introducción

En el mundo se utilizan cada vez más híbridos F<sub>1</sub> en cultivos como el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), tanto para condiciones de cultivo protegido, como en pleno campo, con destino al mercado en fresco, para el procesamiento industrial o para otros usos. Estos ofrecen alta productividad y mayor adaptación a las condiciones abióticas de estrés; pueden

poseer mayor número de genes de resistencia a diversos patógenos, y permiten la rentabilidad del trabajo de selección.

En Cuba, el tomate representa alrededor del 45% de la superficie y de la producción de las hortalizas (MINAG 2000). Se cultiva principalmente en campo abierto, aunque el cultivo protegido está

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova" (IIHLD). Carretera Quivicán Km 33 1/2, La Habana, Cuba. maite@liliana.co.cu

cobrando auge. Sin embargo, desde finales de la década de los ochenta, el virus del encrespamiento amarillo de las hojas del tomate (TYLCV-bigeminivirus) ha devenido en el mayor obstáculo para su producción. Las medidas de control de la enfermedad se basan en el manejo integrado de plagas (MIP), para demorar su arribo a la planta. Hoy en día, sin embargo, el desarrollo de cultivares resistentes parece ser la mejor alternativa para su control (Friedmann *et al.* 1998). Este y otros atributos de resistencia y productividad son buscados en los cultivares modernos de tomate. En consecuencia, el país ha importado híbridos F<sub>1</sub> resistentes a geminivirus, que en condiciones de campo abierto brindan rendimientos de 50 t/ha (MINAG 2000).

La erogación de divisas que la compra de semillas demanda llevó a la creación de híbridos F<sub>1</sub> nacionales para sustituir los importados, ya que existen en el país programas de mejoramiento genético del tomate que han logrado resultados positivos con la introducción de variedades en la producción nacional, lo que avala la posibilidad de éxito.

Este trabajo tuvo como objetivo probar, en condiciones de campo, diferentes combinaciones híbridas nacionales de tomate de mesa en comparación con un híbrido foráneo, con el fin de determinar su competitividad.

## Materiales y métodos

### Material vegetal

Durante los años 2001 y 2002, se compararon seis híbridos F<sub>1</sub> nacionales de tomate de crecimiento determinado, para su utilización en condiciones de campo abierto con destino al consumo fresco. En los mismos participaron líneas progenitoras resistentes al TYLCV, provenientes de un programa de mejoramiento genético basado en el cruce interespecífico entre *L. chilense* (LA 1969) y *L. esculentum*, seguido de retrocruzas con *L. esculentum* (Laterrot y Moretti 1996). La selección se realizó en el Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova" (IIHLD), perteneciente al Ministerio de la Agricultura de Cuba (Piñón y Gómez 2002).

En el experimento se incluyó el híbrido comercial 'ARO 8479' (Hazera Genetics, Brurim, Israel), productivo, utilizado en el país por su tolerancia al TYLCV. Se usó la variedad 'Campbell 28' (EUA) como testigo altamente susceptible a dicho patógeno (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Material vegetal ensayado y su procedencia.

Cultivar	Procedencia
2 F <sub>1</sub>	IIHLD-Cuba
3 F <sub>1</sub>	IIHLD-Cuba
5 F <sub>1</sub>	IIHLD-Cuba
6 F <sub>1</sub>	IIHLD-Cuba
8 F <sub>1</sub>	IIHLD-Cuba
9 F <sub>1</sub>	IIHLD-Cuba
'ARO 8479' F <sub>1</sub>	Hazera Genetics, Brurim, Israel
'Campbell 28'	EUA

La siembra de los cultivares se realizó sobre sustrato orgánico (humus de lombriz), enriquecido con litonita al 10%, en bandejas de polivinilo con alvéolos de 32,5 cm<sup>3</sup>. Las plántulas se mantuvieron 28 días en aislador, hasta su trasplante.

La plantación se efectuó con una distancia de 1,40 m x 0,25 m entre plántulas, sobre suelo Ferralítico Rojo Compactado. Los ensayos se realizaron en el mes de octubre, óptimo para el desarrollo del cultivo en el país. La temperatura osciló entre 22,0 y 25,6°C. No se utilizó insecticida en todo el ciclo del cultivo. Se aplicó fertilizante químico de la fórmula 8-9-12 a razón de 18 t/ha, más 2 t/ha de urea.

Las variables analizadas pueden agruparse en:

### Enfermedades:

- Severidad de los geminivirus a los 60 días del trasplante: promedio de la intensidad de los síntomas de la virosis según la escala visual propuesta por Scott y Schuster (1991):

0= ausencia de síntomas;

1= síntomas visibles solamente tras un análisis cuidadoso;

2= síntomas ligeros fácilmente visibles;

3= síntomas moderados en una parte de la planta;

4= síntomas severos en toda la planta (achaparramiento).

- Incidencia de geminivirus a los 60 días del trasplante: porcentaje de plantas con síntomas del TYLCV.

- Porcentaje de afectación por *Alternaria solani* y *Phytophthora infestans* en el momento de la primera cosecha, según la escala propuesta por Chircov (1964) para la evaluación de daños provocados por hongos del follaje en el tomate.

**Variables productivas:**

- Número de flores y frutos en los cuatro primeros racimos; número de racimos por planta; fructificación (porcentaje de frutos sobre flores en los cuatro primeros racimos); número de frutos por planta; peso del fruto en gramos (promedio de las cuatro cosechas); y rendimiento por planta (kg/pl).

**Procesamiento estadístico de los resultados**

Los resultados obtenidos en el rendimiento y sus componentes fueron sometidos a un análisis de varianza simple, según el programa automatizado MS-TAT-C (versión 1.42). Posteriormente, las medias se compararon según la prueba de rangos múltiples de Duncan.

**Resultados y discusión**

En condiciones de alta infección natural de bigeminivirus como las del ensayo, el testigo susceptible 'Campbell 28' mostró el 100% de sus plantas con alta severidad de síntomas (predominio del achaparramiento) a los 60 días del trasplante, por lo que no brindó producción alguna (Fig. 1). Los híbridos F<sub>1</sub> nacionales fueron asintomáticos al TYLCV (Fig. 2) y el híbrido 'ARO 8479' exhibió baja severidad de la enfermedad (Cuadro 2).

En los híbridos cubanos, la afectación por *A. solani* osciló entre 25,0 y 47,5%, mientras que por *P. infestans* fue de 32,5 a 57,0%. El híbrido 'ARO 8479' fue muy susceptible a ambos patógenos (97,5 y 100,0%, respectivamente) (Cuadro 2). Ello refleja el resultado positivo de la selección *in situ* en condiciones de clima tropical



Figura 1. MVC-0265, síntomas del TYLCV en la variedad susceptible 'Campbell 28'.



Figura 2. MVC-0125, híbrido resistente al TYLCV.

**Cuadro 2.** Características de los cultivares ensayados.

Cultivar	Severidad	Incidencia (%)	<i>Alternaria solani</i> (%)	<i>Phytophthora infestans</i> (%)	Número de flores*	Número de frutos*	Fructificación (%)	Número de racimos por planta	Número de frutos por planta	Peso del fruto (g)	Rendimiento (kg/pl)
2F <sub>1</sub>	0	0	47,5	52,5	3,93	2,78	70,7	14,0	27,0 c	81,0 c	1,15 e
3F <sub>1</sub>	0	0	36,3	36,0	4,18	3,70	88,5	14,0	35,3 b	63,0 d	1,70 b
5F <sub>1</sub>	0	0	50,0	40,0	3,50	3,14	89,7	12,8	39,7 b	103,0 a	1,36 d
6F <sub>1</sub>	0	0	40,0	57,0	4,78	4,58	95,8	12,2	36,2 b	68,0 d	1,90 a
8F <sub>1</sub>	0	0	42,0	51,0	3,25	2,75	84,6	17,0	39,0 b	34,0 f	0,85 g
9F <sub>1</sub>	0	0	45,0	54,0	4,75	4,50	94,7	16,0	53,5 a	52,5 e	1,58 c
'ARO 8479' F <sub>1</sub>	0,7	70	97,5	100,0	4,13	3,40	82,3	12,7	28,6 c	90,0 b	1,07 f
'Campbell 28'	3,74	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\* En los cuatro primeros racimos. Medias sin letras en común difieren estadísticamente (P= 0,05).

húmedo, donde estas dos enfermedades se citan entre las de mayor importancia para el cultivo (Gómez *et al.* 2000).

Desde el punto de vista productivo, se observa que cinco de los seis híbridos cubanos ensayados muestran mayor adaptación climática que el híbrido importado, tal como se refleja en su fructificación (84,6-95,8) y, por ende, en el número de frutos por planta (35,3-53,5) (Fig. 3). Igualmente, el rendimiento por planta de cinco de los seis híbridos fue significativamente superior al del 'ARO 8479'. Sin embargo, sólo el híbrido 5 superó al 'ARO 8479' en cuanto al peso promedio del fruto, lo que muestra la necesidad de proseguir la mejora de este carácter, teniendo en cuenta que la comercialización del tomate se hace por el tamaño del fruto.

Otros países en desarrollo también reportan resultados alentadores en este sentido; tal es el caso de Senegal, donde el híbrido F<sub>1</sub> 'Mongal', de frutos redondos y calibre medio, resistente al calor, tolerante al TYLCV y a la marchitez bacteriana, productivo (20-30 t/ha), ha sido adoptado rápidamente por productores que venían utilizando híbridos foráneos susceptibles al TYLCV (Technisem 2000). Igualmente, en el Líbano se han identificado algunos híbridos prometedores, de crecimiento determinado, tolerantes al TYLCV, en los que el nivel de ADN viral es significativamente más bajo que en los híbridos tradicionales susceptibles (Abu-Jawdah *et al.* 1999).

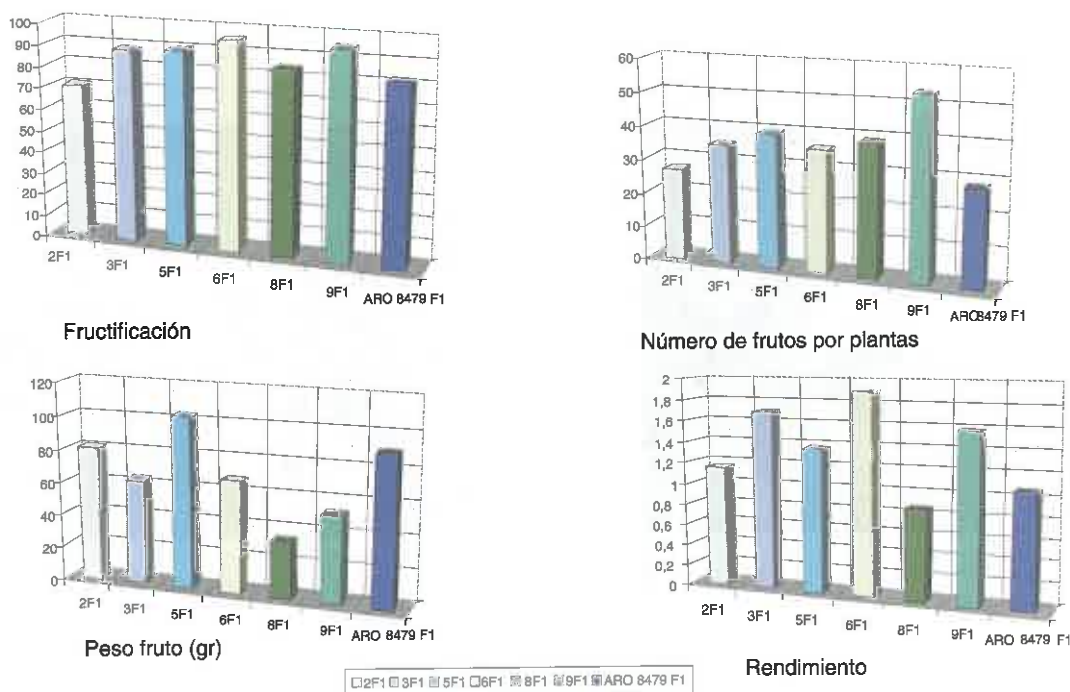


Figura 3. Híbrido nacional resistente al TYLCV.

