

# Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

Agosto 2007

No. 79-80



# 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 International, Agrícola, Agris, Latindex y la International Society for Pets Information (ISPI), 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.



La enfermedad causada por el Virus mancha anular del papayo (*Papaya ringspot virus*, PRSV) es considerada a nivel mundial como la principal enfermedad del cultivo. En México, la enfermedad puede causar pérdidas de hasta el 90%. El PRSV es transmitido por más de 21 especies de áfidos, y resulta importante establecer su importancia relativa como vectores de la enfermedad; así como describir el comportamiento de esta. En esta ocasión, las fotos de áfidos y papayos de nuestra portada fueron proporcionadas por **Hipólito Cortés Madrigal**, coautor de "Incidencia del Virus mancha anular del papayo y captura de áfidos alados en Tabasco, México" (p. 29), e **Ignacio García Ruiz**. Las coberturas vivas podrían convertirse en un valioso componente de la producción orgánica de hortalizas. Nuestra sección de *Experiencias* (p. 98) narra desde su génesis hasta su validación en el campo en la producción de tomate en Costa Rica; su autor, **Luko Hilje**, proporcionó la foto que aparece a mano derecha, abajo.

## 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. David Williams  
(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:** Roberto Barrantes

**Secretaría:** Yorlene Pérez

**Versión electrónica:** Yorlene Pérez

## Tiraje

1150 ejemplares.

## Correspondencia

Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología  
CATIE

7170 Turrialba, **Costa Rica**

Tel. (506) 558 2633/558 2408

Fax: (506) 558 2045/558 2060

Correo electrónico: ggithl@catie.ac.cr ó ccmip@catie.ac.cr

www.catie.ac.cr

**Fecha de inicio y periodicidad:**

No. 1, setiembre, 1986

Cuatrimstral (abril, agosto, diciembre).

# Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

Agosto 2007

No. 79-80

13 JUL 2010

RECIBIDO  
Turrialba, Costa Rica

CONTENIDO

## FORO

Estado del conocimiento sobre la rata de campo (*Sigmodon hirsutus*) en Costa Rica.....1  
Javier Monge

## ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

Diagnóstico de infecciones virales en plantaciones de papa (*Solanum tuberosum* L.) en la Zona de Alfaro Ruiz, Costa Rica .....7  
Viviana Vásquez†, Mauricio Montero Astúa, Carmen Rivera

Muestreo secuencial para la toma de decisiones de control de *Thrips palmi* en papa en Cuba .....13  
Alcides Cabrera Campos, Moraima Suris Campos, Walkiria Guerra Bustillo, Dora E. Nicó Pérez

Patogenicidad de aislados de *Beauveria bassiana* a *Caliothrips phaseoli* .....23  
Ricardo S. Cavalcanti, Alcides Moino Jr., Vanessa Andaló, Bernardo F. Altoé, Paulo Rebelles Reis, Lúcia A. Mendonça, Vanda H. P. Bueno

Incidencia del virus mancha anular del papayo y captura de áfidos alados en Tabasco, México .....29  
Hipólito Cortez-Madrigal, Gustavo Mora-Aguilera

Flutuação populacional do predador *Scymnus* sp. asociada a *Triozoida* sp. em goiabeira .....36  
Wilson Carlos Pazini, Júlio César Galli, Carlos Alexandre Colombi

Melon necrotic spot virus (MNSV): nuevo virus en el cultivo de melón en Panamá .....40  
J. A. Herrera-Vásquez, M. C. Córdoba-Selles, M. C. Cebrián, A. Alfaro-Fernández, C. Jordá

Alternativas de control de *Leptophobia aripa* en el cultivo de repollo en Los Altos de Chiapas, México .....49  
José A. Santiago, Lufs García-Barrios, Hugo Perales-Rivera, Julio C. Rojas

Amostragem sequencial para cochonilha-branca *Aulacaspis tubercularis* Newstead (Hemiptera: Diaspididae) na cultura da manga .....59  
William Victor Saconato, Sônia Maria De Stefano Piedade, Décio Barbin, Miguel Francisco de Souza Filho

Emprego de inseticidas alternativos no controle da mosca-branca (*Bemisia tabaci*, biotipo B, Homoptera: Aleyrodidae) no tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) .....68  
Antônio Nustenil de Lima, Jacinto de Luna Batista, Walter Esfrain Pereira, Nivânia Pereira da Costa, José Lucínio de Oliveira Freire, Serverino Pereira de Sousa Jr., Ridelson Farias de Sousa

Ocurrencia estacional de *Coccidophilus citricola* y de sus principales presas en una plantación de naranjos.....73  
Julio César Guerreiro, Evoneo Berti Filho, Antonio Carlos Busoli, Marcelo Gustavo Ruiz

Uso del pH, la luminosidad, temperatura y vitaminas del complejo B en el diagnóstico de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, patógeno del arroz en Cuba.....80  
L.M. Barrios, I.O. Pérez

Selección de hongos entomopatógenos para el control de *Bemisia tabaci* .....87  
Carlos Espinel, Lissette Torres, Victoria González, Alba M. Cotes

## NOTAS TÉCNICAS

Distribución del psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri* Kuwayama) en Costa Rica .....94  
William Villalobos, Carolina Godoy

## EXPERIENCIAS

En busca de coberturas vivas para el manejo de *Bemisia tabaci* como vector de virus en tomate .....98  
Luko Hilje

## HOJA TÉCNICA

La antracnosis del café (*Colletotrichum* spp.), un grave problema fitosanitario en plantaciones cafetaleras .....108  
Mendoza Ramón, Monzón Arnulfo, Herrera Isabel, Gutierrez Yaneth, López Carolina

Guía para autores .....117

## 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.

### Misión y Visión

#### Misión

Contribuir a la reducción de la pobreza rural en el trópico americano, promoviendo una agricultura y manejo de recursos naturales competitivos y sostenibles, a través de la educación superior, investigación y cooperación técnica.

#### Visión

El centro científico regional para la agricultura y el manejo de los recursos naturales dedicado al desarrollo rural sostenible y a la reducción de la pobreza en América tropical.

#### Director General

Pedro Ferreira Rossi

**Programa de Educación  
para el Desarrollo y la Conservación**  
Glenn Galloway

**Proyección Externa**  
Jorge Jiménez

**Administración y Finanzas**  
Viviana Sánchez

## Representaciones Nacionales del CATIE

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

#### EL SALVADOR

Apartado Postal 1-96  
41 Avenida Sur #539  
Colonia Flor Blanca,  
San Salvador,  
El Salvador  
Tel.: (503) 2298-6833  
Fax: (503) 2298-9789  
Correo electrónico:  
catiees@integra.com.sv

#### GUATEMALA

Apartado postal 76-A,  
2da Ave. 7-15. Zona 14,  
Los Arcos. Guatemala,  
Guatemala  
Tels. (502) 2366 2650  
Fax (502) 2366 1080  
Correo electrónico:  
catieguatemala@intelnet.net.gt

#### HONDURAS

Primera planta, edificio  
principal Secretaría de  
Agricultura y Ganadería  
SAG  
Bulevar Miraflores ave-  
nida La FAO  
Tegucigalpa, Honduras  
Tel. (504) 235 6609  
Fax (504) 235 6610  
Apartado postal# 2088  
Tegucigalpa, Honduras  
correo:  
catiehonduras@multidata.hn

#### NICARAGUA

Apartado Postal #4830  
Km 8 1/2 Carretera a  
Masaya  
Ministerio de Agricultura,  
Managua, Nicaragua  
Tel.: (505) 276 1026  
Fax: (505) 276 1108  
Correo electrónico:  
catienicaragua@tmx.  
com.ni

#### PANAMÁ

Apartado Postal  
08160-1332  
Clayton Ciudad del Saber  
Edificio No. 20, Planta  
Baja. Panamá, Panamá  
Telefax: (507) 500-0514  
Correo electrónico:  
catiepanama@cwpanama.net

#### BOLIVIA

Calle Batallón Colorados  
Edificio El Condor No.24.  
Piso 10, Oficina 1006  
-1007. La Paz, Bolivia  
Telefax:(591) 2 2442 193  
Correo electrónico:  
catiebolivia@catie.ac.cr

## Enlaces Institucionales

#### BELICE

Dr. Salvador Monge  
Representante IICA  
Apartado Postal #448,  
Belmopán, Belice  
Tel.: (00501) 822 0022  
Fax: (00501) 822 0286  
Correo electrónico:  
salvador.monge@iica.int

#### COLOMBIA

Convenio Universidad Tecnológica de  
Pereira-CATIE.  
Apartado Postal 097, Pereira, Colombia  
Tel. directo (00576)  
321 3651  
Telefax: (57) 83218738  
Correo electrónico:  
catiecolombia@utp.edu.co

# CATIE

Solutions for environment and development  
Soluciones para el ambiente y desarrollo

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

# Estado del conocimiento sobre la rata de campo (*Sigmodon hirsutus*) en Costa Rica

Javier Monge<sup>1</sup>

**RESUMEN.** La rata de campo o de la caña de azúcar (*Sigmodon hirsutus*) ha sido reconocida recientemente como una especie nueva que se distribuye desde el sur de México, a través de América Central y hasta el norte de Venezuela. Anteriormente, las poblaciones de América Central y Sur de esta especie eran consideradas como las sureñas de la especie *S. hispidus*. La información disponible acerca de *S. hirsutus* en publicaciones de distribución masiva es escasa. Dada la existencia de información proveniente de tesis de grado y posgrado realizadas en Costa Rica acerca de dicha especie, en el presente documento se rescata dicha información y se hace un análisis comparativo entre las fuentes de información. Se concluye que la información sigue siendo escasa, dado que son pocos los temas abordados y algunos se repiten. Entre los estudios se presentan diferencias metodológicas y algunos tienen bajas densidades de muestreo, lo cual puede explicar las diferencias en los resultados. Se recomienda plantear nuevos estudios sobre esta especie, que abarquen al menos un ciclo anual y cuyas metodologías e intensidad de muestreo ofrezcan resultados más concretos que sirvan de insumo para la toma de decisiones para su manejo.

**Palabras clave:** roedores, plagas vertebradas, ecología, medidas corporales, estructura poblacional.

**ABSTRACT.** Current knowledge about *Sigmodon hirsutus* in Costa Rica. *Sigmodon hirsutus* has been recently registered as a new species, distributed from Southern Mexico to Venezuela. Previously, Central and South American populations of this rat were considered as the southern forms of *Sigmodon hispidus*. There is very little information published about *S. hirsutus*. Given the existence of graduate and postgraduate thesis research carried out in Costa Rica about this species, we recover the information present in them and compare their sources. We conclude that data is still scarce, with few and repetitive research subjects. The studies show methodological differences, and some have low sampling densities, which may explain variations in their results. We recommend carrying out new studies, encompassing at least one annual cycle, with sampling methodologies that yield more concrete results, useful in decision-making about their control.

**Keywords:** rodents, vertebrate pests, ecology, body measurements, population structure.

## Introducción

La rata de campo o de la caña de azúcar de América Central (*Sigmodon hirsutus*) ha sido reconocida hasta hace pocos años como especie nueva a partir de los trabajos de Peppers et ál. (2002) y Carroll y Bradley (2005), basados en estudios genéticos. Anteriormente se asumía que

existía la especie *Sigmodon hispidus*, con al menos 32 subespecies (Cameron y McClure 1988), con un ámbito de distribución que abarcaba desde la parte central y sureste de Estados Unidos, México (excepto la costa occidental), América Central hasta el centro de Panamá y el norte de Colombia y de Venezuela (Reid 1997).

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos (CIPROC), Escuela de Agronomía, Universidad de Costa Rica. Costa Rica. [jjmonge@cariari.ucr.ac.cr](mailto:jjmonge@cariari.ucr.ac.cr)

La actual clasificación considera las poblaciones de ratas del género *Sigmodon* que se encuentran desde Nicaragua hasta el norte de Venezuela y Colombia como *S. hirsutus*, y las poblaciones desde el centro de México hacia el norte como *S. hispidus* (Musser y Carleton 2005). Esta modificación en la clasificación taxonómica repercute en la cantidad de información disponible para cada especie, evidenciando una carencia de esta, principalmente para la nueva especie, *S. hirsutus*. Esto se debe a que en el pasado, al ser consideradas como una sola especie, se creía contar con una gran cantidad de información de una especie, aun cuando la misma proviniera especialmente de las poblaciones que habitaban en la sección septentrional de su ámbito de distribución.

Es posible que en algunos estudios con poblaciones de ratas algodoneras de América Central se haya encontrado diferencias o inconsistencias con lo documentado en la literatura sobre aspectos biológicos y ecológicos de las ratas algodoneras. Algunas posibles explicaciones de tales diferencias obedecen a las particularidades de la zona tropical con respecto a la subtropical o templada, o a razones metodológicas. Sin embargo, el actual reconocimiento de dos especies en vez de una da lugar a nuevas interpretaciones de las diferencias encontradas en estudios previos sobre las hoy segregadas especies del norte (*S. hispidus*) y del sur (*S. hirsutus*).

La poca información ecológica y biológica publicada que corresponde a *S. hirsutus* ahora se refiere a la distribución de la especie dentro del país, a las zonas de vida en que se encuentra y a las especies de roedores con las cuales cohabita (McPherson 1985). Asimismo, Bonoff y Janzen (1980) aluden a los hábitats ocupados durante la estación lluviosa en el Parque Nacional de Santa Rosa, en la provincia de Guanacaste. Dentro de estos hábitats se encuentran pastizales, bosques mixtos caducifolios, bosques húmedos, bosques siempreverdes y pantanos. También se estudió su capacidad para nadar (Cook et ál. 2001) y las características de sus nidos (Dawson y Lang 1973).

Con respecto a las condiciones climáticas, se relacionó la abundancia poblacional con el fenómeno oceánico atmosférico El Niño-Oscilación Sur, observándose durante estos años una reducción del 4% de la población habitual de esta especie (Retana et ál. 2003). Otros estudios se relacionan con aspectos parasitológicos (Castro et ál. 1998, Rodríguez et ál. 1999, 2000).

*S. hispidus* ha sido considerada como la especie de roedor más dañina en pequeñas fincas de América

Latina (Fall 1980), lo cual es válido para la nueva especie *S. hirsutus*. Es así como ésta ha sido reportada como plaga de diferentes cultivos agrícolas en Costa Rica, tales como arroz, caña de azúcar, maíz, café, frijol, piña, maní, sorgo y tomate, así como de varias especies forestales, tales como pochote, melina, gavián y acacia (Hilje y Monge 1988, CATIE, 1991, Hilje 1992a).

Ante la relativamente escasa información disponible para *S. hirsutus*, aquella existente en tesis de grado y postgrado adquiere reconocimiento, lo cual no siempre se hace en virtud de no haber sido sometida a un consejo editorial de una revista científica. Es por eso que en el presente documento se rescata la información disponible en esos tipos de documentos, en Costa Rica, considerándose entonces como *S. hispidus*.

### Materiales y métodos

La información presentada en este documento proviene principalmente de las tesis de Ruiz (1984), Castro (1986) y Monge (1992), desarrolladas en la provincia de Guanacaste, Costa Rica, ubicada en la región noroeste del país, la cual presenta una estacionalidad climática bien marcada, con dos estaciones: lluviosa (de mayo a noviembre) y seca (de diciembre a abril). El uso de la tierra predominante corresponde a pastizales, seguido de agricultura y algunas áreas boscosas concentradas principalmente en áreas protegidas (Savitsky et ál. 1995).

El estudio de Castro (1986) fue realizado en un ambiente natural que incluye bosque secundario y pastizal, mientras que los otros corresponden a predios cultivados con caña de azúcar. El período de estudio difiere entre las tres fuentes, aunque se presentan algunos traslapes entre meses. El de Ruiz (1984) abarcó de junio a febrero con excepción de diciembre, incluyendo las dos estaciones climáticas, al igual que el de Castro (1986), que comprendió de junio a agosto, más diciembre; Monge (1992) desarrolló su estudio entre mayo y agosto, durante la estación lluviosa.

El área e intensidad de muestreo también difiere entre los estudios. Ruiz (1984) utilizó tres parcelas de 3 ha cada una, con 54 puntos de trampeo, durante cinco noches consecutivas por mes. Monge (1992) tuvo como área de muestreo dos lotes de 10 y 15 ha, con 160 puntos de muestreo por lote, durante tres noches por quincena. Castro (1986) utilizó dos parcelas de 0,8 ha, con 80 trampas por parcela, con cinco noches por mes. En cuanto a las trampas, en los tres estudios se utilizaron trampas Sherman de captura viva, aunque Ruiz (1984) también utilizó trampas Havahart. Los cebos utilizados fueron la

mezcla de avena, mantequilla de maní y harina de maíz (Castro 1986), mezcla de avena, maíz quebrado y banano maduro (Monge 1992) y trozos de banano verde, nuez de coco, caña de azúcar y tortilla embebida en aceite de maíz (Ruiz 1984).

## Resultados y discusión

La información biológica y ecológica sobre *S. hirsutus* proveniente de tesis llevadas a cabo en Costa Rica se refiere a medidas corporales, dimorfismo sexual, proporción de sexos y edades, actividad reproductiva, tamaño de las camadas, parásitos, ámbito de acción, abundancia y densidad poblacional, y relación con otras especies de roedores. A continuación se resumen y comparan estos aspectos entre los estudios realizados.

### Medidas corporales y dimorfismo sexual

Las medidas corporales de las que se dispone de información son el peso y la longitud. La longitud total promedio es de 230,2 mm (machos) y 226,6 mm (hembras), considerándose solo los adultos, mientras que la longitud de la cola es de 105,5 mm (machos) y 108,4 mm (hembras) (Ruiz 1984), por lo que la longitud del cuerpo sería de 124,7 mm y 108,26 mm, respectivamente. En cuanto al peso corporal, fue de 118,33 g (machos) y 121,5 g (hembras).

Para el mismo sitio, Monge (1992) obtuvo longitudes corporales para los subadultos y adultos correspondientes a  $144,53 \pm 8,84$  mm (machos) y  $145,29 \pm 13,13$  mm (hembras), las cuales superan en 16 y 34%, respectivamente, los datos aportados por Ruiz (1984). Sin embargo, en cuanto a los pesos promedio, fueron de  $90,88 \pm 15,66$  g (machos) y  $96,71 \pm 24,56$  g (hembras), inferiores en 30 y 26% a los de Ruiz (1984).

Por su parte, Castro (1986) presenta valores incluso menores en términos de peso para ambos sexos, debido a la inclusión de datos de jóvenes y adultos, lo cual impide hacer comparaciones con los otros estudios. Aun cuando Monge (1992) presenta valores promedio para ambos sexos y categorías de edad, así como el tamaño de cada muestra, lo cual permitiría estimar un valor promedio por sexo o general, tampoco serían comparables ambos estudios, ya que se depende de las proporciones de cada clase de edad de las poblaciones estudiadas.

En cuanto al dimorfismo sexual, Castro (1986) indica que sí existe en términos de peso, superior en los machos en un 25%. En los datos de Ruiz (1984) se percibe una diferencia del 15% a favor

de los machos en la longitud corporal, así como de más del 2% en el peso a favor de las hembras, pero no se puede determinar si las diferencias fueron significativas, pues no aporta medidas de variabilidad de los datos. Por su parte, los datos de Monge (1992) reflejan una gran similitud en la longitud corporal, con una diferencia inferior a 1% entre sexos, y en cuanto al peso una diferencia de 6% a favor de las hembras, aunque no hubo diferencias significativas que indicaran algún dimorfismo sexual.

### Proporción de sexos y edades

La proporción de sexos fue similar a la igualdad (1:1) en el estudio de Ruiz (1984); en el área de mayor captura ( $n = 51$ ) hubo 24 machos y 27 hembras. A su vez, aun cuando Monge (1992) logró una captura mayor de machos (1,5:1), tampoco encontró una diferencia significativa. En el estudio de Castro (1986) hubo una diferencia significativa a favor de los machos, tanto en el área de pastizales (72 machos y 48 hembras, 1,5:1) como en el bosque secundario (41 machos y 22 hembras, 1,86:1); dicho autor sugiere un comportamiento más exploratorio por parte de los machos.

En cuanto a la clasificación de individuos por edad, Ruiz (1984) y Monge (1992) utilizaron como referencia la clasificación de Odum (1955), basada en el peso corporal. Aquellos con peso inferior a los 60 g se consideraron como jóvenes, de 60 a 110 g como adultos, y de más de 110 g como adultos viejos. Una variante que presenta Monge (1992) se refiere al nombre de las clases de edad, llamándolas "juveniles", "subadultos" y "adultos", respectivamente. Por su parte, Castro (1986) utilizó intervalos inferiores para las clases de edad, clasificándolos así: juveniles (< 40 g), subadultos (41-80 g) y adultos (> 80 g).

La población del área de estudio con mayor captura ( $n = 51$ ) de Ruiz (1984) estuvo conformada por un 7,8% de jóvenes, 24,5% de adultos y 64,7% de adultos viejos. En el estudio de Monge (1992), los jóvenes tuvieron una representación de 25,6%, los adultos ("subadultos") de 55,8% y los adultos viejos ("adultos") de 19,6%, en una muestra de 43 individuos.

Los datos de Castro (1986) indican que la población de junio a agosto (época lluviosa) en el área de pastizal fue la siguiente: jóvenes (27%), subadultos (27%) y adultos (46%). A su vez, en diciembre (época seca) la proporción de juveniles superó la de las otras dos clases, con

una representación del 57%, mientras que el 6% fueron subadultos y el 37% adultos. En el área de bosque secundario, la distribución correspondió a juveniles (15%), subadultos (40%) y adultos (45%) en la época lluviosa, mientras que en la época seca también se observó un incremento de la clase de juveniles a un 30%, aunque no igualó a las otras dos clases, representadas por un 35% cada una.

Los datos de Castro (1986) no son comparables con los de los otros estudios, ya que utilizó clases de edad con límites diferentes. Sin embargo, se nota una diferencia en cuanto a un incremento en la representación de la clase de jóvenes en la época seca; no obstante, los datos de Ruiz (1984) indican que la clase más representada en enero y febrero fue la de adultos viejos, con un claro predominio del 90 y 80% en cada uno de esos meses, respectivamente.

### Reproducción

Ruiz (1984) recolectó hembras preñadas entre junio y febrero. La mayor cantidad de hembras preñadas se detectó en enero, lo cual corresponde al mes con mayores capturas totales. El tamaño de camadas varió entre 2 y 10 embriones, con un promedio de  $6,86 \pm 2,18$  con base en 14 hembras preñadas.

### Parásitos

En una muestra de 38 especímenes, Ruiz (1984) indica que todas tuvieron algún tipo de parásito. A solo dos individuos se les encontró ectoparásitos, piojos del género *Hoplopleura* (Hoplopleuridae), mientras que a todos los individuos se les encontró endoparásitos; los géneros más frecuentes fueron *Raillietina* (Davaineidae), *Longistriata* (Heligmosomidae), *Trichomonas* (Trichomonadidae), *Eimeria* (Eimeriidae), *Lambliia* (sin. *Giardia*) (Hexamitidae) y *Entamoeba* (Entamoebidae). A todos los individuos clasificados como adultos viejos se les encontró endoparásitos, infectando según el parásito entre 30 y 100% de los individuos: a los subadultos entre 10 y 90% y a los jóvenes entre 0 y 62,5%. Algunos endoparásitos como *Enteromonas* (Enteromonadidae), *Chilomastix* (Chilomastigidae), *Monodontus* (sin. *Bunostomum*) (Ancylostomatidae), *Mastophorus* (Spiruridae) y *Raillietina* no fueron encontrados en individuos jóvenes. Algunos géneros como *Longistriata*, *Eimeria* y *Trichomonas* fueron también encontrados en estudios posteriores en *S. hirsutus* provenientes de otros sitios (Castro et ál. 1998, Rodríguez et ál. 1999).

### Ámbito de acción

El ámbito de acción fue estudiado por Castro (1986) y Monge (1992), con resultados muy diferentes. Castro (1986) lo estimó en 0,05 ha (machos) y 0,04 ha (hembras) para el área de pastizal, con base en 16 machos y 14 hembras capturados en al menos tres ocasiones. Para el bosque secundario, los valores fueron de 0,068 y 0,061 ha, respectivamente, con base en ocho machos y nueve hembras.

Por su parte, Monge (1992) estimó el ámbito de acción de dos individuos, ambos machos. En un caso se lograron sus capturas en los dos lotes de estudio que cubrían un área de 26 ha, siendo estimado en 3,48 ha. El otro individuo solo se capturó en uno de los lotes, y su ámbito fue de 0,91 ha. Ambos valores son muy superiores a los de Castro (1986). Hubo una diferencia metodológica importante en relación con la extensión de área muestreada en cada estudio; el lote más pequeño muestreado por Monge (1992) fue de 10,46 ha, mientras que todas las parcelas de Castro (1986) median 0,8 ha, lo cual impedía estimar el ámbito más allá de la dimensión de cada parcela.

### Abundancia y densidad poblacional

La abundancia poblacional, basada en el éxito de captura en las trampas, indica que ésta varía a través del año. Entre junio y noviembre, Ruiz (1984) obtuvo un éxito de captura de 2-7 individuos, mostrando un crecimiento continuo. Para enero se percibió un incremento del 300% con respecto a noviembre, con 21 capturas, mientras que en febrero bajó a 10. Para el intervalo mayo-agosto, Monge (1992) logró capturas vivas quincenales (sin considerar recapturas) de 1-6 individuos, y mensuales de 3-9 individuos, sin una tendencia clara de incremento o decrecimiento. Por su parte, Castro (1986) detectó una tendencia inversa a la de Ruiz (1984), ya que entre junio y agosto hubo un decrecimiento, con capturas de 50, 31 y 11 individuos en el área de pastizal, y de 33, 11 y 5 en el bosque secundario, pero coincide con un incremento en la época seca (en diciembre), aunque no alcanza la cantidad de junio en ninguno de los dos sitios de estudio.

En cuanto a la densidad poblacional estimada, solo Castro (1986) presenta datos, los cuales difieren en tendencia a sus propios datos de abundancia, ya que para junio, julio y agosto, se estimó en 54, 89 y 103 individuos/ha, respectivamente, para un área de pastizal, y de 42, 48 y 54 individuos/ha para un bosque secundario.



### Relación con otras especies de roedores

El estudio de Castro (1986) permite conocer la relación con otras especies de roedores. La captura de *S. hirsutus* y *Liomys salvini* (Heteromyidae) en los dos ambientes estudiados indica que ellas coexisten, lo cual fue corroborado en una hacienda dedicada al cultivo de arroz (Lezama 1996). Castro (1986) también logró capturas de una especie de *Reithrodontomys* en ambos sitios, aunque en densidades muy bajas. McPherson (1985), basado en información de especímenes de museo y sus propias capturas, indica que también cohabita con *Mus musculus*, *Rattus rattus*, *R. norvegicus*, *Zigodontomys brevicauda* y *Oryzomys couesi* (referida ahí como *O. palustris*).

### Consideraciones finales

El presente análisis revela claramente que la información disponible sobre *S. hirsutus* es escasa. Los temas tratados, tanto en publicaciones de difusión masiva como en tesis de grado y postgrado, son relativamente pocos, siendo algunos tomados en cuenta en varios de los estudios. También resalta la corta duración de los mismos, la cual no supera los nueve meses de datos de campo, no disponiéndose de ninguno que complete el ciclo anual de la especie en forma continua.

Aun cuando se reconoce el valor de la información obtenida a través de los estudios realizados, se encuentran más diferencias que similitudes entre ellos, a pesar de la cercanía o coincidencia de los sitios de estudio, lo cual puede deberse a diferencias metodológicas, así como a la intensidad baja de los muestreos. Dado que existen ciclos en la dinámica poblacional de esta especie, cuya duración es de alrededor de cinco años (Hilje 1992b), algunas diferencias entre los estudios pueden obedecer a las condiciones propias de años con diferentes densidades poblacionales.

Por lo tanto, considerando el papel de esta especie como plaga agrícola, así como su participación en el ciclo de vida de algunos parásitos que afectan al ser humano (Rodríguez et ál. 2000, Abraham et ál. 2004), y la escasa información disponible acerca de ésta, es evidente la necesidad de plantear nuevas investigaciones, cuya metodología e intensidad de muestreo permitan llegar a conclusiones sólidas que, a su vez, ofrezcan un insumo apropiado para la toma de decisiones de manejo.

### Literatura citada

- Abraham, EH; Schulz-Key, H; Geiger, SM. 2004. Caracterización de antígenos de bajo peso molecular de *Angiostrongylus costaricensis*, reconocidos durante una infección experimental en roedores. *Parasitol. Latinoam.* 59:8-13.
- Bonoff, MB; Janzen, DH. 1980. Small terrestrial rodents in eleven habitats in Santa Rosa National Park, Costa Rica. *Brenesia* 17:163-174.
- Cameron, GN; McClure, PA. 1988. Geographic variation in life history traits of the hispid cotton rat (*Sigmodon hispidus*). In Boyce, MS. ed. *Evolution of life histories of mammals. Theory and pattern.* Estados Unidos, Yale University Press. 373 p.
- Carroll, DS; Bradley, RD. 2005. Systematics of the genus *Sigmodon*: DNA sequences from beta-fibrinogen and cytochrome b. *The Southwestern Naturalist* 50(3):342-349.
- Castro, A; Chinchilla, M; Guerrero, OM; González, R. 1998. Especies de *Eimeria* (Eucoccidida: Eimeriidae) en la rata de milpa *Sigmodon hispidus* de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 46(2):339-340.
- Castro, L. 1986. Ecology of *Sigmodon hispidus* and *Liomys salvini* (Mammalia: Rodentia) in two sites with different burn histories in Santa Rosa National Park, Costa Rica. Thesis M.Sc. Louisiana, US, Louisiana State University. 76 p.
- CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). 1991. Plagas y enfermedades forestales en América Central. Guía de campo. Serie Técnica. Manual Técnico N° 4. Turrialba, Costa Rica CATIE 260 p. (Serie Técnica. Manual Técnico no. 4).
- Cook, WM; Timm, RM; Hyman, DE. 2001. Swimming ability in three Costa Rican dry forest rodents. *Rev. Biol. Trop.* 49(3-4):1177-1181.
- Dawson, GA; Lang, JF. 1973. The functional significance of nest building by a neotropical rodent (*Sigmodon hispidus*). *The American Midland Naturalist* 89(2):503-509.
- Fall, MW. 1980. Management strategies for rodent damage problems in agriculture. In Sánchez, FF. ed. *Symposium on Small mammals: Problems and Control. Proceedings.* 248 p. (BIOTROP Special Publication no. 42).
- Hilje, L. 1992a. Daño y combate de los roedores plaga de Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 23:32-38.
- Hilje, L. 1992b. Biología y ecología de los roedores plaga de Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 23:17-25.
- Hilje, L; Monge, J. 1988. Lista preliminar y consideraciones generales acerca de los animales vertebrados plaga en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 10:39-52.
- Lezama, M. 1996. Roedores del cultivo de arroz con riego: abundancia, microhábitat, movimientos interparcelas y uso de perchas artificiales por aves rapaces como elemento de control biológico. Tesis de Maestría. Programa Regional en manejo de Vida Silvestre para Mesoamérica y el Caribe. Heredia, CR, Universidad Nacional. 97 p.
- McPherson, AB. 1985. A biogeographical analysis of factors influencing the distribution of Costa Rican rodents. *Brenesia* 23:97-273.
- Monge, J. 1992. Características poblacionales y uso del hábitat de la rata de la caña (*Sigmodon hispidus*) en Cañas, Guanacaste, Costa Rica. Tesis de Maestría, Programa Regional de Manejo de Vida Silvestre para Mesoamérica y el Caribe. Heredia, CR, Universidad Nacional. 92 p.

- Odum, EP. 1955. An eleven year history of a *Sigmodon* population. *J. Mamm.* 36(3):368-378.
- Musser, GG; Carleton, MD. 2005. Superfamily Muroidea. 3 ed. In Wilson, DE; Reeder, DM. eds. *Mammals species of the world. A taxonomic and geographical reference.* Baltimore, US, The Johns Hopkins University Press. 2142 p.
- Peppers, LL; Carroll, DS; Bradley, RA. 2002. Molecular systematics of the genus *Sigmodon* (Rodentia: Muridae): evidence from the mitochondrial cytochrome-b gene. *J. Mamm.*, 83(2):396-407.
- Reid, F. 1997. *A field guide to the mammals of Central America and Southeast Mexico*, New York, US, Oxford University Press. 334 p.
- Retana, J; Solera, M; Solano, J; Álvarez, H. 2003. Efecto de la variación climática sobre la fluctuación de la rata cañera (*Sigmodon hispidus*) en Cañas, Guanacaste. *Top. Meteor. Oceanog.* 10(2):91-98.
- Rodríguez, B; R. González, R; y M. Chinchilla, M. 1999. Fauna parasitológica de la rata de milpa, *Sigmodon hispidus*, en un área urbano-industrial de Alajuela, Costa Rica. *Parasitología al día* 23(3-4):95-96.
- Rodríguez, B; González, R; M. Chinchilla, M. 2000. Helmintos parásitos de la rata *Sigmodon hispidus* (Rodentia: Cricetidae) de un hábitat estacional y otro perenne en Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 48(1):121-123.
- Ruiz, AM. 1984. Observaciones ecológicas de *Sigmodon hispidus* en áreas de cultivo de caña de azúcar del Ingenio Taboga S. A., Cañas, Guanacaste. Tesis de Licenciatura. San José, CR, Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. 63 p.
- Savitsky, BG; Tarbox, DP; Van Blaricom, D; Lacher Jr., TE; Fallas, J. 1995. *Hábitats de Costa Rica. Escala 1:500000.* Clemson University, Strom Thurmond Institute, Archbold Tropical Research Center y Programa Regional de Manejo de Vida Silvestre de la Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

# Diagnóstico de infecciones virales en plantaciones de papa (*Solanum tuberosum* L.) en la zona de Alfaro Ruiz, Costa Rica

Viviana Vásquez<sup>1,†</sup>  
Mauricio Montero-Astúa<sup>1</sup>  
Carmen Rivera<sup>1,2</sup>

**RESUMEN.** La presencia de 13 virus que afectan el cultivo de papa se investigó en el cantón de Alfaro Ruiz (zona de Zarcero) en Costa Rica. Se muestrearon 14 plantaciones de papa, y de cada una se recolectaron muestras foliares de 20 plantas, para un total de 280 muestras. Cada muestra se analizó individualmente mediante la técnica de ELISA, utilizando anticuerpos capaces de detectar 13 virus que afectan el cultivo de la papa. Se detectó la presencia de 12 de los virus analizados. En ninguna de las muestras analizadas se detectó la presencia del APLV. La incidencia de los virus encontrados fue 81,4% PVX; 46,4% PLRV; 47,14% PVS; 43,9% PVY; 27,9% PVA; 20,7% PVM; 17,14% PAMV; 11,79% AMV; 9,28% PVT; 7,8% PVV; 7,86% PMTV; y 3,57% APMoV. Únicamente tres plantas se encontraron libres de todos los virus analizados y el 91% de las muestras presentó infecciones mixtas, siendo las infecciones con dos, tres o cuatro virus las más comunes. Se detectaron al menos seis virus distintos en cada una de las 14 plantaciones. Los resultados destacan la necesidad de fortalecer el Programa Nacional de Certificación de Semilla de Papa y de capacitar a los agricultores en el manejo de su semilla.