### Literatura citada

- Abu-Jawdah, Y; Maalouf, R; Shebaro, W; Soubra, K. 1999. Comparison of the reaction of tomato lines to infection by tomato yellow leaf curl virus, begomovirus, in Lebanon. *Plant Pathology* 48(6):727-734.
- Chircov, VD. 1964. Métodos de mejoramiento y producción de semillas en especies hortícolas. Leningrado. Instituto Vavilov. 250 p.
- Friedmann, M; Lapidot, M; Cohen, S; Pilowsky, M. 1998. A novel source of resistance to Tomato Yellow Leaf Curl Virus exhibiting a symptomless reaction to viral infection. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 123(6):1004-1007.
- Gómez, O, Casanova, A; Laterrot, H; Anaïs, G. 2000. Mejora genética y manejo del cultivo del tomate para la producción en el Caribe. La Habana, IIHLD. 157 p.
- Laterrot, H; Moretti, A. 1996. Cheperlyc lines. *Tomato Leaf Curl Newsletter* 8. p. 4.
- MINAG- Cuba. 2000. Informe de la campaña de hortalizas. La Habana, Grupo Cultivos Varios. 10 p.
- Piñón, M; Gómez, O. 2002. Evaluación y caracterización de líneas de tomate resistentes al virus del encrespamiento amarillo de las hojas del tomate (TYLCV). Informe final proyecto 01500033, IIHLD.
- Scott, JW; Schuster, DJ. 1991. Screening of accessions for resistance to the Florida tomato geminivirus. *TGC Report* no. 41. p. 48-50.
- Technisem. 2000. Tableau d'honneur: tomate F<sub>1</sub> 'Mongal'. *Tropiculture* (45):1.

# Eficacia del farnesol y de un extracto de semilla de ayote como repelentes de *Atta mexicana*

Francisca Y. Palacios F.<sup>1</sup>  
Sally Gladstone<sup>2</sup>

**RESUMEN.** Dos repelentes potenciales, el sesquiterpeno farnesol y la semilla de ayote (*Cucurbita maxima*), de donde se aísla el farnesol, fueron evaluados en cuanto a su acción sobre la hormiga corta hojas *Atta mexicana*. Un experimento se condujo usando recipientes pequeños con cebo de pulpa de naranja y melaza, rodeados por cintas humedecidas con los tratamientos, los cuales fueron farnesol al 95%, a razón de 40 mg/cm, extracto de semilla de ayote en alcohol, alcohol, cinta sola y recipiente sin cinta. Los recipientes fueron colocados en el piso de una casa en un arreglo espacial de bloques completos al azar con 5 repeticiones y 15 cm entre recipientes. Se midió el tiempo que tardaron obreras de *A. mexicana* forrajeando libremente en vaciar cada recipiente de su cebo. El resultado fue la tendencia hacia una repelencia temporal por parte del farnesol, seguido en intensidad por el extracto de semilla de ayote; sin embargo, el análisis estadístico no detectó una diferencia significativa entre tratamientos y, después de tres horas, el cebo fue retirado de cada recipiente. Dadas las tendencias observadas, se considera importante continuar evaluando el farnesol y la semilla de ayote en condiciones de campo.

**Palabras clave:** Hormigas corta hojas, *Atta mexicana*, farnesol, repelente.

**ABSTRACT.** Efficacy of farnesol and a pumpkin seed extract as repellents of *Atta mexicana*. Two potential repellents, the sesquiterpene farnesol and pumpkin seed, from which it is isolated, were evaluated for activity against the leaf-cutter ant, *Atta mexicana*. An experiment was conducted using small containers holding orange-pulp bait mixed with molasses. These were circled with ribbons soaked with treatment materials: farnesol 95% at 40 mg/cm, pumpkin seed extract in alcohol, alcohol, untreated ribbon and a container with no ribbon. The containers were placed on the floor of a house in a randomized complete block array with 5 repetitions of each treatment and 15 cm between containers. The time it took for a foraging group of *A. mexicana* to remove the bait from each container was recorded. The results indicate a temporary tendency for repellency by farnesol and pumpkin seed. However, there was no significant difference between treatments. Given the observed tendencies, we consider it important to test the repellents under field conditions.

**Key words:** Leaf-cutter ants, *Atta mexicana*, farnesol, repellent.

## Introducción

Las hormigas corta hojas de los géneros *Atta* y *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) son consideradas como una de las principales plagas de la América tropical y subtropical. Estas hormigas presentan un comportamiento trófico equivalente al de los consumidores primarios, es decir, cortan material vegetal vivo (hojas, flores y frutos) que utilizan para cultivar el hongo *Leucocoprinus* sp., alimento directo de gran parte de la colonia.

Una de las alternativas potenciales para el manejo de hormigas corta hojas son los extractos de plantas tropicales, cuyos compuestos actúan como repelentes. Esta idea ha surgido del hecho de que algunas especies de plantas aparentemente vulnerables al ataque de hormigas corta hojas raramente son atacadas por estas.

Se han llevado a cabo algunas investigaciones sobre los compuestos responsables de la repelencia de

<sup>1</sup> Tegucigalpa, Honduras. yolypal@yahoo.es

<sup>2</sup> Consultora independiente, Managua, Nicaragua. smgladstone@hotmail.com

estas hormigas en ciertas plantas. Chen *et al.* (1983) aislaron seis componentes terpenoides de *Cordia alliodora* (Boraginaceae), con repelencia para *A. cephalotes*. Hubert y Wiemer (1985) aislaron repelentes de *Melampodium divaricatum* (Compositae), y Capron y Wiemer (1996) aislaron tres compuestos repelentes provenientes de *Piper tuberculatum* (Piperaceae).

El farnesol es un sesquiterpeno químicamente parecido a las feromonas o alomonas, obtenido de la semilla de ayote (*Cucurbita maxima*) o del insecto *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Curculionidae). Fue probado por Shorey *et al.* (1996), resultando en una repelencia eficaz de hormigas argentinas (*Linepithema hule*) y la hormiga gris (*Formica aerata*) en árboles de cítricos. En este trabajo, se intentó probar el mismo efecto de repelentes como el farnesol, y la semilla de ayote de donde es extraído, contra hormigas corta hojas. Su uso previsto se haría en la protección de plantas individuales de alto valor económico, como frutales, ornamentales y árboles maderables.

### Materiales y métodos

El estudio se realizó en junio de 1997, en la acera de una casa en la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Departamento de Francisco Morazán, Honduras. En este sitio, cada noche entraba una columna de aproximadamente 200 hormigas (*Atta mexicana*) en busca de alimento.

Se empleó el diseño experimental de bloques completos al azar con cinco tratamientos y cinco repeticiones. Los tratamientos fueron farnesol al 95% (mezcla de isómeros obtenida de Aldrich Corp., Milwaukee, EUA), extracto en alcohol de semilla de ayote, alcohol, cinta sin repelente, y un recipiente sin cinta.

Cada unidad experimental consistía de un recipiente plástico (tapa de rollos de películas fotográficas) de 3 cm de diámetro por 0,5 cm de alto, lleno de un cebo atrayente compuesto de pulpa de naranja finamente molida y melaza. Los extremos de los recipientes llevaban papel adhesivo y una cinta humedecida con uno de los seis tratamientos. Las hormigas estaban obligadas a cruzar la cinta para poder alcanzar el cebo.

El farnesol se aplicó a razón de 40 mg/cm de cinta, siendo esta la dosis más apropiada encontrada por Shorey *et al.* (1996) para repeler la hormiga argentina. Para obtener el extracto de semilla de ayote, se molieron 113 g de semillas y estas se dejaron en alcohol durante dos semanas.

Los recipientes se colocaron en el piso en un arreglo de bloques completos al azar con 15 cm entre recipientes. Una vez que las hormigas encontraron y vaciaron el primer recipiente, se hicieron observaciones cada 15 minutos, notando los recipientes que se habían vaciado en el intervalo de observación.

La variable analizada fue el número de minutos que duró alguna parte del cebo en el recipiente. Los datos se analizaron con la prueba no-paramétrica de Kruskal-Wallis para probar la hipótesis de que todos los tratamientos fueron igualmente percibidos por las hormigas.

### Resultados y discusión

No hubo una diferencia significativa entre la permanencia del cebo protegido por los diferentes tratamientos ( $\chi^2 = 9,08$ ,  $v = 4,2$ ;  $P = 0,059$ ), aunque las hormigas demostraron una tendencia a preferir los cebos sin protección de farnesol y semilla de ayote (Fig. 1). Al final del período de observación, de tres horas y media, el cebo había sido retirado de todos los recipientes. El farnesol y la semilla de ayote no repelieron definitivamente a *A. mexicana* bajo presión forrajera durante el ensayo. Sin embargo, las tendencias observadas indican que estos repelentes deben ser probados en barreras que rodeen plantas en condiciones de campo, donde las hormigas tienen más opciones de selección entre plantas. Posiblemente, en condiciones más naturales, los repelentes resultarían en un efecto de protección permanente mientras permanecen activos los compuestos químicos.

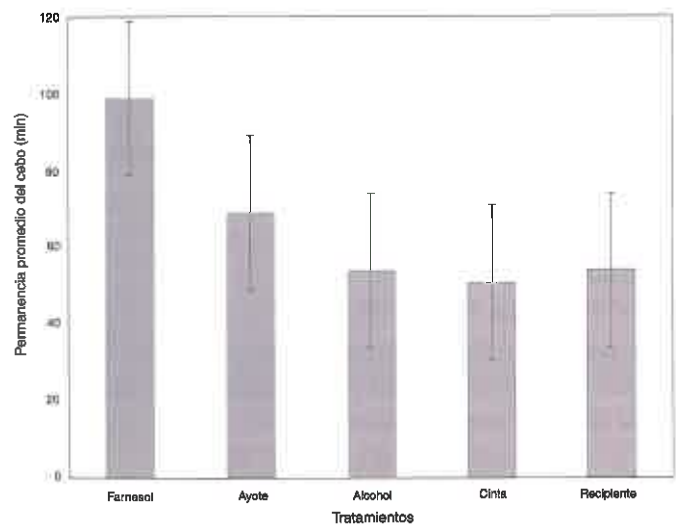


Figura 1. Tiempo promedio que permanecieron los cebos rodeados por dos repelentes y tres tratamientos de control frente a la actividad forrajera de *Atta mexicana* (la barra representa una desviación estándar hacia arriba y hacia abajo del promedio).



## Agradecimiento

Agradecemos el apoyo financiero y logístico del Departamento de Recursos Naturales y Conservación Biológica, del Departamento de Protección Vegetal (ambos del Zamorano) y de la Cooperación Suiza para el Desarrollo (COSUDE).

## Literatura citada

Capron, M; Wiemer, D. 1996. Piplaroxide, an ant-repellent piperidine epoxide from *Piper tuberculatum*. 59:794-795.

Chen, T; Ales, D; Baenziger, N; Wiemer, D. 1983. Ant-repellent triterpenoids from *Cordia alliodora*. Journal of Organic Chemistry 48(20):3525-3531.

Hubert, T; Wiemer, D. 1985. Ant-repellent terpenoids from *Melampodium divaricatum*. Phytochemistry 24(6):1197-1198.

Shorey, H; Gaston, L; Gerber, R; Sisk, C; Phillips, P. 1996. Formulating farnesol and other ant-repellent semiochemicals for exclusion of Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae) from citrus trees. Environmental Entomology 25:114-119.

## Determinación del sexo del picudo en chile<sup>1</sup>

Oswaldo Pérez J.<sup>2</sup>  
Helga Blanco M.<sup>3</sup>

### Introducción

El picudo del chile, *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae), es considerado como una de las plagas más importantes en las principales zonas productoras del cultivo de chile (*Capsicum* spp.) en América. A pesar de la importancia que reviste, comparada con otras especies de picudos (como, por ejemplo, *A. grandis*), *A. eugenii* no ha sido lo suficientemente estudiada y se cuenta con poca información sobre ella.

Uno de los aspectos menos estudiados es la determinación del sexo en esta especie. Este artículo presenta una minuciosa revisión de literatura de diferentes estudios relacionados con el tema.

### Determinación de sexo

#### En adultos

Solamente 18 de los 265 artículos revisados en los cuales la determinación de sexo de los picudos ha sido reportada señalan la técnica empleada para tal fin. En algunos estudios, el sexo es determinado mediante la observación de los picudos en el momento de la cópula; sin embargo, este método resulta poco práctico. Aunque muy subjetivo, otro criterio tomado generalmente en cuenta para diferenciar el sexo de los adultos es su tamaño.

Los diferentes estudios revisados muestran que la determinación de sexo de *A. eugenii* se ha hecho tomando en cuenta, principalmente, criterios aplicados al picudo del algodón, *A. grandis*. Algunos investigadores, por ejemplo, se basan en criterios presentados

por Agee (1964) para *A. grandis*, los cuales consideran las características morfológicas del insecto. De acuerdo con dicho autor, ambos sexos difieren en el 7° y 8° tergum (Fig. 1). Esta técnica, aplicada correctamente, resulta en un 100% de confiabilidad; sin embargo, algunas veces el tergum no está expuesto, especialmente en aquellos casos en que los picudos han sido capturados en trampas de feromonas o en el caso de picudos ya maduros, y debe recurrirse a otro tipo de características para diferenciarlos.

Otra técnica, considerada como la más confiable para sexar picudos adultos vivos, consiste en el uso de dióxido de carbono como anestésico. Este anestésico induce un relajamiento del abdomen del picudo, exponiendo así tanto el 7° como el 8° tergum y, en el caso de los machos, el edeago.

Al igual que en el caso del picudo del algodón, algunos investigadores establecen la diferenciación de sexo en el picudo del chile tomando en cuenta el dimorfismo sexual en el que consideran el tamaño y la apariencia del rostrum o pico, el punto de inserción de las antenas (Fig. 2), y el número de segmentos abdominales (dorsales), características subjetivas y no muy confiables debido a su alta variabilidad.

Algunos miembros de este género pueden ser sexados por el examen de las uñas tarsales. Al parecer, en los machos estas están adaptadas para asir a las hembras durante la cópula; sin embargo, se considera que no existe dimorfismo sexual en el picudo del chile en este aspecto.

<sup>1</sup> Parte de la Tesis Doctoral de Oswaldo Pérez.

<sup>2</sup> PD-SISPAT, Universidad de Costa Rica (UCR). Costa Rica. oeperez@cariari.ucr.ac.cr

<sup>3</sup> Centro de Investigación en Protección de Cultivos (CIPROC), UCR. Costa Rica. hblanco@cariari.ucr.ac.cr

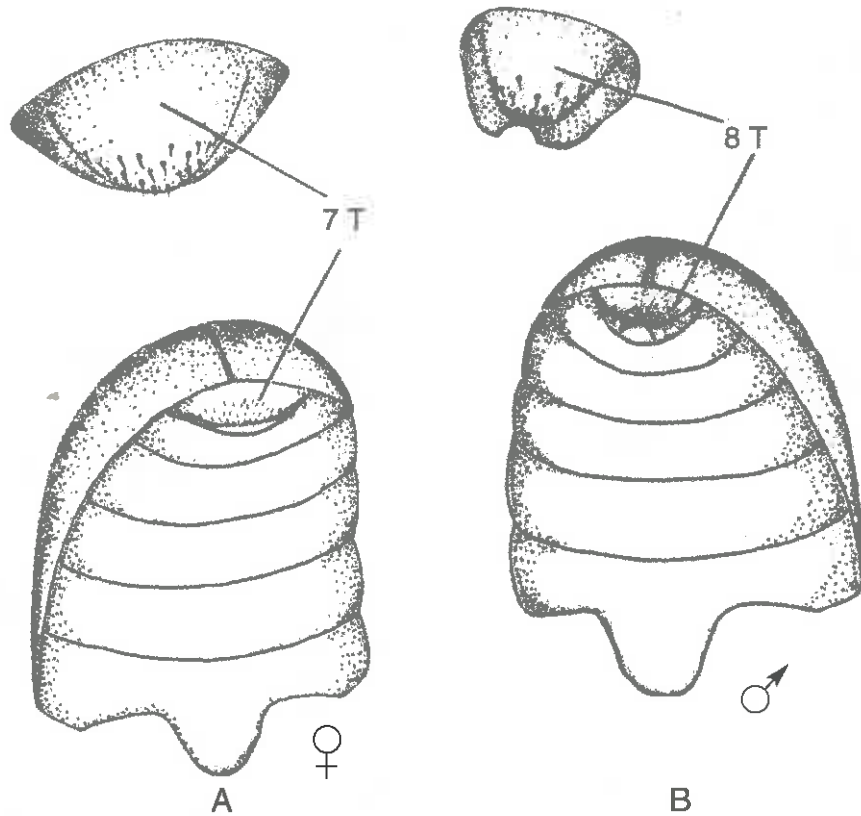


Figura 1. Vista posteroventral del 7° tergum en una hembra de *A. grandis* (A) y 8° tergum en un macho de *A. grandis* (B) (Fuente: Agee 1964).

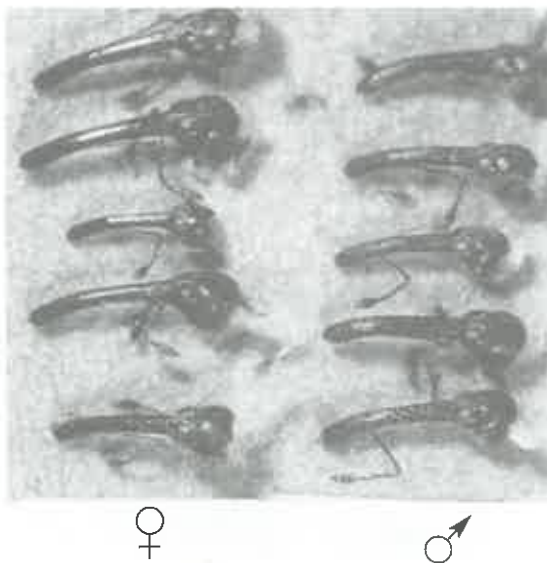
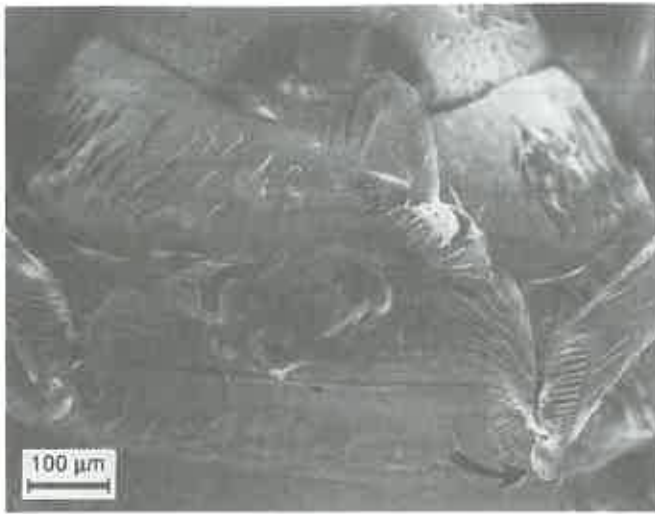


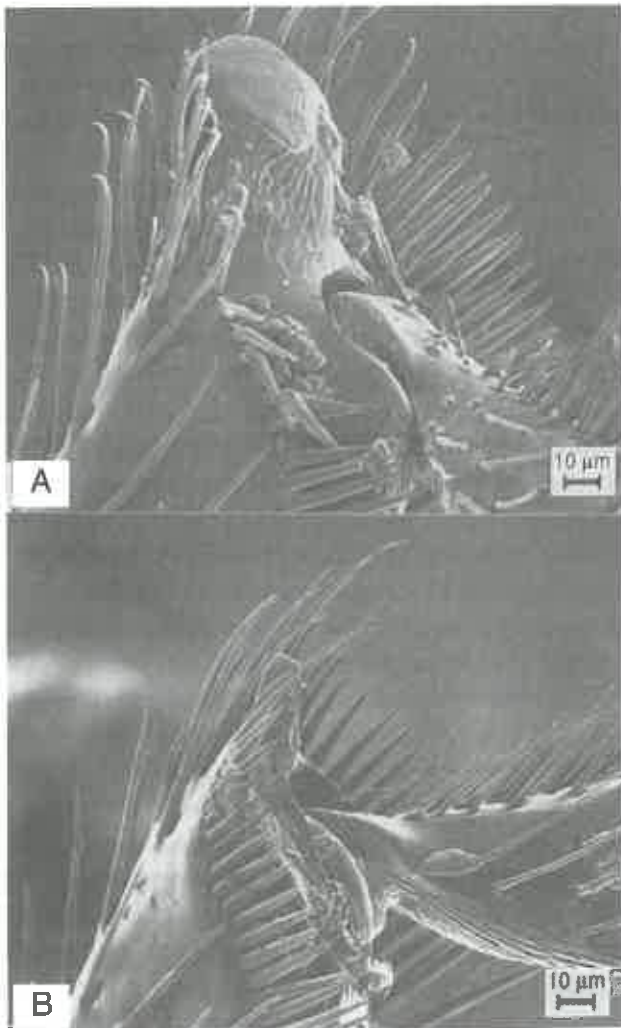
Figura 2. Variación en el tamaño de la cabeza e inserción de las antenas de machos y hembras del picudo del algodón (Fuente: Sappington y Spurgeon 2000).

Esta falta de confiabilidad en las técnicas empleadas para discriminar sexualmente al picudo condujo a la búsqueda de algún tipo de criterio o técnica más fidedigna. La técnica desarrollada se basa en el examen de los mucrones de la metatibia del picudo. Aunque se desconoce aún su función, la hipótesis es que los machos los utilizan para sostener a la hembra al momento de la cópula. Los mucrones de la metatibia de los picudos machos son más grandes y fuertes (curvados) que los de las hembras (Fig. 3 y 4), y son visibles en ampliaciones de cerca de 80x.

En los machos, los mucrones de la protibia y la mesotibia no son curvos y son mucho más cortos y delgados que los mucrones de la metatibia. En cambio, en las hembras, los mucrones de la metatibia tienen aproximadamente el mismo tamaño que los mucrones de la protibia y la mesotibia.