**Palabras clave:** virus de las plantas, infecciones mixtas, ELISA, epidemiología, certificación de semillas.

**ABSTRACT. Diagnostic of viral infections in potato (*Solanum tuberosum*) in Alfaro Ruiz, Costa Rica.** The occurrence of 13 plant viruses known to infect potato fields was analyzed in the area of Alfaro Ruiz (Zarcero) in Costa Rica. A survey was conducted in 14 potato fields. At each field, leaf tissue was collected from 20 plants. Each sample was individually analyzed by ELISA, using antibodies able to detect 13 different potato-infecting viruses. With the exception of APLV, all the probed viruses were detected. The incidence of each virus was 81.4% PVX, 46.4% PLRV, 47.14% PVS, 43.9% PVY, 27.9% PVA, 20.7% PVM, 17.14% PAMV, 11.79% AMV, 9.28% PVT, 7.8% PVV, 7.86% PMTV and 3.57% APMoV. Only three plant samples were free from all the tested viruses and 91% of the samples presented mixed infections. Simultaneous infections with two, three or four viruses were very common. At least six different viruses were detected at each field. These results point out the need to strengthen the national potato seed certification program and train potato producers in the management of potato seed lots.

**Keywords:** plant viruses, mixed infections, ELISA, epidemiology, seed certification.

## Introducción

El cultivo de la papa es el cuarto alimento en importancia en el mundo después del trigo, el maíz y el arroz. En el año 2004 la producción mundial de papa fue de aproximadamente 330 millones de toneladas (FAO

2007). Costa Rica no es ajena a esta realidad, donde el cultivo y consumo de la papa son de importancia económica. En el país hay aproximadamente 1500 pequeños y medianos productores de papa. La

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM), Universidad de Costa Rica, CP 11501- 2060, San José, **Costa Rica**. montero-mau@costarricense.cr

<sup>2</sup> Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, CP 11501- 2060, San José, **Costa Rica**. crivera@racsa.co.cr

<sup>†</sup> Viviana Vásquez falleció el 14-XII-2005.

producción anual varía entre 80.000 y 90.000 toneladas métricas, y se cultiva alrededor de 3200 ha de papa, localizadas principalmente en dos zonas del país: Cartago (aprox. 2800 ha) y Zarcero (aprox. 400 ha) (Parral 2004). Sin embargo, las plantaciones de papa son afectadas por diversos hongos, bacterias y virus (Brenes et ál. 2002) que provocan pérdidas en la cosecha y aumentan los costos de producción.

Las enfermedades virales en el cultivo de la papa pueden reducir el vigor, disminuir el rendimiento y causar infecciones secundarias en generaciones subsecuentes de tubérculos progenie de plantas infectadas. El efecto que pueden causar depende en gran medida de la variedad sembrada y del tipo de virus (Salazar 1995). Por ejemplo, recientemente en EUA se registraron reducciones de hasta el 63,5% en rendimiento de papa infectada con PVY (*Potato virus Y*). La reducción en rendimiento varió según el cultivar de papa y la intensidad de los síntomas, y no hubo un efecto importante de la nutrición con nitrógeno (Whitworth et ál. 2006). Asimismo, en Costa Rica se determinó en pruebas en invernadero una reducción del 26% en el rendimiento de plantas de la variedad Floresta infectadas con PVX (*Potato virus X*; Vásquez et ál. 2004).

En la zona norte de Cartago, principal área productora de papa de Costa Rica, se han identificado infecciones virales en campo con PVX, PVY y *Potato leafroll virus* (PLRV), virus considerados como los más importantes en este cultivo. Además, se identificaron infecciones con otros virus de importancia económica, como el *Potato virus A* (PVA), *Potato virus M* (PVM) y *Potato virus S* (PVS) (Hord y Rivera 1998, Vásquez et ál. 2006). Aun cuando no se han cuantificado las pérdidas debidas a estas infecciones en el país, es de esperar que la ocurrencia de dichos virus afecte el desarrollo y rendimiento de las plantaciones (Salazar 1995, Slack y German 2001).

También se detectaron infecciones con otros virus que, aunque no son importantes económicamente, pueden afectar el rendimiento dependiendo de la variedad sembrada, tales como el *Potato aucuba mosaic virus* (PAMV), *Potato virus T* (PVT), *Potato virus V* (PVV), *Andean potato mottle virus* (APMoV) y *Potato mop-top virus* (PMTV) (Vásquez et ál. 2006). Este último virus ha tomado importancia en los últimos años en varias partes del mundo por su efecto en los tubérculos de papa (Sandgren 1996, Lambert et ál. 2003, Xu et ál. 2004). Este virus, junto con la raza NTN (*Necrotic Tuber Necrosis*) del virus PVY, se

consideran enfermedades emergentes y una amenaza a la producción de papa en Latinoamérica (Secor y Rivera-Varas 2004).

El conocimiento de las enfermedades de un cultivo en una región es el primer paso para el desarrollo de medidas de control y manejo. Este conocimiento permite la estandarización de las técnicas de diagnóstico adecuadas en la región o cultivo; la utilización de las variedades menos susceptibles a las enfermedades presentes; la identificación de las prioridades y necesidades de investigación; y capacitar a los agricultores para que reconozcan las enfermedades y las controlen o prevengan. Asimismo, es posible desarrollar políticas que eviten la contaminación de nuevas áreas en el país e incluso la erradicación de algunas de las enfermedades. Por último, actualmente la identificación de los agentes patológicos de un cultivo en una región tiene importancia cuarentenaria e incide en el comercio internacional y en aspectos de seguridad nacional de los países (Madden y Wheelis 2003, Jones 2004, Ward et ál. 2004, Webster et ál. 2004, Lees et ál. 2005).

En Costa Rica no se cuenta con información sobre la presencia de virus en plantaciones de papa en la zona de Zarcero, la cual se cultiva en forma más reciente que la zona de Cartago. El objetivo de este trabajo fue evaluar la incidencia de PVX, PVY, PLRV, PVA, PVM, PVS, PAMV, PMTV, PVV, PVT, APMoV, *Alfalfa mosaic virus* (AMV), y *Andean potato latent virus* (APLV) en plantaciones de papa en la zona de Zarcero y compararla con la presencia de virus informada en la zona de Cartago.

## Materiales y métodos

### Recolección de muestras

Se realizó un muestreo en 14 parcelas de papa en el cantón de Alfaro Ruiz, provincia de Alajuela, conocida como zona de Zarcero. Todas las parcelas se ubican entre 1800 y 2200 msnm. La recolección de muestras se realizó entre los años 2002 y 2003. La ubicación geográfica de la finca, el estado fisiológico del cultivo (plantas en flor) y la disponibilidad de los agricultores para colaborar en el proyecto fueron los criterios utilizados para la definición de los lugares de muestreo. Las parcelas seleccionadas tenían de 500 a 750 m<sup>2</sup>. Para el muestreo se dividió cada parcela en cuatro subparcelas semejantes. En cada subparcela se muestreó en forma de zig-zag (Campbell y Madden 1990) cinco plantas en floración, de cada una de las cuales se recolectaron entre 10 y 12 hojas distribuidas

en la parte media y superior de la planta. En total se muestrearon 20 plantas por parcela para un total de 280 muestras.

### Procesamiento y análisis de las muestras

Las hojas recolectadas se empacaron en bolsas individuales y se transportaron al laboratorio. Luego se congelaron a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  por un período máximo de tres semanas. Las muestras se maceraron con un macerador eléctrico de rodillo a una dilución de 1:3 p/v en una solución amortiguadora fosfato salino (PBS) que contenía fosfato de potasio 0,01 M, pH 7,4; cloruro de sodio al 0,85%; sulfito de sodio al 0,13%; PVP al 2%; albúmina bovina al 0,2%; y Tween-20 al 2%. Los extractos de las muestras de las 20 plantas por parcela se analizaron individualmente, utilizando el método DAS-ELISA (*double antibody sandwich enzyme-linked immuno-sorbent assay*), para detectar la presencia de PVA, PVM, PVS, PLRV, PVX, PVY, APLV, PAMV, PVT, PVV y AMV, con anticuerpos comerciales y protocolos de la casa comercial Agdia (Elkhart, Indiana, EUA). Para cada virus se emplearon controles positivos y negativos adquiridos de la casa Agdia. Las muestras se analizaron para PMTV y APMoV mediante TAS-ELISA (*triple antibody sandwich enzyme-linked immuno-sorbent assay*) con reactivos, controles (positivos y negativos) y protocolos de la casa comercial ADGEN (actualmente Neogen Europe Ltd., Auchincruive, Scotland, UK). Las lecturas de absorbancia a 460 nm se tomaron en un lector de ELISA Dynex MRX, 120 minutos después de añadir el sustrato. Como sustrato se utilizó p-nitrofenil fosfato a una concentración de 1 mg/ml, en una solución amortiguadora de pH 9,8 que contenía 9,7% de dietanolamina y 0,01% de cloruro de magnesio hexahidratado. Se consideraron como plantas infectadas o positivas todas las muestras con un valor de absorbancia mayor o igual a la media de la absorbancia de las muestras sanas control ( $n = 2$ ), más tres veces la desviación estándar (Sutula et ál. 1986). Todos los valores menores a este criterio se consideraron plantas no infectadas o negativas.

### Resultados y discusión

En la zona de Zarcero, se detectó la presencia de 12 de los 13 virus analizados; algunos de estos presentan una alta incidencia: PVX (81,4%), PLRV (46,4%), PVS (47,14%), PVY (43,9%), PVA (27,9%), PVM (20,7%), PAMV (17,14%), AMV (11,79%), PVT (9,28%), PVV

(7,8%), PMTV (7,86%) y APMoV (3,57%). Estos virus, excepto el AMV, se habían informado previamente para la zona de Cartago (Solís 1989, Hord y Rivera, 1998, Vásquez et ál. 2006). Únicamente el APLV no se detectó en ninguna de las muestras; este virus tampoco se detectó en un estudio previo en la zona de Cartago (Vásquez et ál. 2006).

Ninguna de las 14 parcelas incluidas en el muestreo se encontró libre de virus; por el contrario, todas las parcelas presentaron al menos seis virus distintos y una parcela presentó los 12 virus detectados. El PVX, PVY y PLRV se detectaron en todas las parcelas analizadas y los virus PVA, PVS, PVM, PAMV, PVV y PVT se detectaron en más del 50% de las mismas. El PMTV y el APMoV, respectivamente, se detectaron en seis y tres de las 14 parcelas muestreadas.

Solo tres muestras de papa de las 280 analizadas se encontraron libres de los 13 virus evaluados. Por el contrario, se presentaron infecciones mixtas en 91% de las muestras. Las infecciones mixtas con dos, tres o cuatro virus fueron las más comunes, con 25,4; 23,6; y 17,9% de las muestras, respectivamente. También se detectaron en menor porcentaje infecciones mixtas con cuatro o más virus, hasta un máximo de nueve virus en una misma planta.

Al comparar los resultados obtenidos en este estudio con el realizado en Cartago por Vásquez et ál. (2006), se observa que los seis virus —PVX, PLRV, PVS, PVY, PVA y PVM— informados desde hace varios años en Cartago (Hord y Rivera 1998) presentan una mayor incidencia en la zona de Zarcero. La incidencia de los virus PLRV, PVY y PVS se encuentra cercana o dentro de los ámbitos de ocurrencia informados en otros países (Sánchez et ál. 1991, Rodríguez 1993, Djilani Khouadja et ál. 2003, Choueiri et ál. 2004, Finetti-Sialer et ál. 2005).

El PVX presentó la mayor incidencia en Zarcero (81,4%) y, en general, es mayor a la incidencia del virus informada en otros países (Sánchez et ál. 1991, Rodríguez 1993, Choueiri et ál. 2004). Una alta incidencia de este virus, mayor a un 77%, se ha detectado en Cartago desde 1980 (Ramírez-Martínez y Gámez 1980, Hord y Rivera 1998, Vásquez et ál. 2006). El PVX es un virus de gran importancia en papa, ya que puede provocar una disminución del rendimiento de entre 15 y 20%; sin embargo, su efecto puede ser mayor en infecciones mixtas con PVA y PVY (Slack 2001b). Los virus PLRV (46,4%) y PVA (27,9%), el tercero y quinto respectivamente respecto a su incidencia en Zarcero, también son considerados

como factores importantes en la disminución del rendimiento del cultivo.

El caso del virus PVY, que se encontró en el 43,9% de las muestras, es de especial importancia. Este virus es uno de los que provoca mayor efecto negativo sobre el rendimiento del cultivo, especialmente en la cosecha de primera calidad y cuando el tubérculo semilla se encuentra infectado por el virus (Salazar 1995, Hane y Hamm 1999, Nolte et ál. 2004). Existen distintas razas del virus, como PVY<sup>O</sup>, PVY<sup>N</sup> y PVY<sup>C</sup> (Blanco-Urgoiti et ál. 1998, Piche et ál. 2004, Crosslin et ál. 2006). Dentro de la raza PVY<sup>N</sup>, existen aislamientos del virus, denominados PVY<sup>NTN</sup>, que producen síntomas internos y externos en el tubérculo, lo cual provoca su pérdida. Estos aislamientos son de importancia cuarentenaria y se consideran una amenaza a la producción de papa en Latinoamérica (Secor y Rivera-Varas 2004). Recientemente se describió un aislamiento nuevo, denominado PVY<sup>N:O</sup>, que también causa lesiones en los tubérculos y existe gran preocupación porque se ha visto un aumento drástico en su aparición (Singh et ál. 2003, Piche et ál. 2004, Crosslin et ál. 2006). Las razas PVY<sup>N</sup> y PVY<sup>O</sup> se detectaron en la zona papera de Cartago, siendo la raza PVY<sup>N</sup> la más abundante (Vásquez 2002). Por lo tanto, existe el riesgo de que haya o se originen, en el país, aislamientos del virus que afecten los tubérculos. Así, el alto porcentaje de incidencia del PVY en Zarcerero es una amenaza latente para la producción de papa de la zona. Dada la presencia de las razas N y O en Cartago, se recomienda evaluar la zona de Zarcerero para conocer si ambas razas también se encuentran presentes.

Los virus PAMV, PVT, PMTV, APMoV y PVV, que podrían considerarse de introducción posterior al país o que han sido detectados sólo recientemente, presentaron una menor incidencia en la zona de Zarcerero respecto a lo informado para Cartago (Vásquez et ál. 2006). De estos virus, es importante destacar el PMTV, que también es considerado como una enfermedad emergente y una amenaza potencial para la producción de papa en Latinoamérica (Secor y Rivera-Varas 2004) y Norteamérica (Xu et ál. 2004), y ha sido de gran importancia en Europa (Sandgren 1996). Este virus, al igual que los aislamientos de PVY<sup>NTN</sup>, produce lesiones en los tubérculos, provocando que pierdan su valor comercial. El vector de este virus, *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* se detectó en Costa Rica (Montero-Astúa et ál. 2002).

Por último, se detectó el AMV con una incidencia de 11,79%. La presencia de este virus no se ha

investigado en el área de Cartago. El AMV provoca la aparición de áreas de color amarillo brillante en el follaje (cálico); además, existen razas del virus que provocan lesiones en los tubérculos (Salazar 1995, Slack 2001a). La presencia de este virus es importante debido a que presenta un amplio ámbito de hospederos y, por tanto, puede afectar otros cultivos de la zona.

Es importante destacar el alto porcentaje de infecciones mixtas, que muy probablemente son las causantes de los mosaicos rugosos severos observados en muchas de las muestras. Las infecciones mixtas elevan el riesgo de reducción de la cosecha y la degeneración del cultivo en siembras consecutivas.

La zona de Zarcerero posee menos trayectoria en el cultivo de la papa, motivo por el cual se esperaba que esta zona presentara una menor incidencia de enfermedades virales. Sin embargo, la semilla de papa que se ha utilizado en la zona proviene de Cartago, por lo que también se puede suponer que esta semilla pudo venir contaminada y los virus dispersarse mediante tubérculos y vectores a través de la zona. La presencia de numerosas especies de áfidos (Aphididae, Hemiptera), vectores de algunos de los virus, fue detectada en plantaciones de papa en Cartago y Rancho Redondo (Vásquez et ál. datos sin publicar) y las especies de áfidos se encuentran distribuidas en el país (Voegtlin et ál. 2003).

El número de virus detectados en Zarcerero y el alto porcentaje de incidencia de muchos de ellos, así como los datos existentes para la zona de Cartago, resaltan la necesidad de fortalecer el Programa Nacional de Certificación de Semilla de Papa en el país. Este programa debe ser complementado con la detección asistida por ELISA y/o PCR de los virus, así como con la capacitación de los agricultores para el manejo de su semilla y el conocimiento de las distintas virosis que amenazan su cultivo (Slack y Singh 1998, Waterworth 1998).

En India se demostró que el uso de la técnica de ELISA para la evaluación de los lotes de papa tiene un impacto importante sobre la incidencia de los virus (Kumar et ál. 2000, Kumar et ál. 2003). Asimismo, capacitar a los agricultores e introducir mejoras en los sistemas formal y tradicional de producción de semilla de papa son de gran importancia para mejorar el rendimiento del cultivo. Por otra parte, estas mejoras en el sistema de producción y el conocimiento de las enfermedades que afectan al cultivo en un área determinada son una necesidad, y una responsabilidad, para el intercambio y evaluación de germoplasma

de papa y para la comercialización de los tubérculos (Hidalgo e Ilangantileke 2000, Lozoya-Saldaña 2000).

## Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Fondo de Incentivos del Ministerio de Ciencia y Tecnología y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de Costa Rica (Fondo de Incentivos MICIT-CONICIT) y por la Universidad de Costa Rica. Se agradece la colaboración y anuencia de todos los productores de papa de la zona de Zarcero que colaboraron en esta investigación.

## Literatura citada

- Blanco-Urgoiti, B; Sánchez, F; Pérez de San Román, C; Dopazo, J; Ponz, F. 1998. Potato virus Y group C isolates are a homogeneous pathotype but two different genetic strains. *Journal of General Virology* 79:2037-2042.
- Brenes, A; Vásquez, V; Rivera, C. 2002. Principales enfermedades y plagas de la papa en Costa Rica. Costa Rica, EUNED. 98 p.
- Campbell, CL; Madden, LV. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. Estados Unidos, Wiley & Sons. 532 p.
- Choueiri, E; El-Zammar, S; Jreijiri, F; Mnayer, D; Massaad, R; Saad, AT; Hanna, L; Varveri, C. 2004. Phytosanitary status of potato in the Bekaa valley in Lebanon. *EPPO Bulletin* 34:117-121.
- Crosslin, JM; Hamm, PB; Hane, DC; Jaeger, J; Brown, CR; Shiel, PJ; Berger, PH; Thornton, RE. 2006. The occurrence of PVY<sup>O</sup>, PVY<sup>N</sup>, and PVY<sup>N:O</sup> strains of potato virus Y in certified potato seed lot trials in Washington and Oregon. *Plant Disease* 90:1102-1105.
- Djilani Khoadja, F; Guyader, S; Gorsane, F; Khamassy, N; Rouzé, J; Marrakchi, M; Fakhfakh, H. 2003. Diagnosis and molecular analysis of Potato leafroll virus isolates in Tunisia. *EPPO Bulletin* 33:361-368.
- FAO. 2007. FAO Statistical Database (FAOSTAT) (en línea). Disponible en <http://faostat.fao.org>.
- Finetti-Sialer, M; Mërkuri, J; Tauro, G; Myrta, A; Gallitelli, D. 2005. Viruses of vegetable crops in Albania. *EPPO Bulletin* 35: 491-495.
- Hane, DC; Hamm, PB. 1999. Effects of seedborne potato virus Y infection in two potato cultivars expressing mild disease symptoms. *Plant Disease* 83:43-45.
- Hidalgo, OA; Ilangantileke, S. 2000. Situation and perspectives of seed potato systems in countries of South and West Asia. In Paul Khurana, SM; Shekhawat, GS; Singh, BP; Pandey, SK. eds. Potato, global research & development. Global Conference on Potato (New Delhi, December 6-11, 1999). Proceedings. Shimla, India, Indian Potato Research Association. v. 1, p. 376-389.
- Hord, M; Rivera, C. 1998. Prevalencia y distribución geográfica de los virus PVX, PVY, PVA, PVM, PVS, y PLRV en el cultivo de la papa en la zona norte de Cartago, Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 22:137-143.
- Jones, RAC. 2004. Using epidemiological information to develop effective integrated virus disease management strategies. *Virus Research* 100:5-30.
- Kumar, S; Singh, S; Chaubey, IP; Jeswani, MD; Khanna, RN; Rai, RP; Sharma, J; Garg, VK; Ravichandran, G; Singh, S; Bhardwaj, VP. 2000. Impact of ELISA testing on health improvement of nucleus seed potato. In Paul Khurana, SM; Shekhawat, GS; Singh, BP; Pandey, SK. eds. Potato, global research & development. Global Conference on Potato (New Delhi, December 6-11, 1999). Proceedings. Shimla, India, Indian Potato Research Association. v. 1, p. 426-429.
- Kumar, S; Rai, RP; Garg, ID; Paul Khurana, SM. 2003. ELISA & ISEM detection of viruses for better crop health in potato. *Journal of Indian Potato Association* 30(1-2):117-118.
- Lambert, DH; Levy, L; Mavrodieva, VA; Johnson, SB; Babcock, MJ; Vayda, ME. 2003. First Report of *Potato mop-top virus* on Potato from the United States. *Plant Disease* 87:872.
- Lees, AK; Wale, SJ; van de Graaf, P; Brierley, JL. 2005. The use of molecular diagnostics to investigate the epidemiology of potato diseases. *Australasian Plant Pathology* 34:449-455.
- Lozoya-Saldaña, H. 2000. Phytosanitation and quarantine considerations in the international exchange and evaluation of potato germplasm. In Paul Khurana, SM; Shekhawat, GS; Singh, BP; Pandey, SK. eds. Potato, global research & development. Global Conference on Potato (New Delhi, December 6-11, 1999). Proceedings. Shimla, India, Indian Potato Research Association. v. 1, p. 370-375.
- Madden, LV; Wheelis, M. 2003. The threat of plant pathogens as weapons against U.S. crops. *Annual Review of Phytopathology* 41:155-176.
- Montero-Astúa, M; Vásquez, V; Rivera, C. 2002. Occurrence of potato powdery scab caused by *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* in Costa Rica. *Plant Disease* 86:1273.
- Nolte, P; Whitworth, JL; Thornton, MK; McIntosh, CS. 2004. Effect of seedborne *Potato virus Y* on performance of Russet Burbank, Russet Norkotah, and Shepody potato. *Plant Disease* 88:248-252.
- Parral, CA. 2004. CIA con nuevas variedades de papa. *Girasol* 7(24):5-10. (También disponible en <http://www.vinv.ucr.ac.cr/girasol/archivo/girasol24/ciapapa.html>).
- Piche, LM; Singh, RP; Nie, X; Gudmestad, NC. 2004. Diversity among *Potato virus Y* isolates obtained from potatoes grown in the United States. *Phytopathology* 94:1368-1375.
- Ramírez-Martínez, C; Gámez, R. 1980. Prevalencia del virus X en plantaciones comerciales de papa en la zona del volcán Irazú, Cartago, Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 4(1):79-82.
- Rodríguez, Y. 1993. Incidencia de los virus PVX, PVS, PVY y PLRV y pérdidas de rendimientos en semillas de papa nacional e importada en Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (Maracay)* 19:102-103.
- Salazar, LF. 1995. Los Virus de la Papa y su Control. Perú, Centro Internacional de la Papa. 226 p.
- Sánchez, C; Corzo, P; Pérez, OA. 1991. Incidencia de virus en papa y su efecto sobre rendimiento en tres zonas agroecológicas de Colombia. *Revista Latinoamericana de la Papa* 4:36-51.
- Sandgren, M. 1996. On Spraing in Potato, A soil-borne virus disease in potato, significance, detection and variability. Uppsala, Suecia, Fyris-Tryck AB. 41 p.
- Secor, GA; Rivera-Varas, VV. 2004. Emerging diseases of cultivated potato and their impact on Latin America. *Suplemento Revista Latinoamericana de la Papa*, Marzo 2004.
- Singh, RP; McLaren, DL; Nie, X; Singh, M. 2003. Possible escape of a recombinant isolate of *Potato virus Y* by serological indexing and methods of its detection. *Plant Disease* 87:679-685.

- Slack, SA. 2001a. *Alfalfa mosaic virus*. 2 ed. In Stevenson, WR; Loria, R; Franc, GD; Weingartner, DP. eds. Compendium of Potato Diseases. St. Paul, Minesota, US, American Phytopathological Society. p. 62-63.
- Slack, SA. 2001b. *Potato virus X*. 2 ed. In Stevenson, WR; Loria, R; Franc, GD; Weingartner, DP. eds. Compendium of Potato Diseases. St. Paul, Minesota, US, American Phytopathological Society. p. 69.
- Slack, SA; German, TL. 2001. Diseases caused by viruses and viroids. 2 ed. In Stevenson, WR; Loria, R; Franc, GD; Weingartner, DP. eds. Compendium of Potato Diseases. St. Paul, Minesota, US, American Phytopathological Society. p. 57-62.
- Slack, SA; Singh, RP. 1998. Control of viruses affecting potatoes through seed potato certification programs. In Hadidi, A; Khetarpal, RK; Koganezawa, H. eds. Plant Virus Disease Control. St. Paul, Minesota, US. APS Press, p. 249-260.
- Solís, VC. 1989. Índice de enfermedades de los cultivos agrícolas de Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería-Dirección de Sanidad Vegetal. Convenio Costarricense Alemán de Sanidad Vegetal MAG-GTZ. Costa Rica. 112 p.
- Sutula, CL; Gillett, JM; Morrissey, SM; Ramsdell, DC. 1986. Interpreting ELISA data and establishing the positive-negative threshold. *Plant Disease* 70(8):722-726.
- Vásquez, V. 2002. Dinámica de los virus en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*) en la zona norte de Cartago, efectos en la producción de los virus PVX y PVY e identificación de aislamientos de PVY. Tesis para optar por el grado de *Magister Scientiae*. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.
- Vásquez, V; Montero-Astúa, M; Rivera, C. 2004. Efecto de la infección de PVX y PVY en la producción de *Solanum tuberosum* en invernadero con los cultivares Floresta y Granola. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 73:57-63.
- Vásquez, V; Montero-Astúa, M; Rivera, C. 2006. Incidencia y distribución altitudinal de 13 virus en cultivos de *Solanum tuberosum* (Solanaceae) en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 54(4):1135-1141.
- Voegtlin, D; Villalobos, W; Sánchez, MV; Saborío, G; Rivera, C. 2003. Guía de los áfidos alados de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 51, Supl.2. 228 p.
- Ward, E; Foster, SJ; Fraaije, BA; McCartney, HA. 2004. Plant pathogen diagnostics: immunological and nucleic acid-based approaches. *Annals of Applied Biology* 145:1-16.
- Waterworth, HE. 1998. Certification for plant viruses-an overview. In Hadidi, A; Khetarpal, RK; Koganezawa, H. eds. *Plant Virus Disease Control*. St. Paul, Minesota, US, APS Press. p. 325-331.
- Webster, CG; Wylie, SJ; Jones, MGK. 2004. Diagnosis of plant viral pathogens. *Current Science* 86:1604-1607.
- Whitworth, JL; Nolte, P; McIntosh, C; Davidson, R. 2006. Effect of *Potato virus Y* on yield of three potato cultivars grown under different nitrogen levels. *Plant Disease* 90:73-76.
- Xu, H; DeHaan, TL; De Boer, SH. 2004. Detection and confirmation of *Potato mop-top virus* in Potatoes Produced in the United States and Canada. *Plant Disease* 88:363-367.



# Muestreo secuencial para la toma de decisiones de control de *Thrips palmi* en papa en Cuba

Alcides Cabrera Campos<sup>1</sup>  
Moraima Suris Campos<sup>2</sup>  
Walkiria Guerra Bustillo<sup>3</sup>  
Dora E. Nicó Pérez<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Se diseñó un procedimiento de muestreo secuencial para la toma de decisiones de control de *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) a partir del conocimiento del patrón espacial de poblaciones muestreadas en plantaciones de papa (*Solanum tuberosum* L.) bajo condiciones de producción y de indicadores para su descripción estimados mediante la Ley Potencial de Taylor. Los resultados se validaron con 46 conjuntos de datos de campo y se demostró la eficiencia del procedimiento al reducir en un 70% los tamaños de muestras indicados por el Ministerio de la Agricultura de Cuba en el Programa de Defensa Fitosanitario para la Papa. Se propone incorporar el procedimiento de muestreo señalado al Programa de Manejo Integrado existente para el monitoreo y control de esta importante plaga agrícola.

**Palabras clave:** Tisanópteros, muestreo de insectos, *Solanum tuberosum*, Ley Potencial de Taylor, patrón espacial, tamaño muestral.

**ABSTRACT. Sequential sampling for decision-making in the control of *Thrips palmi* in Cuba.** We designed a sequential sampling plan for decision-making to control *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) based on knowledge of the spatial pattern of populations of this pest sampled in potato fields (*Solanum tuberosum* L.) under production conditions and descriptors estimated with Taylor's Power Law. The results were validated with 46 sets of field data. The method reduced by 70% the sample size indicated by the Cuban Ministry of Agriculture. We propose incorporating this sampling procedure to the existing Integrated Management Program for monitoring this important agricultural pest.

**Keywords:** Thysanoptera, insect sampling, *Solanum tuberosum*, sample size, potato, spatial pattern, Taylor's Power Law.

## Introducción

La implementación exitosa de los programas de manejo integrado de plagas (MIP) depende en gran medida del desarrollo y validación de los procedimientos de muestreo, ya que la decisión de aplicar una medida de control debe ser el resultado de una estimación de la población de la plaga a partir de unidades muestrales que sean representativas de la misma. Para ello, se requiere del conocimiento del arreglo espacial de la especie en su hábitat. Los patrones de tipo regular y al azar son menos frecuentes en poblaciones de insectos, donde lo más común es que se presenten disposiciones

agregadas (Southwood 1978). Estas se miden mediante índices de agregación estimados de modelos de distribuciones probabilísticas y de regresión, los cuales proveerán valores de los estimadores de sus parámetros (Taylor 1984).

*Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) es una plaga de reciente introducción en Cuba (Anónimo 1997), que afecta principalmente cultivos de importancia económica y de arraigo en la alimentación de la población cubana, como la papa (*Solanum tuberosum* L.), el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), la berenjena (*Solanum melongena* L.) y el pepino

<sup>1</sup> Universidad de las Ciencias Informáticas, Autopista Novia del Mediodía, km 2½, Torrens, Boyeros, Ciudad de la Habana, Cuba. alcides@uci.cu

<sup>2</sup> Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, San José de las Lajas, La Habana, Cuba.

<sup>3</sup> Universidad Agraria de La Habana, San José de las Lajas, La Habana, Cuba.

(*Cucumis sativus* L.), entre otros (Vázquez 2003). Se han realizado estudios ecológico-estadísticos sobre esta plaga en otros países, fundamentalmente en Asia, donde se informó por primera vez en 1925. Kawai (1983) describió su patrón espacial en pepino, y Verghese et ál. (1988) lo describen en el cultivo de mango (*Mangifera indica* L.) en la India. Ho y Chen (1998) aplicaron diferentes índices de dispersión y cálculos de tamaños de muestra óptimos a poblaciones de la plaga muestreadas sobre berenjena en Taiwán. Cho et ál. (2000) describen el patrón espacial en plantaciones de papa en Corea y proponen planes de muestreo binomiales y secuenciales con niveles fijos de precisión para estimar la densidad poblacional. En Colombia, Osorio y Cardona (2003) realizaron estudios del patrón espacial de *T. palmi*, compararon diferentes métodos de muestreo y desarrollaron planes de muestreo secuencial para esta plaga en habichuela y frijol.

Con la aparición de *T. palmi* en Cuba, se hizo necesario acometer estudios para conocer su comportamiento en las condiciones de este país. Suris et ál. (1999) describen el patrón espacial de la plaga sobre el cultivo de la papa y utilizan los coeficientes de la Ley Potencial de Taylor. Jiménez et ál. (2000) y Trujillo et ál. (2001) lo hacen de la misma forma en papa y pepino, respectivamente. Son conocidos, además, los trabajos de Plana et ál. (2001) y Suris y Plana (2001), donde se señalan la unidad de muestreo y el sitio idóneo para realizarlo en plantaciones de papa, respectivamente.

Debido a la severidad de los daños ocasionados por la plaga, fundamentalmente en papa y frijol, se desarrolló un programa de combate sobre la base del conocimiento de su comportamiento en otras regiones que ya ha arrojado resultados visibles, pues las poblaciones e incidencias de *T. palmi* se han visto reducidas a partir de 1999 (MINAGRI 2000, Murguido et ál. 2002, Vázquez 2003). Sin embargo, se considera que este programa debe mejorar su eficiencia, con la introducción de planes de muestreos más confiables y precisos desde el punto de vista estadístico, que permitan estimar las densidades poblacionales o clasificar su daño minimizando los costos y el esfuerzo. Tal es el caso del muestreo secuencial, que se caracteriza porque en contraste con los métodos convencionales, el número de muestras es variable y depende de los resultados en la secuencia del muestreo. Estos procedimientos nunca han sido implementados en Cuba para poblaciones de insectos.

Como contribución al conocimiento para un manejo adecuado de esta peligrosa plaga, se propone y valida un plan de muestreo secuencial para la toma de decisiones de control para ese dañino fitófago.

### Materiales y métodos

Los datos de las poblaciones de *T. palmi* para el estudio se tomaron de plantaciones de papa (*Solanum tuberosum* L. cv. Desirée) en condiciones de producción durante tres campañas (inviernos de 1998, 1999 y 2000), en áreas del municipio Güira de Melena, provincia La Habana, Cuba. Las áreas del cultivo, sembradas bajo el sistema de riego Fregat, recibieron todas las atenciones previstas según lo establecido en el Programa de Defensa Fitosanitaria para el Cultivo de la Papa e indicado por el Ministerio de la Agricultura (MINAGRI).

Las áreas de cultivo eran circulares y estaban conformadas por cuatro cuadrantes, uno de los cuales se seleccionó como área experimental, donde se ubicaron cinco parcelas. De cada parcela se tomaron 15 plantas al azar siguiendo la diagonal, cuyo sentido se alternó en cada muestreo y en las que semanalmente se observó el foliolo apical de las hojas situadas en los estratos inferior, medio y superior (Plana et ál. 2001), y donde se cuantificaron las larvas y los adultos en el momento del muestreo con el auxilio de lupas de 10 aumentos.

### Análisis de los datos

Para cada campaña se calcularon las medias aritméticas ( $\bar{X}$ ) y las varianzas ( $S^2$ ) del número de larvas y adultos de *T. palmi* por muestreo, con las que se determinaron los coeficientes de la Ley Potencial de Taylor ( $S^2 = a\bar{X}^b$ ). Para combinar los datos de las tres campañas en un único conjunto y considerar las muestras como provenientes de una misma población (Sigarroa 1985), se probó la homogeneidad de las pendientes y los interceptos de las regresiones de la Ley Potencial de Taylor (LPT) mediante un análisis de covarianza (Sokal y Rohlf 1995) para la comparación de rectas de regresión. Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico STATGRAPHICS Plus 4.1 (Statistical Graphics Corp. 1999).

### Análisis del patrón espacial

Con los estadígrafos descriptivos (medias y varianzas) de los datos combinados se estimaron los coeficientes de la LPT para usarse como indicadores del patrón espacial de la especie. Taylor (1961) relacionó la media

y la varianza a través de la expresión  $S^2 = a \bar{X}^b$ , donde  $a$  y  $b$  son los parámetros que se estimaron al linealizar el modelo anterior, que toma así la forma:  $\ln S^2 = \ln a + b \ln \bar{X}$  y permite aplicar el método de los mínimos cuadrados ordinarios.