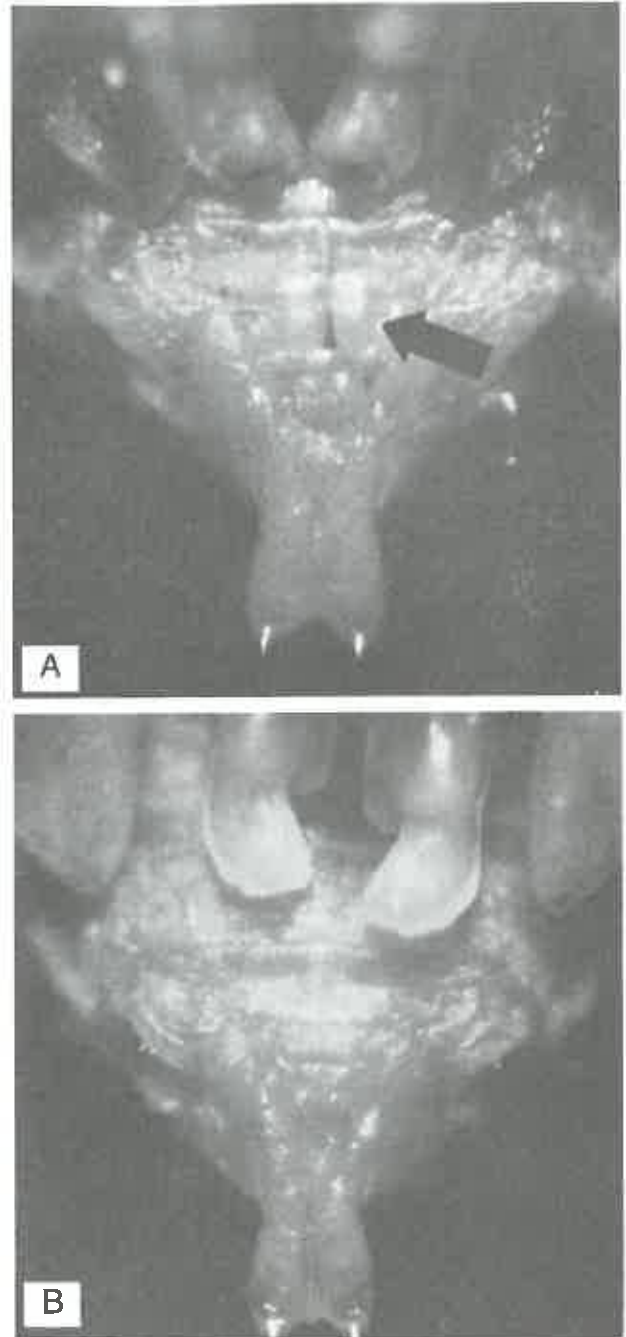
**Figura 3.** Vista ventral de un picudo macho. La flecha indica la localización de los mucrones de la metatibia (Fuente: Eller 1995).



**Figura 4.** Vista lateral de los mucrones de la metatibia del macho (A) y la hembra (B) del picudo (Fuente: Eller 1995).

### En pupas

En el caso de las pupas se puede aplicar la técnica usada por Anderson (1968) para sexar pupas de *A. grandis*, donde el dimorfismo sexual se centra en la presencia en las hembras de un par de lóbulos cortos, convexos y subcontinuos, ubicados en la parte abdominal anterior a la abertura anal (Fig. 5).



**Figura 5.** Vista posteroventral de una pupa hembra de *A. grandis grandis* (A), donde se indica la presencia del par de lóbulos, y una pupa macho de la misma especie (B), sin la presencia del par de lóbulos (Fuente: Anderson 1968).

## Conclusión

La determinación del sexo de los insectos es un requerimiento en diferentes estudios entomológicos y programas de erradicación. En el caso de los picudos, se han desarrollado varias técnicas alternativas; debido a sus niveles variables de eficiencia y confiabilidad, su aplicabilidad dependerá de los objetivos que se planteen los investigadores.

A pesar de la poca disponibilidad de información referente a la determinación de sexo de *A. eugenii*, los diferentes estudios revisados muestran la aplicabilidad de las técnicas usadas para sexar *A. grandis*.

Pese a su alto grado de confiabilidad, algunas de las técnicas muestran ser poco eficientes cuando se desea sexar un gran número de picudos.

Aún tomando en cuenta la subjetividad de algunas de las técnicas (como el tamaño de los adultos),

pueden utilizarse de manera complementaria para alcanzar resultados más fidedignos.

## Literatura consultada

- Agee, HR. 1964. Characters of determination of sex of the boll weevil. *Journal of Economic Entomology* 57(4):500-501.
- Anderson, DM. 1968. Observations on the pupae of *Anthonomus grandis grandis* Boheman and *A. grandis thurberiae* Pierce (Coleoptera: Curculionidae). *Annals of the Entomological Society of America* 61(1):125-129.
- Eller, FJ. 1995. A previously unknown sexual character for the pepper weevil (Coleoptera:Curculionidae). *Florida Entomologist* 78(1):180-183.
- Sappington, TW; Spurgeon, DW. 2000. Preferred technique for adult sex determination of the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Annals of the Entomological Society of America* 93(3):610-615.

# Mosca Blanca al Día

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

No. 43

Junio, 2003



## Nota editorial

En nuestro número anterior, comunicábamos y lamentábamos la muerte de Mario Bustamante, quien siempre acompañó en nuestra Red. Hoy, nuestra tristeza es mayor, por la muerte muy seguida de otros dos colegas, los doctores Joe Saunders y Orencio Fernández. Joe, quien fuera clave en el establecimiento de nuestra Red, como jefe de la Unidad de Fitoprotección del CATIE, murió el 4 de julio, a los 67 años, como consecuencia de problemas colaterales de la enfermedad de Parkinson. Orencio, virólogo panameño que muriera el 10 de julio debido a un cáncer, a una edad cercana a los 50 años, estuvo siempre vinculado a nuestra Red, especialmente como investigador. Por este medio expresamos a sus familiares y colegas nuestro pésame y condolencias.



## Charlas magistrales

Recientemente fuimos invitados a ofrecer una conferencia magistral en el XXX Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN), realizado en Cali. Dicha charla, titulada *Estatus del manejo de la mosca blanca (Bemisia tabaci) en América Latina y el Caribe: ocho preguntas pertinentes*, aparecerá en un próximo número de la revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. Recomendamos su lectura, pues sintetiza el estado actual del conocimiento y manejo del problema, y complementa bien otra charla, ofrecida el año pasado en Manaus, Brasil. Esta última, titulada *Manejo de Bemisia tabaci en América Central y el Caribe: la experiencia de un decenio*, apareció en el No. 65 de dicha revista. Con gusto podemos enviar una copia de este artículo, por correo electrónico o convencional.



## Hallazgos

Aprovechando nuestra participación en el XXX Congreso de SOCOLEN, de la memoria de este evento hemos extraído algunos resúmenes (los cuales hemos editado de

manera leve) que aportan una visión de lo que se está investigando al respecto en dicho país. En el próximo número de *MBDía* incluiremos otros resúmenes.

**El biotipo B de *Bemisia tabaci* adquiere mayor importancia en el Valle del Cauca.** Con el fin de actualizar la información obtenida en 1997 sobre la composición de especies y biotipos de moscas blancas que afectan cultivos anuales en el Valle del Cauca, se hizo un nuevo reconocimiento en 37 localidades de 19 municipios del Departamento. Se tomaron muestras de adultos y pupas en 11 cultivos. La diferenciación inicial entre las especies *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum* se hizo por observación al microscopio de la morfología del cuarto instar ninfal. La identificación por morfología se comprobó mediante la técnica de RAPD-PCR (cebador OPA-04), la cual también permitió diferenciar con precisión entre los biotipos A y B de *B. tabaci*. *T. vaporariorum*, la especie predominante en 1997 (73% de las muestras), ocupa ahora un lugar secundario, ya que apenas se detectó en 20,6% de las muestras tomadas en 2002-2003. El biotipo A de *B. tabaci*, que en 1997 se había encontrado en 15,5% de las muestras tomadas en algodón y soya, parece haber sido desplazado por el biotipo B, ya que no fue encontrado en ninguno de los muestreos realizados en 2003. Por el contrario, la incidencia del biotipo B aumentó del 11,5% en 1997 a 57,6% en 2003. Su mayor presencia se evidenció además por la común ocurrencia de desórdenes fisiológicos, como la maduración desigual en frutos de tomate y el plateado de las hojas del zapallo, que no habían sido reportados en el Departamento. Se encontró una mezcla de *T. vaporariorum* y *B. tabaci* biotipo B en un 21,7% de las muestras tomadas. Se discute la importancia que estos cambios en la composición de especies y biotipos de moscas blancas pueden tener para la región. (Isaura Rodríguez, Héctor Morales, Juan Miguel Bueno y César Cardona. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. Contacto: [i.rodriguez@cgiar.org](mailto:i.rodriguez@cgiar.org))

**La mosca blanca *Bemisia tabaci* como plaga directa y vectora de geminivirus en frijol.** *B. tabaci* es una plaga ampliamente distribuida en regiones tropicales y subtropicales del mundo, donde afecta más de 600 especies de plantas cultivadas y silvestres. Los daños causados por esta plaga se deben a diversos efectos de la mosca blanca en las plantas atacadas: 1) el debilitamiento de la planta como consecuencia de la alimentación de este insecto

chupador; 2) problemas fisiológicos causados característicamente por el biotipo B de *B. tabaci* (e.g. madurez irregular en tomate, plateado en cucurbitáceas, clorosis severa en diferentes especies); 3) a la excreción de sustancias que favorecen el crecimiento de hongos sobre las plantas colonizadas (i.e. fumagina); y 4) a la transmisión de geminivirus. En Colombia, el arribo del biotipo B de *B. tabaci* y la ocurrencia de condiciones climáticas favorables para el desarrollo de altas poblaciones de este insecto polífago, han causado en los últimos meses problemas severos de madurez irregular en tomate y una alta incidencia de virus en cultivos como tomate y habichuela. En este último cultivo, los virus transmitidos por *B. tabaci* no solo afectan la calidad de la vaina, sino que también afectan el rendimiento y la calidad de la semilla. En experimentos realizados en el CIAT con la variedad de frijol 'Top crop', se ha observado porcentajes de semilla no comercial hasta de un 97,7%, de las cuales el 51% presentan la testa rota y el 46,7% son semillas deformes y pequeñas. Las pérdidas de rendimiento de esta variedad por efecto del virus son del 99,3%.

(María Elena Cuéllar y Francisco Morales. CIAT. Cali, Colombia. Contacto: maeria058@hotmail.com)

**Control de *Bemisia tabaci* en el cultivo de algodón.** Para evaluar la eficacia biológica de Thiametoxam - Actara® 25 WG (37,5, 50, 75 y 100 g i.a./ha) para el control de *B. tabaci* en el cultivo de algodón, se instalaron dos experimentos (diciembre 2002 - enero 2003) en el Departamento de Córdoba. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones y un tamaño de parcela de seis surcos por 10 m. La 1ª aplicación se realizó cuando aparecieron las primeras ninfas en la 5ª hoja, y la 2ª se hizo ocho días después. Se evaluó el número de ninfas por hoja en pre-aplicación, 3, 5 y 8 días después de cada aplicación, así como el rendimiento. Se comparó con parcelas sin aplicaciones y un estándar (Lambdahalotrina a 25 g i.a./ha). Los resultados de rendimiento no dieron diferencias significativas. Entre las cuatro dosis de Thiametoxam no hubo diferencias significativas, ni tampoco en el número de ninfas ni en los porcentajes de eficacia. Con respecto a las parcelas sin tratar, las cuatro dosis de Thiametoxam presentaron un número de ninfas

significativamente inferior (y los mayores porcentajes de eficacia) en las tres evaluaciones posteriores a la 2ª aplicación. Es decir, que con dos aplicaciones consecutivas de Thiametoxam se logra un efecto significativo de control de *B. tabaci*. Respecto al estándar, no hubo diferencias significativas en el número de ninfas, pero las cuatro dosis de Thiametoxam sí lo superaron en el porcentaje de eficacia de las tres últimas evaluaciones, en el experimento con mayor presión de plaga.

(Joaquín Ospino y Vicente Requena. Syngenta S.A. Contacto: joaquin.ospino@syngenta.com)

**Caracterización del mecanismo de resistencia a "mosca blanca" *Aleurotrachelus socialis* Bondar en diferentes genotipos de yuca (*Manihot esculenta*).** *A. trachelus socialis*, insecto-plaga que ataca el cultivo de yuca en Colombia, causa pérdidas en rendimiento de hasta el 79%. Para caracterizar el mecanismo de resistencia, se evaluaron cinco genotipos de yuca en un cuarto de cría (70% HR, 28 ± 1°C, 12L:12D). CMC 40 y MEcu 72 se utilizaron como testigos susceptible y resistente, respectivamente. MPer 334, MPer 273 y MEcu 64, fueron seleccionados por presentar niveles variables de resistencia en experimentos de campo. La antibiosis se determinó mediante la duración del ciclo biológico, tamaño de las ninfas, tasa de mortalidad, peso seco de adultos y proporción de sexos. Se realizaron dos experimentos, el primero usando insectos de la colonia en CMC 40 y el segundo con insectos establecidos en cada genotipo. En el primero, el tiempo de desarrollo del insecto fue mayor en MEcu 64 y MPer 334 con 37,2 y 36,5 días, respectivamente. La mortalidad fue mayor (77%) en MPer 334 y (67,8%) en MEcu 64. El peso seco fue menor en MEcu 64. En el segundo, el tiempo de desarrollo fue mayor en MEcu 64, con 34,8 días. La mortalidad fue mayor en MEcu 64 (52%) y MPer 334 (38%). El peso seco fue menor en MEcu 72 y MPer 273. El tamaño de las ninfas fue menor en los genotipos resistentes. Se comprobó la resistencia en los genotipos evaluados y la posible influencia del cambio de hospedante en las poblaciones de la plaga.

(Müller J. Gómez, Bernardo Arias y Anthony C. Bellotti, Universidad Nacional de Colombia, Palmira, y CIAT. Contacto: mijogosa@hotmail.com)

Este Boletín está disponible por correo electrónico, o dentro de la revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología, a la cual puede ingresar a través de <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. 10

Junio, 2003

## Editorial

En este número se resaltan dos hechos significativos. Uno es la capacitación sobre los descortezadores de los pinos en América Central, que actualmente representan una verdadera emergencia en dicha región. Saludamos con satisfacción estos esfuerzos de la FAO y el CATIE, confiando en que ello conduzca a la creación de una red de colaboradores que haga posible el manejo de dicho problema, para lo cual existen buenas prácticas silviculturales ya validadas en otros ámbitos geográficos, que ameritan ser aplicadas aquí.

En segundo lugar, recibimos con beneplácito un nuevo libro, *Insectos forestales en Colombia*, que se suma a otros textos sobre plagas forestales neotropicales (enumerados en nuestro Boletín No. 2), entre los que destacan los amplios volúmenes de Cibrián *et al.* para México, Hochmut y Manso para Cuba, Hilje *et al.* para América Central, Ferreira para Brasil y Arguedas para semillas en América Central y el Caribe. Además de felicitar a su autor, el colega Alejandro Madrigal, confiamos en que, como lo hemos discutido en varias oportunidades, eventualmente se pueda escribir una obra

unificada, integradora y de cobertura continental sobre plagas forestales, por los entomólogos y patólogos forestales de nuestro continente.

## Descortezadores de pinos: capacitación regional

Una vez más, se han unido esfuerzos en América Central para la atender la salud de los bosques y, especialmente, el problema que representan los descortezadores o gorgojos de los pinos. Bajo una iniciativa de la FAO, esta vez se ha comenzado a desarrollar una serie de talleres en toda América Central, para definir una Estrategia Regional para Sanidad y Manejo Forestal.

Con ese fin, la FAO ha contratado al CATIE para que realice un adiestramiento de capacitadores quienes, a su vez, bajo la supervisión de expertos, capacitarán a técnicos nacionales en Guatemala, Belice, El Salvador, Honduras y Nicaragua.

El enfoque de esta capacitación, quizá diferente de otras dadas en la región, es el de vincular claramente el concepto de sanidad forestal dentro del de manejo forestal. Partiendo del conocimiento de la composición y estructura de los rodales, se explicará la susceptibili-

dad de los mismos al ataque de los descortezadores, la permanencia de situaciones epidémicas o bien, las estrategias para mantener el vigor del bosque.

Paralelamente, habrá un enfoque más profundo en los aspectos biológicos y ecológicos de los insectos, lo que contribuirá a optimizar las técnicas de diagnóstico y control, sobre todo al integrar los conocimientos locales aportados por los participantes. El adiestramiento pondrá énfasis también en el conocimiento actualizado sobre el uso de compuestos que afectan el comportamiento, como las feromonas y otros atrayentes, para monitorear la actividad de estos insectos, e integrando esta actividad al manejo de los bosques donde se encuentran estas plagas.

Contacto: Jorge Macías  
jmacias@tap.ecosur.edu.mx

## Crisomélidos defoliadores

Los crisomélidos (Coleoptera, Chrysomelidae) se caracterizan por su gran diversidad, tanto de especies — especialmente en los trópicos — como de hábitos alimenticios. En la silvicultura de plantaciones, incluyendo las fases de viverización de las plantas, cobran mucha importancia por los



daños producidos mediante defoliaciones severas y continuas. Para contribuir a su conocimiento, a continuación se resume información generada recientemente sobre dos especies en plantaciones forestales en Costa Rica.

***Coptocyclus leprosa***. Es la especie defoliadora con mayor incidencia en plantaciones jóvenes de laurel (*Cordia alliodora*). Tanto las larvas como los adultos se alimentan preferiblemente de hojas tiernas, en las que hacen perforaciones; las de las larvas son irregulares y, las de los adultos, circulares, de 0,5-1 cm de diámetro. Las hojas atacadas pueden perder hasta un 26% de lámina foliar.

Los huevos son ovalados, de tonalidad crema o beige, y miden 0,2 cm de longitud; son depositados en parejas. La larva tiene una morfología muy particular. Es amarillo intenso, con una línea negra dorsal, y presenta espinas amarillas con negro en los extremos, dispuestas a lo largo de los márgenes laterales; asimismo, en el extremo posterior, posee un par de prolongaciones negras, como una almohadilla, con una longitud de casi la mitad del cuerpo, donde deposita sus excrementos.

El adulto es amarillo claro, mide 1,2 cm de largo y su forma se asemeja al caparazón de una tortuga, con una protuberancia entre los élitros. Presenta élitros membranosos y bordes transparentes, en forma de corazón, morados. Parte de los élitros, el pronoto y el abdomen son morados, muy bri-

llantes y llamativos. La duración del ciclo de vida es de 37 días.

***Rhabdopterus* sp.** Es una especie polífaga, de importancia en la región centroamericana porque produce defoliaciones considerables en el follaje nuevo de teca (*Tectona grandis*). Solamente los adultos se alimentan de follaje, produciendo perforaciones típicas de forma elongada y curva, de 1,3 cm de largo y 0,16 de ancho. Los ataques están relacionados con la dominancia de gramíneas en el sitio, ya que las larvas se alimentan de las raíces de gramíneas y arándanos.

Los huevos son depositados en grietas en la superficie del suelo. Las larvas son blancas, con una línea longitudinal oscura y la cabeza marrón, con mandíbulas bien desarrolladas. Los adultos son escarabajos pequeños (4-5 mm de largo), compactos, robustos, de forma óvalo-alargada, verde oscuro a negruzco, con brillo metálico; los ángulos anteriores del tórax son finos y están dirigidos hacia fuera, las patas son rojizo claro con la tibia media arqueada. De hábitos alimenticios nocturnos. El ciclo de vida dura entre 39 y 52 días.

Para mayor información sobre estas especies, se pueden consultar las siguientes publicaciones.

Mata, A. 2001. Diagnóstico de los insectos herbívoros presentes en las plantaciones de monocultivos de pílón, cedro y laurel, ubicadas en las parcelas experimentales del Proyecto Huertos, Estación Biológica La Selva, Puerto Viejo de Sarapiquí, Heredia Costa Rica. Informe de Práctica de Especialidad. Cartago, CR. Instituto Tecnológico de Costa Rica. 106 p.

Muñoz, R. 2002. Estudios básicos del defoliador *Rhabdopterus* sp. en plantaciones de teca (*Tectona grandis* L.f.) de Flora y Fauna S.A. y Brinkman y Asociados Reforestadores de Centroamérica S.A. Informe de Práctica de Especialidad. Cartago, CR. Instituto Tecnológico de Costa Rica. 100 p.

Contacto: Marcela Arguedas  
([marguedas@itcr.ac.cr](mailto:marguedas@itcr.ac.cr))

## Nuevos libros

Recientemente aparecieron dos libros de un mismo autor, el colega colombiano Alejandro Madrigal Cardeño. El año pasado fue publicado *Insectos asociados al árbol urbano en el Valle de Aburrá* y hace muy poco tiempo *Insectos forestales en Colombia*.

Lógicamente, el primero tiene un interés más local, pues se circunscribe a un valle urbano de Medellín, pero contiene información muy valiosa, de tipo divulgativo, sobre plagas propias de los entornos urbanos; la calidad de sus fotografías es extraordinaria, y la diagramación excelente. El segundo libro, muy voluminoso (848 p.), tiene un valor más universal, un rico y original contenido, con un enfoque técnico; está profusamente ilustrado con fotografías en color.

Ambos libros serán reseñados en el próximo número de la revista *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*. En cuanto a su adquisición, el interesado puede contactar al autor en [amadriga@epm.net.co](mailto:amadriga@epm.net.co).

# Control Biológico de Malezas

Vera Sánchez Garita, Coordinadora  
(sanchezv@catie.ac.cr)

No. 5

Junio, 2003

## Crianza de artrópodos para el control biológico de malezas

Hernán Norambuena<sup>1</sup>

### Introducción

La crianza de organismos herbívoros es una fase crítica durante la ejecución de las etapas de cuarentena, determinación de especificidad y liberación de los bioagentes, particularmente en proyectos de tipo inundativo (aumentativo), útil cuando la maleza no es controlada con otras tácticas o no se permite el uso de otras tácticas por razones ambientales. En ella, se realizan liberaciones periódicas del agente de control biológico de malezas (CBM).

### Control biológico inundativo

Los herbívoros usados en esta estrategia de control de malezas han sido principalmente hongos y nematodos, los cuales, en comparación con los artrópodos, son más fáciles de criar, manipular y almacenar. No obstante, algunos proyectos han considerado la crianza masiva o algún tipo de manipulación de artrópodos, como los insectos (McFadyen 1998). El objetivo general es incrementar las poblaciones y los efectos del bioagente, dado que muchos herbívoros nativos no son efectivos debido a razones ecológicas, como la presencia de sus enemigos naturales. Esta carencia de "eficacia ecológica" del herbívoro puede ser superada mediante su propagación

artificial en el laboratorio y su liberación masiva sobre la maleza en condiciones favorables.

Dado que para el control biológico inundativo no es un requisito el uso de organismos exóticos y que el herbívoro no necesariamente debe tener "eficacia ecológica", este método implica ventajas en cuanto a seguridad y costos, ya que no es necesario realizar las etapas de exploración en el extranjero, cuarentena de limpieza y pruebas de especificidad en cuarentena. Sin embargo, el bioagente debe presentar, entre otras características, rápida reproducción y factibilidad de ser almacenado y reactivado mediante estímulos ambientales cuando se requiera usarlo; por lo tanto, su multiplicación en medio artificial es muy importante.

*Bactra verutana* Zeller (Tortricidae) es un uno de los pocos casos en los cuales se ha intentado la utilización de un insecto nativo en forma inundativa para el control de *Cyperus rotundus* L. y *C. sculentus* L., malezas cosmopolitas que infestan extensas áreas de cultivos ocasionando pérdidas millonarias. Esta polilla se alimenta de dichas malezas y, en condiciones naturales, no alcanza densidades poblacionales suficientes como para deprimir los órganos más vulnerables de *C. rotundus* (tubérculos

y rizomas) antes de que las malezas dañen las plantas de algodón. Consecuentemente, se investigó la cría del insecto en un medio artificial con el fin de liberarlo masivamente sobre la maleza (Frick y Chandler 1978, Frick y Wilson 1980, Frick 1982). Se utilizó técnicas de cría a gran escala, basadas en una dieta artificial (Sieckert *et al.* 1974). Para la crianza de larvas, se utilizó una dieta modificada de la dieta de germen de trigo de Vanderzant-Adkisson (en un incubador a 30°C). La dieta fue aceptada por los estados inmaduros, originando pupas de tamaño uniforme, la emergencia y reproducción del adulto y valores de longevidad y fecundidad similares a los de adultos recolectados en el campo. Se realizaron liberaciones inundativas de cinco larvas colocadas tres a cinco veces sobre tallos de *C. rotundus* de 7,5 cm de altura. Se observó reducción del crecimiento de la maleza y el rendimiento de algodón fue igual al observado cuando se aplicó herbicidas en el campo (Frick y Chandler 1978). Desafortunadamente, estas investigaciones fueron discontinuadas antes de precisar si las liberaciones a gran escala resultaban comparables al control químico o mecánico de la maleza en términos de costos.