Los coeficientes de esta regresión lineal se interpretan de la siguiente manera:  $a$  es un factor de escala relacionado con el tamaño de la muestra y  $b$  es una medida de agregación. Valores de  $b > 1$  indican un patrón agregado o contagioso; para  $b = 1$  se tiene un patrón aleatorio; valores de  $b < 1$  se corresponden con un patrón regular o uniforme. En cuanto a la significación estadística del coeficiente  $b$ , para determinar si difería de 1 ( $b \neq 1$ ) se evaluó a partir del cálculo de su intervalo de confianza ( $IC_b$ ) del 95% para precisar si el valor 1 estaba contenido en él.

La bondad de ajuste de la regresión se evaluó por medio del coeficiente de determinación  $R^2$ .

#### Comparación entre estados de *T. palmi*

Con el objetivo de combinar los datos de las larvas y los adultos de *T. palmi* y utilizar ambos estados en los planes de muestreo se realizó un análisis de covarianza para comparar las pendientes y los interceptos entre las ecuaciones de la LPT de ambos estados de desarrollo.

#### Plan de muestreo secuencial para la toma de decisiones de control de *T. palmi*

El plan de muestreo secuencial para la toma de decisiones de control de la plaga se desarrolló según el método de Iwao, expuesto por Krebs (1999), y que consiste en los siguientes pasos:

**Paso 1.** Cálculo de los parámetros  $a$  y  $b$  de la Ley Potencial de Taylor (LPT).

**Paso 2.** Determinación del nivel de densidad crítico o umbral de acción. Este indicador no se ha determinado aún. En general, los registros de umbrales de acción sobre *T. palmi* son pocos (Cho et ál. 2000, Bueno y Cardona 2003). Se escogió  $c = 1,85$  larvas por hoja, de acuerdo con lo informado por Murguido (2000) y considerado como el umbral de nocividad y económico para el cultivo entre 1 y 59 días de plantado. Las poblaciones con valores de densidad media menores que 1,85 se categorizan como de baja densidad y por tanto no requieren medidas de control. Una densidad media superior a 1,85 se categoriza

como alta, y por tanto se debe acometer alguna medida de control.

**Paso 3.** Cálculo de los límites superior e inferior del número acumulativo de individuos contados sobre  $n$  muestras:

$$\begin{aligned} \text{Límite superior: } S_n &= n \cdot c + 1,96A \\ \text{Límite inferior: } I_n &= n \cdot c - 1,96A \end{aligned} \quad [1],$$

donde  $S_n$  ( $I_n$ ) es el límite superior (inferior) del conteo acumulado para  $n$  muestras con  $\alpha = 0,05$ ,  $c$  es la densidad crítica propuesta,  $A = \sqrt{n[\text{var}(c)]}$ , y  $\text{var}(c)$  es la varianza del nivel de densidad crítica  $c$ , evaluada en la LPT. El valor 1,96 es el percentil 97,5 de una distribución normal estándar, usado para obtener un intervalo de confianza bilateral del 95%. Para un 99% se sustituye por 2,576 en las Ecuaciones 1 y para un 90% se usa 1,645. Estos límites se calcularon para un intervalo de tamaños de muestras desde 5 hasta 225 (tamaño utilizado en cada muestreo).

**Paso 4.** Los valores obtenidos para ambos límites se graficaron contra el tamaño de muestra  $n$  para obtener dos rectas casi paralelas en el primer cuadrante de un sistema de coordenadas rectangulares. El gráfico se confeccionó con Microsoft Excel (2000).

**Paso 5.** Si la verdadera densidad poblacional está cercana a la densidad crítica  $c$ , el muestreo podría continuar indefinidamente. Se puede determinar el máximo tamaño de muestra mediante la expresión:

$$n_M \approx (1,96/d)^2[\text{var}(c)] \quad [2],$$

donde  $n_M$  es el número máximo de muestras que se debe tomar,  $d$  es la mitad absoluta del intervalo de confianza para un 95%,  $c$  y  $\text{var}(c)$  la densidad crítica y su varianza esperada evaluada en la LPT. Si se usa un 99% de confianza, se sustituye el valor 1,96 en la Ecuación 2 por 2,576; para 90% se sustituye por 1,645.

#### Validación del plan de muestreo secuencial para la toma de decisiones de control de *T. palmi*

Para la validación del muestreo se utilizaron 46 conjuntos de datos de campo de tamaño 100 obtenidos bajo las mismas condiciones de los datos con que se confeccionó el plan de muestreo secuencial, pero en los restantes cuadrantes de la Fregat<sup>1</sup> y siguiendo la

<sup>1</sup> Nombre de ciertas máquinas de riego de pivote central usadas para el riego por aspersión.

metodología indicada en el Programa de Defensa Fitosanitaria para el cultivo de la papa del MINAGRI. Los mismos cubrieron un amplio rango de densidades medias que variaron desde 0,10 hasta 18,14 larvas por unidad de muestreo.

A los datos de campo usados se les aplicó este procedimiento de muestreo secuencial con el objetivo de categorizar las densidades poblacionales presentes de acuerdo al nivel de densidad crítica seleccionado (1,85 larvas por unidad muestral), así como para comparar las densidades medias y los tamaños de muestras resultantes de ambos procedimientos.

Las densidades medias de los datos de campo usados en la validación y obtenidos mediante muestreo según MINAGRI y las estimadas a través del muestreo secuencial se compararon mediante la d<sup>o</sup>cima *t* de Student para muestras pareadas. Se usó el coeficiente de correlación entre ambas como criterio de concordancia, así como la comparación del intercepto y la pendiente de la recta de regresión que ajustó los datos, con los de la recta  $y = x$ , (Guerra et ál. 1998).

## Resultados y discusión

### Análisis de los datos

La combinación de los datos provenientes de las tres campañas se realizó a partir de los resultados del análisis de covarianza en los que no se detectaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre las pendientes y los interceptos de las regresiones de la LPT, tanto para las larvas como para los adultos (Cuadro 1).

Este resultado demuestra un comportamiento similar en las poblaciones de *T. palmi* durante las tres campañas en cuanto al patrón espacial, por lo que es de suponer que no hubo influencias significativas sobre este indicador ecológico por parte de las variables climáticas y de las aplicaciones a que se sometieron las plantaciones del cultivo.

Poblaciones de *Leptinotarsa decemlineata* Say en berenjena fueron muestreadas durante cuatro

años por Hamilton et ál. (1998) y combinadas en un único conjunto de datos basado en la falta de diferencias significativas entre las pendientes en las regresiones de la LPT entre años. Un procedimiento análogo fue realizado por Cho et ál. (1995) al combinar datos de *Frankliniella* spp. obtenidos en tres años sobre plantaciones de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.).

Igualmente, para *T. palmi*, Cho et ál. (2000) obtuvieron un resultado similar al combinar datos provenientes de muestreos realizados en plantaciones de papa durante los años 1995 y 1996 en Korea y a partir de los datos combinados, generaron una regresión común de la Ley Potencial de Taylor para usar sus estimadores en el desarrollo de planes de muestreo.

### Análisis del patrón espacial

Los valores de *b* obtenidos (1,43 para las larvas y 1,20 para los adultos; Cuadro 2) resultaron significativamente  $> 1$ , pues sus intervalos de confianza no contienen este valor, indicando un patrón agregado. Dichos valores se aproximan a los obtenidos por Verghese et ál. (1988) en mango, de 1,574, por Ho y Chen (1998) en berenjena, de 1,577, y a los de Cho et ál. (2000) que oscilaron entre 1,36 y 1,61. Los valores de *b* informados por Jiménez et ál. (2000) son un tanto mayores, de entre 1,818 y 1,917, pero con valores de *a* que no difieren estadísticamente de cero. También son superiores a uno los informados por Trujillo et ál. (2001) en pepino (1,298 y 2,768 en larvas y adultos, respectivamente). Por otra parte, Osorio y Cardona (2003) obtienen, en habichuela y frijol, valores promedio para este parámetro de 1,40 para las larvas y 1,53 para los adultos.

Taylor (1984) señala que en poblaciones de un mismo insecto, en diferentes regiones geográficas, las pendientes y los interceptos de la LPT son similares pero no idénticos, debido a que el comportamiento intrínseco del insecto puede verse afectado por

**Cuadro 1.** Resultados del análisis de covarianza para la comparación de rectas de regresión

Estados	Interceptos						Pendientes					
	Campañas			F	g.l.	p	Campañas			F	g.l.	p
	1998	1999	2000				1998	1999	2000			
Larvas	4,12	5,99	4,26	3,42	2;15	0,0597	1,22	1,46	1,45	2,46	2;15	0,1191
Adultos	2,75	1,85	2,09	0,20	2;17	0,8244	1,38	1,15	1,18	2,17	2;17	0,1445

**Cuadro 2.** Resultados de la regresión de la Ley Potencial de Taylor para la población de *T. palmi*

Estados	<i>n</i>	$\hat{a}$	$\ln a$	$EE_{\ln a}$	IC ( $\ln a$ )	$\hat{b}$	$EE_{\hat{b}}$	IC ( <i>b</i> )	$R^2$
Larvas	21	4,91	1,59	0,08	1,43 – 1,75	1,43	0,04	1,34 – 1,51	98,35
Adultos	23	2,07	0,73	0,09	0,54 – 0,91	1,20	0,04	1,12 – 1,28	98,3

las condiciones particulares del entorno en que se encuentra.

La elección de los estimadores de la LPT como índices adecuados de dispersión y su uso preferente en el diseño de procedimientos de muestreo ha sido señalada por Taylor (1984), Ho y Chen (1998), Cho et ál. (2000) y Cabrera et ál. (2002).

### Comparación entre estados de *T. palmi*

El análisis de covarianza (ANCOVA) indicó que tanto los interceptos como las pendientes de la LPT para larvas y adultos presentaron diferencias significativas entre sí. Para los primeros (4,91 y 2,07),  $F = 35,08$ , g.l. = 1;40, y  $p \leq 0,0001$ , y para las segundas (1,43 y 1,20),  $F = 16,27$ , g.l. = 1;40, y  $p = 0,0002$ , por lo que no procede la combinación de ambos estados de desarrollo y, entre ellos, solo las larvas deben escogerse para realizar el muestreo. Este resultado difiere al informado por Cho et ál. (2000), quienes mediante ANCOVA no detectaron diferencias entre *T. palmi* adultos e inmaduros y por tanto incluyeron ambos estados en los planes de muestreos propuestos.

En la selección del estado larval como representativo para realizar el muestreo de poblaciones de *T. palmi* se ha tenido en cuenta, además del resultado anterior, el hecho de constituir el 78,66% del total de individuos recolectados, con un coeficiente de correlación entre estos y la población total de 0,9898. Por otra parte, Jiménez et ál. (2000) y Suris et ál. (2003) señalan que las larvas, al ser menos móviles que los adultos, son más fáciles de contar que estos y por tanto el muestreo es más confiable.

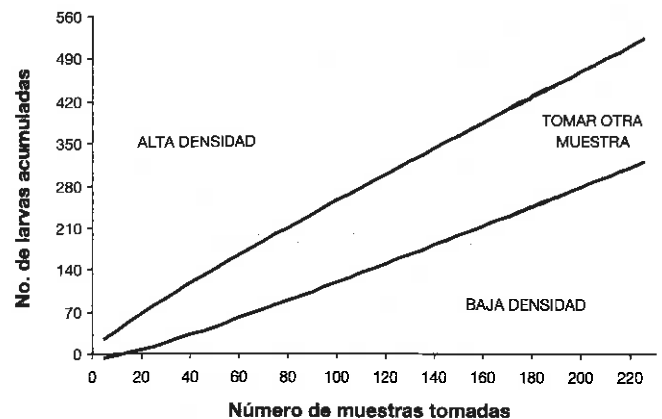
En cuanto al sitio dónde realizar el muestreo, Suris y Plana (2001) señalan que el lugar idóneo es el estrato medio de las plantas, ya que las larvas disponen de mejores condiciones de vida al estar menos expuestas a la acción de los enemigos naturales y de la radiación solar, además de encontrarse en este nivel hojas que, por su edad, podrían resultar más adecuadas para garantizar el alimento a este estado.

### Plan de muestreo secuencial para la toma de decisiones de control de *T. palmi*

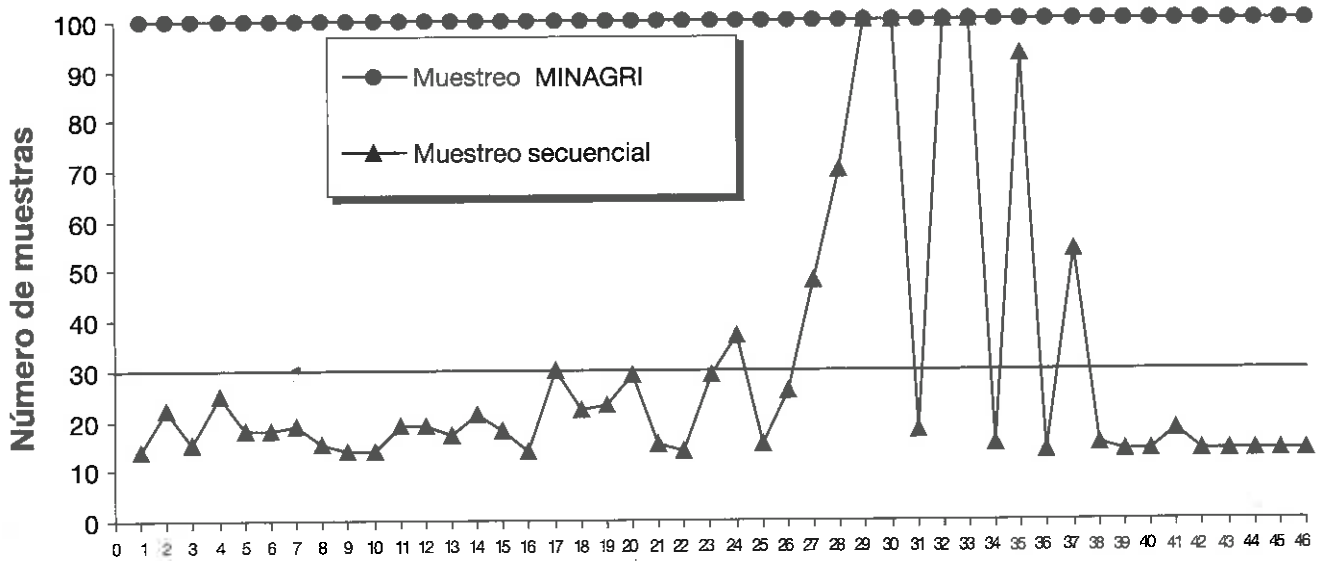
A partir de los resultados obtenidos, relacionados con la distribución espacial de la plaga en la planta, el estado representativo de sus poblaciones y la selección de la unidad muestral, se propone modificar los procedimientos de muestreo indicados en el Programa de Defensa Fitosanitario para el Cultivo de la Papa de modo que *se tome como unidad muestral el foliolo apical, extraído en el estrato medio de las plantas, y que se cuantifique el estado larval*. Estos elementos serán comunes a cualquier procedimiento de monitoreo que se diseñe, excepto el número de muestras por tomar, que dependerá del tipo de muestreo, ya sea enumerativo o secuencial.

Las curvas de muestreo secuencial para la toma de decisiones de control y sus respectivos intervalos de confianza se generaron a través del método de Iwao mediante la Ecuación 1, utilizando como valor crítico 1,85 larvas por unidad muestral (Figura 1), valor informado por Murguido (2000) y asumido como umbral de nocividad y económico en el cultivo.

Al progresar el muestreo, se acumulan los individuos contados, mientras la cantidad acumulada esté contenida en el área entre las dos curvas, se debe tomar otra muestra, cuando esa suma está fuera (encima o debajo) se detiene el muestreo y se decide la medida a tomar según el caso.



**Figura 1.** Plan de muestreo secuencial para la toma de decisiones de control de larvas *T. palmi* con nivel crítico  $c = 1,85$  larvas por unidad muestral.



### Conjuntos de datos de campo

**Figura 2.** Número de muestras utilizadas para estimar densidades poblacionales en los datos de campo con muestreo según MINAGRI y mediante el muestreo secuencial para la toma de decisiones.

Además de los resultados en forma gráfica, es posible presentarlos en forma de tablas, como lo muestran Niño et ál. (1995). Krebs (1999), señala que la forma tabular resulta de más fácil manejo a los que realizan el muestreo en el campo (Cuadro 3), en ella se procede de forma similar a la anterior, solo que el acumulado se compara ahora con dos límites y el muestreo se detiene cuando el mismo no alcance o supere uno de ellos.

Este procedimiento, diseñado por primera vez en el país para esta plaga, permite estimar las densidades poblacionales presentes en el campo y a partir del umbral de acción, categorizar las mismas como altas (si lo supera) o bajas (si no lo supera). Sobre la base de esta estimación se debe decidir si se toma o no alguna medida de control. Un procedimiento como este proponen Osorio y Cardona (2003) para adultos de *T. palmi* en habichuela y frijol, utilizando el umbral de acción de 7 adultos por foliolo, establecido previamente por Bueno y Cardona (2003).

Resulta evidente la utilidad práctica de los muestreos secuenciales, pues permiten reducir el número de unidades muestrales (cuando las densidades poblacionales son altas o bajas) y con ello disminuir el tiempo invertido en la realización de las evaluaciones, lo que equivale a su costo, así como poder tomar decisiones sobre la aplicación

de controles oportunos, evitando aplicaciones innecesarias.

### Validación del plan de muestreo secuencial para la toma de decisiones de control de *T. palmi*

Mediante el muestreo secuencial, el número de muestras necesario para estimar las densidades poblacionales es inferior a 100 en 42 de los 46 conjuntos de datos (91,30%), tanto para las densidades bajas como altas (Figura 2).

Con relación a las densidades medias, a pesar de que los tamaños de muestras son significativamente menores (100 en los datos de campo y 30 como promedio en el muestreo secuencial), existe una correspondencia adecuada entre las estimadas en los primeros (2,05 como promedio) y las estimadas por medio del muestreo secuencial (1,98 como promedio), que no difieren estadísticamente de acuerdo a los resultados de la prueba de *t* para muestras pareadas ( $t = -1,3146$ ,  $p = 0,1953$ ), corroborado además por un coeficiente de correlación entre ambas de 0,9137 ( $p \leq 0,0001$ ).

La Figura 3 ilustra la relación entre la recta que ajusta las medias de los datos del muestreo según MINAGRI (2000) y las estimadas mediante el muestreo secuencial, con la recta  $y = x$ . La recta que ajusta a los datos no difiere de la recta  $y = x$ , dados los

**Cuadro 3.** Formato tabular del plan de muestreo secuencial para la toma de decisiones de control de *T. palmi* con nivel crítico  $c = 1,85$  larvas por unidad muestral

Planta	Límite inferior	Valor	Acum.	Límite superior	Planta	Límite inferior	Valor	Acum.	Límite superior
1	ND	---	---	9	51	46	---	---	143
2	ND	---	---	13	52	48	---	---	145
3	ND	---	---	17	53	49	---	---	147
4	ND	---	---	21	54	50	---	---	149
5	ND	---	---	24	55	52	---	---	152
6	ND	---	---	28	56	53	---	---	154
7	ND	---	---	31	57	55	---	---	156
8	ND	---	---	34	58	56	---	---	159
9	ND	---	---	37	59	57	---	---	161
10	ND	---	---	40	60	59	---	---	163
11	ND	---	---	43	61	60	---	---	166
12	ND	---	---	46	62	62	---	---	168
13	ND	---	---	48	63	63	---	---	170
14	1	---	---	51	64	64	---	---	172
15	2	---	---	54	65	66	---	---	175
16	3	---	---	57	66	67	---	---	177
17	4	---	---	59	67	69	---	---	179
18	5	---	---	62	68	70	---	---	181
19	6	---	---	65	69	72	---	---	184
20	7	---	---	67	70	73	---	---	186
21	8	---	---	70	71	75	---	---	188
22	9	---	---	72	72	76	---	---	190
23	10	---	---	75	73	77	---	---	193
24	11	---	---	77	74	79	---	---	195
25	13	---	---	80	75	80	---	---	197
26	14	---	---	82	76	82	---	---	199
27	15	---	---	85	77	83	---	---	202
28	16	---	---	87	78	85	---	---	204
29	17	---	---	90	79	86	---	---	206
30	19	---	---	92	80	88	---	---	208
31	20	---	---	95	81	89	---	---	211
32	21	---	---	97	82	91	---	---	213
33	22	---	---	100	83	92	---	---	215
34	24	---	---	102	84	94	---	---	217
35	25	---	---	105	85	95	---	---	219
36	26	---	---	107	86	97	---	---	222
37	27	---	---	109	87	98	---	---	224
38	29	---	---	112	88	100	---	---	226
39	30	---	---	114	89	101	---	---	228
40	31	---	---	117	90	103	---	---	230
41	33	---	---	119	91	104	---	---	233
42	34	---	---	121	92	106	---	---	235
43	35	---	---	124	93	107	---	---	237
44	37	---	---	126	94	109	---	---	239
45	38	---	---	128	95	110	---	---	241
46	39	---	---	131	96	112	---	---	244
47	41	---	---	133	97	113	---	---	246
48	42	---	---	136	98	115	---	---	248
49	43	---	---	138	99	116	---	---	250
50	45	---	---	140	100	118	---	---	252

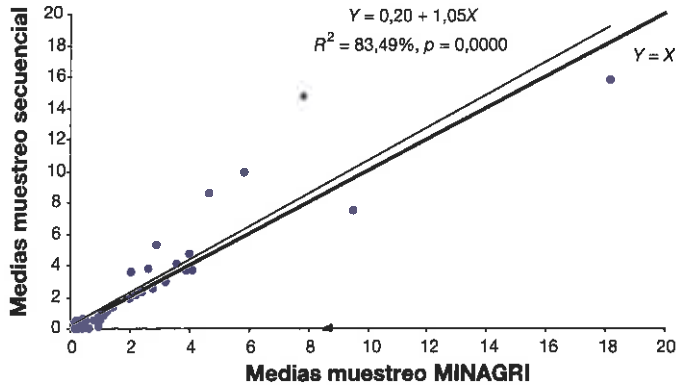
Notas: Valor = cantidad de individuos contenidos en la planta  $n$ ; Acum. = suma acumulada de individuos; ND significa no tomar decisión hasta después de tomar 14 muestras.

**Cuadro 4.** Resultados de la validación del muestreo secuencial para la toma de decisiones de control de larvas de *T. palmi*

Conjuntos	Muestreo según MINAGRI			Muestreo secuencial			
	<i>n</i>	<i>Tn</i>	Media	<i>n</i>	<i>Tn</i>	Media	Resultado
1	100	10	0,10	14	0	0,00	Baja densidad
2	100	11	0,11	22	8	0,36	Baja densidad
3	100	14	0,14	15	1	0,07	Baja densidad
4	100	15	0,15	25	12	0,48	Baja densidad
5	100	16	0,16	18	4	0,22	Baja densidad
6	100	16	0,16	18	4	0,22	Baja densidad
7	100	18	0,18	19	5	0,26	Baja densidad
8	100	22	0,22	15	1	0,07	Baja densidad
9	100	23	0,23	14	0	0,00	Baja densidad
10	100	23	0,23	14	0	0,00	Baja densidad
11	100	24	0,24	19	5	0,26	Baja densidad
12	100	26	0,26	19	5	0,26	Baja densidad
13	100	26	0,26	17	3	0,18	Baja densidad
14	100	26	0,26	21	7	0,33	Baja densidad
15	100	30	0,30	18	4	0,22	Baja densidad
16	100	36	0,36	14	0	0,00	Baja densidad
17	100	37	0,37	30	18	0,60	Baja densidad
18	100	39	0,39	22	8	0,36	Baja densidad
19	100	42	0,42	23	9	0,39	Baja densidad
20	100	48	0,48	29	16	0,55	Baja densidad
21	100	50	0,50	15	1	0,07	Baja densidad
22	100	58	0,58	14	0	0,00	Baja densidad
23	100	74	0,74	29	16	0,55	Baja densidad
24	100	88	0,88	37	26	0,70	Baja densidad
25	100	90	0,90	15	1	0,07	Baja densidad
26	100	95	0,95	26	13	0,50	Baja densidad
27	100	105	1,05	48	41	0,85	Baja densidad
28	100	115	1,15	70	72	1,03	Baja densidad
29	100	136	1,36	100	136	1,36	Seguir el muestreo
30	100	196	1,96	100	196	1,96	Seguir el muestreo
31	100	199	1,99	18	64	3,56	Alta densidad
32	100	216	2,16	100	216	2,16	Seguir el muestreo
33	100	237	2,37	100	237	2,37	Seguir el muestreo
34	100	260	2,60	15	57	3,80	Alta densidad
35	100	276	2,76	93	239	2,57	Alta densidad
36	100	284	2,84	14	75	5,36	Alta densidad
37	100	314	3,14	54	163	3,02	Alta densidad
38	100	355	3,55	15	61	4,07	Alta densidad
39	100	385	3,85	14	52	3,71	Alta densidad
40	100	396	3,96	14	66	4,71	Alta densidad
41	100	406	4,06	18	67	3,72	Alta densidad
42	100	466	4,66	14	121	8,64	Alta densidad
43	100	582	5,82	14	139	9,93	Alta densidad
44	100	779	7,79	14	207	14,79	Alta densidad
45	100	950	9,50	14	105	7,50	Alta densidad
46	100	1814	18,14	14	221	15,79	Alta densidad

Nota: *Tn* = cantidad de individuos acumulados en *n* muestras; Media = *Tn/n*.





**Figura 3.** Relación entre la recta que ajusta las medias de los datos del muestreo según MINAGRI y las medias estimadas a través del muestreo secuencial para la toma de decisiones, con la recta  $y = x$ .

valores y la significación estadística del intercepto ( $a = 0,20$ ,  $EE_a = 0,26$ ,  $p = 0,4611$ ) y la pendiente ( $b = 1,05$ ,  $EE_b = 0,07$ ,  $p \leq 0,0001$ ), con intervalos de confianza que contienen cero y uno ( $[-0,34; 0,73]$  y  $[0,90; 1,19]$ ), respectivamente.

Con respecto a la categorización de las densidades estimadas a través del muestreo secuencial, cuando estas son inferiores a 1,36 se consideran de baja densidad, pues el acumulado de individuos cae fuera del límite inferior. Las densidades medias superiores a 2,55 se categorizan como altas, pues el acumulado de individuos supera el límite superior. La decisión de seguir el muestreo se toma cuando las densidades medias están alrededor del nivel crítico, ya que el acumulado de individuos se mantiene hasta la muestra 100, dentro de la banda de confianza. Al aplicar la Ecuación 2, el muestreo se debe detener al tomar 332 muestras.

La validación del procedimiento de muestreo secuencial para la toma de decisiones de control de *T. palmi* permite su incorporación al Programa de Defensa Fitosanitario para el cultivo de la papa indicado por el MINAGRI, lo que influirá en la eficiencia del programa de manejo integrado que se tiene implementado para esta plaga.

### Literatura citada

- Anónimo. 1997. Informe entregado por Cuba al Secretario General de las Naciones Unidas sobre la aparición en nuestro país de la plaga *Thrips palmi*. Diario Granma. Ciudad de la Habana, Año 33, No. 61.
- Bueno, JM; Cardona, C. 2003. Umbral de acción para *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) en habichuela en el Valle

del Cauca, Colombia. Revista Colombiana de Entomología 29(1):51-55.

- Cabrera, CA; Guerra, W; Suris, M. 2002. Selección de modelos de regresión para describir el patrón espacial de *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) en el cultivo de papa. Cultivos Tropicales 23(4):77-82.
- Cho, K; Eckel, CS; Walgenbach, JF; Kennedy, GG. 1995. Spatial distribution and sampling procedures for *Frankliniella* spp. (Thysanoptera: Thripidae) in staked tomato. Journal of Economic Entomology 88(6):1658-1665.
- Cho, K; Kang, SH; Lee, GS. 2000. Spatial distribution and sampling plans for *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) infesting fall potato in Korea. Journal of Economic Entomology 93(2):503-510.
- Guerra, BW; Menéndez, AE; Barrero, MR; Egaña, ME. 1998. Estadística. 2 ed. La Habana, CU, Editorial Félix Varela. 376 p.
- Hamilton, GC; Lashomb, JH; Arpaia, S; Chianese, R; Mayer, M. 1998. Sequential sampling plans for Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) in eggplant. Environmental Entomology 27(1):33-38.
- Ho, CC; Chen, WH. 1998. Distribution and estimates of the optimal sample size of *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) on eggplant. Chinese Journal of Entomology 13:293-303.
- Jiménez, S; Cortiñas, J; López, D. 2000. Distribución temporal y espacial y consideraciones para el monitoreo de *Thrips palmi* en papa en Cuba. Manejo Integrado de Plagas 57:54-57.
- Kawai, A. 1983. Studies on the population ecology of *Thrips palmi* Karny. I. Population growth and distribution pattern on cucumber in greenhouse. Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology 27:261-264.
- Krebs, CJ. 1999. Ecological Methodology. 2 ed. California, US, Addison-Wesley Educational Publishers. 620 p.
- Microsoft Corporation. 2000. Microsoft Excel.
- MINAGRI. 2000. Programa de Defensa Fitosanitaria para el cultivo de la papa. Ciudad de La Habana, CU, Centro Nacional de Sanidad Vegetal. 20 p.
- Murguido, C. A. 2000. Estudio de la nocividad, monitoreo y señalización de *Thrips palmi* Karny en cultivos de importancia económica. Informe final del subproyecto 3. Cuba, INISAV. 19 p.
- Murguido, CA; Elizondo, AI; Vázquez, ML; Suris, CM; Avilés, PR. 2002. Desarrollo de un programa de lucha contra *Thrips palmi* Karny y su impacto en la agricultura cubana. In Forum Tecnológico Especializado de Manejo Integrado de Plagas (La Habana, CU, 2002). Resúmenes. La Habana, CU, CIDISAV. p. 93-94.
- Niño, JC; Palacios, T; Corredor, D. 1995. Muestreo secuencial para trips *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae), en un cultivo de mora (*Rubus glaucus* Benth) bajo invernadero. Agronomía Colombiana 12(2):115-126.
- Plana, L; Suris, M; Cabrera, A; Rodríguez, H. 2001. Determinación del foliolo apical de la hoja de papa var. Desirée como unidad muestral en el monitoreo de *Thrips palmi* Karny. Revista de Protección Vegetal 16(1):26-29.
- Osorio, J; Cardona, C. 2003. Fenología, fluctuación de poblaciones y métodos de muestreo para *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) en habichuela y frijol. Revista Colombiana de Entomología 29(1):43-49.

- Sigarroa, A. 1985. *Biometría y Diseño Experimental*. La Habana, CU, Editorial Pueblo y Educación. v. 2, p. 550-564.
- Sokal, RR; Rohlf, FJ. 1995. *Biometry*. 3 ed. New York, US, Freeman. 523 p.
- Southwood, TRE. 1978. *Ecological Methods with Particular Reference of the Study of Insect Populations*. Londres, UK, Chapman and Hall. p. 7-69.
- Statistical Graphics Corp. 1999. *STATGRAPHICS Plus for Windows 4.1*.
- Suris, M; Plana, L; Cabrera, A. 2003. Diseño de un método de muestreo para *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) en el cultivo de la papa. *Revista de Protección Vegetal* 18(3):211-214.
- Suris, CM; Jiménez, S; Chiang, ML. 1999. Distribución en la planta y en el campo de *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) en cultivos económicos. Informe final de la etapa 2.3 del subproyecto Biología y ecología de *Thrips palmi* Karny. La Habana, CU, CENSA-INISAV. 47 p.
- Suris, M; Plana, L. 2001. Distribución en la planta y en el campo de *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) en papa de la variedad Desirée. *Revista de Protección Vegetal* 16(2-3):80-83.
- Taylor, LR. 1961. Aggregation, variance and the mean. *Nature* 189:732-735.
- Taylor, LR. 1984. Assessing and interpreting the spatial distribution of populations. *Annual Review of Entomology* 29:321-357.
- Trujillo, Z; Pérez, RP; Borroto, D; Corrales, E. 2001. Distribución espacial y vertical de *Thrips palmi* Karny en el cultivo de pepino (*Cucumis sativus* L.) en condiciones de organopónico. *Fitosanidad* 5(1):13-15.
- Vázquez, LL. 2003. Bases para el manejo integrado de *Thrips palmi*. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 69:84-91.
- Verghese, A; Tandon, PL; Prasada Rao, GS. 1988. Ecological studies relevant to the management of *Thrips palmi* Karny on mango in India. *Tropical Pest Management* 34(1):55-58.

# Patogenicidade de isolados de *Beauveria bassiana* a *Caliothrips phaseoli*

Ricardo S. Cavalcanti<sup>1</sup>  
Alcides Moino Jr.<sup>1</sup>  
Vanessa Andaló<sup>1</sup>  
Bernardo F. Altoé<sup>2</sup>  
Paulo Rebelles Reis<sup>2</sup>  
Lúcia A. Mendonça<sup>1</sup>  
Vanda H. P. Bueno<sup>1</sup>

**ABSTRACT. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* strains against *Caliothrips phaseoli*.** Microbial control is a promising tool against thrips, an important pest in several agricultural ecosystems. Among the organisms used in microbial control, entomopathogen fungi are the most studied, and among them *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. has shown efficiency in the control of several agricultural pests. This study measured the pathogenicity of five *B. bassiana* strains against *Caliothrips phaseoli* (Hood) (Thysanoptera: Thripidae) under laboratory conditions. Fungal suspensions were applied on Petri dishes containing agar-water culture + jack bean foliar disc [*Canavalia ensiformis* (L.)], where we transferred *Caliothrips phaseoli* nymphs and adults. We used a completely randomized design, with six treatments and five replications, amounting to 50 thrips/treatment. In the control Petri dish we sprayed distilled and sterilized water. To obtain the average lethal time, the 10 days-mortality data was submitted to a Probit analysis. All strains were pathogenic to *C. phaseoli* nymphs and adults under laboratory conditions. The strain UFLA 16 was the most virulent to nymphs, causing 74% mortality. The most virulent strains to *C. phaseoli* adults were UFLA 13, UFLA 17 and IPA 202, resulting in mortalities of 73.2, 63.4 and 80.6%, respectively. The strain UFLA 16 showed the shortest average lethal time (6.98 days) to *C. phaseoli* nymphs, different from the other strains, which showed an average lethal time higher than 11 days. The average lethal time for adults were similar for the strains UFLA 13, UFLA 17 and IPA 202, of 5.67, 4.10 and 5.38 days, respectively.