### Control biológico clásico

Para la implementación de un proyecto de control biológico clásico, a menudo se envía o transporta un reducido número de individuos del bioagente desde su región de origen al país de introduc-

<sup>1</sup> INIA-Carillanca, Chile. hnorambu@carillanca.inia.cl

ción, lo que implica un riesgo de perder la colonia base. Por lo tanto, resulta fundamental el diseño de técnicas innovativas de crianza, especialmente crítico cuando no se cuenta con la alternativa de reintroducir el bioagente.

*Hylobius transversovittatus* Goeze es originario de Europa, introducido por primera vez a los Estados Unidos en 1992 para el control de la maleza exótica *Lythrum salicaria* (Lythraceae). Esta maleza es invasiva en áreas acuáticas y húmedas, dónde rápidamente domina el hábitat y reduce la biodiversidad vegetal y animal (Piper *et al.* 1996). Sin embargo, el ciclo biológico de *H. Transversovittatus* es complejo, presenta una generación anual, es de difícil crianza y colonización y requiere de dos o más años para causar un daño significativo a la raíz de la maleza, por lo que se ha justificado el desarrollo y la evaluación de dietas artificiales para incrementar la población del bioagente. Se ha desarrollado una dieta artificial que permite criar el insecto desde larva hasta adulto en aproximadamente 84 días, a un costo de US\$1,72 por individuo, lo cual permitió que un 32% de las larvas criadas alcanzaran el estado adulto. Las hembras se alimentaron u oviposicionaron sobre la maleza y fueron más fecundas que las producidas en el campo. Los adultos alimentadas con la dieta resultaron más pequeños que sus homólogos en el campo, pero la descendencia de los adultos criados en el laboratorio fue normal en tamaño cuando fue criada sobre plantas de *L. salicarium* (Matos, comunicación personal).

Etapas del proyecto de control biológico donde se requiere incrementar el bioagente

**Cuarentena.** Posterior a la introducción de una población del bioagente, después de confirmar su identificación y

separar el herbívoro de los organismos indeseables, es necesario completar un ciclo biológico del artrópodo en la cuarentena.

**Pruebas de especificidad y estudios biológicos.** También en condiciones cuarentenarias, es necesario estudiar o confirmar el grado de especificidad del bioagente. Esta etapa implica sacrificar parte de los individuos de la colonia; en consecuencia, es fundamental mantener crianzas de reserva, particularmente cuando el herbívoro es monovoltino o su comportamiento es notablemente afectado por el confinamiento. Estas crianzas de reserva permitirán conocer mejor su biología y puede llegar a constituir la única fuente disponible para continuar el proyecto.

**Liberación del bioagente.** Para su liberación en el campo es necesario contar con individuos en densidades suficientes y en el estado de desarrollo apropiado. Sin embargo, no siempre el levantamiento cuarentenario coincide con la época en que la maleza presenta el estado fenológico óptimo o existen las condiciones abióticas ideales para intentar la colonización en el campo. Por lo tanto, la multiplicación del bioagente, en laboratorio o invernadero, resulta esencial para evitar la reintroducción del herbívoro y la repetición de los procesos anteriores.

**Métodos de crianza y conservación.** El diseño de técnicas de crianza o almacenaje de artrópodos herbívoros es de gran relevancia para asegurar su población. Es conveniente realizar la crianza sobre plantas vivas de la maleza antes del levantamiento cuarentenario. No obstante, este problema puede ser resuelto manteniendo cultivos de hospedero natural (Fisher y Andrés 1999). Las dietas artificiales no son recomendables durante las crianzas iniciales, debido a que el alto grado de especificidad de los artrópodos fitófagos

puede dificultar la obtención de colonias viables (Norlund y Lewis 1976), los estudios sobre la biología del herbívoro pueden no ser confiables, las dietas pueden causar cambios en su comportamiento y se puede favorecer cambios genéticos de la población ("razas de laboratorio"). Sin embargo, las dietas artificiales pueden ser muy valiosas tras el levantamiento cuarentenario, para realizar múltiples liberaciones. Aunque el desarrollo de medios artificiales de crianza es muy limitado en el caso de herbívoros específicos, se cuenta con información sobre dietas y técnicas de multiplicación desarrolladas (King y Leppla 1984, Singh y Moore 1985).

Entre los principales factores que influyen en la crianza de artrópodos fitófagos de malezas, se debe considerar características como su ciclo vital, hábitos de comportamiento alimentario y dormancia, y las condiciones ambientales y nutricionales (alimento, agua), humedad relativa, luz, temperatura y espacio para desarrollar sus actividades de alimentación, reposo, apareamiento y reproducción. El mono o multivoltinismo del bioagente puede marcar la diferencia entre el éxito o el fracaso de la crianza base. Si bien los bioagentes que presentan varias generaciones son relativamente más fáciles de criar, tienen la desventaja de que se requiere mayor personal para su manejo y alimentación permanente; además, pueden aparecer rápidamente cambios o deterioros genéticos de generaciones de laboratorio. Por otra parte, los bioagentes monovoltinos por lo general demandan más tiempo y presentan mayores dificultades hasta completar su ciclo.

Las complicaciones en el inicio de la crianza y la subsecuente liberación de un herbívoro surgen cuando éste presenta alta incidencia de diapausa y

su transferencia se realiza desde un hemisferio a otro. Por ejemplo, el retardo de las primeras liberaciones de campo de la polilla de origen europeo *A. ulicetella* para el control clásico del *U. europaeus* en Nueva Zelanda (Hill *et al.* 1995) puede haber resultado de su monovoltinismo y alta incidencia de diapausa. Sin embargo, si el bioagente presenta diapausa verdadera, y se conocen los factores principales que permiten su terminación, ello puede ser una ventaja para la colecta, empaque y transporte previos y posteriores a la introducción, y para su almacenaje por períodos variables, dis-

minuyendo los costos de su manejo y alimentación durante las fases de crianza. Por ejemplo, intentos de almacenar pupas del insecto multivoltino *Phytomyza orobanchia* (Kroschel y Klein 1999), introducido desde Marruecos para el control de *O. Ramosa* en Chile, están en progreso, y pueden ser instrumentales para liberar la mosca durante el más bien corto período de disponibilidad de su hospedero natural en el campo (Norambuena *et al.* 2001).

Naturalmente, cada bioagente tiene sus propias particularidades, a las cuales se debe agregar las de la planta hospedera y las resultantes de la inte-

racción entre ambos, de tal manera que no hay una sola receta aplicable a todos los casos.

## Agradecimientos

El autor agradece el financiamiento del gobierno chileno a través de los Proyectos de CBM FONDECYT 1960030, FNDR IX Región 20098066, FNDR 20134472-2 y FONDO SAG IX1-55-0199. También agradece la cooperación internacional de M. Abderabihi, H. Atef, J. Collar, P. Conant, E. Coombs, J. Kroschel, O. Klein, G. Markin, S. Matayoshi, D. Shaw, y K. Teramoto, quienes hicieron posible la transferencia y utilización de los bioagentes.

## Literatura citada

- Fisher, TW; Andrés, LA. 1999. Quarantine: concepts, facilities, and procedures. In Bellows, TS; Fisher, TW. eds. Handbook of biological control. San Diego, California, USA. Academic Press. p. 103-124.
- Frick, KE. 1982. Evaluation of field releases of laboratory-reared larval and adult *Bactra verutana* (Lepidoptera: Tortricidae) for control of purple nutsedge. Environmental Entomology 11:938-945.
- \_\_\_\_\_; Wilson, RF. 1980. Suitability of immature stages of *Bactra verutana* for use in mass releases. Annals of the Entomology Society of America 73:674-678.
- \_\_\_\_\_; Chandler, JM. 1978. Augmenting the moth (*Bactra verutana*) in field plots for early-season suppression of purple nutsedge (*Cyperus rotundus*). Weed Science 26:703-710.
- Hill, RL; O'donnell, DJ; Gourlay, AH; Speed, CB. 1995. Suitability of *Agonopterix ulicetella* (Lepidoptera: Oecophoridae) as a control for *Ulex europaeus* (Fabaceae: Genisteae) in New Zealand. Biocontrol Science and Technology 5:3-10.
- King, EG; Leppla, NC. 1984. Advances and challenges in insect rearing. In King, EG; Leppla, NC. eds. Proceedings Conference in Atlanta, 4-6 March 1980, USDA-ARS, GA.
- Kroschel, J; Klein, O. 1999. Biological control of *Orobanch* spp. with *Phytomyza orobanchia* Kalt., a review. In Kroschel, J; Abderabihi, M; Betz, H. eds. Advances in parasitic weed control at on-farm level. v. 2. Rabat, Morocco. Joint Action to Control Orobanche in the Wana Region. p. 135-159.
- McFadyen, RE. 1998. Biological control of weeds. Annual Review of Entomology 43:369-393.
- Norambuena, H; Escobar, S; Rodriguez, F. 2000. The biocontrol of gorse, *Ulex europaeus*, in Chile: A Progress Report. In Spencer, NR. ed. X International Symposium on Biological Control of Weeds (1999, Montana State University, Bozeman, Montana, USA). Proceedings. p. 955-961.
- Norambuena, HJ; Díaz, J; Kroschel, J; Klein, O; Escobar, S. 2001. Rearing and field release of *Phytomyza orobanchia* in Chile. In Fer, A; Thalouarn, P; Joel, DM; Musselman, LJ; Parker, C; Verkleij, JAC. eds. 7<sup>th</sup> International Parasitic Weed Symposium. (2001, Faculté des Sciences Nantes, Francia). Proceedings. p. 258-261.
- Norlund, A; Lewis, WJ. 1976. Terminology of chemical releasing stimuli in interspecific and intraspecific interactions. Journal of Chemical Ecology 2:211-220.
- Piper, GL; Coombs, EM; Blossey, B; Rees, NE. 1996. Purple loosestrife. In NE Rees, PC Quimby Jr., GL Piper, EMCoombs, CE Turner, NR Spencer y LV Knutson (eds.). Biological control of weeds in the west. WSWS, USDA-ARS, Montana Department of Agriculture, Montana State University.
- Sieckert, EE; Ritenour, GL; Davis, HG. 1974. An artificial medium and rearing techniques for the colonization of *Bactra verutana*. Environmental Entomology 3:196-196.
- Singh, P; Moore, RF (eds). 1985. Handbook of insects rearing. v. 2. Amsterdam, NE, Elsevier.

Este Boletín está disponible por correo electrónico, o dentro de la revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología, a la cual puede ingresar a través de [www.catie.ac.cr](http://www.catie.ac.cr)

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



## Ministros de Comercio discutirían Trato Especial y Diferenciado



**Durante la Cumbre Ministerial de la OMC, en setiembre, representantes se proponen tomar medidas a favor de los países en desarrollo.**

La posibilidad de incorporar nuevas interpretaciones sobre el Trato Especial y Diferenciado (TED) para las medidas sanitarias y fitosanitarias parece estar ya en su última etapa, lo cual depende de la aprobación que den los miembros de la Organización Mundial del Comercio (OMC) en la quinta reunión ministerial a celebrarse en setiembre, en Cancún, México.

En la XXVII Reunión del Comité de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias de la OMC (Comité MSF), realizada en Ginebra el 23 y 24 de junio recientes, se analizaron las propuestas sobre el TED orientadas a la interpretación del Acuerdo, las cuales tienen su origen en los mandatos y discusiones de la pasada reunión ministerial de Doha, Qatar.

Como aporte a la aplicación práctica del TED, el Comité MSF continuó con la discusión del mecanismo preliminar sobre notificación de este, propuesto por Egipto y estructurado por Canadá, anteriormente. Este mecanismo de notificación permitirá a la comunidad internacional conocer las concesiones que realicen los países para la aplicación del TED.