**Keywords:** entomopathogen, microbial control, thrips, entomopathogenic fungus.

**RESUMEN. Patogenicidad de cepas de *Beauveria bassiana* sobre *Caliothrips phaseoli*.** El control microbiano es una herramienta que se puede utilizar para el control de trips, importante plaga en varios cultivos. Entre los organismos usados, los hongos entomopatógenos son los más estudiados, destacando la especie *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., que ha mostrado eficiencia en el control de diversas plagas. Este trabajo tiene como objetivo evaluar la patogenicidad de cinco aislamientos de *B. bassiana* sobre *Caliothrips phaseoli* (Hood) (Thysanoptera: Thripidae), en condiciones de laboratorio. Se aplicaron suspensiones de esporas en discos Petri con medio de cultivo agar-agua + disco foliar de frijol canavalia [*Canavalia ensiformis* (L.)], a los que se transfirieron ninfas y adultos de *C. phaseoli*. Se utilizó un diseño completamente al azar, con seis tratamientos y cinco repeticiones, completando un total de 50 trips/tratamiento. El testigo fue pulverizado con agua destilada esterilizada. Para obtener los tiempos letales medios (TL<sub>50</sub>), los datos de mortalidad acumulada a los 10 días fueron sometidos a análisis Probit. Todos los aislados fueron patogénicos a ninfas y adultos de *C. phaseoli* en condiciones de laboratorio. La cepa UFLA 16 fue la más virulenta para ninfas, causando una mortalidad del 74%. Para adultos, las cepas UFLA 13, UFLA 17 e IPA 202 causaron mortalidades de 73,2; 63,4 y 80,6%, respectivamente. La cepa UFLA 16 presentó el menor TL<sub>50</sub> (6,98 días) sobre ninfas, y difirió de los demás aislados, que presentaron TL<sub>50</sub> superiores a 11 días. Los TL<sub>50</sub> para adultos fueron iguales para las cepas UFLA 13, UFLA 17 y IPA 202, siendo de 5,67; 4,10 y 5,38 días, respectivamente.

**Palabras clave:** entomopatógeno, control microbiano, trips, hongo entomopatógeno.

<sup>1</sup> UFLA, Departamento de Entomologia, C.P 3037 – Lavras, MG, Brasil. rscavalcanti@yahoo.com.br

<sup>2</sup> EPAMIG – CTSM/EcoCentro, C.P. 176 – Lavras, MG, Brasil.

**RESUMO.** O controle microbiano é uma ferramenta a ser utilizada para o controle de tripses, importante praga em vários agroecossistemas. Dentre os organismos usados, os fungos entomopatogênicos são os mais estudados, e dentre eles, a espécie *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. tem mostrado eficiência no controle de diversas pragas. Este trabalho teve como objetivo avaliar a patogenicidade de cinco isolados de *B. bassiana* sobre *Caliothrips phaseoli* (Hood) (Thysanoptera: Thripidae), em condições de laboratório. Foram aplicadas suspensões fúngicas em placas de Petri contendo meio de cultura Agar-Água + disco foliar de feijão-de-porco [*Canavalia ensiformis* (L.)], para onde foram transferidas ninfas e adultos de *C. phaseoli*. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições, perfazendo 50 tripses/tratamento. No tratamento testemunha foi pulverizada água destilada esterilizada. Para obtenção dos tempos letais médios (TL<sub>50</sub>), os dados de mortalidade acumulada aos 10 dias foram submetidos à análise de Probit. Todos os isolados foram patogênicos a ninfas e adultos de *C. phaseoli* em condições de laboratório. O isolado UFLA 16 foi o mais virulento para ninfas de *C. phaseoli*, causando mortalidade de 74%. Para adultos de *C. phaseoli*, os isolados mais virulentos foram UFLA 13, UFLA 17 e IPA 202, promovendo mortalidades de 73,2; 63,4 e 80,6%, respectivamente. O isolado UFLA 16 apresentou o menor TL<sub>50</sub> (6,98 dias) para ninfas de *C. phaseoli*, diferindo dos outros isolados, que apresentaram TL<sub>50</sub> superiores a 11 dias. Os TL<sub>50</sub> para adultos foram semelhantes para os isolados UFLA 13, UFLA 17 e IPA 2002, sendo de 5,67; 4,10 e 5,38 dias, respectivamente.

**Palabras chave:** entomopatógeno, controle microbiano, tripses, fungos entomopatogênicos.

## Introdução

Os tripses são insetos cosmopolitas que possuem diversas espécies de plantas hospedeiras, desde culturas agrícolas, produzidas em campo e casa-de-vegetação, a ervas daninhas. A espécie *Caliothrips phaseoli* (Hood) (Thysanoptera: Thripidae) é encontrada em diversos agroecossistemas, como alface, algodoeiro, amendoim, ervilha e feijoeiro, sendo principalmente distribuída nas Américas e tem importância como praga por se alimentar de plantas jovens, causando deformação e retardando o desenvolvimento das culturas (Beltrán et al. 2004, Lima 1968).

Segundo Parrella et al. (1999), os tripses se alimentam sobre as plantas após perfurarem os tecidos e extraírem a seiva com seu estilete maxilar e mandíbulas, sendo que os tecidos em volta ficam ressecados, reduzindo a área fotossintetizadora da folha. Em anos recentes os tripses mudaram seu grau de importância nas casas-de-vegetação, passando de não-praga (incidental) para uma das principais pragas das culturas.

O aumento da área de produção intensiva em cultivos protegidos favorece o aparecimento de pragas. Somando-se a isto, a aplicação indiscriminada de produtos fitossanitários e o crescente problema de resistência das pragas, principalmente em casas-de-vegetação, onde não existem produtos registrados, permitiu que os tripses aumentassem de importância nestes ambientes. Nas últimas décadas, os tripses

tornaram-se pragas-chave em muitos lugares no mundo, principalmente por serem vetores de vírus em várias culturas de campo, como tomate, alface, pimenta e cebola, entre outras, e em culturas protegidas de hortaliças e flores, tais como tomate, pepino, crisântemo, rosas e violeta africana (Daughtrey et al. 1997, Yudin et al. 1986).

Os danos diretos podem ser pequenos, mas não são irrelevantes, especialmente se a parte vegetal danificada é o produto de comercialização (Monteiro 2000).

Os produtos biológicos são uma alternativa para o controle de tripses, principalmente em agroecossistemas de cultivos protegidos, porque além da resistência das pragas aos mesmos, as excessivas aplicações dos produtos químicos nestes ambientes podem causar sérios problemas de exposição dos aplicadores aos mesmos. Dentre os agentes biológicos utilizados para o controle dos tripses, os fungos entomopatogênicos se destacam pela grande variabilidade genética e facilidade de aplicação. A espécie *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. é a mais freqüente sobre insetos pragas, sendo muito utilizada para o controle de tripses, principalmente em alface em cultivos protegidos (Alves 1998, Bueno 2005, Parrella et al. 1999, van Lenteren 2000). Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar a patogenicidade de cinco isolados de *B. bassiana* sobre o tripses *C. phaseoli*, em condições de laboratório.

**Tabela 1.** Hospedeiros e procedência dos isolados de *Beauveria bassiana* utilizados nos experimentos

Isolado	Hospedeiro
UFLA 9	Solo
UFLA 13	<i>Hypothenemus hampei</i>
UFLA 16	Solo
UFLA 17	<i>Cosmopolites sordidus</i>
IPA 202	<i>Cosmopolites sordidus</i>

Nota: Todos os isolados foram provenientes de Lavras/MG, exceto IPA 202, que foi proveniente de Recife/PE.

## Material e métodos

O trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Patologia e de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras - UFLA. Para realização dos bioensaios de patogenicidade foram utilizados adultos e ninfas de tripes, oriundos da criação de manutenção de laboratório.

### Isolados utilizados nos bioensaios

Foram utilizados cinco isolados de *B. bassiana*, provenientes do Banco de Patógenos do Laboratório de Patologia de Insetos (Departamento de Entomologia/UFLA) (Tabela 1).

Para reativação da virulência dos isolados de fungos entomopatogênicos, suspensões fúngicas ( $10^8$  conídios/mL) dos mesmos foram inoculadas em placas de Petri (9 cm Ø) contendo papel filtro e larvas de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae), provenientes da criação do Laboratório de Biologia de Insetos. As larvas foram alimentadas com dieta artificial a cada dois dias. As placas foram mantidas

em câmara climatizada a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR =  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas. Após a mortalidade das larvas, estas foram desinfestadas superficialmente em álcool 70%, hipoclorito de sódio 2% e água destilada, por um período de 15 segundos. Foram transferidas, em seguida, para câmara úmida para extrusão dos patógenos dos cadáveres dos insetos, segundo metodologia adaptada de Bustillo & Marin (2002).

### Criação de *Caliothrips phaseoli*

Foram realizadas coletas de tripes em plantas de picão-preto *Bidens pilosa* L., em Lavras - MG, sendo em seguida preparadas lâminas para identificação dos espécimes, conforme Monteiro (1994). Os insetos selecionados foram criados em sala climatizada ( $25 \pm 3^\circ\text{C}$ , UR =  $60 \pm 10\%$  e fotofase = 12 h).

Grupos de insetos adultos de *C. phaseoli* foram individualizados e transferidos para gaiolas de acrílico (50 × 40 × 80 cm) (Figura 1A), vedadas para evitar a fuga dos mesmos. Para permitir aeração dentro da gaiola, foram feitas aberturas circulares laterais cobertas com tecido organza, presas por parafusos de aço, conforme adaptação de Lopes & Alves (2000).

Os tripes foram mantidos em plantas de feijão-de-porco *Canavalia ensiformis* (L.) (Leguminosae), cultivadas em vasos (20 × 10 cm) contendo substrato autoclavado. Quando atingiram 20 cm de altura, as plantas foram transferidas para as gaiolas de criação (Figura 1B). As plantas foram renovadas a cada semana, cortando-as e retirando apenas os vasos. Essas plantas foram mantidas na gaiola para evitar a retirada dos ovos inseridos e/ou ninfas dos tripes nas



**Figura 1.** Gaiola de criação de *Caliothrips phaseoli* (A) e vaso com plantas de feijão-de-porco *Canavalia ensiformis* para alimentação dos tripes (B).

folhas senescentes. No fundo das gaiolas foi colocada vermiculita para fornecer um local adequado para pupação dos tripses (Trichilo & Leigh 1988). Os tripses provenientes dessa criação foram utilizados nos bioensaios de patogenicidade.

### Bioensaios de patogenicidade

Após reativação da virulência dos isolados de *B. bassiana*, esses foram inoculados em placas de Petri (9 cm Ø) contendo meio de batata-dextrose-ágar (BDA) e incubados em câmara climatizada a  $25 \pm 1$  °C, fotofase de 12 horas e UR de  $70 \pm 10\%$ , por 15 dias, até a plena esporulação. Os esporos obtidos foram utilizados durante os experimentos.

Para preparação das suspensões dos fungos, os seus esporos foram raspados das placas de Petri, com auxílio de um bisturi devidamente flambado, e em seguida transferidos para tubos de ensaio. Foram realizadas diluições sucessivas para contagem em câmara de Neubauer e quantificação, sendo cada suspensão concentrada em  $10^8$  esporos/mL + espalhante adesivo Tween 80<sup>□</sup> (5µL/L). A pulverização das suspensões dos esporos dos fungos foi realizada em Torre de Potter, com pressão de 15 libras/pol<sup>2</sup>, utilizando-se 1,5 mL de suspensão, em placas de Petri (5 cm Ø) contendo meio de cultura Agar-Água (2%) sobreposto por disco foliar (3,5 cm Ø) de feijão-de-porco, para onde em seguida foram transferidos os tripses. No tratamento testemunha foi pulverizada água destilada esterilizada (ADE) + Tween 80<sup>□</sup>.

Para transferência dos tripses adultos, os mesmos foram coletados com auxílio de sugador e transferidos para tubos de ensaio de fundo chato, tampados com filme PVC, os quais receberam CO<sub>2</sub> para diminuição da atividade metabólica dos insetos,

sendo em seguida transferidos para as placas de Petri pulverizadas com as suspensões fúngicas. A transferência das ninfas (1º ínstar) de *C. phaseoli* foi realizada com o auxílio de pincel umedecido com água destilada, sendo que a cada transferência, por tratamento, foi feita a desinfestação do pincel em álcool a 70%, hipoclorito de sódio (2%) e água destilada, evitando a contaminação dos insetos com diferentes isolados.

Foram transferidos 10 tripses por repetição, sendo o experimento constituído de um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos (cinco isolados + testemunha) e cinco repetições, totalizando 50 tripses/tratamento. As placas foram mantidas em câmara climatizada a  $25 \pm 1$  °C, UR de  $70\% \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas. As avaliações foram realizadas diariamente, durante 10 dias. Após a mortalidade dos tripses, estes foram desinfetados superficialmente, sendo imersos em álcool 70%, hipoclorito de sódio 2% e água destilada por 10 segundos, e em seguida transferidos para câmara úmida, para confirmação da mortalidade pelos patógenos, através da esporulação dos fungos nos cadáveres.

A mortalidade corrigida foi calculada pela fórmula de Abbott (Abbott 1925), a partir da mortalidade total e os dados obtidos de mortalidade confirmada foram transformados por  $\arcsen\sqrt{x/100}$  e submetidos à análise de variância e teste de Scott & Knott ( $P < 0,05$ ) para comparação entre as médias, utilizando-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira 2000). Os dados da mortalidade acumulada aos 10 dias foram submetidos à análise de Probit, com auxílio do programa Mobae (Haddad et al. 1995), para determinação dos tempos letais médios (TL<sub>50</sub>).

### Resultados e discussão

Os dados de mortalidade confirmada de ninfas de *C. phaseoli* pelos isolados de fungos entomopatogênicos são apresentados na Tabela 2. O isolado UFLA 16 foi o mais virulento dentre aqueles testados para ninfas, promovendo mortalidade de 74%. Os tratamentos UFLA 9, UFLA 13, UFLA 17 e IPA 202 foram semelhantes e diferiram da testemunha quanto à mortalidade de ninfas de *C. phaseoli*, apresentando menores percentuais de mortalidade, variando de 32 a 46% (Tabela 2).

Pela análise de Probit para os tempos letais médios (TL<sub>50</sub>) de mortalidade de ninfas de *C. phaseoli* nos diferentes tratamentos, o isolado UFLA 16 apresentou

**Tabela 2.** Porcentagem média de mortalidade confirmada ( $\pm$  EP) de ninfas de *Caliothrips phaseoli* inoculados com fungos entomopatogênicos

Tratamentos	Mortalidade (%) <sup>1</sup>
Testemunha	0 $\pm$ 00 a
UFLA 9	32,00 $\pm$ 5,83 b
IPA 202	40,00 $\pm$ 3,16 b
UFLA 13	42,00 $\pm$ 2,00 b
UFLA 17	46,00 $\pm$ 2,45 b
UFLA 16	74,00 $\pm$ 6,78 c
CV (%)	25,43

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Scott & Knott ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 3.** Tempos letais médios (TL<sub>50</sub>) (em dias) de ninfas de *Caliothrips phaseoli* expostas a isolados de *Beauveria bassiana* obtidos pela análise de Probit

Tratamentos	TL <sub>50</sub>	IC	Equação	χ <sup>2</sup>
UFLA 9	13,63	(11,03; 16,85)	Y = 0,27981 + 4,1603 . log X	1,16
UFLA 13	11,19	(9,54; 13,13)	Y = 1,29987 + 3,5275 . log X	3,33
UFLA 16	6,98	(6,59; 7,39)	Y = 2,13672 + 3,3934 . log X	1,90
UFLA 17	12,52	(9,45; 16,59)	Y = 1,36703 + 3,3096 . log X	4,02
IPA 202	12,14	(8,80; 16,74)	Y = - 0,18640 + 4,7834 . log X	2,43

menor TL<sub>50</sub> (6,98 dias), o qual foi inferior ao TL<sub>50</sub> obtido nos demais tratamentos (Tabela 3).

O tratamento com o isolado UFLA 9 apresentou o maior TL<sub>50</sub> (13,63 dias) e a menor porcentagem de mortalidade de ninfas de *C. phaseoli* (32%). Com exceção do tratamento UFLA 16, todos os outros tratamentos testados apresentaram TL<sub>50</sub> elevados para serem utilizados no controle de ninfas de *C. phaseoli*, promovendo baixa mortalidade nesses estádios durante um tempo relativamente longo (Tabelas 2 e 3).

A Tabela 4 apresenta os resultados da análise de variância do bioensaio de patogenicidade dos isolados de *B. bassiana* sobre adultos de *C. phaseoli*. Todos os isolados de *B. bassiana* avaliados apresentaram diferenças do tratamento testemunha.

Os tratamentos UFLA 9 e UFLA 16 foram patogênicos a *C. phaseoli*, mas causaram baixa mortalidade a adultos do tripses (31,2%), com diferença significativa dos isolados UFLA 13, UFLA 17 e IPA 202, que promoveram as maiores porcentagens médias de mortalidade do tripses, 73,2%, 63,4% e 80,6%, respectivamente (Tabela 4).

Mediante análise de Probit para os TL<sub>50</sub> de mortalidade de adultos de tripses pelos diferentes isolados (Tabela 5), observa-se menor TL<sub>50</sub> para o tratamento com o isolado UFLA 17 (4,1 dias), seguido

por IPA 202, UFLA 13, UFLA 16 e UFLA 9. Os dados do isolado UFLA 17 apresentaram um χ<sup>2</sup> significativo, não se ajustando ao modelo. Os tratamentos com o isolados UFLA 13 e IPA 202 foram semelhantes quanto à mortalidade de adultos de tripses e aos valores de TL<sub>50</sub> (Tabelas 4 e 5).

Os fungos testados promoveram mortalidades diferentes para ninfas e adultos do tripses (Tabelas 2 e 4). Os isolados UFLA 16, UFLA 17 e IPA 202 levaram a 74, 46 e 40% de mortalidade de ninfas, enquanto, para adultos, a mortalidade foi de 31, 63 e 80%, respectivamente. Vestergaard et al. (1995) observaram que nem todos os estágios de um inseto têm a mesma suscetibilidade aos fungos, mostrando que adultos de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) foram mais suscetíveis a *Lecanicillium* sp. do que as ninfas da mesma espécie. Outros dados apresentaram resultados semelhantes sobre a espécie *Megalurothrips sjostedti* Trybom (Thysanoptera: Thripidae), em que os adultos foram mais suscetíveis a *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok. (Ekesi & Maniania 2000); enquanto, para *F. occidentalis*, as ninfas de segundo instar foram mais suscetíveis do que os adultos aos fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* (Goodwin et ál. 2005).

UFLA 9 foi o isolado que promoveu a menor mortalidade de ninfas e adultos de *C. phaseoli*, sendo estas bastante próximas. Observou-se mortalidade de ninfas de *C. phaseoli* próxima de 50% e uma alta mortalidade de adultos (73%) para o tratamento UFLA 13 (Tabelas 2 e 4).

**Tabela 4.** Porcentagem média de mortalidade confirmada (± EP) de adultos de *Caliothrips phaseoli* inoculados com fungos entomopatogênicos

Tratamentos	Mortalidade (%) <sup>1</sup>
Testemunha	0 ± 00 a
UFLA 16	31,20 ± 10,27 b
UFLA 9	31,20 ± 9,52 b
UFLA 17	63,40 ± 10,20 c
UFLA 13	73,20 ± 9,76 c
IPA 202	80,60 ± 9,13 c
CV (%)	29,84%

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Scott & Knott ( $P < 0,05$ ).

### Literatura citada

- Abbott, WS. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267.
- Alves, SB. 1988. Fungos entomopatogênicos. In *Controle Microbiano de Insetos*. 2 ed. Piracicaba, BR, FEALQ. p. 289-381.
- Beltrán, R; Helman, S; Peterlin, O. 2004. Control de *Caliothrips phaseoli* Hood y *Frankliniella schultzei* Trybon y *Aphis gossypii* Glover con insecticidas sistêmicos aplicados a las semillas de algodón. *Revista de Investigaciones*

**Tabela 5.** Tempos letais médios ( $TL_{50}$ ) (em dias) de adultos de *Caliothrips phaseoli* expostas a isolados de *Beauveria bassiana* obtidos pela análise de Probit

Tratamentos	$TL_{50}$	IC	Equação	$\chi^2$
UFLA 9	9,10	(5,97; 13,89)	$Y = 2,95626 + 2,13086 \cdot \log X$	1,15
UFLA 13	5,67	(5,12; 6,29)	$Y = -0,05757 + 6,70863 \cdot \log X$	6,60
UFLA 16	8,19	(5,90; 11,38)	$Y = 1,27189 + 4,08107 \cdot \log X$	5,06
UFLA 17	4,10	(2,78; 6,06)	$Y = 3,73230 + 2,06736 \cdot \log X$	11,49*
IPA 202	5,38	(4,81; 6,02)	$Y = -1,74641 + 4,45155 \cdot \log X$	4,79

\*  $\chi^2$  significativo ( $P < 0,05$ ).

Agropecuarias 33(1): 39-48.

Bueno, VHP. 2005. Controle biológico de trips: pragas sérias em cultivos protegidos. Informe Agropecuário 26(225): 31-39.

Bustillo, PAE; Marin, MP. 2002. ¿Cómo reactivar la virulencia de *Beauveria bassiana* para el control de la broca de café? Manejo Integrado de Plagas 63, p. i-iv.

Daughtrey, ML; Jones, RK; Moyer, ME; Daub, ME; Baker, JR. 1997. Tospovirus strike the greenhouse industry: INSV has become a major pathogen on flower crops. Plant Disease 81(11): 1220-1230.

Ekesi, S; Maniania, NK. 2000. Susceptibility of *Megalurothrips sjostedti* developmental stages to *Metarhizium anisopliae* and the effects of infection on feeding, adult fecundity, egg fertility and longevity. Entomologia Experimentalis et Applicata 94(3): 229-236.

Ferreira, DF. 2000. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria (45, 2000, São Carlos, BR). RBRAS. São Carlos, Brasil, UFSCAR. p. 255-258.

Goodwin, S; Steiner, M; Liang, W. 2005. Development of New Fungal Biopesticides for the Australian Greenhouse Industry. Iobc/Wprs Bulletin 28(1): 107-110.

Haddad, M.; Moraes, RCB; Parra, JRP. 1995. Modelos bioestatísticos aplicados à entomologia: manual. Piracicaba, BR, ESALQ/USP. 44 p.

Lima, AMC. 1968. Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil: seus parasitos e predadores. Rio de Janeiro, BR. Parte 2, 622 p.

Lopes, RB; Alves, SB. 2000. Criação e observações preliminares

de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) em feijão-de-porco *Canavalia ensiformis* (L.). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 29(1): 39-47.

Monteiro, RC. 1994. Espécies de trips (Thysanoptera, Thripidae) associadas a algumas culturas no Brasil. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Piracicaba, BR, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. 85 p.

Monteiro, RC. 2000. *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae). In Vilela, E; Zucchi, RA; Cantor, F. eds. Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil. Ribeirão Preto, BR, Holos. 173 p.

Parrella, M; Hansen, LS; Van Lenteren, JC. 1999. Glasshouse environments. In Handbook of biological control. p. 819-839.

Trichilo, PJ; Leigh, TF. 1988. Influence of resource quality on the reproductive fitness of flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). Annals of the Entomological Society of America 81(1): 64-70.

Van Lenteren, JC. 2000. Success in biological control of arthropods by augmentation of natural enemies. In Gurr, G; Wratten, S. ed. Biological control: measures of success. London, UK, Kluwer Academic Publishers. p. 819-839.

Vestergaard, S; Gillespie, AT; Butt, TM; Schreiter, G; Eilenberg, J. 1995. Pathogenicity of the hyphomycete fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. Biocontrol Science and Technology 5(2): 185-192.

Yudin, LS; Cho, JJ; Mitchel, WC. 1986. Host range of western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) with special reference to *Leucaena glauca*. Environmental Entomology 15(6): 1292-1295.



# Incidencia del virus de la mancha anular del papayo y captura de áfidos alados en Tabasco, México

Hipólito Cortez-Madrigal<sup>1</sup>  
Gustavo Mora-Aguilera<sup>2</sup>

**RESUMEN.** Para conocer el desarrollo temporal de la enfermedad Virus mancha anular del papayo (PRSV, por sus siglas en inglés) y su relación con las poblaciones de áfidos, se condujeron muestreos semanales durante 10 meses en una plantación de papayo en Tabasco, México. La incidencia de la enfermedad fue registrada y los áfidos se capturaron mediante trampas amarillas. En todos los casos, las pruebas ELISA confirmaron el diagnóstico de campo del PRSV; el síntoma útil en etapas tempranas fue la presencia de manchas aceitosas en tallo y base de pecíolos. La epidemia fue bien descrita por el modelo logístico ( $R^2 = 0,91$ ,  $p = 0,0001$ ), con una tasa de 0,037 plantas infectadas/día. El inicio de la enfermedad ( $X_0$ ) ocurrió 92 días después de la plantación, con una incidencia de 1,26%. La máxima incidencia acumulada ( $Y_p$ ) fue de 94,9%, registrada 260 días después de la plantación. De 20 especies de áfidos identificados, 11 fueron vectores potenciales del virus: *Aphis spiraeicola* (80,51%), *Pentalonia nigronervosa* (1,67%), *A. gossypii* (1,52%) *A. craccivora* (1,36%), *A. fabae* (1,36%) y *Uroleucon* sp. (0,91) fueron las principales. Aunque no se encontró correlación entre poblaciones de áfidos con la temperatura y precipitación, la mayor captura ocurrió durante la época de menor precipitación (feb-abr). Obtuvimos una correlación ( $r = 0,66$ ,  $p \leq 0,05$ ) desfasada (dos meses previos a la lectura de la epidemia) entre datos mensuales de áfidos y los de la incidencia de la enfermedad.

**Palabras clave:** *Carica papaya*, trampas Moericke, Aphididae, PRSV, caracterización.

**ABSTRACT.** Incidence of *Papaya ringspot virus* and aphid populations in Tabasco, Mexico. To know the temporal development of the *Papaya ringspot virus* disease (PRSV) and its relationship with aphid populations, weekly samplings were conducted during 10 months in a papaya plantation in Tabasco State, Mexico. The disease incidence was temporarily registered and populations of winged aphids were registered using yellow traps. In all cases, ELISA tests confirmed the field diagnosis of PRSV; the most useful symptom in the early stages was the presence of oily stains in the stem and base of the petioles. The epidemic was described by the logistic model ( $R^2 = 0.91$ ,  $p = 0.0001$ ), with a rate of 0.037 infected plants/day. The disease starting time ( $X_0$ ) was 92 days after plantation with an incidence of 1,26%. The higher incidence ( $Y_p$ ) happened 260 days after plantation. Out of 20 species of identified aphids, 12 were potential virus vectors: *Aphis spiraeicola* (80.51%), *Pentalonia nigronervosa* (1.67%), *A. gossypii* (1.52%) *A. craccivora* (1.36%), *A. fabae* (1.36%) and *Uroleucon* sp. (0.91) were the most important. Although we did not found a correlation among populations of aphids vs. temperature and precipitation, the biggest capture happened during the time of smaller precipitation (Feb-Apr). Considering monthly data, an outphased correlation (2 months;  $r = 0.66$ ,  $p \leq 0.05$ ) between aphids and the disease incidence was observed.

**Keywords:** *Carica papaya*, Moericke traps, Aphididae, PRSV, characterization.

## Introducción

Durante 1999 se registró en Tabasco, México, la enfermedad causada por el virus mancha anular del papayo (*Papaya ringspot virus*, PRSV) (Méndez

1999), considerada a nivel mundial como la principal enfermedad del cultivo (Purcifull et ál. 1984, Lima et ál. 2001). El agente causal, clasificado dentro de la familia *Potyviridae*, género *Potyvirus*, manifiesta síntomas

<sup>1</sup> Colegio de Postgraduados (CP), Área de Fitosanidad, Campus Tabasco, km 3.5 Carr. Cárdenas-Huimanguillo, Apdo. Postal 24, Cárdenas, Tabasco, México C.P. 56500. hcortezm@ipn.mx

<sup>2</sup> CP, Instituto de Fitosanidad, km 36.5 carr. México-Texcoco, Montecillo, Edo. De México, México C.P. 56230.

en papayo que incluyen el moteado y clorosis de hojas, manchas aceitosas en pecíolos y parte superior del tronco, distorsión de hojas jóvenes, enanismo de plantas y anillos concéntricos en los frutos. Además de la familia Caricaceae, el PRSV infecta diversas especies de plantas silvestres y cultivadas, ubicadas principalmente en la familia Cucurbitaceae (Purcifull et ál. 1984). En México, la enfermedad puede causar pérdidas hasta del 90%, según la región y el manejo del cultivo (Mora et ál. 1993, De los Santos et ál. 2000, Becerra y Rosas 2001).

El PRSV es transmitido en forma no persistente por más de 21 especies de áfidos, incluyendo *Aphis gossypii* Glover, *A. craccivora* Koch, *A. fabae* Scopoli, *A. nerii* B. de F., *A. spiraecola* (=citricola) Match., *Myzus persicae* (Sulzer), *Toxoptera aurantii* B. de F. y *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Marín 1969, Purcifull et ál. 1984, Lima et ál. 2001); ninguna de esas especies coloniza el papayo (Mora y Teliz 1987, Lima et ál. 2001). *A. spiraecola* ha sido reportado por diversos autores como la especie de mayor captura en trampas de color en regiones tropicales (Cermeli 1970, Villanueva y Peña 1991, Sánchez et ál. 1993, Peña-Martínez et ál. 2001).

Para el manejo del PRSV se han planteado diversas estrategias, entre ellas la eliminación de plantas enfermas, el uso de cultivos barrera, la aplicación de aceites minerales, el manejo de fechas de siembra, y la protección de viveros, entre otras (Marín 1969, Rivas-Valencia et ál. 2000, Becerra y Rosas 2001, Hernández 2001). Sin embargo, antes de decidir por alguna estrategia de manejo, es indispensable conocer el comportamiento de la enfermedad.

A pesar de la importancia del PRSV y los múltiples estudios sobre vectores, caracterización y manejo de la enfermedad, no se han documentado trabajos al respecto para Tabasco, por lo que el objetivo del estudio fue caracterizar el desarrollo temporal de la enfermedad causada por ese virus y su relación con las poblaciones de áfidos alados en el estado de Tabasco, México.

## Materiales y métodos

### Establecimiento y localización

El estudio se localizó en Macayo, 2ª sección del Municipio de Cárdenas, Tabasco, con clima Am(f) W(i), definido como cálido-húmedo-tropical, con lluvia invernal mayor al 10,2% con respecto a la precipitación total anual, con estación seca en primavera-verano y abundantes lluvias en verano

(García 1988). El trabajo se desarrolló de enero a noviembre del 2002, en una plantación de papayo (*Carica papaya* L.) cv. Maradol de 2 meses de edad (siembra 14-15 dic. del 2001). La superficie fue de 1 ha y la distancia de plantación de 2 × 2 m, sin formación de surcos. Las labores culturales fueron de acuerdo a las realizadas por el productor: control de malezas con machete, fertilización y aplicación de fungicidas para el control de enfermedades. Los cultivos colindantes fueron sandía (*Citrullus vulgaris* Schrad), pastos, y plátano (*Musa* sp.). Las malezas predominantes fueron *Parthenium hysterophorus* L., *Euphorbia heterophylla* L., "Malva" *Kosteletzkya depressa* L. y los parientes silvestres de cultivos: jitomate (*Lycopersicon esculentum* L.), papayo (*C. papaya*) y chile silvestre (*Capsicum annum* L.).

### Progreso de la enfermedad

Con excepción de las cuatro hileras de la orilla, 681 plantas de papayo fueron revisadas quincenalmente para identificar aquellas con síntomas de la enfermedad. Para corroborar la presencia de la enfermedad, se tomaron 20 muestras mensuales para realizar pruebas serológicas mediante el procedimiento de inmunosorbencia con enzimas conjugadas (ELISA) (Teliz y Mora 1986). Adicionalmente, se analizaron muestras de la maleza *K. depressa* y de papayo silvestre mediante la prueba ELISA.

Los datos de incidencia absoluta de la enfermedad se transformaron a porcentaje acumulado y no acumulado y se graficaron contra el tiempo. Con base en las curvas de la incidencia acumulada y previa transformación a la proporción de la incidencia, se evaluó el ajuste de la epidemia a los modelos Gompertz y Logístico (Campbell y Madden 1990) mediante el paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc., 1988). Con el mejor modelo se caracterizó el progreso temporal de la enfermedad.

### Incidencia de áfidos alados

Se utilizaron trampas amarillas tipo Moericke con agua. Las trampas fueron fabricadas como lo describe Cortez (2001) y se colocaron sobre soportes metálicos, cuya altura se ajustó a la del dosel del cultivo a medida que las plantas crecían. Se colocó una trampa por cada uno de los cuatro lados de la plantación. Semanalmente, los áfidos capturados se transfirieron a frascos con alcohol al 75% para su posterior identificación y cuantificación. La identificación fue corroborada por la M.Sc. Rebeca Peña Martínez, de la Escuela Nacional de Ciencias

**Cuadro 1.** Ajuste al modelo Logístico y de Gompertz de la enfermedad causada por el Virus mancha anular del papayo en Cárdenas, Tabasco, México (2002)

Modelo	Ecuación	R <sup>2</sup>	Tasa de cambio	CME
Logístico	$\ln[y/(1-y)] = -5,11 + 0,037(t)$	0,91	0,037	0,58
Gompertz	$\ln [1/(1-y)] = -6,69 + 0,084(t)$	0,62	0,084	18,08

Nota: CME = cuadrado medio del error del modelo;  $t$  = tiempo.

Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, México. El análisis se hizo con datos semanales y acumulados quincenal y mensualmente. Los datos se analizaron mediante estadísticas descriptivas y correlación lineal simple entre las poblaciones de áfidos y la incidencia de la enfermedad.

### Datos meteorológicos

Se consideraron datos de temperatura y precipitación. Inicialmente, se colocó un higrómetro electrónico marca HOB0®, pero dado que se dañó durante el estudio, los datos se tomaron de la estación meteorológica del Colegio de Postgraduados, ubicada aproximadamente a 30 km de la plantación.

## Resultados y discusión

### Incidencia del PRSV

#### Sintomatología en el campo

Los resultados de las pruebas ELISA confirmaron en todos los casos el diagnóstico de campo. Los primeros síntomas observables fueron hojas coriáceas, con puntas de folíolos dirigidas hacia arriba; posteriormente, se registraron manchas aceitosas en la base de pecíolos y tallo; también se observaron mosaicos y manchas aceitosas en las hojas. En frutos, se observaron las manchas que dan el nombre común a la enfermedad; sin embargo, el diagnóstico útil en etapas tempranas previo a la floración, que siempre coincidió con los resultados de las pruebas ELISA, fue la presencia de manchas aceitosas en el tallo y la base de los pecíolos, por lo que ese síntoma podría ser un buen indicador para decidir la eliminación temprana de plantas enfermas. Se confirmó la presencia del virus en papaya silvestre *C. papaya*, pero no en la maleza *K. depressa*. En general, los síntomas de campo coincidieron con los mencionados en la descripción original del virus (Purcifull et ál. 1984).

#### Progreso temporal de la enfermedad

La curva linealizada del progreso de la enfermedad PRSV mostró un buen ajuste al modelo logístico ( $R^2 = 0,91$ ,  $p = 0,0001$ ) comparada con el modelo de Gompertz, que mostró un pobre ajuste ( $R^2 = 0,62$ ,  $P = 0,0007$ ). La tasa de cambio con el modelo logístico

fue de 0,037 plantas infectadas/día (Cuadro 1). Al respecto, Mora y Teliz (1987) encontraron un buen ajuste del PRSV al modelo logístico ( $R^2 = 1$ ) en Veracruz, México, con una tasa de cambio de 0,0358 plantas/día. Por otro lado, de 60 epidemias del PRSV estudiadas en el mismo estado mexicano, 28 fueron descritas ( $R^2 = 0,73-0,99$ ) por el modelo de Gompertz, 23 ( $R^2 = 0,94-0,99$ ) por el Logístico y nueve ( $R^2 = 0,95-0,98$ ) por el Monomolecular (Mora et ál. 1996). Por lo anterior, se podría entender que el comportamiento temporal del PRSV depende de factores como las condiciones climáticas, variedad cultivada, fecha y densidad de plantación, protección de vivero y, en general, el manejo del agroecosistema (Marín 1969, Mora et ál. 1993, Rivas-Valencia et ál. 2000, Becerra y Rosas 2001, Hernández 2001). En consecuencia, el ajuste o no a determinado modelo dependerá también de esos factores.

El tiempo de inicio ( $X_0$ ) de la enfermedad fue 92 días después de la plantación (DDP), con una incidencia inicial ( $Y_0$ ) de 1,26%, la que se mantuvo en baja proporción (1,26-9,78%), hasta los 127 DDP; a los 140 DDP, la epidemia se incrementó a 32,3%. A partir de entonces se registraron incrementos del 10% hasta el 29 de junio y parte de julio (197 DDP), mes durante el que se mantuvo en 74%. Aunque la  $Y_0$  se registró el 16 de marzo, el punto de inflexión ocurrió entre el 20 de abril y el 3 de mayo (127-140 DDP). El primero de junio (169 DDP) se registró más del 50% de incidencia acumulada y para fines de julio (225 DDP) nuevamente se observó un incremento a 94%; a finales de agosto (260 DDP) la incidencia al final del estudio ( $Y_f$ ) fue de 94,92% (Figura 1). Mora y Teliz (1987) mencionan que la infección inicial del PRSV en Veracruz ocurrió 5 meses (150 días) después de la plantación, con una  $Y_0$  del 2,3%, mientras que la  $Y_f$  (100%) ocurrió 9 meses (270 días) después del trasplante, resultados consistentes con los obtenidos en el presente estudio.

Si consideramos que el papayo es un cultivo perenne y que los problemas fitosanitarios han reducido su cultivo a menos de 2 años, nuestros resultados muestran la peligrosidad del PRSV cuando no se toman medidas preventivas. El hecho de que los

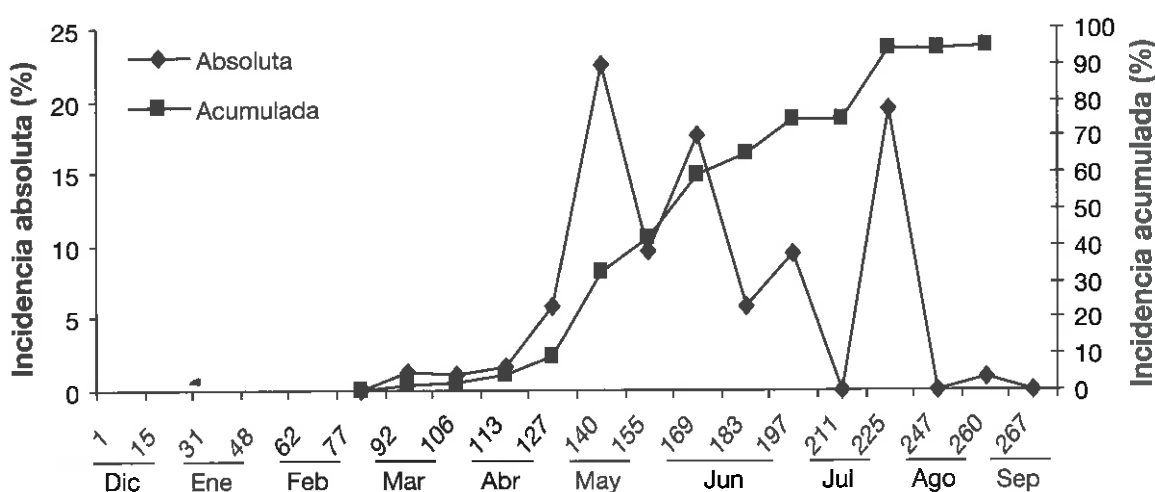


Figura 1. Progreso temporal del virus mancha anular del papayo en Cárdenas, Tabasco (días y meses después de la plantación).

primeros síntomas se hayan presentado en plantas aún sin diferenciación floral y que el 50% de incidencia ocurriera alrededor de los 5 meses de edad (inicio de la fructificación) indica un rápido desarrollo de la enfermedad en relación con la fenología del cultivo en la región de estudio. Al finalizar el estudio, la mayor parte de las plantas mostraron síntomas avanzados de la enfermedad, como reducción y amarillamiento del área foliar (“mano de chango”), reducción de la floración, reducción del tamaño y número de frutos, y muerte de plantas. La región de estudio fue donde se detectó por vez primera el PRSV en Tabasco y es costumbre que los productores abandonen los cultivos en edad avanzada de la enfermedad, con lo que propician una mayor rapidez en el progreso de esta.

En cuanto a la incidencia absoluta (no acumulado) de la enfermedad, se registraron cuatro picos importantes: el primero y mayor (22,54%) a inicios de mayo (140 DDP), el segundo (17,64%) a inicios de junio (169 DDP), el tercero (9,38%) a finales de junio (197 DDP) y el cuarto (19,32%) a finales de julio (225 DDP). Posteriormente, debido al agotamiento de hospederas sanas, fue poca la manifestación de la enfermedad (Figura 1).

#### Número y especies de áfidos identificados

El total de áfidos capturados fue de 657, distribuidos en 20 especies. Las más abundantes fueron *A. spiraecola* (=citricola) (80,51%), *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) (7,45%), *Pentalonia nigronervosa* Coquerel (1,67%), *A. gossypii* (1,52%), *A. craccivora*, *A. fabae* y *A. nasturtii* Kaltembach (1,36% cada uno).

Las demás especies, incluidas *M. persicae*, *A. nerii* y *M. euphorbiae*, se registraron en porcentajes menores al 1% (0,15-0,60%) (Cuadro 2).

El total de especies de áfidos registradas coincide con lo señalado por Peña-Martínez et ál. (2001), en el sentido de que en regiones tropicales la diversidad de especies de áfidos es relativamente baja (30 especies promedio). Asimismo, la densidad poblacional por especies de vectores es similar a la registrada por otros autores, en donde *A. spiraecola* ha sido la especie más capturada en trampas de color en regiones tropicales (Cermeli 1970, Villanueva y Peña 1991, Mora et ál. 1993, Sánchez et ál. 1993, Peña-Martínez et ál. 2001).

#### Fluctuación poblacional de áfidos

Las capturas con trampas amarillas de las principales especies de áfidos vectores revelaron dos picos bien definidos: febrero-marzo (104) y marzo-abril (322), y posteriormente solo se registraron en bajo número (julio, agosto y noviembre). Lo anterior no significa que en este período no existieran poblaciones mayores de vectores, ya que la incidencia de la enfermedad así lo sugiere (Figura 2). Al no ser el cultivo del papayo colonizado por áfidos (Mora y Teliz, 1987, Lima et ál. 2001), pueden ocurrir migraciones cortas dentro del cultivo, situación que no se registró con las trampas de color en los bordes del cultivo

Aunque no se encontró una correlación significativa de las poblaciones de áfidos frente a temperatura y precipitación, gráficamente se observa que las mayores capturas coincidieron con la época de menor precipitación. A medida que se incrementó

**Cuadro 2.** Especies, número y porcentaje relativo de áfidos alados capturados en trampas amarillas tipo Moericke con agua en un cultivo de papayo en Cárdenas, Tabasco, México

Especies	Número	Porcentaje relativo
<i>Aphis spiraecola</i> *	529	80,51
<i>Lipaphis erysimi</i>	49	7,45
<i>Pentalonia nigronervosa</i> **	11	1,67
<i>A. gossypii</i> *	10	1,52
<i>A. nasturtii</i>	9	1,36
<i>A. craccivora</i> *	9	1,36
<i>A. fabae</i> **	9	1,36
<i>Uroleucon</i> sp. **	6	0,91
<i>Macrosiphinum</i> sp.	5	0,76
<i>A. nerii</i> *	4	0,60
<i>Tetraneura nigriabdominalis</i>	4	0,60
<i>Macrosiphum euphorbiae</i> *	3	0,45
<i>Tinocallis kahahuoluokalani</i>	2	0,30
<i>Cerataphis</i> sp.	1	0,15
<i>Myzus persicae</i> *	1	0,15
<i>Geopemphigus</i> sp.	1	0,15
<i>Rhopalosiphum maidis</i> **	1	0,15
<i>A. helianthi</i>	1	0,15
<i>Toxoptera aurantii</i> **	1	0,15
<i>Capitophorus</i> sp.	1	0,15
<b>Total</b>	<b>657</b>	<b>100</b>

Notas: \*/ Principales especies vectores del PRSV; \*\*/ especies vectores potenciales.

dicha variable, las capturas de áfidos se redujeron significativamente (Figura 2). Otras investigaciones indican que las mayores capturas de áfidos en los trópicos se registran en invierno y las más bajas en verano (Mora y Teliz 1987, Teliz et ál. 1991). Al respecto, se sabe que una de las causas que propician el vuelo de áfidos es la escasez o deterioro del alimento (Entwistle 1972, Kring 1972, Peña-Martínez et ál. 2001), por lo que la mayor cantidad de áfidos recolectados en ese período puede explicarse por la escasez de hospederos más que por el efecto directo sobre los áfidos, situación que ha sido señalada también para otras regiones del mundo (Marín 1969, Thomas y Goldwin 1983).

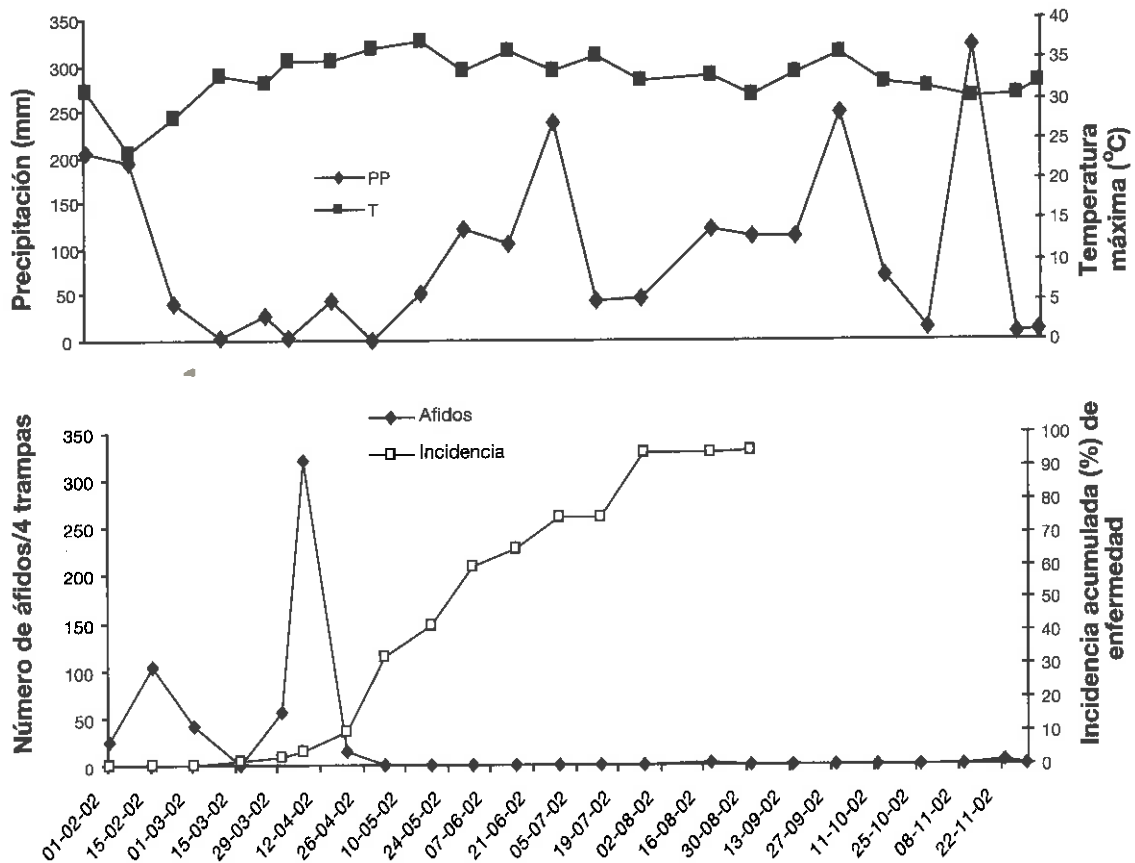
Conocer las épocas de migración de los áfidos vectores es de fundamental importancia en el manejo integrado de enfermedades virales. Por ejemplo, en Veracruz, México, con base en el conocimiento de las especies de áfidos y épocas de vuelo se ha propuesto redefinir las fechas de establecimiento de viveros o, en todo caso, protegerlos con malla antiáfidos (Hernández 2001). En Tabasco es común encontrar viveros de papayo sin protección contra insectos, lo que aunado al desconocimiento de las especies y épocas de vuelo

de los vectores favorece la infección de plantas antes del transplante.

#### Relación de las poblaciones de áfidos con el PRSV

En forma gráfica no se apreció correlación entre las poblaciones de áfidos vectores y la incidencia de la enfermedad (Figura 2); sin embargo, cuando los datos se acumularon mensualmente, el análisis estadístico reveló una correlación desfasada ( $r = 0,66$ ,  $p \leq 0,05$ ) entre las poblaciones de áfidos de dos meses previos a la lectura de la enfermedad, lo que significa que los síntomas aparecieron dos meses después de la detección de los áfidos. El máximo porcentaje (94,9%) de incidencia acumulada ( $Y_p$ ) se registró en agosto, cuatro meses posteriores al máximo pico de áfidos (abril) (Figura 2), lo que coincide con observaciones hechas por Mora y Teliz (1987) en Veracruz.

Aunque se menciona que el período de incubación del virus es de cuatro semanas (Cárdenas y Teliz 1994), en condiciones de campo la situación puede cambiar, tal como ocurrió en el presente estudio. La correlación desfasada de dos meses entre las poblaciones de áfidos y la incidencia de enfermedad podría explicarse por



**Figura 2.** Fluctuación poblacional de áfidos alados, incidencia del PRSV, y su relación con los factores climáticos en un cultivo de papayo de la región de Cárdenas, Tabasco, México.

las altas temperaturas (>30 °C) registradas durante el período de estudio, y ya ha sido señalado que ese factor puede retrasar la manifestación de los síntomas (Marín 1969, De los Santos 2000).

Existe controversia sobre la importancia relativa de las especies de áfidos como vectores del PRSV; por ejemplo, Villanueva y Villanueva (1994) no obtuvieron transmisión del virus con *P. nigronervosa* en Veracruz, mientras que Wall (2000) sí la obtuvo en Hawai. De igual modo, *A. spiraecola* ha sido reconocido como vector importante del PRSV (Purcifull et ál. 1984), mientras que Mora et ál. (1993) encontraron de poca importancia a dicha especie en la predicción de la enfermedad, donde las principales especies fueron *A. nerii* y *A. gossypii*, no obstante sus menores capturas.

Las especies *P. nigronervosa*, *T. aurantii*, *A. fabae* y *Uroleucon* sp., no consideradas en México como vectores importantes del PRSV (Villanueva y Peña 1991, Mora et ál. 1993, Rivas-Valencia et ál. 2000), han demostrado en otros países su capacidad de transmitir el virus (Marín 1969, Wall 2000). Saber que esas especies son abundantes en la región de estudio motiva

a plantear trabajos futuros sobre su importancia como vectores del PRSV en Tabasco.

Como estudio pionero en Tabasco, los resultados encontrados aportan nuevos conocimientos sobre el PRSV y sus insectos vectores en las condiciones de Tabasco y proporcionan elementos importantes para el manejo de la enfermedad.

### Agradecimientos

A la M.C. Rebeca Peña Martínez de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas por el apoyo brindado en la identificación de los áfidos. A la Fundación PRODUCE-Tabasco por el apoyo económico para la realización del presente estudio.

### Literatura citada

- Becerra L, NE; Rosas, GX. 2001. Enfermedades del cultivo del Papayo. In Curso Internacional de Actualización Frutícola. Aspectos Fitosanitarios en la Fruticultura (14, Tonatico, Estado de México). Memorias. México, CONACYT. p. 148-161.
- Campbell, CL; Madden, LV. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. Nueva York, US, John Wiley & Sons. p. 115-122.

- Cárdenas S, E; Teliz O, D. 1994. Caracterización de aislamientos del virus mancha anular del papayo. *Agrociencia, Serie Protección Vegetal* 5(1): 103-113.
- Cermeli L, M. 1970. Notas preliminares sobre la fluctuación de áfidos en Cagua, estado de Aragua, Venezuela. *Agronomía Tropical* 20(5): 311-321.
- Cortez M, H. 2001. Selección de aislamientos del hongo *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas, para el manejo del pulgón negro del cacao *Toxoptera aurantii* Boyer en Tabasco, México. Tesis de Doctorado en Ciencias. Montecillo, Texcoco, Estado de México, MX, Colegio de Postgraduados. 128 p.
- De los Santos De la R, F; Becerra L, EN; Mosqueda V, R; Vásquez H, A; Vargas G, AB. 2000. Manual de producción de papaya en el Estado de Veracruz. Veracruz, MX, INIFAP. 87 p.
- Entwistle, PF. 1972. Pest of cocoa. *Tropical Science Series*. Longman. 779 p.
- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). México, Instituto de Geografía, UNAM. 98 p.
- Hernández, CE. 2001. Aporte de los componentes al manejo integrado del cultivo de papayo y su transferencia en la zona central de Veracruz. Tesis de Doctorado en Ciencias. Tepetates, Veracruz, MX, Colegio de Postgraduados-Campus Veracruz. 137 p.
- Kring, JB. 1972. Flight behavior of aphids *Ann. Rev. Entomol.* 461-492.
- Lima A, RC; Lima A, JA; Souza Jr T, M; Pio-Riveiro, G; Andrade, P. 2001. Etiología e estrategias de controle de viroses do mamoeiro no Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 26(4): 689-702.
- Marín A, JC. 1969. Consideraciones sobre insectos vectores Aphididae y la "deformación foliar" (distortion ringspot virus) de *Carica papaya* en el Limón, estado Aragua, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía* 3: 77-108.
- Méndez, MR. 1999. Incidencia y distribución del Virus Mancha Anular del Papayo en Tabasco. Tesis de licenciatura. Teapa, Tabasco, MX, Universidad Autónoma de Chapingo. 41 p.
- Mora, G; Teliz, D. 1987. Incidencia de la mancha anular del papayo en Veracruz. *In Congreso Nacional de Fitopatología* (14, Morelia, Michoacán, México). Memorias. p. 10.
- Mora-Aguilera, G; Nieto-Angel, D; Teliz, D; Campbell, CL. 1993. Development of a prediction model for papaya ringspot in Veracruz, Mexico. *Plant Disease* 77(12):1205-1211.
- Mora-Aguilera, G; Nieto-Angel, D; Campbell, CL; Teliz O, D; García, E. 1996. Multivariate Comparison of papaya ringspot epidemics. *Phytopathology* 86(1): 70-78.
- Peña-Martínez, R; Lomelí F, JR; Trejo L, AG; Villegas J, N. 2001. Monitoreo de áfidos y afidófagos de importancia agrícola. Distrito Federal, MX, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. 89 p.
- Purcifull, DE; Edwardson, JR; Hiebert; E; Gonsalves, D. 1984. Papaya ring spot virus. CMI/AAB. *Descriptions of Plant Viruses* N° 292.
- Rivas-Valencia, P; Mora-Aguilera, G; Teliz-Ortiz, D; Acosta-Zamudio, C; Mora-Aguilera, A. 2000. Respuesta de cuatro variedades de papayo bajo un sistema de manejo integrado. *In Congreso Nacional De la Sociedad Mexicana de Fitopatología* (27, Puerto Vallarta, Jalisco, México). Memorias. p. 64.
- Sanchez M., C.; Cermeli, M.; Diaz, D.; Romero, R. 1993. Afidos (Homoptera: Aphididae) capturados en trampas amarillas con agua en los campos de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. de Maracay en 1988 Y 1989. *Agronomía Tropical* 43(5-6):217-226.
- SAS Institute Inc. 1988. SAS/STAT User's Guide. Release 6.03 ed. Cary, NC, USA. 1028 p.
- Teliz O, D; Mora A, G. 1986. Inmunosorbencia con enzimas conjugadas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 4: 133-141.
- Teliz, D; Mora, G; Nieto, D; Gonsalves, D; García, E; Matheis, L; Ávila, C. 1991. La mancha anular del papayo en México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 9(1): 64-68.
- Thomas, GG; Goldwin, GK. 1983. Association between weather factors and the spring migration of the damson-hop aphid, *Phorodon humuli*. *Annals of Applied Biology* 102: 7-17.
- Villanueva J, JA; Peña M, R. 1991. Áfidos (Homoptera: Aphididae) colectados en "Trampas amarillas con agua" en la planicie costera de Veracruz, México. *Agrociencia, Serie Protección Vegetal* 2(1):7-20.
- Villanueva B, J; Villanueva J, JA. 1994. Transmisibilidad del Virus de la Mancha Anular del Papayo (VMAP) entre hospedantes, por medio de áfidos (Homoptera: Aphididae). *In Congreso Nacional de Entomología, SME* (29, Oaxaca, México). Memorias. p. 142-143.
- Wall, CG. 2000. Papaya Ringspot Virus. *Agricultural Pests of the Pacific*. Hawaii, US, University of Guam. 48 p.

# Flutuação populacional do predador *Scymnus* sp. associada a *Triozoida* sp. em goiabeira

Wilson Carlos Pazini<sup>1</sup>  
Júlio César Galli<sup>2</sup>  
Carlos Alexandre Colombi<sup>2</sup>

**RESUMEN.** Fluctuación poblacional de *Scymnus* sp. asociada a *Triozoida* sp. en guayaba. El aumento de la tecnología empleada en el agroecosistema de la guayaba en Brasil llevó a un incremento poblacional de *Triozoida* sp., que se convirtió en la principal plaga. Así, los productores comenzaron a hacer fumigaciones excesivas, sin considerar la existencia de enemigos naturales. El objetivo de esta investigación fue verificar la dinámica poblacional del enemigo natural *Scymnus* sp. asociada a *Triozoida* sp., con el fin de utilizarlo en un programa de MIP. El trabajo fue realizado durante dos temporadas agrícolas (2003 y 2004), en plantas que no recibieron aplicaciones de insecticidas, en un huerto comercial. La fluctuación poblacional de *Scymnus* sp. presentó una correlación positiva con la de *Triozoida* sp., indicando que *Scymnus* es una importante fuente de alimento. *Triozoida* sp. presentó picos poblacionales en diferentes épocas del año en los dos años estudiados y no hubo correlación significativa con los factores climáticos, poniendo de manifiesto la necesidad de un constante monitoreo del psílido en la implantación de un programa de manejo integrado en el cultivo de guayaba.

**Palabras clave:** Coleoptera, Coccinellidae, Psyllidae, control biológico, monitoreo.

**ABSTRACT.** Population fluctuation of *Scymnus* sp. associated with *Triozoida* sp. in guava. The increased use of technology in guava orchards in Brazil has led to a growth in *Triozoida* sp. populations, which has become the main pest attacking this crop. Producers have started to carry out excessive fumigations, without considering the existence of natural enemies. The goal of our research was to describe fluctuations in *Scymnus* sp. populations associated to the presence of *Triozoida* sp. The experiment took place during two agricultural seasons, in plants without pesticide applications in a commercial orchard. The population fluctuation of *Scymnus* sp. showed a positive correlation to *Triozoida* sp., indicating that the Psyllidae is an important source of food. *Triozoida* sp. showed population peaks at different times during the year, which did not have a significant connection to climatic factors.

**Key words:** Coleoptera, Coccinellidae, Psyllidae, biological control, monitoring.

## Introdução

O Brasil é o maior produtor mundial de goiaba (Coelho *et al.* 2002). A estimativa atualizada da área plantada de goiabeira baseia-se nos levantamentos do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) e indica uma área de 14.024 ha em 2000. São Paulo e Pernambuco são os principais Estados produtores, mas a cultura também é explorada de forma expressiva nos Estados de Goiás e Rio Grande do Sul. A produção

brasileira em 2000 foi de 352.840 toneladas (Agrianual 2003).

Para se atingir metas crescentes de produtividade, os produtores têm irrigado a área e realizado podas contínuas, que resultaram em aumento e regularidade na produção. Essa mudança levou a um incremento considerável da população do psílido *Triozoida* sp. (Hemiptera: Psyllidae), tornando-o a principal praga da goiabeira, no Estado de São Paulo

<sup>1</sup>Centro de Manejo Integrado de Pragas - CEMIP/FCAV/UNESP, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n, CEP 14.884-900. Jaboticabal, SP - Brasil. wpazini@fcav.unesp.br

<sup>2</sup>Departamento de Fitossanidade da FCAV/UNESP, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n, CEP 14.884-900. Jaboticabal, SP - Brasil. jcgalli@fcav.unesp.br



(Gavioli & Takakura 2001). Barbosa *et al.* (1999), Silva (2000) e Barbosa *et al.* (2001) consideram o psilídeo como a principal praga da goiabeira em Pernambuco, por causar redução da área foliar, impedindo o desenvolvimento das brotações e, conseqüentemente, comprometendo a produção. A presença de *Triozoida* sp., em goiabeira, também foi relatada nos Estados do Maranhão e Paraná (Lemos *et al.* 2000, Menezes Júnior & Pasini 2000).

As ninfas do *Triozoida* sp. sugam a seiva nas bordas das folhas que, devido às toxinas que são injetadas, enrolam-se e deformam-se, adquirindo uma coloração amarelada, depois necrosam e acabam caindo.

Os produtores começaram a fazer pulverizações com inseticidas de amplo espectro, num reduzido espaço de tempo, com o intuito de proteger os brotos recém-emergidos do ataque da praga. Assim, desconsideraram a existência de inimigos naturais na cultura que poderiam exercer o controle biológico, principalmente os predadores.

As joaninhas da família Coccinellidae (Coleóptera) são, reconhecidamente, importantes inimigos naturais de psilídeos (Fraga *et al.* 1986, Charnnarong & Prapan 1997, Michaud 2001, Villacarlos & Robin 1994). Na Califórnia foram introduzidas seis espécies de inimigos naturais para o controle biológico do psilídeo das acácias *Acizzia uncatoides* (Ferris and Klyver) (Hemiptera: Psyllidae), sendo que o coccinélídeo *Diomus pumilio*, Weise, destacou-se por estabelecer populações com sucesso na região (Dreistadt & Hagen 1994).

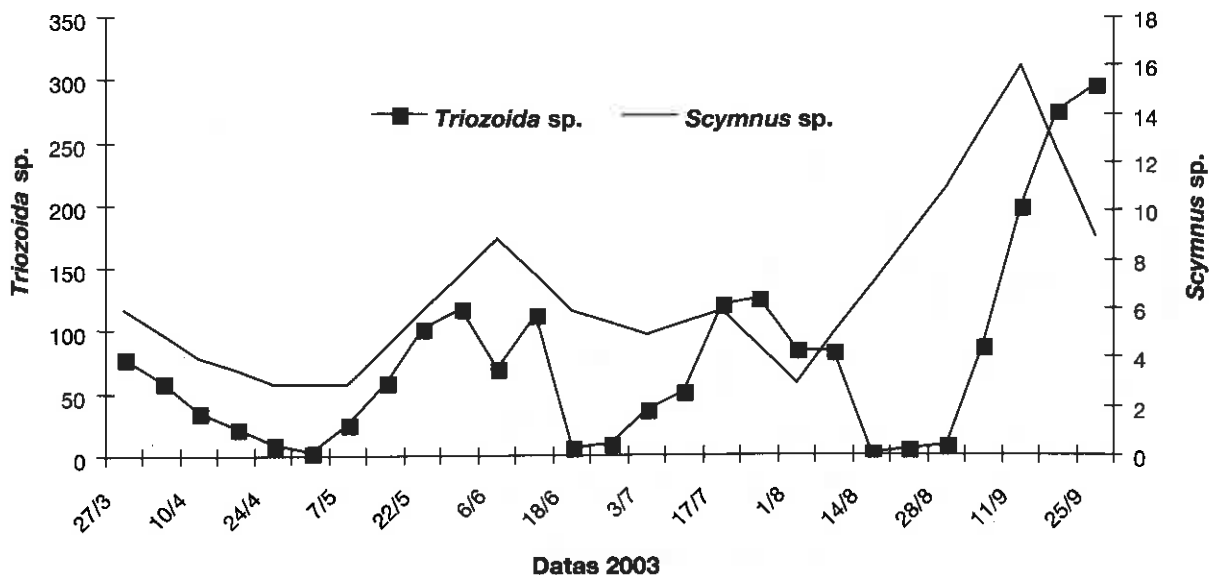
O objetivo da pesquisa foi de verificar a flutuação populacional de Coccinellidae associada a *Triozoida* sp., que atualmente é considerada a principal praga da goiabeira no Brasil.

### Material e métodos

O trabalho foi conduzido no município de Vista Alegre do Alto-SP, utilizando goiabeira a cultivar Paluma, com sete anos de idade. O espaçamento utilizado foi de sete metros entre linhas e 4 m entre plantas. Os tratos culturais foram realizados conforme o padrão usual da região. O trabalho foi conduzido durante as safras 2003 e 2004, em plantas que não receberam aplicação de inseticidas num pomar comercial, com aproximadamente 1.800 plantas.

A população de *Scymnus* sp. foi monitorada através de utilização de armadilha adesiva amarela dupla face, com medidas de 25 cm de comprimento por 9,5 cm de largura, colocadas no interior de quatro plantas, distribuídas aleatoriamente. As AAA ficavam instaladas durante 14 dias.

As ninfas do *Triozoida* sp. foram monitoradas semanalmente retirando-se dez folhas por planta, em quatro plantas distribuídas aleatoriamente no pomar. Cada folha foi retirada dos dois últimos pares de folhas dos ramos mais novos, localizados no terço superior da copa, (Jacomino *et al.* 2002). Essas folhas foram acondicionadas em sacos de papel e levadas ao Centro de Manejo Integrado de Pragas (CEMIP) e ao Laboratório de Seletividade Ecológica do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da UNESP,



**Figura 1.** Flutuação populacional de *Scymnus* sp. (número de espécimes em quatro armadilhas) e de *Triozoida* sp. (número médio de ninfas em dez folhas) em pomar de goiaba. Vista Alegre do Alto-SP, 2003.

onde com o auxílio de um estereoscópio foram contadas as ninfas vivas.

A precipitação pluviométrica foi registrada diariamente na propriedade onde se instalou a pesquisa e acumulada semanalmente para estudo das correlações. As temperaturas mínima e média semanal foram definidas através dos dados fornecidos pela Estação Agroclimatológica do Departamento de Ciências Exatas da FCAV, Câmpus de Jaboticabal-SP, que dista 30 quilômetros do local da pesquisa. Para fins de análise estatística os dados obtidos foram submetidos a análise de correlação linear simples.

### Resultados e discussão

As densidades populacionais mais altas de *Scymnus* sp. em 2003 (Fig. 1) ocorreram nos dias 06/06 e 11/09 com 9 e 16 adultos capturados nas quatro armadilhas em 14 dias, respectivamente. Em 2004 (Fig. 2) o pico populacional de *Scymnus* sp. foi constatado no dia 18/05 com 17 joaninhas sendo capturadas nas quatro armadilhas em 14 dias.

A *Scymnus* sp. se destacou, entre os coccinelídeos capturados, por ser a espécie de joaninha mais abundantemente encontrada e por estar presente em todas as avaliações. Estes resultados se assemelham aos relatados por Prajulee & Slosser (2003) que instalaram armadilha adesiva amarela na cultura de algodão no Estado do Texas, para monitorar pragas e inimigos naturais.

A flutuação populacional do *Triozoida* sp. apresentou dois picos populacionais em 2003, sendo

o primeiro em 12/06 com uma média de 113,3 ninfas em dez folhas e o segundo em 25/09 com uma média de 295,0 ninfas em dez folhas (Fig. 1). Já em 2004, o psilídeo apresentou apenas um pico populacional em 20/04 com uma média de 112,5 ninfas em dez folhas (Fig. 2).

A densidade populacional de *Scymnus* sp. demonstrou estar associada com a densidade populacional de *Triozoida* sp. nos dois anos pesquisados, pois apresentou coeficientes de correlação linear simples significativa positiva (Quadro 1). Mas, as correlações entre os fatores meteorológicos (precipitação acumulada semanal, temperatura mínima semanal e temperatura média semanal) e a densidade populacional de *Scymnus* sp. apresentaram coeficientes de correlações não significativos, indicando que não há correlação entres os fatores estudados (Quadro 1). Diferente dos resultados encontrados no país de clima temperado onde Al-Marroof (1990) estudou durante 1985 e 1986, em plantação florestal, a flutuação de *Scymnus* sp. predadora do psilídeo *Camarotoscena speciosa* Flor., que é uma praga importante por atacar a árvore do álamo, em Mosul. Naquelas condições, o autor verificou que houve correlação significativa positiva entre *Scymnus* sp. e a temperatura, e correlação negativa com a umidade.

A densidade populacional do *Triozoida* sp. não foi afetada pela temperatura mínima semanal, pois não ocorreram correlações significativas. Entretanto, presumia-se que a baixa temperatura poderia levar a uma redução significativa na

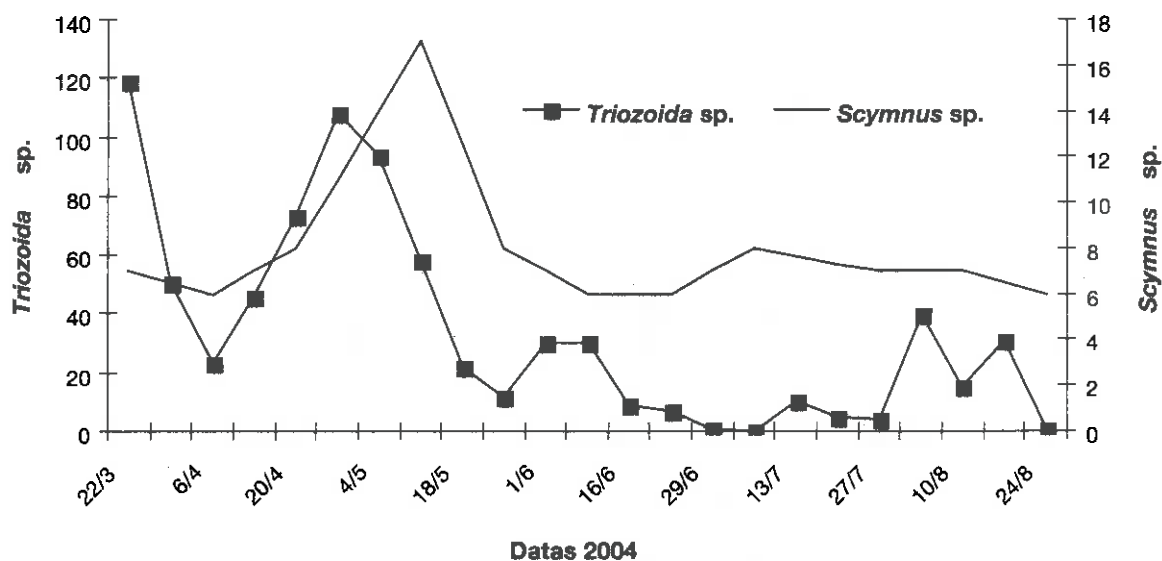


Figura 2. Flutuação populacional de *Scymnus* sp. (número de espécimes em quatro armadilhas) e de *Triozoida* sp. (número médio de ninfas em dez folhas) em pomar de goiaba. Vista Alegre do Alto-SP, 2004.