La agenda de esa actividad incluyó también la temática relativa a la equivalencia, regionalización y transparencia. Estos asuntos serán incorporados en el siguiente encuentro, programado tentativamente para el 29 y 30 de octubre.

Entre los asistentes a esta reunión estuvieron 63 representantes de 32 países de las Américas, los cuales participaron gracias a un esfuerzo conjunto del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) y el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).

### Temas Técnicos

**Equivalencia:** El Comité de MSF continúa discutiendo las aclaraciones de los párrafos 5 y 7 sobre las directrices para la implementación de la equivalencia. El primero incorpora el concepto de comercio histórico entre miembros, y el artículo 7 analiza la base científica y el nivel adecuado de protección al establecer la equivalencia. Se redactará un nuevo documento que englobe los aportes de los diferentes miembros con el fin de tener un documento consensuado que permita aprobar las aclaraciones a los párrafos indicados.

**Transparencia:** Los países acordaron seguir estudiando la propuesta para incrementar el plazo de consulta de las notificaciones o cambiar el momento en cual rija el plazo de consulta. La Secretaría del Comité MSF programará un taller para los puntos de notificación e información durante la próxima reunión del Comité.

**Armonización:** El Comité aprobó mantener el sistema de armonización vigente desde 1997, e instó a los miembros a utilizar más activamente esta herramienta. Tailandia realizó consultas sobre los niveles máximos de residuos en ciertas sustancias y solicitó consultas con expertos en gestión de riesgo para acelerar el trabajo en este tema.

**Regionalización:** El Comité MSF pidió a los miembros presentar casos positivos y negativos que hayan experimentado en materia de regionalización, con el fin de determinar mecanismos que faciliten su implementación práctica de este concepto.

### Hablan los Países Miembros

**Comunidades Europeas (CE):** • En los Países Bajos, donde se presentó el primer brote de influenza aviar, ya se han implementado las medidas necesarias para el control de la enfermedad; a la fecha han sacrificado 38 millones de aves. Mientras tanto, en Bélgica y Alemania la enfermedad se controló gracias a las medidas adoptadas. • De igual forma, la CE publicó los procedimientos aplicables a las importaciones de animales vivos y productos de origen animal. • Compartió información sobre el sistema de alerta rápida para la identificación y comunicación de situaciones de emergencia en la CE con alimentos y productos nacionales e internacionales.

**Canadá:** Ante la aparición de un caso de Encefalopatía Espongiforme Bovina ("vaca loca"), los canadienses compartieron las acciones tomadas, transparentes y apegadas a la normativa internacional. Mayor información en el sitio web: <http://www.inspection.gc.ca>

**Argentina:** Finalizó en mayo de 2003 la quinta campaña de vacunación contra la fiebre aftosa, lo que facilitó la declaratoria de la zona situada al norte del paralelo 42° como libre de esta enfermedad con vacunación el 7 de julio del 2003 por parte de la Organización Internacional de Epizootias (OIE).

**Bolivia:** La OIE declaró la región de Chiquitania libre de fiebre aftosa con vacunación.

**Perú:** El Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), con una activa participación del sector privado, inició un proceso de reconocimiento de áreas libres de la mosca de la fruta. Desde el punto de vista económico, la inexistencia de esta enfermedad para el sector privado significa un beneficio de \$23 millones. Asimismo, se refirió a la importante labor que realizan de manera coordinada el sector público y privado para lograr el reconocimiento del país como libre de fiebre aftosa.

**Estados Unidos:** Publicó en mayo de 2003 un reglamento sobre el embalaje de madera sólida, actualmente en consulta.

**Ecuador:** Puso en marcha un Comité Coordinador para el Codex Alimentarius, el cual ayudará a mantener un permanente seguimiento y administración de los diferentes temas relacionados con el Codex. Adicionalmente, informó sobre el desenvolvimiento de su sistema de inspección para banano, producto de gran importancia para su economía.

**Territorio aduanero distinto de Taiwán, Penghu, Kinmen y Matsu:** Fue declarado libre de fiebre aftosa con vacunación por la OIE el 22 de mayo del 2003.

# Preocupaciones comerciales sobre el tapete

Durante la XXVII Reunión del Comité de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias de la OMC se discutieron los casos comerciales que aquí se sintetizan<sup>1</sup>.



## De origen zoonosario

- 1** **Argentina/Indonesia. Restricciones a las importaciones de productos lácteos por fiebre aftosa. Asunto planteado por primera vez en octubre del 2001.** Argentina informó sobre los avances y la buena disposición de Indonesia para aprobar los productos argentinos. Espera una pronta visita de los inspectores de ese país.

Indonesia indicó que el caso se lleva según el calendario programado entre las partes y agradeció la información facilitada por Argentina; la visita servirá para verificar la información.
- 2** **Argentina/Colombia. Restricciones a las importaciones de carne bovina por fiebre aftosa. Asunto planteado por primera vez en marzo del 2002.** Argentina informó sobre los rápidos avances del caso y dio detalles sobre una visita de las autoridades colombianas a su país, en la cual analizaron la información suministrada previamente.

Colombia indicó que el asunto de la fiebre aftosa avanzaba rápidamente por la inspección efectuada. A la vez solicitó inspección por parte del SENASA de Argentina para las fincas de flores de Colombia.
- 3** **Argentina/Trinidad & Tobago. Restricciones a las importaciones de salchichas de cerdo y otros productos de carne de cerdo, frescos, curados o salados. Asunto planteado por primera vez en noviembre del 2002.** Argentina afirmó que recibió del CARICOM anuencia para realizar inspecciones en el país. Informó sobre conversaciones bilaterales exitosas en Ginebra.

Trinidad & Tobago indicó que CARICOM pronto realizaría una inspección, la cual serviría para efectuar próximamente un análisis de riesgo.
- 4** **Comunidades Europeas (CE)/México. Restricciones a los productos cárnicos austriacos. Asunto planteado por primera vez en abril del 2003.** La CE indicó que Austria está reconocido como país libre sin vacunación desde 1981 y no considera técnicamente aceptable impedir el ingreso de cárnicos aduciendo riesgo de fiebre aftosa.

El impedimento, aseguró México, responde a un proceso administrativo, el cual intentará acelerar. Aclaró que este punto fue discutido de manera bilateral anteriormente.
- 5** **CE/China. Restricciones a los productos provenientes de la CE. Asunto planteado por primera vez en noviembre del 2002.** La CE indicó que la prohibición sobre los productos de origen animal procedentes de los Países Bajos fue suprimida, próximamente habrá una misión de inspección a esa nación. La CE solicitó a China trabajar bajo los lineamientos desarrollados por la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) con respecto a los empaques y embalajes de madera.

China indicó que operará con los estándares de la CIPF. Reconoció que la llegada del síndrome respiratorio severo agudo (SARS) ha retrasado el trabajo final en esta área. Informó que la prohibición de algunos productos de origen alemán se debe a la presencia de influenza aviar reportada por ese país.
- 6** **China/CE. Reglamento de la CE sobre importación de subproductos de origen animal. Asunto planteado por primera vez en abril del 2003. EE.UU. mostró interés en el caso.** China solicitó a la CE un mayor período para la implementación del reglamento; señaló que la mayoría de sus empresas son pequeñas y medianas.

La CE podría estudiar nuevas prórrogas, caso por caso; recordó que el reglamento es para productos que no son destinados a consumo humano. Esto fue notificado en el 2002 y su implementación se postergó para diciembre del 2003.
- 7** **Australia/CE. Restricciones a los animales vivos y productos de origen animal. Notificación en consulta, asunto nuevo.** Australia señaló que la notificación presentada por la CE no reconoce áreas libres de "Lengua Azul", y que Australia ha trabajado mucho en este campo. Informó que países como EEUU., Canadá, México y Japón reconocen áreas libres.

La CE señaló que la notificación presentada sobre este tema es simplemente una consolidación de la legislación existente.
- 8** **Australia/CE. Requisitos relativos a las condiciones sanitarias y la certificación para peces vivos. Notificación en consulta, asunto nuevo.** Australia señaló que el pez carpa es de gran importancia económica para el país, pero que la CE aplica riesgo cero en el comercio de este producto.

La CE señaló que el plazo de consulta para la nueva normativa no ha concluido y que se apegará a lo estipulado en el Código de la OIE.
- 9** **Hungría/Turquía. Restricciones a las importaciones de bovinos por fiebre aftosa. Asunto planteado por primera vez en abril 2003.** Hungría solicitó aclaración sobre los motivos técnicos que originaron el cierre del mercado, ya que ellos están libres de fiebre aftosa sin vacunación.

Turquía indicó que los animales provenientes de Europa deben ser vacunados y que los bovinos provenientes de Hungría no lo habían sido.

1. Esta síntesis no constituye un documento oficial, el cual deberá ser preparado por la Secretaría del CMSF de la OMC.

**10** **Hungría/Croacia. Restricción a la importación de animales vivos y productos cárnicos. Asunto nuevo. La CE mostró interés en el caso.** Hungría indicó que Croacia recientemente adoptó legislaciones y medidas que restringen la importación de animales en pie y productos cárnicos (especialmente, carne de res) sin ninguna notificación previa y sin suficiente evidencia científica. Requiere una certificación que señale que los animales no fueron alimentados con proteínas de tipo animal.

Croacia afirmó que las medidas se adoptaron para prevenir el ingreso de encefalopatías espongiformes transmisibles (EET), lo que ha evitado casos confirmados de estas enfermedades. Indicó que actuaron de acuerdo con las disposiciones relevantes de la OMC.

**11** **Tailandia/Australia. Restricciones en carne de pollo por la bursitis infecciosa aviar. Asunto planteado por primera vez en septiembre 1998.** Tailandia informó que no pueden acceder el mercado australiano, a pesar de haber desarrollado un análisis de riesgo que muestra la seguridad de sus productos.

Australia indicó que sí tiene acceso libre para los productos de Tailandia que han tenido proceso de cocción. Indicó que las medidas tomadas están basadas con fundamento científico.

**12** **Tailandia/Australia. Restricciones a las importaciones de camarones por riesgo al virus del síndrome de la mancha blanca. Asunto planteado por primera vez en marzo del 2001. Respaldado por ASEAN y de interés para la CE.** Tailandia indica que la medida temporal aplicada por Australia sigue rigiendo y la considera restrictiva.

Australia señaló que mientras no finalice el análisis de riesgo no levantará las medidas internas. Estas están validadas por los resultados positivos de las muestras realizadas.

**13** **EE.UU./China. Certificación para los productos acuáticos. Asunto planteado por primera vez en abril 2003.** EEUU. señaló que la medida no ha sido notificada, y no es aplicada a la industria nacional, por lo que es discriminatoria.

China señaló que la medida no es nueva, por lo tanto no debe ser notificada, pero en aras de la transparencia se ha dado tiempo en la OMC para los comentarios necesarios.

**14** **Canadá/Brasil. EEB. Asunto planteado en marzo del 2001 por primera vez.** Brasil informó que aplica medidas técnicas para que no entre la EEB a su país.

Canadá agradeció la información suministrada e instó a no restringir el comercio innecesariamente.

**15** **Indonesia/Japón. Restricciones a la importación de cogollos de caña de azúcar. Asunto planteado por primera vez en julio del 2001.** Indonesia indicó que está libre fiebre aftosa y reconocida por la OIE. Señaló que Japón no reconoce su estatus ni levanta la medida impuesta. Esta situación tiene tres años.

Japón indica que requiere más información científica para ser analizada por sus técnicos. Es necesario concluir el análisis de riesgo.

## Relacionadas con la inocuidad de alimentos

**16** **EE.UU./CE. Restricciones sobre la miel. Asunto nuevo. China y México mostraron interés en el caso.** EEUU aseguró contar con un programa de control de residuos para la miel e indicó que una restricción a toda la miel procedente de EEUU carece de fundamento científico.