**Quadro 1.** Coeficientes de correlações lineares simples calculados entre *Scymnus* sp., *Triozoida* sp. e fatores meteorológicos (precipitação acumulada semanal, temperatura mínima semanal e temperatura média semanal). Vista Alegre de Alto-SP, 2003 e 2004

	Coeficiente de correlação	
	2003	2004
<i>Scymnus</i> sp. x <i>Triozoida</i> sp.	0,5151**	0,4254*
<i>Scymnus</i> sp. x precipitação	- 0,2795 <sup>ns</sup>	0,3118 <sup>ns</sup>
<i>Scymnus</i> sp. x temperatura mínima	- 0,2756 <sup>ns</sup>	- 0,0022 <sup>ns</sup>
<i>Scymnus</i> sp. x temperatura média	- 0,0132 <sup>ns</sup>	0,3117 <sup>ns</sup>
<i>Triozoida</i> sp. x precipitação	- 0,1508 <sup>ns</sup>	0,1328 <sup>ns</sup>
<i>Triozoida</i> sp. x temperatura mínima	- 0,0373 <sup>ns</sup>	0,3141 <sup>ns</sup>
<i>Triozoida</i> sp. x temperatura média	0,1542 <sup>ns</sup>	0,1945 <sup>ns</sup>

\*\*Significativo a 1% de probabilidade.

\*Significativo a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup>Não Significativo.

população. A precipitação pluviométrica também não afetou a densidade populacional da praga, pois não foram constatadas correlações significativas, quando se esperava que o excesso de precipitação num curto período pudesse afetar de forma negativa sua população. No entanto, Al-Marroof (1990) obteve resultados diferentes com as populações de ninfas do psilídeo *C. speciosa*, e as correlações significativas positiva para a temperatura e negativa para umidade relativa do ar.

O fato da flutuação populacional de *Scymnus* sp. estar diretamente associada com a flutuação populacional do *Triozoida* sp. sugere que o psilídeo é uma importante fonte de alimento da joaninha dentro do agroecossistema da goiabeira.

Como a flutuação populacional do *Triozoida* sp. apresentou picos populacionais em diferentes épocas, nos dois anos estudados, e não havendo correlação significativa com os fatores meteorológicos, ressalta-se a necessidade de monitoramento constante de suas ninfas.

### Literatura citada

- Agrianual. 2003. Anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP - Consultoria e Comércio. p. 365-360.
- Al-Moroof, IN. 1990. Ecological studies on popular leaf psyllid *Camarotoscena speciosa* flor. (Homoptera: Psyllidae) in Mosul. Arab Jour. Plant Prot. 8 (1):16-20.
- Barbosa, FR; Santos, AP; Haji, AT; Moreira, WA; Haji, FNP; Alencar, JA. 1999. Eficiência e seletividade do imidacloprid e lambdacyhalothrin no controle do psilídeo (*Triozoida* sp.), em goiabeira. Rev. Bras. Frutic. 21 (3):385-387.
- Barbosa, FR; Souza, EA; Siqueira, KMM; Moreira, WA; Alencar, JR; Haji, FNP. 2001. Eficiência e seletividade de inseticidas no controle do psilídeo (*Triozoida* sp.) em goiabeira. Pesticidas: Rev. Ecotoxicol. e Meio Amb. 11:45-52.
- Charnnarong, D; Prapan, O. 1997. Biological control of leucaena psyllid, *Heteropsylla cubana* crawford (Homoptera: Psyllidae) in the Northern Region of Thailand. Journ. Agric. Res. Ext. 15 (1):1-15.
- Coelho, MVS; Mendes, AP; Marques, ASA. 2002. Seca dos ponteiros da goiabeira causada por *Erwinia psidii*: levantamento e caracterização. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 8p. (Comunicado Técnico Nº 59).
- Dreistadt, SH; Hagen, KS. 1994. Classical biological control of the acacia psyllid, *Acizzia uncatoides* (Homoptera: Psyllidae), and predator-prey-plant interactions in the San Francisco Bay area. Biol. Control. 4(4):319-327.
- Fraga, AIA; Berti Filho, E; Ciociola, AI. 1986. Nota sobre a ocorrência de *Eupalea reinhardti* Crotch. (Coleoptera, Coccinellidae) atacando *Psylla* sp. (Homoptera, Psyllidae) em sibipiruna (*Caesalpinia peltophoroides* Benth.). Rev. Agric. 61(1):92.
- Gavioli, VO; Takakura, V. 2001. Goiaba oferece vantagens nutricionais e econômicas. CooperCitrus 16(182):18-21.
- Jacomino, AP; Piza Jr, CT; Murakami, JY; Baldin, JC; Fiorani, LA; Kumagai, LY; Conti, LH; Oliveira, MER; Mori, M. Souza FILHO, MF; Kavati, R; Araújo, VB. 2002. Manejo integrado de pragas na cultura da goiaba: Apostila 3ª versão. CATI. 11 p.
- Lemos, RNS; Araújo, JRG; Silva, EA; Salles, JRI. 2000. Ocorrência e danos causados por *Triozoida* sp. (Homoptera: Psyllidae) em goiabeiras no município de Itapecuru-Mirim-MA. Pesq. Foco. 8:165-168.
- Menezes Júnior, AO; Pasini, A. 2000. Parasitóides (Hymenoptera: Chalcidoidea) associados a *Triozoida* sp (Enderlein) (Homoptera: Psyllidae) sobre goiabeira, *Psidium guajava* L. (Myrtaceae), na região norte do Paraná. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 7., 2000, Poços de Caldas. Anais... Poços de Caldas: UFLA, p. 344.
- Michaud, JP. 2001. Numerical response of *Olla V-Nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae) to infestations of Asian citrus psyllid, (Homoptera: Psyllidae) in Florida. Florida Entomol. 84(4):608-612.
- Parajulee, MN; Slosser, JE. 2003. Potential of yellow sticky traps for lady beetle survey in cotton. Jour. Econ. Entomol. 96(1):239-245.
- Silva, DAM. 2000. Goiabeira (*Psidium guajava*): cultivo sob condições irrigada. 2. ed. Recife: SEBRAE - PE. 40 p. (Agricultura Nº 6).
- Villacarlos, LT; Robin, NM. 1994. Biology and potential of *Curinus coeruleus* Mulsant, an introduced predator of *Heteropsylla cubana* Crawford. Philippine Entomol. 8(6):1247-1258.

# **Melon necrotic spot virus (MNSV): nuevo virus en el cultivo de melón en Panamá**

J. A. Herrera-Vásquez<sup>1</sup>  
M. C. Córdoba-Sellés<sup>1</sup>  
M. C. Cebrián<sup>1</sup>  
C. Jordá<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Recientemente se detectó en Panamá una nueva enfermedad en el melón causada por la infección de un *Carmovirus*, el virus de las manchas necróticas del melón (*Melon necrotic spot virus*, MNSV). En abril de 2005 y enero de 2006, se detectaron en campos comerciales plantas de melón con estrías necróticas en cuello y tallo y, menos frecuentemente, manchas necróticas en las hojas. En algunos casos, se observó marchitez y muerte de las plantas. La distribución de la enfermedad se ha estudiado en campos de melón de las provincias de Coclé y Los Santos, en la región central y sureste de Panamá, respectivamente. En el 91,6% de las muestras de suelo analizadas, procedentes de los campos de melón de estas provincias, se detectó la presencia de *Olpidium bornovanus*, hongo vector del MNSV. La identificación del virus se llevó a cabo mediante serología (DAS-ELISA), y los resultados obtenidos fueron confirmados mediante RT-PCR y posterior secuenciación. Las secuencias nucleotídicas obtenidas (GenBank accession DQ443546 y DQ443547) fueron comparadas con otras secuencias publicadas en el NCBI GenBank. El presente es el primer estudio sobre la distribución del MNSV en Panamá.

**Palabras clave:** *Cucumis melo*, *Carmovirus*, ELISA, RT-PCR, *Olpidium bornovanus*.

**ABSTRACT.** *Melon necrotic spot virus (MNSV): A new virus in melon crop in Panama.* A new melon disease has been recently detected in melon in Panama, caused by the *Carmovirus Melon necrotic spot virus (MNSV)*. During April 2005 and January 2006, several melon plants in commercial fields showed stem necrosis at the crown level and, less frequently, necrotic spots on leaves. In some cases, wilting and plant death were observed. The disease distribution has been reported in melon fields in Coclé and Los Santos provinces, in the Central and Southeast regions of Panama, respectively. Moreover, 91.6% of the soil samples analysed from fields of these provinces showed the presence of the fungus *Olpidium bornovanus*, the vector of MNSV. The identification of MNSV was carried out by serology (DAS-ELISA) and the results were confirmed by RT-PCR. In order to establish the authenticity of this virus, RT-PCR products were purified and directly sequenced. These sequences (GenBank accession DQ443546 and DQ443547) were compared with other sequences published in the NCBI GenBank. This is the first report of the MNSV distribution in Panama.

**Keywords:** *Cucumis melo*, *Carmovirus*, ELISA, RT-PCR, *Olpidium bornovanus*.

## **Introducción**

El melón (*Cucumis melo* L.) representa un importante cultivo en Panamá, con una extensión de 1449 ha cultivadas en 2005, pertenecientes a la provincia de Los Santos, en la región sureste de Panamá, que representa el 63,5% de la superficie total del país

(MIDA 2005). Otras importantes áreas productoras de melón de exportación en Panamá se concentran en las provincias de Coclé y Herrera, en la región central y sureste del país, respectivamente.

Las pérdidas directas por rechazo de la fruta para su venta en el mercado exterior ascienden al 16%

<sup>1</sup> Grupo de Virología-Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, España. joshervs@doctor.upv.es, mcorssel@eaf.upv.es, macebmi@ibmcp.upv.es, analfer1@etsia.upv.es, mjordag@eaf.upv.es



**Figura 1.** Sintomatología del MNSV en melón. (A) Estrías necróticas en tallo de planta de melón de campo. (B) Manchas necróticas en hojas cotiledonares de melón.

pero, además, existen otras pérdidas indirectas debido a la fruta que queda en el campo sin recolectar y que se estima en el 24%. Uno de los principales factores de rechazo es el daño ocasionado por enfermedades virales (MIDA 1998).

En Panamá, los primeros síntomas de la enfermedad causada por el *Melon necrotic spot virus* (MNSV; Figura 1) se observaron en el año 2005, en campos de melón del área de Los Santos. Las plantas presentaban estrías necróticas en cuello y tallo y, en ocasiones, manchas necróticas en las hojas. En algunos casos, se observó marchitez y muerte de las plantas. En el año 2006 se identificó al agente causal de ésta sintomatología (Herrera et ál. 2006).

El MNSV es un patógeno común en melón, pepino y sandía en cultivo protegido (Tomlinson y Thomas 1986), pero también ha sido relacionado con problemas aparecidos en cultivo al aire libre (Hibi y Furuki 1985, Avgelis 1989, Jordá et ál. 2005). El MNSV, una de las especies pertenecientes al género *Carmovirus* dentro de la familia *Tombusviridae* (Riviere y Rochon 1990), está constituido de RNA monocatenario de polaridad positiva [(+) ssRNA], unipartito y linear, y se presenta al microscopio electrónico en forma de partículas isométricas de ~30 nm de diámetro (Riviere y Rochon 1990).

Este virus ha sido citado en América, Japón, y Europa (Brunt et ál. 1996, Herrera-Vásquez et ál. 2007), y recientemente en Túnez (Yakoubi et ál. 2007) y China (Gu et ál. 2007).

Esta enfermedad fue asociada únicamente a cultivos protegidos y posteriormente comenzó a detectarse también al aire libre; desde entonces, se ha

extendido considerablemente, llegando a constituir un factor limitante para la producción de melón si se presentan condiciones ambientales favorables para su desarrollo (Juárez et ál. 1994).

Los hospedantes naturales del MNSV están restringidos a especies de la familia Cucurbitaceae (Gonzalez-Garza et ál. 1979). Este virus es transmitido de forma natural por semilla en melón (Gonzalez-Garza et ál. 1979) y por el hongo chitridial *Ospidium bornovanus* (Sahtiyanci) Karling (Campbell et ál. 1996). Experimentalmente es fácilmente transmisible de forma mecánica, estando citada en Francia la transmisión mecánica durante la poda y por contacto entre hojas (Blancard et ál. 1991). El MNSV sobrevive en las esporas de resistencia de *O. bornovanus* durante años; por lo tanto, sin excluir la transmisión por semilla, el inóculo del hongo que queda en el suelo podría ser la causa de la ineficacia de las desinfecciones para luchar contra la virosis (Gómez et ál. 1993). La transmisión por semilla puede proporcionar un mecanismo para mantener el virus, probablemente por varios años, además de transportarlo a largas distancias independientemente del vector (Campbell 1996, Campbell et ál. 1996).

En el presente trabajo se plantearon los siguientes objetivos: (i) identificar el agente causal de la sintomatología observada inicialmente en 2005 en cultivos de melón de la provincia de Los Santos; (ii) determinar la distribución del MNSV en las principales áreas productoras de melón de exportación en Panamá; y (iii) determinar la presencia y distribución del hongo vector del virus.

## Materiales y métodos

### Muestras de melón: localización geográfica del estudio

En abril de 2005 y enero de 2006 se realizaron prospecciones en campos de melón de exportación de las provincias de Los Santos, Coclé y Herrera (Panamá) (Figura 2; Cuadro 1).

Los campos prospectados se georreferenciaron con un Sistema de Posicionamiento Global (GPS) portátil MAGELLAN SporTrak. Se obtuvieron datos de latitud, longitud, y altitud en todos los campos muestreados. Estos datos fueron analizados y mapeados con el programa ArcGIS® 9 ArcMAP™ versión 9.1 (1999-2005, disponible en <http://www.geographynetwork.com/explorer/explorer.jsp?mode=arcmap>).

Se recolectaron muestras de raíces y cuello de plantas de melón que mostraban o no los síntomas típicos del MNSV: estrías necróticas en cuello y tallo, marchitez y muerte de las plantas. Dichas muestras fueron conservadas a -20 °C hasta su análisis. También se recolectaron muestras de suelo de la zona del sistema radicular de estas plantas, las cuales fueron secadas al aire durante 1 semana y almacenadas a temperatura ambiente hasta su análisis para determinar la presencia o ausencia de *O. bornovanus*.

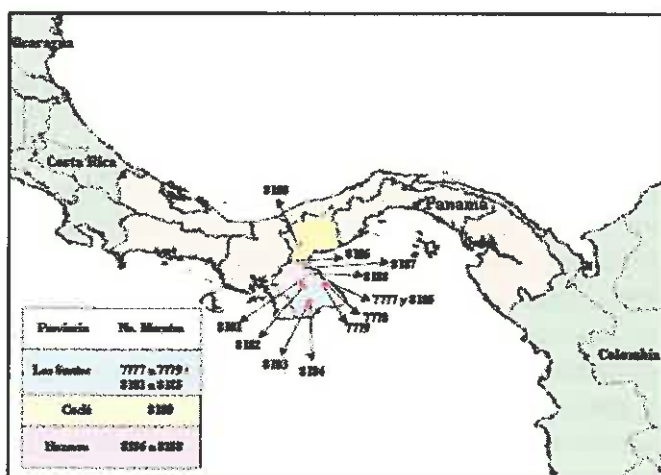
### Análisis mediante DAS-ELISA

En la detección serológica del virus se utilizó la técnica DAS-ELISA (*Double Antibody Sandwich-EnzymeLinked Immunosorbent Assay*) según lo descrito por Clark y Adams (1977), utilizando un antisuero comercial específico para el MNSV (Código

355-1467), proporcionado por BIO-RAD (Life Sciences, Montfavet, Francia). Se tapizaron placas de poliestireno (NUNC™ Maxisorp) con 100 µl por pocillo del anticuerpo IgG del MNSV diluido en 50 mM de tampón carbonato pH 9,6, incubadas por 2 h a 37 °C, y lavadas 3 veces durante 3 minutos con tampón PBST 1X pH 7,4, con 0,8% NaCl y 0,05% Tween-20. Las raíces y el cuello de las plantas de melón fueron maceradas en proporción 1:10 (p/v) en tampón de extracción PBST 1X pH 7,4, con 2% de polivinilpirrolidona (PVP). Se emplearon controles positivos (Código 355-1905) y negativos (Código 355-1959) para el MNSV, proporcionados por BIO-RAD (Life Sciences, Montfavet, Francia), además de tampón PBST 1X como blanco. Alícuotas de 100 µl del extracto de cada muestra y de los controles fueron añadidas en cada pocillo. Se colocaron 2 repeticiones de cada una de las muestras, incluyendo los controles. Las placas fueron incubadas toda la noche a 4 °C, y lavadas 3 veces durante 3 minutos con tampón de lavado. Posteriormente, las placas fueron incubadas por 2 h a 37 °C con 100 µl por pocillo de IgG del MNSV conjugado con fosfatasa alcalina diluido en tampón PBST 1X pH 7,4, con 0,2% de albúmina de suero bovino (BSA) y 2% de PVP. Las placas se lavaron nuevamente de la manera descrita anteriormente, e incubadas por 60 minutos con *p*-nitrofenilfosfato (1 mg ml<sup>-1</sup>) en tampón al 9,7% de dietanolamina pH 9,8 para su revelado. Las lecturas de absorbancia se hicieron a los 30, 45 y 60 minutos de incubación con el sustrato. Los valores de absorbancia (A<sub>405 nm</sub>) se obtuvieron en un ELISA Multiskan® EX Modelo 355 (Flow laboratories, Finlandia). Las muestras fueron consideradas positivas cuando los valores de absorbancia de ambas repeticiones fueron al menos el doble del valor de absorbancia de ambas repeticiones del control negativo.

### Extracción de ARN, transcripción reversa y amplificación por PCR

En la detección molecular del virus por RT-PCR (*Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction*) se procedió a la extracción del ARN total a partir de aproximadamente 0,1 g de raíces, cuello o tallo de las plantas de melón mediante el empleo de RNAwiz™ Kit (Ambion, Huntingdon, Reino Unido) con ayuda de N<sub>2</sub> líquido siguiendo las instrucciones del fabricante. La RT-PCR se llevó a cabo en un solo paso mediante el empleo de la SuperScript™ One Step II RT with Platinum® Taq Mix (Invitrogen Life



**Figura 2.** Localización geográfica del estudio. El mapeo de los datos obtenidos se realizó con el programa ArcGIS® 9 ArcMAP™ ver9.1 (1999-2005). Esc.: 1:10,000,000.

**Cuadro 1.** Muestras de melón recolectadas en 2005 y 2006 durante las prospecciones realizadas en campos de melón de exportación de Panamá

No. muestra	Cultivar de melón	Edad del cultivo	Localidad	Distrito-Provincia	Sistema de Posicionamiento Global (GPS)			Fecha de muestreo
					Latitud	Longitud	Altitud (msnm) <sup>x</sup>	
7777	Galia Estoril	102 d.p.t. <sup>y</sup>	El Higuierón	Las Tablas-Los Santos	07044'33N	080014'27O	39	Abril, 2005
7778	Galia Solarnet	111 d.p.t.	Palma Grande	Las Tablas-Los Santos	07047'01N	080013'44O	32	Abril, 2005
7779	Galia Solarnet	106 d.p.t.	Palma Chiquita	Las Tablas-Los Santos	07045'46N	080013'22O	36	Abril, 2005
8180	Tam Dew Improved	36 d.p.s. <sup>z</sup>	Cumbirilla	Olá-Coclé	08025'58N	080034'43O	59	Enero, 2006
8181	Tam Dew Improved	41 d.p.s.	Chupá	Macaracas-Los Santos	07048'32N	080034'32O	98	Enero, 2006
8182	Tam Dew Improved	33 d.p.s.	Botello	Macaracas-Los Santos	07044'17N	080031'39O	97	Enero, 2006
8183	Tam Dew Improved	20 d.p.s.	El Joaquín	Tonosí-Los Santos	07029'37N	080026'39O	50	Enero, 2006
8184	Tam Dew Improved	23 d.p.s.	Buenos Aires	Tonosí-Los Santos	07023'39N	080028'45O	55	Enero, 2006
8185	Galia Solarnet	10 d.p.t.	Palma Grande	Las Tablas-Los Santos	07047'01N	080013'44O	32	Enero, 2006
8186	Tam Dew Improved	27 d.p.s.	El Torno	Santa María-Herrera	08008'28N	080035'24O	16	Enero, 2006
8187	Tam Dew Improved	65 d.p.s.	Los Gurullos	Parita-Herrera	08002'33N	080030'19O	30	Enero, 2006
8188	Tam Dew Improved	35 d.p.s.	Juan Gómez	Chitré-Herrera	07057'19N	080024'15O	19	Enero, 2006

Notas: <sup>x</sup> m.s.n.m., metros sobre el nivel del mar; <sup>y</sup> d.p.t., días post-transplante; <sup>z</sup> d.p.s., días post-siembra.

Technologies, Barcelona, España). Se diseñó una pareja de cebadores específicos para el MNSV: MNSV1 (5'GGAGGCAACATTTTCGTACA3') y MNSV2 (5'AGAGACCAAGCGATCAAAC3'), a partir de la secuencia nucleotídica completa de la proteína de cubierta (p42) del MNSV (GenBank accession D12536) con el programa DNAMAN ver.4.02 Lynnon Biosoft© 1994-98 (Institute for Plant Pathology, BBA, Alemania). Estos cebadores amplifican un fragmento del gen de la proteína de cubierta (p42) de 651 pb equivalente a las posiciones 172-822 de dicha proteína. Se llevó a cabo la pre-desnaturalización del ARN total a 65 °C por 5 min, seguido de un paso de síntesis de cDNA a 50 °C por 30 min. Las condiciones de la PCR fueron 94 °C por 2 min, y 35 ciclos de 1 min de desnaturalización a 94 °C, 1 min de hibridación a 50 °C y 1 min de extensión a 72 °C, con una elongación final de 10 min a 72 °C, utilizando un termociclador Mastercycler personal 5332 (Eppendorf, Hamburgo, Alemania). La mezcla de reacción fue preparada con 0,4 µM de cada primer, tampón de reacción 1X (0,4 mM dNTPs, 2,4 mM MgSO<sub>4</sub>) y 1 U ul<sup>-1</sup> de la

enzima descrita anteriormente, en un volumen final de reacción de 12,5 µl. Los productos amplificados fueron separados mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1,2% en tampón TAE 1X (40 mM tris-acetato, 1 mM EDTA pH 8,0) a 100 V durante 60 min, y posteriormente teñido con bromuro de etidio (0,5 µg ml<sup>-1</sup>). El tamaño de amplicón esperado se determinó por comparación con un marcador de peso molecular conocido (GeneRuler™ 100 pb DNA Ladder Plus, Fermentas Life Sciences, Opelstrasse, Alemania).

#### Secuenciación y análisis

Los productos de la RT-PCR de las muestras positivas se purificaron con el High Pure PCR Product Purification Kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania) y directamente secuenciados a partir del cebador MNSV1 (secuencia descrita anteriormente) con el Big Dye Terminator ver. 3.1 Cycle Sequencing Kit en un secuenciador 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA). Las secuencias obtenidas en este trabajo fueron analizadas mediante BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (Altschul



**Figura 3.** Ensayo de detección de *O. bornovanus* en los suelos muestreados. (A) Macetas con una mezcla 3:1 de arena:suelo. (B) Macetas con arena solamente (400 g) usadas como control sano. Una planta/maceta, y tres repeticiones por muestra y control sano.

et ál. 1997), con el objetivo de identificar y comparar los aislados del MNSV obtenidos. Las secuencias del MNSV usadas para comparación fueron 264 (Díaz et ál. 2004), Dutch (Riviere y Rochon 1990), y YS (Kubo et ál. 2005). La traducción de secuencias nucleóticas a secuencias de aminoácidos se hizo con el programa TRANSLATE (ExpASy Proteomics tools, <http://www.expasy.org/tools/>). El análisis de homología de secuencias se llevó a cabo con el programa DNAMAN ver. 4.02 Lynnon Biosoft© 1994-98 (Institute of Plant Pathology, BBA, Alemania).

#### **Ensayo de detección de *Olpidium bornovanus* en suelo**

Se trasplantaron plántulas de melón en estado cotiledonal procedentes de semilla comercial de la variedad cultivada Galia F1 a macetas individuales (450 cm<sup>3</sup>) que contenían una mezcla de arena fina de sílice lavada y previamente autoclavada, y suelo procedente de la zona del sistema radicular de las plantas de melón recolectadas en 2005 y 2006 en los campos de cultivo de Panamá, en proporción 3:1, respectivamente. Se utilizaron macetas con arena como control sano. Se transplantó una plántula/maceta, realizando tres repeticiones por muestra y control sano. Las plantas se mantuvieron en ambiente controlado y fotoperíodo de 12 h de luz y 12 h de oscuridad con temperaturas de 26 °C y 18 °C, respectivamente, y un 60% de humedad relativa. El riego durante el ensayo fue realizado con H<sub>2</sub>O Milli-Q (Figura 3; A y B).

A los 30 días post-transplante (d.p.t.), las raíces fueron clarificadas siguiendo el método descrito por Jordá et ál. (2002) en una solución de KOH al 10% durante 24 h. Transcurrido este tiempo se

lavarón con HCl al 10% para su neutralización, y posteriormente se eliminó la solución ácida después de tres lavados con H<sub>2</sub>O destilada, donde se mantuvieron hasta su análisis. Se observaron secciones de aproximadamente 1 cm de longitud de las raíces secundarias con un microscopio óptico binocular compuesto, Nikon-YS-100 (Nikon Corporation, Tokio, Japón), con el objetivo de determinar la presencia o ausencia de *O. bornovanus* en las muestras de suelo analizadas. El diámetro de las esporas de resistencia fue determinado con un microscopio Olympus VANOX-T, observación 40X.

Se analizaron raíces no clarificadas de cada una de las muestras mediante RT-PCR a los 45 y 60 d.p.t. para determinar el éxito de la transmisión del MNSV por el hongo traído en los suelos procedentes de los distintos campos de cultivo de melón de Panamá.

## **Resultados y discusión**

### **Muestreos y síntomas en plantas de melón**

Es importante indicar que en el momento de la toma de muestras en el segundo año no se observó una incidencia significativa de la enfermedad en el campo; por lo tanto, no todas las plantas recolectadas mostraban los síntomas típicos del MNSV. Sin embargo, se debía corroborar la presencia de la enfermedad causada por este virus durante el primer año para adoptar las medidas de control pertinentes, dado el peligro potencial que ha supuesto este virus para el cultivo de melón en la zona de Almería, en España, y en otras regiones dedicadas al cultivo de esta hortícola en el mundo (Juárez et ál. 1994). Es importante mencionar que en estudios de



transmisión del MNSV por semilla, plántulas de melón asintomáticas han resultado positivas al virus por RT-PCR (J. A. Herrera-Vásquez, datos por publicar). Además, nueve de las doce muestras analizadas fueron recolectadas entre los 20 y 65 d.p.s. (Cuadro 1), concordando con los estudios realizados por Gonzalez-Garza et ál. (1979), quienes no observaron plantas sintomáticas sino hasta 64 d.p.t., y con los de Gómez et ál. (2005), quienes sostienen que los síntomas generalizados más característicos de la enfermedad se presentan poco antes o cuando las plantas entran en producción, capacidad que se observa cuando la infección se produce a través de *O. bornovanus*. Por otra parte, la disparidad de síntomas que pueden presentarse, siendo en algunas ocasiones similares a los originados por otros agentes fitopatógenos —tales como el marchitamiento y muerte súbita de las plantas—, plantea la necesidad de un método de diagnóstico fiable para poder actuar frente a esta enfermedad que ha ocasionado importantes pérdidas económicas en otros países.

#### **Análisis de plantas de melón de campo: DAS-ELISA y RT-PCR**

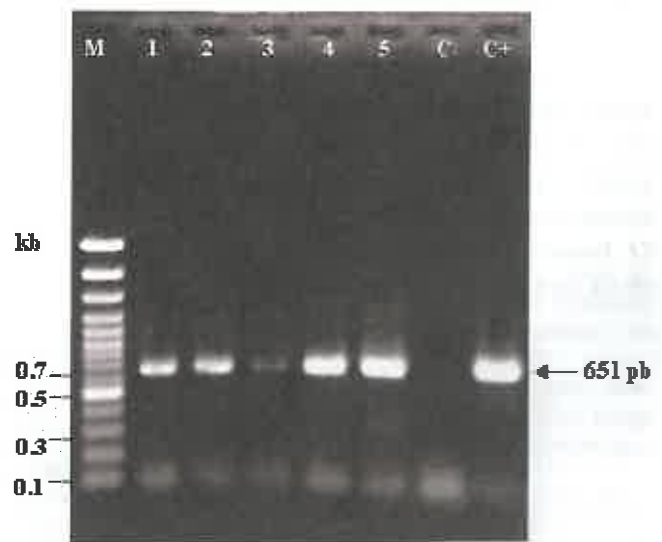
Las plantas muestreadas fueron analizadas mediante DAS-ELISA y RT-PCR, esta última técnica para confirmar los análisis serológicos, dado que varios autores, entre ellos, Gómez et ál. (2005) subrayan la baja sensibilidad que presenta la técnica ELISA para detectar el MNSV. Así, Gosálvez et ál. (2003) citan que en la detección del MNSV a partir de plantas de melón infectadas, la RT-PCR ha resultado ser 625 veces más sensible que la técnica ELISA, e indican que la RT-PCR es un método alternativo al ELISA en el diagnóstico, debido a la limitada sensibilidad de esta última. En 2005 se detectaron mediante ELISA dos muestras positivas de las tres analizadas, 7777 y 7779, procedentes ambas de las provincias de Los Santos (Figura 4, Cuadro 1). En 2006 solamente se detectó mediante DAS-ELISA una muestra positiva de las nueve analizadas, la 8180, procedente de la provincia de Coclé (Figura 4, Cuadro 1). Mediante RT-PCR de las muestras positivas por DAS-ELISA se obtuvo una amplificación del tamaño esperado, 651 pb, no obteniéndose dicha banda en los controles sanos (Figura 4). Dado que la detección de este virus presenta ciertas dificultades, obtener dos muestras positivas de tres ensayadas en 2005 sería indicativo de un alto nivel de infección.

En el 2006 la enfermedad no se presentó de forma tan patente; además, la recolección de las muestras

se hizo en un estado muy temprano del cultivo, como ya se ha indicado, y por ello no mostraban síntomas característicos de la infección, lo que implicó que la toma de muestras fuera al azar. La recolección se hizo en campos de melón distintos a los muestreados en el 2005 y que dieron resultados positivos.

#### **Secuenciación y análisis**

Las bandas amplificadas por RT-PCR correspondientes a las muestras 7777 (aislado PA1, GenBank accession DQ443546), 7779 (aislado PA2, GenBank accession DQ443547) y 8180 (Figura 4) fueron purificadas y secuenciadas. Las secuencias obtenidas se compararon con otras secuencias del MNSV publicadas en la base de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information) GenBank: 264 (GenBank accession AY330700); Dutch (GenBank accession M29671); y YS (GenBank accession AB189944), caracterizando molecularmente de esta manera los aislados del MNSV usados en nuestro estudio. Dichos aislados presentaron una homología nucleotídica del 88 al 94% en un fragmento del gen de la proteína de cubierta (p42), siendo el aislado YS el más distante en comparación con los demás (Cuadro 2).



**Figura 4.** Electroforesis en gel de agarosa de los productos de la RT-PCR de los aislados del MNSV amplificados a partir de plantas de melón de campo. Líneas 1 y 2 = muestra 7777 dilución 1:100 y 1:500, respectivamente; líneas 3 y 4 = muestra 7779 dilución 1:100 y 1:500, respectivamente; línea 5 = muestra 8180 dilución 1:200; C- = control sano; C+ = control positivo del MNSV; M = 100 pb DNA Ladder Plus (Fermentas Life Sciences, Opelstrasse, Alemania).

**Cuadro 2.** Porcentaje de homología de nucleótidos y aminoácidos de un fragmento del gen de la proteína de cubierta (p42) de aislados del MNSV (aislados descritos anteriormente)

Aislados del MNSV	Porcentaje de homología de nucleótidos					Porcentaje de homología de aminoácidos				
	PAN1	PAN2	264	DUTCH	YS	PAN1	PAN2	264	DUTCH	YS
PAN1	100	92	92	92	88	100	99	99	97	96
PAN2		100	93	93	88		100	99	97	96
264			100	94	88			100	97	96
DUTCH				100	88				100	96
YS					100					100

La homología de aminoácidos se mantuvo en el rango del 96 al 99%, siendo también el aislado YS el más distante en comparación con los demás (Cuadro 2). Cabe indicar que Díaz et ál. (2003) determinaron poca variabilidad, a nivel de aminoácidos, en la proteína de cubierta (p42) de diferentes aislados del MNSV.

La secuencia obtenida a partir de la muestra 8180 no fue introducida en la base de datos del NCBI GenBank, debido a que resultó idéntica a la secuencia obtenida de la muestra 7779 (aislado PA2). Es importante indicar que el aislado PA2 presentó un 100% de homología con dos aislados del MNSV provenientes de plántulas procedentes de semilla comercial de melón (J. A. Herrera-Vásquez, datos por publicar). Ante esto, es probable la implicación de la semilla comercial en la introducción del MNSV en los campos de melón muestreados.

#### Detección de *Olpidium bornovanus*

En todas las muestras de suelo procedentes de los campos de melón muestreados de las provincias descritas anteriormente se detectó la presencia de *O. bornovanus*, con excepción del suelo procedente de la zona radicular de la muestra 8181 (Cuadro 1),

encontrándose el hongo en el 91,6% de las muestras de suelo analizadas. En las raíces analizadas, se observaron esporangios mayormente redondeados (Figura 5A), y el diámetro medio aproximado de 100 esporas de resistencia fue de 18,61  $\mu\text{m}$  (Figura 5B), estando dentro del rango de tamaños descrito por otros autores para *O. bornovanus* (Tomlinson y Thomas 1986, Campbell y Sim 1994).

A pesar de la detección de *O. bornovanus* en casi la totalidad de las muestras de suelo, no se obtuvo transmisión del virus a partir de las muestras de suelo ensayadas, bien porque las esporas del hongo no fueron virulíferas o porque el tiempo de contacto de las plantas con el suelo no fue suficiente para que se produjera el contagio. Gómez et ál. (1993) indican que el MNSV sobrevive en las esporas de resistencia de *O. bornovanus*, sin embargo, no mencionan el tiempo de persistencia del virus en estas. No obstante, trabajos previos indican una importante persistencia, pero no se han realizado estudios precisos al respecto. Estudios realizados con otros virus transmitidos por *Olpidium*, como es el caso del *Tobacco stunt virus* (TSV) y el *Lettuce big-vein virus* (LBVV), indican que estos pueden persistir hasta 20 años en las esporas de resistencia de *Olpidium brassicae* (Wor.) Dang,

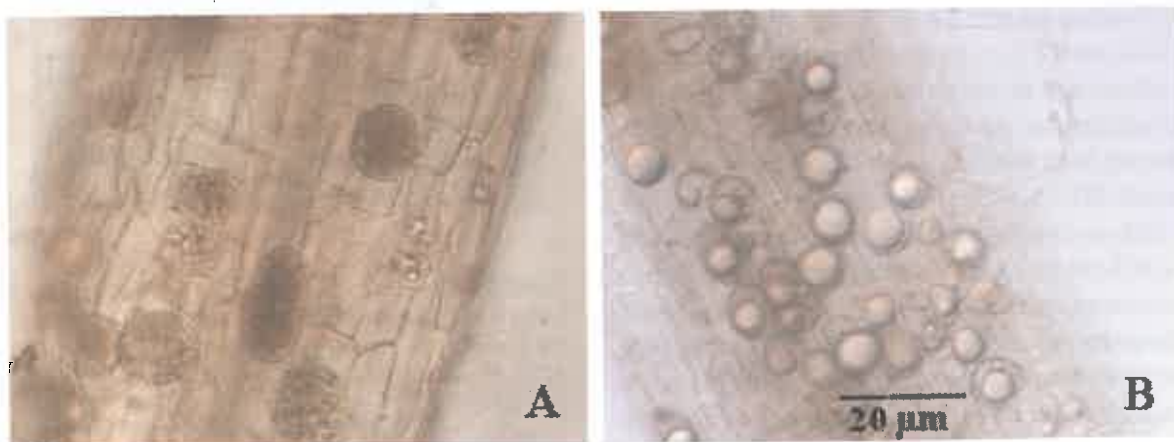


Figura 5. *Olpidium bornovanus*. (A) Esporangios. (B) Esporas de resistencia. Observación 40X.

siendo las partículas infectivas después de este tiempo (Campbell 1985, Hiruki 1987).

En los países donde ha sido detectado el MNSV se da importancia a la transmisión por *O. bornovanus*, así como a su transmisión por semilla. Campbell et ál. (1996) afirman que el MNSV se transmite por semilla independientemente del vector, pero se ve reforzada su extensión con la presencia de éste. Estos mismos autores presentan el término “*vector-assisted seed transmission*”, la transmisión por semilla asistida por el vector (VAST), comprobando que el MNSV raramente infectó plántulas de melón salvo que el vector estuviera presente. *O. bornovanus* desempeña un papel importante en la epidemiología del MNSV, ya que adquiere y transmite el virus a las raíces de las plántulas procedentes de semilla infectada, iniciándose así la infección primaria y continuando con los ciclos de infección secundaria mediante el vector (Campbell et ál. 1996).

El presente trabajo aporta a este respecto la detección y caracterización del MNSV en el área de Los Santos y Coclé (Panamá), así como de su vector en el suelo, binomio que puede causar y desencadenar importantes pérdidas en el cultivo de melón. Dada la importancia que tiene la incidencia de este virus en los cultivos de melón, sandía y pepino en diversos países, y la implicación de la semilla en la introducción del virus en nuevas áreas de cultivo, futuros objetivos de estudio incluyen (i) la determinación de la distribución del MNSV en otras cucurbitáceas y áreas no muestreadas a la fecha en Panamá; (ii) el estudio de la variabilidad molecular de los aislados del MNSV obtenidos en Panamá y en otros países; (iii) y el estudio de la implicación de la semilla comercial de melón en la introducción y diseminación del virus en las áreas estudiadas y en otras áreas.

### Agradecimientos

José Angel Herrera-Vásquez fue apoyado con una beca Predoctoral de la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID,) durante el periodo 2004-2007) y del Instituto para la Formación y Aprovechamiento de Recursos Humanos-. Actualmente es becario de la Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología (IFARHU-SENACYT, Panamá, periodo 2007-2009). Los autores agradecen a Orlando Osorio y a José Angel Herrera (Padre) su colaboración en los muestreos de melón, y a Ariel Espino, Oleh Aguilar, Roberto Samaniego y Juan Pablo Soriano (Dirección Nacional de Sanidad Vegetal-Ministerio de Desarrollo Agropecuario (DNSV-MIDA, Panamá) su apoyo para la toma de datos en los campos de melón muestreados.

### Literatura citada

- Altschul, SF; Madden, TL; Schaffer, AA; Zhang, J; Zhang, Z; Miller, W; Lipman, DJ. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25:3389-3402.
- Avgelis, AD. 1989. Watermelon necrosis caused by a strain of *Melon necrotic spot virus*. *Plant Pathology* 38:618-622.
- Blancard, D; Lecoq, H; Pitrat, M. 1991. Enfermedades de las Cucurbitáceas: Observar, Identificar, Luchar. Madrid, ES, Mundi-Prensa. 301 p.
- Brunt, AA; Crabtree, K; Dallwitz, MJ; Gibbs, AJ; Watson, L; Zurcher, EJ. (eds). 1996. *Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database*. Version: 20th August 1996. Disponible en <http://image.fs.uidaho.edu/vidе/descr487.htm>
- Campbell, RN. 1985. Longevity of *Olpidium brassicae* in air-dry soil and the persistence of the Lettuce big-vein agent. *Canadian Journal of Botany* 63:2288-2289.
- Campbell, RN. 1996. Fungal transmission of plant viruses. *Annual Review of Phytopathology* 34:87-108.
- Campbell, RN; Sim, ST. 1994. Host specificity and nomenclature of *Olpidium bornovanus* (= *Olpidium radiale*) and comparisons to *Olpidium brassicae*. *Canadian Journal of Botany* 72:1136-1143.
- Campbell, RN; Wipf-Scheibel, C; Lecoq, H. 1996. Vector-assisted seed transmission of *Melon necrotic spot virus* in melon. *Phytopathology* 86:1294-1298.
- Clark, MF; Adams, AN. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* 34:475-583.
- Díaz, JA; Bernal, JJ; Moriones, E; Aranda, MA. 2003. Nucleotide sequence and infectious transcripts from a full-length cDNA clone of the *Carmovirus Melon necrotic spot virus*. *Arch. Virol.* 148:599-607.
- Díaz, JA; Nieto, C; Moriones, E; Truniger, V; Aranda, MA. 2004. Molecular characterization of a *Melon necrotic spot virus* strain that overcomes the resistance in melon and nonhost plants. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 17:668-675.
- Gómez, J; Cuadrado, I; Velasco, V. 1993. El Virus de las manchas necróticas del melón (MNSV) en Almería II. Eficacia de la desinfección del suelo frente al MNSV. *Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas* 19:179-186.
- Gómez, J; Guirado, ML; Serrano, Y; Rodríguez, J; Sáez, E. 2005. Importancia, epidemiología y control de *Olpidium bornovanus*. *Boletín de la Sociedad Española de Fitopatología* 52:4-7.
- Gonzalez-Garza, R; Gumpf, DJ; Kishaba, AN; Bohn, GW. 1979. Identification, seed transmission, and host range pathogenicity of a California isolate of *Melon necrotic spot virus*. *Phytopathology* 69:340-345.
- Gosalvez, B; Navarro, JA; Lorca, A; Botella, F; Sánchez-Pina, MA; Pallás, V. 2003. Detection of *Melon necrotic spot virus* in water samples and melon plants by molecular methods. *Journal of Virological Methods* 113:87-93.
- Gu, QS; Bao, WH; Tian, YP; Prins, M; Yang, HX; Lu, J; Liu, LF; Peng, B. 2007. *Melon necrotic spot virus* newly reported in China (en línea). *New Disease Reports*. Disponible en <http://www.bspp.org.uk/ndr/fjan2008/2007-77.asp>
- Herrera, JA; Cebrian, MC; Jordá, C. 2006. First report of *Melon necrotic spot virus* in Panama. *Plant Disease* 90:1261.
- Herrera-Vásquez, JA, Cebrián, MC; Roselló, JA, Córdoba-Sélles, C; Jordá, C. 2007. Molecular variability among

- isolates of *Melon necrotic spot virus* (MNSV) from Spain, Mexico and Central America. In International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions (13, Sorrento, IT). p. 281.
- Hibi, T; Furuki, I. 1985. *Melon necrotic spot virus*. CMI/AAB Descriptions of Plants Viruses no 302. Warwick, UK, Association of Applied Biologists. 4 p.
- Hiruki, C. 1987. Recovery and identification of *Tobacco stunt virus* from air-dried resting spores of *Olpidium brassicae*. Plant Pathology 36:224-228.
- Jordá, C; Armengol, J; Gisbert, J; Osca, JM; Lacasa, A; Velázquez, B. 2002. El tratamiento con microondas para la desinfección de suelos. Phytoma -España 138:118-121.
- Jordá, C; Font, MI; Martínez-Culebras, P. 2005. Viral etiology of diseases detected in melon in Guatemala. Plant Disease 89:338.
- Juárez, M; Ortega, A; Jordá, C. 1994. Aspectos epidemiológicos del Virus del cribado (*Melon necrotic spot virus*, MNSV) y variabilidad de aislados. In Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología-SITGES. (7, Barcelona, España). p. 71.
- Kubo, C; Nakazono-Nagaoka, E; Hagiwara, K; Kajihara, H; Takeuchi, S; Matsuo, K; Ichiki, TU; Omura, T. 2005. New severe strains of *Melon necrotic spot virus*: symptomatology and sequencing. Plant Pathology 54:615-620.
- MIDA. 1998. Sección de Cultivos de Exportación, Dirección Nacional de Desarrollo Agrícola, Panamá.
- MIDA. 2005. Unidad de Agro Exportación, Departamento de Planificación y Agricultura, Dirección Ejecutiva Regional (Región 8), Panamá.
- Riviere, CJ; Rochon, DM. 1990. Nucleotide sequence and genomic organization of *Melon necrotic spot virus*. Journal of General Virology 71:1887-1896.
- Tomlinson, JA; Thomas, BJ. 1986. Studies on *Melon necrotic spot virus* disease of cucumber and on the control of the fungus vector (*Olpidium radicale*). Annals of Applied Biology 108:71-80.
- Yakoubi, S; Desbiez, C; Fakhfakh, H; Wipf-Scheibel, C; Marrakchi, M; Lecoq, H. 2007. First report of *Melon necrotic spot virus* on melon in Tunisia (en línea). New Disease Reports. Disponible en <http://www.bspp.org.uk/ndr/july2007/2007-37.asp>.

# Alternativas de control de *Leptophobia aripa* en el cultivo de repollo en Los Altos de Chiapas, México

José A. Santiago<sup>1</sup>  
Luis García-Barrios<sup>2</sup>  
Hugo Perales-Rivera<sup>2</sup>  
Julio C. Rojas<sup>3</sup>

**RESUMEN.** Los campesinos asperjan en forma intensa e inadecuada metamidofos en el cultivo de repollo (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* D. C.) para controlar el gusano rayado (*Leptophobia aripa* Boisd.) y otras plagas en la región de Los Altos de Chiapas, México. Resulta conveniente comparar este método convencional de control con insecticidas organosintéticos con formas alternativas de control, para reducir o eliminar los efectos negativos del combate convencional sobre el ambiente y la salud. Se evaluaron cuatro estrategias en forma experimental: (i) aspersión de un piretroide comercial (Ambush 50); (ii) control biológico mediante *Bacillus thuringiensis* Berliner var. *kurstaki*; (iii) aspersión del extracto acuoso de cempoalxóchitl (*Tagetes erecta* L.); y (iv) dos tipos de asociaciones aditivas: repollo asociado con cuatro diferentes densidades de *T. erecta*, con la finalidad de crear una barrera física o química, y repollo asociado a nabito (*Brassica campestris* L.), que es una hospedera alternativa. La oviposición de *L. aripa* no fue menor por la asociación del repollo con *T. erecta*. Las asociaciones con altas densidades de *T. erecta* tuvieron un efecto fuerte de supresión por competencia sobre el repollo. *L. aripa* mostró preferencia por ovipositar en *B. campestris*, pero la reducción de larvas en los repollos asociados fue insignificante. El insecticida piretroide (Ambush 50) y *B. thuringiensis* tuvieron un control efectivo sobre *L. aripa*. Es factible promover su uso en la región mediante estrategias de manejo para evitar el desarrollo de resistencia de los organismos plaga a estos insecticidas.

**Palabras clave:** gusano rayado del repollo, *Brassica oleracea*, control biológico, *Tagetes erecta*, cultivos asociados.

**ABSTRACT.** Control alternatives for *Leptophobia aripa* in cabbage in the highlands of Chiapas, Mexico. Producers spray cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* D. C.) fields frequently and inadequately with methamidophos to control the mountain white butterfly (*Leptophobia aripa* Boisd.) and other pests in the highlands of Chiapas State, Mexico. The objective of the present study was to compare this conventional method (chemical) with some potentially effective and less contaminant methods that could reduce or eliminate environmental and health side effects. We evaluated four strategies: (i) a commercial pyrethroid (Ambush 50); (ii) biological control with *Bacillus thuringiensis* Berliner var. *kurstaki*; (iii) a water-based marigold extract (*Tagetes erecta* L.); and (iv) two types of associated crops: cabbage associated to marigold sown at four different densities to create physical-chemical barriers, and cabbage associated to another brassica plant (*Brassica campestris* L.) to lure *L. aripa* towards *B. campestris*. Oviposition on cabbages was not significantly reduced by intercropping with marigold when compared to untreated plots used as controls. Confusing effects occurred, as cabbage size and yield were reduced at high marigold densities. *B. campestris* attracted significantly more ovipositing females and hosted more late larvae instars than cabbage, but the consequent reduction in cabbage infestation was statistically marginal. Applications of the pyrethroid and *B. thuringiensis* effectively controlled *L. aripa* larvae. These two alternatives could be readily used in the region, alongside strategies to avoid rapid development of resistance to them by *L. aripa*.

**Keywords:** Mountain white butterfly, *Brassica oleracea*, biological control, *Tagetes erecta*, intercropping.

<sup>1</sup>División de Procesos Naturales. Universidad Intercultural de Chiapas. Corral de Piedra no. 2, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas. México. jsantiago@biocores.org.mx.

<sup>2</sup>Departamento de Agroecología. El Colegio de la Frontera Sur. Carretera Panamericana y Periférico Sur s/n. San Cristóbal de Las Casas, Chiapas. México. lgarcia@sclc.ecosur.mx; hperales@sclc.ecosur.mx

<sup>3</sup>Departamento de Entomología Tropical. El Colegio de la Frontera Sur. Carretera Antiguo Aeropuerto Km. 2.5, Tapachula, Chiapas, México. jrojas@tap-ecosur.edu.mx

## Introducción

Los plaguicidas sintéticos fueron ampliamente promovidos durante la segunda mitad del siglo XX como solución al problema de las plagas en la producción agrícola convencional. Son una herramienta valiosa e indispensable para reducir pérdidas en casos extremos de infestación, pues son de rápida acción y logran en muchos casos un control efectivo a corto plazo (García 1991). Sin embargo, con el tiempo este tipo de insumos ha perdido su efectividad y demostrado efectos adversos debido a su mal manejo y a sus características intrínsecas: alta y amplia toxicidad (Albert 1990), costos elevados (Rosset 1997, Moore et ál. 1998) y residualidad (Albert y Alpuche 1990).

En las zonas productoras intensivas de hortalizas en Centroamérica y México, los tres principales insectos plaga de los cultivos de crucíferas son *Plutella xylostella*, *Leptophobia aripa* y *Trichoplusia ni*, las cuales en la actualidad se controlan con dificultad (CATIE/MIP 1990, Sánchez y Wade 1995, Carazo et ál. 1999, Díaz et ál. 2000). En Los Altos de Chiapas, se hace un uso intenso e inadecuado de plaguicidas en el cultivo de repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata*) para combatir *P. xylostella*, *Agrotis* sp. y *L. aripa* (Santiago 2006).

El interés público en los problemas provocados por los plaguicidas en la salud y el ambiente, así como los requerimientos internacionales de productos agrícolas libres de residuos tóxicos, sobre todo en alimentos de consumo humano, han reforzado la necesidad de desarrollar técnicas para eliminar o reducir su uso en la agricultura (Endersby y Morgan 1991).

En el presente estudio se evaluaron cuatro estrategias en forma experimental: (i) la aspersión de un piretroide comercial (Ambush 50, Zeneca); (ii) el control biológico mediante *Bacillus thuringiensis* Berliner var. *kurstaki*; (iii) la aspersión del extracto acuoso de cempoalxóchitl (*Tagetes erecta* L.); (iv) dos tipos de asociaciones aditivas: repollo asociado con cuatro diferentes densidades de *T. erecta*, y repollo asociado a nabito (*Brassica campestris* L.). El objetivo fue comparar el efecto sobre la oviposición y presencia de larvas de *L. aripa* con respecto al método de control con el insecticida sintético convencional metamidofós (Tamarón, Bayer) en el cultivo de repollo. Varias de las alternativas evaluadas han sido probadas como eficaces para otras regiones pero desconocidas bajo las condiciones específicas de Los Altos de Chiapas.

## Materiales y métodos

Se realizaron dos experimentos, el primero de junio a noviembre de 2001, y el segundo de julio a noviembre del 2002. Ambos se llevaron a cabo en un predio de 2700 m<sup>2</sup> ubicado en San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México —altitud 2113 msnm; clima templado subhúmedo con lluvias en verano C(w<sub>2</sub>) (w)—. Las unidades experimentales consistieron en pequeñas parcelas de 12,25 m<sup>2</sup>, separadas entre sí por 2,5 m y sembradas con repollo cv. Copenhagen Market a una densidad de cuatro plantas por metro cuadrado.

### Experimento 1

Se distribuyeron en el campo experimental 10 tratamientos con seis repeticiones cada uno en un diseño al azar sin repeticiones contiguas (Hurlbert 1984). Los tratamientos evaluados fueron monocultivos de repollo con lo siguiente:

- 1) Aplicación semanal de metamidofós (organofosforado, toxicidad II: altamente tóxico, nombre comercial: Tamarón, Bayer) en dosis de 1 ml/l de agua.
- 2) Aplicación semanal de permetrina (piretroide, toxicidad III: moderadamente tóxico, nombre comercial: Ambush 50, Zeneca) en dosis de 1 ml/l de agua.
- 3) Aplicación semanal de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (biológico, toxicidad IV: ligeramente tóxico, nombre comercial: DiPel 2X, Dupont) en dosis de 0,74 g/l de agua.
- 4) Aplicación semanal de extracto acuoso por infusión al 5% de *Tagetes erecta* (cempoalxóchitl) sin uso de adherente. Para obtener el extracto se molió la planta completa (incluyendo flores y raíces) previamente secada a la sombra y se licuaron 50 gramos de materia seca en un litro de agua a 50 °C; el extracto reposó 12 horas antes de ser aplicado (Ramírez et ál. 2001).
- 5) Aplicación semanal de agua pura.
- 6) Monocultivo de repollo no asperjado (control).

También se evaluaron policultivos aditivos repollo-cempoalxóchitl en cuatro arreglos:

- 7) Cuatro repollos y un cempoalxóchitl por m<sup>2</sup> (*T. erecta* I).

- 8) Cuatro repollos y dos cempoalxóchitl por m<sup>2</sup> (*T. erecta* II).
- 9) Cuatro repollos y cuatro cempoalxóchitl por m<sup>2</sup> (*T. erecta* III).
- 10) Cuatro repollos y ocho cempoalxóchitl por m<sup>2</sup> (*T. erecta* IV).

La germinación de los cultivos se realizó mediante almácigo en invernadero. El cempoalxóchitl se sembró el 01 de junio de 2001 y se trasplantó a los 20 días de haber germinado. El repollo se sembró el 30 de junio y se trasplantó a los 25 días de haber germinado.

Solamente durante la etapa de almácigo se aplicó riego de auxilio; después del trasplante se manejó como cultivo de temporal (sin riego). Se realizó una fertilización un mes después del trasplante con 40,8 kg/ha de nitrógeno, 40,8 kg/ha de fósforo y 40,8 kg/ha de potasio (triple 17 granulada). Se realizó un deshierbe manual intensivo. Los tratamientos de aspersiones se efectuaron semanalmente desde el trasplante hasta la cosecha.

Las unidades experimentales quedaron expuestas a infestación natural del insecto. La presencia de *L. aripa* fue baja durante todo el período experimental en el año 2001, comparado con lo observado en años anteriores en el mismo predio.

Semanalmente, durante ocho semanas, se contó el número de masas de huevecillos y durante cinco semanas se contó el número de larvas. Ambos muestreos se llevaron a cabo en nueve plantas de repollo del centro de cada parcela. A los 130 días después de la siembra se cosecharon 25 plantas de repollo de cada parcela (sin incluir plantas de borde) y se determinó su rendimiento comercial (peso fresco de la biomasa aérea sin hojas dañadas). En las parcelas de asociación se contó además el número de flores de cempoalxóchitl por metro cuadrado.

### Experimento 2

Se distribuyeron en el campo experimental seis tratamientos con cuatro repeticiones cada uno en un diseño al azar sin repeticiones contiguas (Hurlbert 1984). Los tratamientos evaluados fueron monocultivos de repollo con lo siguiente:

- 1) Aplicación quincenal de permetrina (piretroide, toxicidad III: moderadamente tóxico, nombre comercial: Ambush 50, Zeneca) en dosis de 1 ml/l de agua.

- 2) Aplicación quincenal de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (biológico, toxicidad IV: ligeramente tóxico, nombre comercial: DiPel 2X, Dupont) en dosis de 0,74 g/l de agua.
- 3) Monocultivo de repollo no asperjado (control).

También se evaluaron los siguientes policultivos aditivos:

- 4) Cuatro repollos y dos cempoalxóchitl por m<sup>2</sup> (Arreglo II).
- 5) Cuatro repollos y cuatro nabitos de floración temprana por m<sup>2</sup> (Arreglo I).
- 6) Cuatro repollos y cuatro nabitos de floración tardía por m<sup>2</sup> (Arreglo II).

La germinación de los tres cultivos se realizó por el método de almácigo en invernadero. El repollo cv. Copenhagen Market, los nabitos de floración temprana y tardía, y el cempoalxóchitl se sembraron el 01 de julio de 2002 y se trasplantaron a los 30 días de haber germinado.

En forma similar al Experimento 1, solamente durante la etapa de almácigo se aplicó riego de auxilio; después del trasplante se manejó como cultivo de temporal. También se realizó un deshierbe manual intensivo.

Se aplicaron dos fertilizaciones, la primera a los 15 días del trasplante con 240 g/ha de nitrógeno, 360 g/ha de fósforo y 120 g/ha de potasio (foliar balanceado 20-30-10). La segunda fertilización un mes después del trasplante con 40,8 kg/ha de nitrógeno, 40,8 kg/ha de fósforo y 40,8 kg/ha de potasio (triple 17 granulada). Los tratamientos de aspersiones se efectuaron quincenalmente desde el trasplante hasta la cosecha.

Las unidades experimentales quedaron expuestas a infestación natural del insecto; no obstante, para garantizar la presencia de la plaga se inocularon con larvas de *L. aripa* varias plantas de repollo sembradas con anterioridad en los bordes del campo experimental.

Semanalmente, durante ocho semanas, se contó el número de masas de huevecillos y durante nueve semanas se contó el número de larvas. Ambos muestreos se llevaron a cabo en cuatro plantas de repollo del centro de cada parcela. En el caso de las asociaciones con nabito, también se contaron el número de masas de huevecillos y larvas en cuatro plantas de nabito de

**Cuadro 1.** Porcentaje de plantas de repollo ovipositadas y con larvas de *Leptophobia aripa* de segundo instar o superior

Parámetros evaluados	Metamidofós	Permetrina	Bt	Extracto <i>Tagetes erecta</i>	Agua	<i>T. erecta</i> I	<i>T. erecta</i> II	<i>T. erecta</i> III	<i>T. erecta</i> IV	Control
Plantas ovipositadas (%) <sup>a</sup>	13	11	9	11	15	11	15	15	7	13
$\beta$	0,000	0,175	0,378	0,175	-0,155	0,175	-0,155	-0,155	0,621	0,000
$\chi^2_{Wald}$	0,000	0,087	0,372	0,087	0,077	0,087	0,077	0,077	0,890	
Gl	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
P	1,000	0,768	0,542	0,768	0,781	0,768	0,781	0,781	0,346	
Plantas con larvas (%) <sup>b</sup>	0	0	0	6	12	7	17	15	9	12
$\beta$	4,708	4,708	4,708	0,844	0,000	0,537	-0,379	-0,240	0,293	0,000
$\chi^2_{Wald}$	4,352	4,352	4,352	1,619		0,806	0,652	0,245	0,280	
Gl	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0
P	<b>0,037</b>	<b>0,037</b>	<b>0,037</b>	0,203		0,369	0,419	0,620	0,597	

Notas: <sup>a</sup> promedio de ocho muestreos semanales; <sup>b</sup> promedio de cinco muestreos semanales. Los tratamientos metamidofós, permetrina y Bt se agruparon porque presentaron el mismo valor de  $\beta = 3,316$  en forma individual. Los testigos agua y control se agruparon por no ser estadísticamente distintos ( $\chi^2_{Wald} = 0,774$ ,  $gl = 1$ ,  $P = 0,379$ ).

cada parcela. El 12 de noviembre de 2002, a los 135 días después de la siembra, se cosecharon las cuatro plantas de repollo de cada parcela y se determinó su rendimiento comercial (peso fresco de la biomasa aérea sin hojas dañadas).

### Análisis estadístico

Debido a que los conteos de masa de huevecillos no cumplen generalmente con los supuestos de normalidad (Underwood 1997), el análisis estadístico de los datos de oviposición y larvas de ambos experimentos se realizó mediante el método de regresión logística multinominal (Agresti 1996). El modelo utilizado fue  $\ln(P/1-P) = \beta_0 + \beta_n X_n$ , donde  $P$  es la probabilidad de que la planta tenga masas de huevecillos o larvas,  $\beta$  es el parámetro que indica la proporción de incremento o decremento de la curva de probabilidad y  $X_n$  son los  $n$  factores o tratamientos evaluados, cada uno independiente de los otros. Las diferencias fueron aceptadas como significativas al nivel de 5% y marginalmente significativas al 10%.

Los datos de rendimiento comercial de repollo se procesaron mediante análisis de varianza de una vía y pruebas de Tukey para comparación de medias (Underwood 1997). Para todos los análisis se usó el paquete estadístico SPSS v. 10.0.5 (1999).

## Resultados

### Experimento 1

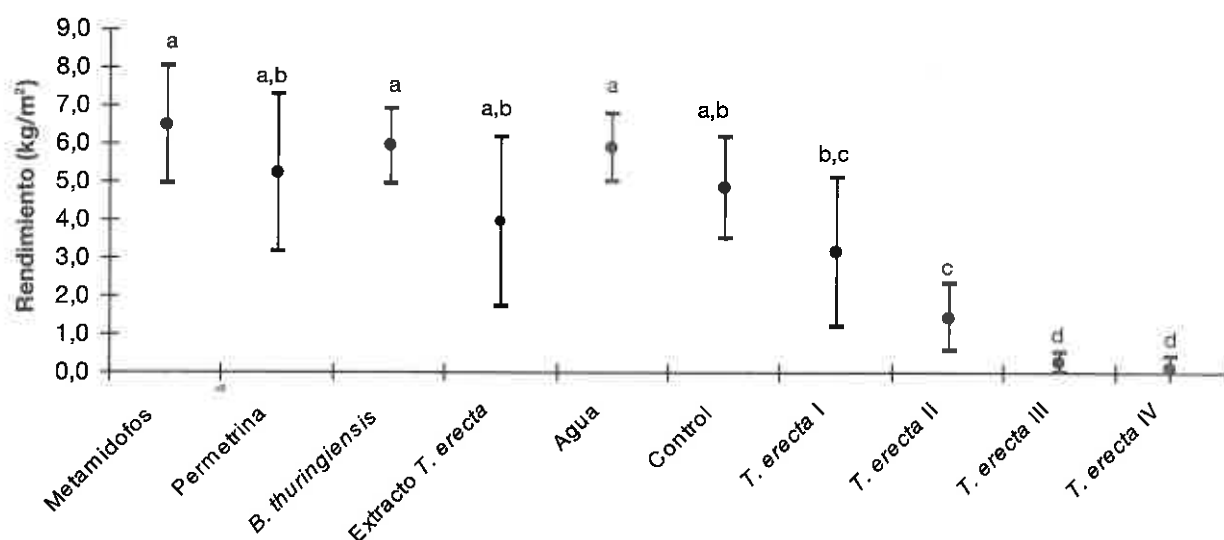
La probabilidad de oviposición sobre repollo no difirió entre los tratamientos (Cuadro 1). Es decir, el

modelo de regresión logística no señaló diferencias significativas (Prueba de máxima verosimilitud:  $\chi^2 = 2,999$ ,  $gl = 9$ ,  $P = 0,964$ ) entre los distintos tratamientos y el control.

Sin embargo, la probabilidad de que las plantas tuvieran larvas de segundo instar o superiores de *L. aripa* sí disminuyó significativamente ( $\chi^2_{Wald} = 4,352$ ,  $gl = 1$ ,  $P = 0,037$ ) en los tratamientos de metamidofós, permetrina y *B. thuringiensis* respecto de los testigos 1 y 2 (agua y control, respectivamente). El modelo de regresión logística no señaló ninguna otra diferencia significativa (prueba de máxima verosimilitud:  $\chi^2 = 34,727$ ,  $gl = 6$ ,  $P < 0,0005$ ) entre los demás tratamientos (Cuadro 1).

Se encontró que el rendimiento comercial del repollo varió significativamente en los diferentes tratamientos ( $F = 33,74$ ;  $gl = 9$ ,  $50$ ;  $P < 0,0005$ ). El rendimiento obtenido en los tratamientos de aplicación semanal de productos insecticidas y del extracto de *T. erecta* no fue distinto al obtenido en los tratamientos testigos 1 y 2 (agua y control, respectivamente), probablemente debido a la poca presencia de *L. aripa* durante ese año. En el caso de las asociaciones aditivas repollo-cempoalxóchitl, sólo la asociación 4:1 (*T. erecta* I) tuvo rendimiento similar al del tratamiento testigo 2 (control). En las asociaciones con densidades mayores de *T. erecta* el rendimiento de repollo fue significativamente menor que el control. Esto se debió a la intensa competencia por luz (y posiblemente por nutrientes y agua) que ejercieron las plantas de *T. erecta* (Figura 1).





**Figura 1.** Rendimiento comercial promedio del repollo bajo los distintos tratamientos evaluados. Literales distintas señalan diferencias significativas ( $P < 0,05$ ). Las barras indican los intervalos de confianza de la media al 95%.

Las asociaciones repollo-cempoalxóchitl produjeron flores además del repollo. Al comparar el valor de la producción total por unidad de superficie, resultó que la reducción del rendimiento de repollo se compensó a través del valor comercial de la producción de flores de cempoalxóchitl (Cuadro 2).

### Experimento 2

El modelo de regresión logística (prueba de máxima verosimilitud:  $\chi^2 = 26,943$ ,  $gl = 7$ ,  $P < 0,0005$ ) señaló una mayor probabilidad de que las plantas en los tratamientos de asociación con nabito tanto de floración temprana ( $\chi^2_{Wald} = 4,317$ ,  $gl = 1$ ,  $P = 0,038$ ) como tardía ( $\chi^2_{Wald} = 5,705$ ,  $gl = 1$ ,  $P = 0,017$ ) fueran más ovipositadas. Esta mayor oviposición ocurrió sobre las plantas de nabito (Cuadro 3); consecuentemente, se redujo la oviposición sobre las plantas de repollo. La probabilidad de plantas de repollo ovipositadas fue marginalmente mayor en el tratamiento de permetrina que en los repollos asociados a nabito de floración temprana ( $\chi^2_{Wald} = 2,714$ ,  $gl = 1$ ,  $P = 0,099$ ).

El modelo de regresión logística para la presencia de larvas (prueba de máxima verosimilitud:  $\chi^2 = 19,705$ ,  $gl = 5$ ,  $P < 0,001$ ) señaló que las asociaciones con nabito tuvieron una mayor probabilidad de plantas de nabito con larvas ( $\chi^2_{Wald} = 2,748$ ,  $gl = 1$ ,  $P = 0,097$ ). Las plantas de repollo asociadas a ellas tuvieron una menor presencia de larvas, aunque no diferente al número encontrado en plantas de repollo en monocultivo ( $\chi^2_{Wald} = 0,330$ ,  $gl = 1$ ,  $P = 0,565$ ). La baja probabilidad de plantas infestadas en el tratamiento testigo hizo que el modelo no detectara diferencias significativas, incluso en el tratamiento de aspersión quincenal con permetrina ( $\chi^2_{Wald} = 1,244$ ,  $gl = 1$ ,  $P = 0,265$ ), que no presentó plantas con larvas (Cuadro 3).

El rendimiento comercial del repollo varió únicamente entre el monocultivo de repollo con aspersión quincenal del piretroide y los tratamientos con repollos asociados ( $F = 3,34$ ;  $gl = 5, 18$ ;  $P = 0,026$ ). Sin embargo, debido a la amplia variabilidad que presentó el tratamiento testigo (monocultivo

**Cuadro 2.** Valor de la producción con base en el precio al mayoreo de los productos en la región para el año 2001 (repollo US\$0,07/Kg y cempoalxóchitl US\$ 0,20 la docena de flores)

Parámetros evaluados	Metamidofós	Permetrina	Bt	Extracto <i>Tagetes erecta</i>	Agua	<i>T. erecta</i> I	<i>T. erecta</i> II	<i>T. erecta</i> III	<i>T. erecta</i> IV	Control
Rendimiento Repollo (US\$/m <sup>2</sup> )	0,45	0,36	0,41	0,28	0,41	0,22	0,10	0,02	0,01	0,34
Rendimiento Flor (US\$/m <sup>2</sup> )						0,19	0,43	1,44	1,70	
Total (US\$/m <sup>2</sup> )	0,45	0,36	0,41	0,28	0,41	0,41	0,53	1,46	1,71	0,34

**Cuadro 3.** Porcentaje de plantas ovipositadas y con larvas de *Leptophobia aripa* de segundo instar o superior

Parámetros evaluados	Permetrina	Bt	Tagetes erecta II	Asoc. a nabito I	Asoc. a nabito II	Brassica campestris I	B. campestris II	Control
Plantas ovipositadas <sup>a</sup> (%)	31	38	19	6	13	63	69	25
$\beta$	-0,310	-0,588	0,368	1,609	0,847	-1,609	-1,887	0,000
$\chi^2_{\text{Wald}}$	0,154	0,576	0,182	1,850	0,793	4,317	5,705	
gl	1	1	1	1	1	1	1	0
P	0,695	0,448	0,670	0,174	0,373	<b>0,038</b>	<b>0,017</b>	
Plantas con larvas <sup>b</sup> (%)	0	6	13	13	13	44	44	19
$\beta$	3,609	1,242	0,480	0,480	0,480	-1,215	-1,215	0,000
$\chi^2_{\text{Wald}}$	1,244	1,044	0,234	0,330	0,330	2,748	2,748	
gl	1	1	1	1	1	1	1	0
P	0,265	0,307	0,628	0,565	0,565	<b>0,097</b>	<b>0,097</b>	

Notas: <sup>a</sup>promedio de ocho muestreos semanales; <sup>b</sup>promedio de nueve muestreos semanales. Los tratamientos de repollo asociado a nabito I y II se agruparon porque presentaron el mismo coeficiente  $\beta = 0,480$  en forma individual. Lo mismo se hizo con los tratamientos *B. campestris* I y II, que presentaron el coeficiente  $\beta = -1,215$ .