La CE señaló que sus importaciones de miel requieren de un previo análisis de residuos enviado por sus socios comerciales, según su directiva D-23. Indicó que durante 2002, EEUU no presentó ningún plan de residuos.

**17** **Argentina/CE. Niveles máximos de aflatoxinas para el maíz. Asunto nuevo.** Argentina señaló que en el Reglamento 257/2002 de la CE se han establecido límites máximos que no están armonizados y consultó si tienen fundamento científico. Califica la medida como restrictiva para el comercio y consideró que se podría aplicar el TED.

La CE indicó que las aflatoxinas son cancerígenas y por lo tanto es difícil establecer límites aceptables. La CE señaló que cuentan con los niveles de residuos de los productos argentinos, los cuales son aceptables para la CE.

**18** **Brasil/CE. Restricciones a las importaciones de jugos de frutas. Asunto planteado por primera vez en abril 2003. China manifestó su interés en el caso.** Brasil ha realizado reuniones bilaterales con la CE para resolver el asunto. Los límites máximos de residuos aplicados por la CE restringen el comercio; informó que había un cargamento retenido en Suecia.

La CE indicó que actualmente existen muchos productos que se usan y no tienen evaluación científica.

**19** **Bolivia/CE. Niveles de aflatoxina fijados para las castañas amazónicas. Asunto planteado por primera vez en septiembre de 1998. Asunto de interés en sus orígenes por más de 20 países.** Bolivia informó de una exitosa reunión bilateral, con la cual esperan que inicie pronto, con cooperación de la CE, el programa para las castañas del Brasil.

La CE informó que la cooperación técnica se está gestionando y espera que sea implementada próximamente.

**20** **China/CE. Niveles máximos de residuos de plaguicidas en productos de origen vegetal y animal. Notificación en consulta, asunto nuevo. Brasil y Chile manifestaron interés.** China manifestó su preocupación por los niveles máximos establecidos por la CE y cuestionó su coherencia con los artículos del Acuerdo de MSF.

La CE señaló que la notificación presentada consolida la legislación ya existente, indicó que aquellos productos aprobados por el Codex o provenientes de terceros países que muestren científicamente que son inocuos podrán entrar al mercado sin problemas. Las sustancias sin respaldo científico no podrán entrar al mercado.

**21** **China/Japón. Residuos de Chlorpirifos en espinacas congeladas. Nuevo asunto.** China señaló que los límites establecidos por Japón no están armonizados internacionalmente y restringen el comercio de espinacas de China.

Japón indicó que sus límites establecidos están aprobados por el CODEX y la OMS. Para este producto, en particular, no existen límites establecidos internacionalmente. Japón se basa en el principio de exposición a partir del consumo diario.

## De origen fitosanitario

**22** **Brasil/Japón. Obstáculos a la importación de mangos. Asunto nuevo. Venezuela mostró interés en el caso.** Tras 18 años de vicisitudes, aún Japón no ha aceptado el sistema hidrotérmico brasileño para tratar las moscas de la fruta. Brasil indicó que este había sido aprobado por mercados tan exigentes como el de EEUU.

Japón indicó que sí había aceptado el sistema hidrotérmico, pero requería de información sobre la mosca de la carambola, por lo que continuaría pendiente hasta contar con todos los datos actualizados.

**23** **Nueva Zelanda/Japón. Restricciones de control oficial. Asunto planteado por primera vez en noviembre 1998. Asunto de interés para la CE, EEUU y Australia.** Nueva Zelanda muestra su preocupación sistemática por las fumigaciones y controles oficiales que Japón aplica. Consideró que los controles aplicados por Japón no se apegan a la normativa internacional.

Japón indicó que están estudiando sus normas y su vinculación con las normas Internacionales. Informó que se están realizando consultas técnicas internas para minimizar el impacto económico.

**24** **Argentina/Venezuela. Restricciones a las importaciones de patatas, ajo y cebollas. Asunto planteado por primera vez en marzo del 2002. EEUU mostró interés en el caso.** Argentina informó sobre una visita de campo realizada por las autoridades venezolanas, en la que proporcionaron un protocolo. Solicitaron el resultado de la visita e indicar si el cumplimiento del protocolo representa el acceso al mercado.

Venezuela afirmó que, desde 1977, se había impedido el ingreso de estos productos argentinos debido a la presencia de un hongo. Añadió que el cumplimiento del protocolo es condición necesaria para poder importar.

**25** **Tailandia/Australia. Prohibiciones a las importaciones de durión. Asunto planteado por primera vez en noviembre del 2000. Asunto respaldado por ASEAN.** Tailandia indicó que el método de muestreo actual causa grandes pérdidas en las exportaciones. Solicita métodos alternativos.

Australia señaló que su análisis de riesgo señalaba medidas alternativas que no fueron aceptadas por Tailandia. A su vez indicó que estarían disponibles las opciones técnicas de irradiación y la producción en áreas libres.

**26** **Países Bajos/Australia. Dificultad para importar tomates en racimo. Asunto planteado por primera vez en abril 2003.** La CE agradeció la publicación de Australia referente a la importación de tomates en racimos, pero a su vez señaló que se trata de un proyecto y que espera la publicación de las condiciones finales de importación. Informó sobre condiciones de importación diferentes con Nueva Zelanda.

Australia señaló que había publicado una política de importación de tomates en racimo y espera comentarios a esta. Añadió que tiene con Nueva Zelanda acuerdos firmados y respaldados técnicamente.

## Casos resueltos y otros temas

**27** **Australia/Japón. Usos de los organismos vivos modificados. Notificación en consulta, asunto nuevo.** Australia como interesado en OVM alentó a los países a seguir el ejemplo de Japón y Corea y publicar sus políticas de importación sobre OVM.

Japón informó que su reciente ley está dirigida al cumplimiento del Convenio de Diversidad Biológica. Dijo haber recibido consultas de Australia, a las cuales ya ha dado curso.

**28** **EE.UU: Informe sobre el proceso de consultas con la CE en productos biotecnológicos.** EEUU. informó que las consultas iniciadas con la CE en productos biotecnológicos no habían sido satisfactorias y que analizan cómo seguirán el asunto a futuro. Canadá y Argentina informaron que también habían iniciado consultas.

**29** **China: informe sobre el SARS.** Indicó que la enfermedad se transmitía únicamente por contacto directo de las personas y que los productos no eran vectores de esta, por lo que instó a los países a levantar las restricciones a sus productos tal y como lo hiciera Italia.

**30** **CE: Informe sobre la contaminación de aceite de oliva en España.** La CE informó que la contaminación con "aromatic polycyclic hydrocarbures" en aceite de oliva en España ya estaba controlada y solicitó a los países reestablecer el comercio.

**31** **Paraguay: Informe sobre fiebre aftosa.** Paraguay informó sobre las acciones tomadas con respecto a la fiebre aftosa. Espera contar pronto con el reconocimiento nuevamente de país libre con vacunación.

Instituto Interamericano de  
Cooperación para la Agricultura (IICA)



Sanidad Agropecuaria e Inocuidad de los Alimentos

Tel.: (506) 216-0184 / Fax: (506) 216-0173

Apdo. postal: 55-2200 Coronado, Costa Rica

Dirección electrónica: sanagro@iica.ac.cr

[www.infoagro.net/salud](http://www.infoagro.net/salud)

[www.iica.int](http://www.iica.int)



# Futuros Eventos

**23 al 26 de octubre, 2003**  
**Taller Latinoamericano sobre**  
**Control Orgánico de Plagas y Enfermedades**  
**y Manual de Campo**

Organizado por MAPO (Movimiento Argentino para la Producción Orgánica), IFOAM (Federación Internacional de Movimientos de Agricultura Orgánica), GTZ-Uruguay y la Universidad de Córdoba.

Sede: Huerta Grande, Córdoba, Argentina.

Información:  
[www.mapo.org.ar](http://www.mapo.org.ar)

**27 octubre – 21 noviembre, 2003**  
**Curso de Desarrollo Rural Basado en el Manejo**  
**de Ecosistemas Naturales Tropicales**

Sede: CATIE, Turrialba, Costa Rica

Información:  
Área de Capacitación y Conferencias  
Correo electrónico: [capacita@catie.ac.cr](mailto:capacita@catie.ac.cr)

O bien, en el sitio [www.catie.ac.cr](http://www.catie.ac.cr)

**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 Farias 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>.

**Manejo Integrado de**  
**Plagas y Agroecología**

[www.catie.ac.cr](http://www.catie.ac.cr)

**16-19 noviembre 2003**  
**Nuevo León, México**  
**VII Simposio Internacional y II Congreso**  
**Nacional de Agricultura Sostenible.**

Organizado por la Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible.

Información:  
<http://www.colpos.mx/eventos/simposio/simposio.html>

**17-19 noviembre, 2003**  
**V Congreso Nacional de Fitopatología**  
**IV Congreso Iberoamericano de**  
**Agroplasticultura**  
**IV Congreso Nacional de Suelos**

Sede: Hotel Corobicí, San José, Costa Rica

Información:  
Alianza Tecnológica para la Agricultura con Calidad  
Correo electrónico: [congreso@cia.ucr.ac.cr](mailto:congreso@cia.ucr.ac.cr)

O bien, en el sitio [www.suelos.ucr.ac.cr](http://www.suelos.ucr.ac.cr)

**17-28 noviembre, 2003**  
**Curso Internacional Bases Económicas para el**  
**Manejo y la Valoración de Bienes y Servicios**  
**Ambientales**

Sede: CATIE, Turrialba, Costa Rica

Información:  
Área de Capacitación y Conferencias  
Correo electrónico: [capacita@catie.ac.cr](mailto:capacita@catie.ac.cr)

O bien, en el sitio [www.catie.ac.cr](http://www.catie.ac.cr)

**7 al 10 de junio, 2004**  
**Segundo Curso en Control Biológico de**  
**Malezas**

Organizado por la Universidad de Florida, en cooperación con la Universidad Nacional Agraria de Nicaragua.

Sede: Hotel Barceló, Playa Montelímar, Nicaragua.

Información:  
Dr. Julio Medal, coordinador  
Correo electrónico: [medal@ifas.ufl.edu](mailto:medal@ifas.ufl.edu).

O bien, en el sitio  
<http://biocontrol.ifas.ufl.edu/materials/nicaragua.htm>

# 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

## 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:

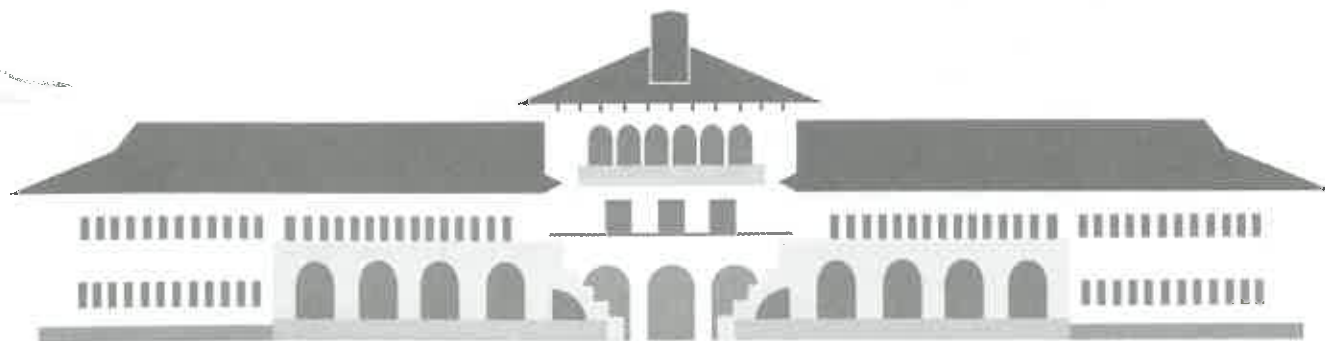
- I. Ciencias Forestales Tropicales
- II. Agroforestería Tropical

#### 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>

# 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 17 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)