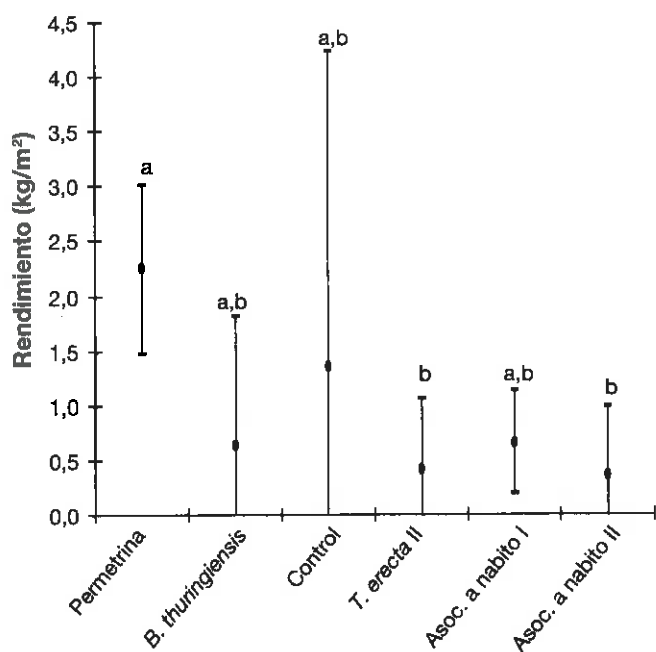
de repollo), ninguno de los tratamientos mostró diferencias respecto a este control (Figura 2).

En síntesis, las alternativas de control evaluadas no tuvieron efecto sobre el comportamiento de ovoposición de *L. aripa*. Esto indica que ninguna de estas alternativas funcionó como repelente total de las hembras o inhibidores de ovoposición. Solamente los tratamientos de aspersión semanal de los insecticidas químicos metamidofós y permetrina, y del insecticida biológico *B. thuringiensis* redujeron

de manera importante y significativa ( $P < 0,04$ ) la presencia de larvas de *L. aripa*. Sin embargo, esto no se vio reflejado en el rendimiento comercial del repollo, probablemente debido a la baja presencia del insecto durante el estudio, por lo cual no hubo una pérdida de rendimiento significativa en los monocultivos testigos.

Las asociaciones con altas densidades de *T. erecta* tuvieron un efecto fuerte de supresión por competencia sobre el rendimiento del repollo, y no hubo un efecto de facilitación que lo compensara o superara. Las asociaciones con bajas densidades de *T. erecta* tuvieron un efecto menor de competencia interespecífica. Es posible que en condiciones de mayor presencia de la plaga, bajas densidades de *T. erecta* sí generen el efecto de facilitación deseado. En ellas podría darse el caso de que esta facilitación compensara el efecto competitivo del cempoalxóchitl. Cabría, además, la posibilidad de aprovechar al cempoalxóchitl como un producto comercial adicional.

Las asociaciones con *B. campestris* señalaron una característica importante sobre la selección del hospedero de *L. aripa*, pues la mariposa presentó una mayor preferencia por el nabito que por el repollo para colocar sus huevos ( $P < 0,04$ ).



**Figura 2.** Rendimiento comercial promedio del repollo bajo los distintos tratamientos evaluados. Literales distintas señalan diferencias significativas ( $P < 0,05$ ). Las barras indican los intervalos de confianza de la media al 95%.

## Discusión

Es difícil llegar a una generalización acerca de la respuesta de los herbívoros a los cultivos asociados. La tendencia es que los sistemas de cultivo diversificados reducen los niveles de herbívoros, pero cada especie de herbívoro tiene respuestas individuales a su ambiente al estar sujeta a un conjunto particular de fuerzas selectivas (Andow 1991, Innis 1997, Muriel y Vélez 2004).

Por una parte, se puede esperar que los herbívoros tengan una mayor dificultad para encontrar su planta hospedera en un ambiente diversificado (Root 1973, Vandermeer 1989, Andow 1991). Por otra parte, los herbívoros especialistas en un ambiente diversificado pueden beneficiarse del fuerte contraste entre las señales positivas de su hospedera y las señales negativas de las no hospederas (Coll y Bottrell 1994, Bernays 2001).

Los resultados del presente trabajo fueron distintos a los reportados con anterioridad sobre asociaciones para el control de *L. aripa*, en donde la densidad de larvas fue significativamente menor en las asociaciones (Reyes 1996, Córdova 1998, Hernández 2001). También difieren de los resultados reportados de asociaciones de *T. erecta* con otros cultivos, en los cuales esta ha funcionado como barrera física o química contra insectos plagas (Chew 1994) u otras asociaciones de *Brassica* spp. para el control de plagas especialistas de crucíferas, en donde las asociaciones redujeron el número de insectos herbívoros (Dover 1986, Finch y Kienegger 1997, Singh y Kothari 1997, Bukovinszky et ál. 2004).

Sin embargo, otros estudios de asociación de repollo con distintas especies para el control de lepidópteros no han encontrado diferencias significativas en las densidades poblacionales de los insectos en las asociaciones respecto a los monocultivos (Koehler et ál. 1983, Andow et ál. 1986, Bender et ál. 1999, Hooks y Johnson 2001).

La variedad de respuestas observadas en los lepidópteros especialistas de crucíferas a los cultivos asociados pone de manifiesto la necesidad de estudiar con mayor detalle el comportamiento de búsqueda y selección de hospedera de cada uno de ellos. Con base en esto, el reto es diseñar sistemas de policultivos efectivos para reducir los niveles de herbívoros e incrementar los rendimientos totales del sistema en el largo plazo (Innis 1997).

Las opciones de control evaluadas en el segundo experimento no mostraron un efecto claro sobre el comportamiento de oviposición de *L. aripa* y su daño a las plantas de repollo. Sin embargo, se observó una característica importante sobre la selección de hospedera: *L. aripa* presentó una mayor preferencia por el nabito que por el repollo.

Para especies de plagas muy selectivas en la búsqueda de su hospedera, ofrecer una alternativa entre un cultivo asociado más atractivo ("cultivo trampa") y un cultivo principal menos atractivo puede

ser una mejor estrategia que asociar una planta no hospedera (Asman 2002).

El principio del cultivo trampa depende del hecho de que el herbívoro plaga muestre una mayor preferencia por una cierta especie de planta que por el cultivo principal, tanto en su comportamiento de forrajeo como de oviposición y refugio (Asman 2002). Una cualidad importante para que un cultivo trampa sea eficaz es que los estados inmaduros de la plaga mueran antes de que alcancen el estado adulto o antes de que puedan desplazarse del cultivo trampa al cultivo principal. Si el cultivo trampa es un hospedero atractivo para la oviposición de las hembras, pero nutritivamente pobre para las larvas, entonces su efecto es de control de la plaga (Badenes et ál. 2004).

Se han reportado cultivos trampa eficientes para el control de lepidópteros especialistas de crucíferas. Asman (2002) encontró que el uso de *Brassica juncea* como cultivo trampa redujo el número de huevecillos ovipositados por *Plutella xylostella* en el cultivo principal (*B. oleracea* var. *alba*). Badenes et ál. (2004) observaron que el uso de *Barbarea vulgaris* como cultivo trampa asociado a *B. oleracea* fue altamente eficiente, ya que resultó muy atractivo para la oviposición de *P. xylostella*, pero sus larvas no sobrevivieron.

El rango de hospederos de las mariposas Pieridae está restringido a las crucíferas y algunas otras pocas familias. Todas se caracterizan por la presencia de los glucosinolatos. Dentro de este grupo de plantas, cada especie puede tener particulares tipos y concentraciones de glucosinolatos específicos. Esto puede determinar la preferencia de una especie de mariposa por ovipositar en una especie particular de hospedera (Huang y Renwick 1993, Messchendorp et ál. 2000). Este podría ser el caso de *L. aripa*, que prefirió colocar sus huevos en plantas de *B. campestris* que en plantas de *B. oleracea* var. *capitata*. Salas et ál. (1993) observaron que *L. aripa* prefiere ovipositar en brócoli (*B. oleracea* var. *italica*) que en coliflor (*B. oleracea* var. *botrytis*).

El nabito (*B. campestris*) es una arvense tolerada en el cultivo de repollo en Los Altos de Chiapas, ya que es un complemento alimenticio para las familias campesinas de la región (Santiago 2006). Tiene además un mercado potencial como alimento de pájaros. Jiménez (1984) asoció nabito a brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) y demostró que el brócoli en policultivo tuvo un mayor rendimiento, pues se redujo la población total de herbívoros y se inhibió el crecimiento de arvenses.

Se ha reportado que *B. campestris* es una hospedera de *L. aripa* que además atrae a sus enemigos naturales (Díaz et ál. 1999). Para proponer a *B. campestris* como cultivo trampa de *L. aripa*, es necesario evaluar la supervivencia de las larva y seleccionar adecuadamente las fechas de siembra de ambos cultivos asociados, para descartar que *B. campestris* sirva como cultivo nodriza y fuente de infestaciones subsecuentes para el cultivo principal. Si ese fuera el caso, pueden usarse insecticidas oportunamente para que ello no ocurra (Badenes et ál. 2004). También es importante evaluar la atracción de la floración amarilla de *B. campestris* sobre el adulto de *L. aripa* como fuente de carbohidratos y aminoácidos, para descartar un posible beneficio del insecto (Romeis y Wäckers 2000). Al mismo tiempo, se debe evaluar si la floración de *B. campestris* atrae enemigos naturales de *L. aripa* (Landis et ál. 2000). Con base en lo anterior, el reto será diseñar sistemas de policultivos capaces de reducir los niveles de herbívoros, potenciar los niveles de depredadores y parasitoides e incrementar los rendimientos totales del sistema en el largo plazo. Para lograr este objetivo, también es importante estudiar con mayor detalle el comportamiento de búsqueda y selección de hospedera de *L. aripa*.

En ambos experimentos el insecticida químico piretroide y el insecticida biológico *B. thuringiensis* mostraron un control efectivo de las larvas de *L. aripa*. *B. thuringiensis* se ha usado en muchas regiones del mundo para el control de lepidópteros con una eficiencia equivalente a los plaguicidas químicos, con la ventaja de que no afecta a la fauna benéfica (Endersby y Morgan 1991, García 1991, Estrada y López 1997, Hill y Foster 2000). Sin embargo, los productos basados en *Bt* no han tenido un importante impacto en el mercado. Los bioinsecticidas (dominados por productos a base de *Bt*) y los insecticidas de baja toxicidad (tipo III; dominados por productos a base de piretroides) sólo han alcanzado poco más de 1% del mercado global de insecticidas (Isman 2000). Una de las causas es que en nuestra región, por ejemplo, su precio cuadruplica el precio de los productos convencionales (Santiago 2006).

Resulta relevante entonces promover su uso en la región. Pero es muy importante diseñar estrategias de manejo de estos productos para evitar el desarrollo de resistencia de los organismos plaga a estos insecticidas y efectos adversos en el tercer nivel trófico. Esto puede hacerse usando umbrales económicos de acción y combinándolos con otros agentes de control, pues un patrón monótono de uso de un insecticida puede resultar de alto riesgo

(Endersby et ál. 1992, Ivey y Johnson 1997, Garza 1999, Landis et ál. 2000).

En conclusión, este estudio es parte de una búsqueda de alternativas al uso de insecticidas altamente tóxicos en el cultivo de repollo en Los Altos de Chiapas. Específicamente, evaluó la efectividad de cuatro estrategias para reducir las oviposiciones y la abundancia de larvas de *L. aripa* sobre este cultivo. El insecticida químico piretroide y el insecticida biológico *B. thuringiensis* redujeron las poblaciones de larvas de *L. aripa*. El extracto de *T. erecta* no tuvo efecto. Con la baja población de mariposas que se presentó durante el estudio no se manifestó un efecto facilitador del cempoalxóchitl, y sí un efecto competitivo fuerte sobre el repollo cuando se asoció a densidades altas. El nabito asociado al repollo atrajo significativamente la ovoposición de la mariposa blanca. Esto generó una reducción (no significativa en este experimento) del número de oviposiciones en los repollos asociados, que vale la pena investigar más a fondo. Algunas de las alternativas exploradas tienen la capacidad de sustituir el uso de metamidofós en los cultivos de repollo de la región.

### Agradecimientos

Se agradece a Carlos Pérez Rodríguez y Juan Collazo López por su apoyo en el trabajo de campo; a Ricardo Alvarado en el desarrollo del modelo de regresión logística; a la Fundación Produce Chiapas A. C. por el financiamiento otorgado para esta investigación y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) del Gobierno de México por la beca otorgada al primer autor. También agradecemos a los revisores anónimos por sus útiles y constructivos comentarios.

### Literatura citada

- Agresti, A. 1996. An introduction to categorical data analysis. Estados Unidos, John Wiley and Sons. 290 p.
- Albert, L. 1990. Riesgos de los plaguicidas para la salud. In Albert, L. (coordinadora). Los plaguicidas, el ambiente y la salud. México, Centro de Ecodesarrollo. p. 65-71.
- Albert, L; Alpuche, L. 1990. Riesgos de los plaguicidas para el ambiente. En: Albert, L. (coordinadora), Los plaguicidas, el ambiente y la salud. México, Centro de Ecodesarrollo. p. 55-63.
- Andow, D. 1991. Vegetational diversity and arthropod population response. Annual Review of Entomology 36:561-586.
- Andow, D; Nicholson, A; Wien, H; Willson, H. 1986. Insect populations on cabbage grow with living mulches. Environmental Entomology 15:293-299.
- Asman, K. 2002. Trap cropping on oviposition behavior of the leek moth *Acrolepiopsis assectella* and the diamondback moth *Plutella xylostella*. Entomologia Experimentalis et Applicata 105:153-164.

- Badenes, F; Shelton, A; Nault, B. 2004. Evaluating trap crops for diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology* 97:1365-1372.
- Bender, D; Morrison, W; Frisbie, R. 1999. Intercropping cabbage and Indian mustard for potential control of lepidopterous and other insects. *HortScience* 34:275-279.
- Bernays, E. 2001. Neural limitations in phytophagous insects: implications for diet breadth and evolution of host affiliation. *Annual Review of Entomology* 46:703-727.
- Bukovinszky, T; Tréfas, H; van Lenteren, J; Vet, L; Fremont, J. 2004. Plant competition in pest-suppressive intercropping systems complicates evaluation of herbivore responses. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 102:185-196.
- Carazo, E; Cartín, V; Monge, L; Lobos, J; Araya, L. 1999. Resistencia de *Plutella xylostella* a deltametrina, metamidofos y cartap en Costa Rica. *Revista Manejo Integrado de Plagas* 53:1-6.
- CATIE/MIP (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza / Proyecto Manejo Integrado de Plagas). 1990. Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de repollo. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 79 p.
- Chew, Y. 1994. Evaluación de algunas estrategias de control de la virosis en el cultivo del chile (*Capsicum annum* L.). Tesis de Maestría. México, Colegio de Postgraduados. 60 p.
- Coll, M; Bottrell, D. 1994. Effects of nonhost plants on an insect herbivore in diverse habitats. *Ecology* 75:723-731.
- Córdova, R. 1998. Asociación del cempoalxóchitl (*Tagetes erecta* L.) al brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica* L.) como biocontrol de la mariposa blanca de la col (*Leptophobia aripa elodia* Boisd.). Tesis de licenciatura. México, Universidad de Ciencias y Artes del Estado de Chiapas. 81 p.
- Díaz, J; Guharay, F; Miranda, F; Molina, J; Zamora, M; Zeledón, R. 1999. Manejo integrado de plagas en el cultivo de repollo. Nicaragua, CATIE. 103 p.
- Díaz, O; Rodríguez, J; Shelton, A; Lagunes, A; Bujanos, R. 2000. Susceptibility of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) populations in Mexico to commercial formulations of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology* 93:963-970.
- Dover, J. 1986. The effect of labiate herbs and white clover on *Plutella xylostella* oviposition. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 42:243-247.
- Endersby, N; Morgan, W. 1991. Alternatives to synthetic chemical insecticides for use in crucifer crops. Institute of plant Sciences, Biological Agriculture and Horticulture, Department of Agriculture 8:33-52.
- Endersby, N; Morgan, W; Stevenson, B; Waters, C. 1992. Alternatives to regular insecticide applications for control of lepidopterous pests of *Brassica oleracea* var. *capitata*. *Biological Agriculture and Horticulture, Department of Agriculture* 8:189-203.
- Estrada, J; López, M. 1997. Los bioplaguicidas en la agricultura sostenible cubana (en línea). *Revista Clades* No. 12. Consultado 25 jun 2001. Disponible en <http://www.clades.org/> (Consultado: 25/06/2001).
- Finch, S; Kienegger, M. 1997. A behavioral study to help clarify how undersowing with clover affects host-plant selection by pest insects of Brassica crops. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 84:165-172.
- García, J. 1991. Efecto de diazinon, deltametrina y *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* en el control de larvas de lepidóptero en siembra de repollo. *Boletín Entomológico Venezolano* 6:19-25.
- Garza, R. 1999. Determinación de umbrales económicos. In Anaya, S; Nápoles, J. eds. *Hortalizas Plagas y Enfermedades*. México, Trillas. p. 326-334.
- Hernández, J. 2001. Asociación de plantas medicinales aromáticas con repollo y su efecto sobre el gusano defoliador, *Leptophobia aripa elodia* Boisd. (Lepidoptera: Pieridae). Tesis de Maestría. México, El Colegio de la Frontera Sur. 19 p.
- Hill, T; Foster, R. 2000. Effect of insecticides on the Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae) and its parasitoid *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Journal of Economic Entomology* 93:763-768.
- Hooks, C; Johnson, M. 2001. Broccoli growth parameters and level of head infestations in simple and mixed plantings: Impact of increased flora diversification. *Annals of Applied Biologists* 138:269-280.
- Huang, X; Renwick, J. 1993. Differential selection of host plants by two *Pieris* species: the role of oviposition stimulants and deterrents. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 68:59-69.
- Hurlbert, S. 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecological Monographs* 54:187-211.
- Innis, D. 1997. Intercropping and the scientific basis of traditional agriculture. Londres, UK, Intermediate Technology Publications. 179 p.
- Isman, M. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19:603-608.
- Ivey, P; Johnson, S. 1997. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* and cabbage cultivars resistance to diamondback moth (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Florida Entomologist* 80:396-401.
- Jiménez, J. 1984. Interactions in a wild mustard (*Brassica campestris* L.) and Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) intercrop agroecosystem. Thesis of Master. Estados Unidos, University of California. 116 p.
- Koehler, C; Barclay, L; Kretchun, T. 1983. Companion plants. *California Agriculture* 37:12-15.
- Landis, A; Wratten, S; Gurr, G. 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology* 45:175-201.
- Messchendorp, L; Gols, G; van Lonn, J. 2000. Behavioral observations of *Pieris brassicae* larvae indicate multiple mechanisms of action of analogous drimane antifeedants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 95:217-227.
- Moore, F; Collins, J; Rosset, P. 1998. *World Hunger: Twelve Myths*. Nueva York, US, Grove Atlantic Press. 224 p.
- Muriel, S; Vélez, L. 2004. Evaluando la diversidad de plantas en los agroecosistemas como estrategia para el control de plagas. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)* 71:13-20.
- Ramírez, L; García, L; Rodríguez, C; Morales, H; Castro, A. 2001. Evaluación del efecto insecticida de extractos de plantas sobre *Leptophobia aripa elodia*. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 60:50-56.
- Reyes, H. 1996. Asociación de herbáceas silvestres aromáticas con brócoli (*Brassica oleracea*) para biocontrol de insectos plaga en Chiapas, México. Tesis de licenciatura. México, Universidad Autónoma Chapingo. 82 p.
- Romeis, J; Wäckers, F. 2000. Feeding responses by female *Pieris brassicae* butterflies to carbohydrates and amino acids. *Physiological Entomology* 25:247-253.

- Root, R. 1973. Organization of a plant-arthropod association in simple and diverse habitats: the fauna of collards (*Brassica oleracea*). Ecological Monographs 43:94-125.
- Rosset, P. 1997. La crisis de la agricultura convencional, la sustitución de insumos y el enfoque agroecológico (en línea). Revista Clades No. 11. Consultado 25 jun. 2001. Disponible en <http://www.clades.org/> (Consultado: 25/06/2001).
- Salas, M; Bravo, H; McCully, J; Alatorre, R; Salazar, E. 1993. Dinámica poblacional de lepidópteros herbívoros de crucíferas en el Bajío, México. Folia Entomológica Mexicana 88:69-78.
- Sánchez, G; Wade, M. 1995. Efectos del cultivo en franjas en rendimiento, plagas insectiles y enfermedades del brócoli en dos localidades del Altiplano Guatemalteco (en línea). Consultado 18 set. 2002. Disponible en <http://www.ag.vt.edu/ipmcrsp/brocoli2e.htm>.
- Santiago, J. 2006. El sistema de producción de repollo (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) en Los Altos de Chiapas y evaluación de alternativas de control del gusano rayado (*Leptophobia aripa* Boisd.). Tesis doctoral. México, El Colegio de la Frontera Sur. 119 p.
- Singh, D; Kothari, S. 1997. Intercropping effects on Mustard aphid (*Lipaphis erysimi* Kalténback) populations. Crop Science 37:1263-1264.
- SPSS. 1999. Advanced Statistics ver. 10.0.5 Manual del usuario de SPSS para Windows. Estados Unidos, SPSS Inc.
- Underwood, A. 1997. Experiments in ecology: Their logical design and interpretation using analysis of variance. Nueva York, US, Cambridge University Press. 504 p.
- Vandermeer, J. 1989. The ecology of intercropping. Nueva York, US, Cambridge University Press. 237 p.

# Amostragem seqüencial para cochonilha-branca *Aulacaspis tubercularis* Newstead (Hemiptera: Diaspididae) na cultura da manga

Willian Victor Saconato<sup>1</sup>  
Sônia Maria de Stefano Piedade<sup>2</sup>  
Décio Barbin<sup>3</sup>  
Miguel Francisco de Souza Filho<sup>4</sup>

**RESUMEN. Muestro secuencial de cochinilla blanca *Aulacaspis tubercularis* Newstead (Hemiptera: Diaspididae) en el cultivo de mango.** El método de muestreo adoptado fue presencia o ausencia, empleado en poblaciones de plagas difíciles de cuantificar. Ese método considera solamente el individuo (si está presente o no en la planta, independientemente de su cantidad). Se ha verificado que la distribución binomial se ajustó a los datos de presencia-ausencia de la cochinilla blanca *Aulacaspis tubercularis* Newstead en el cultivo del mango en una finca ubicada en Jaboticabal, São Paulo. Se desarrollaron tres planes de muestreo secuencial para el monitoreo de esa plaga, todos con niveles de error igual a 0,20. En los planes de muestreo para ramos en el período vegetativo se utilizó un nivel de seguridad igual a 0,35 y nivel de daño económico igual a 0,50. En el período de fructificación, hubo un rigor mas elevado en cuanto al empleo de esos niveles, empleando niveles de seguridad iguales de 0,05 y niveles de daño económico de 0,15. Con el objeto de facilitar el proceso de muestreo en el campo, se construyeron tablas mediante las cuales el agricultor podrá decidir rápidamente si existe o no la necesidad de realizar el control de la cochinilla.

**Palabras clave:** muestro secuencial, cochinilla blanca, mango, monitoreo, distribución binomial.

**ABSTRACT. Sequential sampling of *Aulacaspis tubercularis* Newstead (Hemiptera: Diaspididae) on mango crops.** We used a presence-absence sampling method, used when pest populations are hard to quantify. This method only considers if the individual is present or not in the plant, regardless of its abundance. We verified that the binomial distribution adjusted to *Aulacaspis tubercularis* Newstead data regarding its presence-absence on mango crop located in Jaboticabal, State of São Paulo, Brazil. Three sequential sampling plans had been elaborated to monitor this pest, all with error levels equal to 0,20. Safety levels for branches equalled 0,35, and economic damage levels equalled 0,50. The thresholds were lower during the fructification period, with safety levels equal to 0,05 and economic damage levels equal to 0,15. We designed tables for the producer to decide whether control measures are necessary or not.

**Keywords:** sequential sampling, mango scale, mango, monitoring, binomial distribution.

## Introdução

No estado de São Paulo, a cultura da manga está distribuída em quase todos os municípios, podendo-se destacar as regiões próximas aos municípios de Andradina, Catanduva, General Salgado, Jaboticabal

e São José do Rio Preto que correspondem a 57% da área total. Segundo Pizzol et al. (1998), mencionados por Perosa & Pierre (2002), a manga é de grande importância para a economia brasileira, pois, em 1995 ela representou 20% do volume total de frutas

<sup>1</sup> USP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Dep. Ciências Exatas, Rua Canadá, 275 CEP 13231-260 Campo Limpo Paulista, SP, Brasil. willsacrp@yahoo.com.br

<sup>2</sup> USP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Dep. Ciências Exatas, Av. Pádua Dias, 11, CEP 13418-900 Piracicaba, SP, Brasil. soniamsp@esalq.usp.br

<sup>3</sup> USP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Dep. Ciências Exatas, Av. Pádua Dias, 11, CEP 13418-900 Piracicaba, SP, Brasil. debarbin@esalq.usp.br

<sup>4</sup> Instituto Biológico, Caixa Postal, 70, CEP 13012-970 Campinas, SP, Brasil. miguel@biologico.sp.gov.br

exportadas pelo Brasil, perdendo apenas para a laranja. Devido às condições climáticas, o cultivo da manga no estado de São Paulo está sujeito a diversos tipos de insetos/pragas e doenças, que afetam os pomares em todas as fases (vegetativa e de frutificação).

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) representa um avanço significativo como sistema racional de controle de pragas em frutíferas, pois tem como principal objetivo, a utilização mínima de agroquímicos, no sentido de amenizar problemas de contaminação do ambiente e, conseqüentemente, diminuir as taxas de resíduos no produto final, garantindo uma melhor qualidade de vida, tanto para o produtor como para o consumidor (Souza Filho et al. 2004). Na cultura da manga, deve-se dar destaque especial à cochonilha-branca (*Aulacaspis tubercularis* Newstead 1906), considerada praga-chave dessa cultura. No MIP as pragas-chave são aquelas que de uma maneira geral estão presentes na cultura em níveis populacionais relativamente altos e provocam um tipo de injúria que pode acarretar perdas significativas, portanto, são aquelas para as quais se devem orientar o monitoramento e o controle, pois são as mais importantes e que causam os maiores prejuízos e, muitas vezes, controlando-as já se controla as demais (Crocomo 1990, Silveira Neto 1990).

A tomada de decisão é um aspecto chave e básico para se decidir sobre a necessidade, ou não, de alguma ação de controle. Pode-se ainda, de acordo com Scorza Junior et al. (1996), destacar dois pontos de vital importância para a tomada de decisão da realização, ou não, do controle: a amostragem e o conhecimento do nível de dano econômico.

Desenvolvida por Wald em 1943, durante a II Guerra Mundial, a amostragem seqüencial passou a ter uso extensivo em estudos entomológicos a partir da década de 50, intensificando-se a partir dos anos 70. Esse tipo de amostragem está sendo cada vez mais usado em entomologia, visando minimizar os custos com defensivos agrícolas, sem que haja uma redução na precisão dos resultados obtidos (Taylor 1984).

Assim como no caso da cochonilha-branca, quando as populações são difíceis de serem quantificadas, o método recomendado é a amostragem seqüencial (ou amostragem binomial) presença-ausência (Wilson & Room 1983). De acordo com Bechinski & Stoltz (1985), as principais vantagens da amostragem presença-ausência são: facilidade e, principalmente, rapidez na amostragem.

O objetivo deste trabalho consistiu em elaborar planos de amostragem seqüencial para serem utilizados durante as fases vegetativa e de frutificação da mangueira, fornecendo ao produtor um procedimento para decidir sobre a necessidade, ou não, do controle da cochonilha-branca.

### Material e métodos

A área de estudo (Fazenda Santa Maria) está localizada na região do município de Jaboticabal (21°18'45"S; 48°18'45"W; 575m). Foram coletadas amostras durante a fase vegetativa até o início da fase de frutificação, correspondendo ao período de 23/05/2003 até 19/09/2003, de acordo com a Tabela 1. Os quatro talhões dessa propriedade serão chamados de SM1, SM2, SM3 e SM4, referente aos talhões 1, 2, 3 e 4, respectivamente. As variedades estudadas foram Tommy Atkins e Palmer.

A coleta dos dados foi realizada por um indivíduo previamente treinado denominado "pragueiro" (amostrador), munido de uma ficha de inspeção, lápis ou caneta e uma lupa de aumento de 10 vezes.

Em cada data de amostragem era escolhida aleatoriamente uma planta localizada em um determinado talhão, não necessariamente na periferia. A amostragem era iniciada por uma lateral desse talhão, escolhida ao acaso, e em amostragens subseqüentes iniciavam-se as observações por uma lateral oposta ou adjacente àquela tomada anteriormente. Isso era feito com o objetivo de evitar que a amostra se tornasse viciada. Após a escolha da primeira planta, as demais eram amostradas caminhando-se em "zig-zag" pela área demarcada (sem a necessidade de contar passos). De acordo com o Comitê Gestor da Produção Integrada de Manga, coordenado pela CATI - Regional de Jaboticabal da Secretaria de Agricultura e Abastecimento de São Paulo, e posteriormente publicado por Souza Filho et al. (2004), o número de plantas amostradas em cada talhão obedeceu à proporção apresentada na Tabela 2.

Para o monitoramento, dividiu-se a copa da planta em quatro quadrantes imaginários. No período vegetativo, que vai da colheita até o florescimento, foi examinado um ramo em cada quadrante, localizado na parte interna (de preferência na parte baixa) da copa. No terceiro fluxo de crescimento de cada ramo, escolhia-se uma folha infestada (geralmente, a primeira folha com a presença da cochonilha que fosse vista pelo "pragueiro") para verificar se havia a forma jovem viva. Se houvesse, a folha era considerada danificada e



**Tabela 1.** Datas de amostragens e variedades de manga em cada talhão da Fazenda Santa Maria

Talhão	Estado Fenológico da planta	Datas de amostragens	Variedade de manga
SM1	Vegetativo	23/05/03 , 11/06/03 25/06/03 , 12/07/03 29/07/03 , 15/08/03	Tommy Atkins
	Frutificação	19/09/03	
SM2	Vegetativo	23/05/03 , 11/06/03 25/06/03 , 09/07/03 22/07/03	Tommy Atkins
	Frutificação	09/08/03 , 19/09/03	
SM3	Vegetativo	23/05/03 , 11/06/03 25/06/03 , 09/07/03 22/07/03	Tommy Atkins
	Frutificação	07/08/03 , 19/09/03	
SM4	Vegetativo	23/05/06 , 12/06/03 25/06/03 , 11/07/03 24/07/03 , 09/08/03	Palmer
	Frutificação	Não houve amostragem	

anotava-se R na ficha de inspeção, caso contrário, era considerada não danificada, e não era feita nenhuma anotação. No período de frutificação, inspecionava-se além de um ramo, um fruto localizado na parte interna da copa (de preferência na parte baixa, que é a região mais sombreada) em cada quadrante. No fruto, caso a cochonilha fosse encontrada viva, tanto na forma jovem como adulta, esse era considerado danificado e então anotava-se F na ficha, caso contrário, considerava-se não danificado, e não se faziam anotações. Se em um quadrante de uma determinada planta fossem encontrados um ramo e um fruto danificados, marcava-se R/F na ficha de inspeção, e nada era anotado, caso fosse verificada a ausência de danos em ambos.

Referente à tabulação dos dados, se em um ou mais quadrantes de uma determinada planta fosse constatado que um ramo ou um fruto ou ambos estivessem danificados, a unidade amostral era considerada infestada, e então, anotava-se 1 (UM) na tabela, caso contrário, anotava-se 0 (ZERO). Não é de interesse deste trabalho verificar o gradiente de infestação nas unidades amostrais. A divisão da planta

em quadrantes foi feita para “obrigar” o “pragueiro” a dar uma volta completa na planta observada, facilitando assim o processo de amostragem e, também, evitando riscos de se verificar apenas uma parte da planta.

As equações das linhas de decisão sobre a aplicação, ou não, do controle da cochonilha são definidas como  $S_0$  e  $S_1$

$$S_0 = \frac{\ln\left(\frac{\beta}{1-\alpha}\right)}{\ln\left(\frac{p_1q_0}{p_0q_1}\right)} + m \frac{\ln\left(\frac{q_0}{q_1}\right)}{\ln\left(\frac{p_1q_0}{p_0q_1}\right)}$$

$$S_1 = \frac{\ln\left(\frac{1-\beta}{\alpha}\right)}{\ln\left(\frac{p_1q_0}{p_0q_1}\right)} + m \frac{\ln\left(\frac{q_0}{q_1}\right)}{\ln\left(\frac{p_1q_0}{p_0q_1}\right)}$$

onde  $\alpha$  é a probabilidade de aceitar  $H_1 : p = p_1$  quando  $H_0 : p = p_0$  é verdadeiro e  $\beta$  é a probabilidade de aceitar  $H_0$  quando  $H_1$  é verdadeiro, onde  $p_1$  (nível de dano econômico) e  $p_0$  (nível de segurança). Considera-se  $q_0 = 1 - p_0 - p_0 e q_1 = 1 - p_1$ .

A curva característica operacional  $CO(p)$ , fornece a probabilidade de aceitação da hipótese  $H_0 : p = p_0$  para um determinado nível de infestação e, emprega uma variável auxiliar  $h$  dependente de  $p$  (nível de infestação). Pode-se obter uma aproximação para essa curva. Convém,

**Tabela 2.** Quantidade de plantas amostradas em função do tamanho dos talhões

Tamanho do talhão	Quantidade de plantas amostradas
Talhão de até 5 hectares	10 plantas
Talhão de 6 a 10 hectares	14 plantas
Talhão de 11 a 15 hectares	18 plantas
Talhão acima de 15 hectares	Dividir em talhões menores

também, expressar uma outra função importante, que fornece o número médio de unidades amostrais  $E_p(n)$ .

$$CO(p) \sim 1 - \frac{1 - \left(\frac{\beta}{1-\alpha}\right)^h}{\left(\frac{1-\beta}{\alpha}\right)^h - \left(\frac{\beta}{1-\alpha}\right)^h} = \frac{\left(\frac{1-\beta}{\alpha}\right)^h - 1}{\left(\frac{1-\beta}{\alpha}\right)^h - \left(\frac{\beta}{1-\alpha}\right)^h}$$

$$E_p(n) \sim \frac{CO(p) \ln\left(\frac{\beta}{1-\alpha}\right) + (1 - CO(p)) \ln\left(\frac{1-\beta}{\alpha}\right)}{p \ln\left(\frac{p_1}{p_0}\right) + (1 - p) \ln\left(\frac{1-p_1}{1-p_0}\right)}$$

Na construção dos planos de amostragem foram utilizados níveis de erros iguais a 0,20, que segundo Allen et al. (1972) e Southwood (1978) mencionados por Farias et al. (2001), leva ao tamanho da amostra necessário para a tomada de decisão mais viável, na prática, em um sistema de manejo de pragas. Os níveis de segurança ( $p_0$ ) e de dano econômico ( $p_1$ ) foram adotados de acordo com o estado fenológico da planta, que no período de frutificação exige um cuidado maior quanto às médias de infestações. No período vegetativo as amostragens foram feitas em ramos, e foram adotados  $p_0 = 0,35$  e  $p_1 = 0,50$ , já que nesse período a preocupação não é tão excessiva, devido à ausência de frutos. No período

de frutificação essa preocupação aumenta, então, nesse caso, foram utilizados  $p_0 = 0,20$  e  $p_1 = 0,30$  para as amostragens em ramos e,  $p_0 = 0,05$  e  $p_1 = 0,15$  para as amostragens em frutos.

Para a determinação das linhas de decisão, da curva característica operacional e da curva do número médio de unidades amostrais, inclusive suas representações gráficas, foram utilizados os recursos do software estatístico R versão 1.9.1.

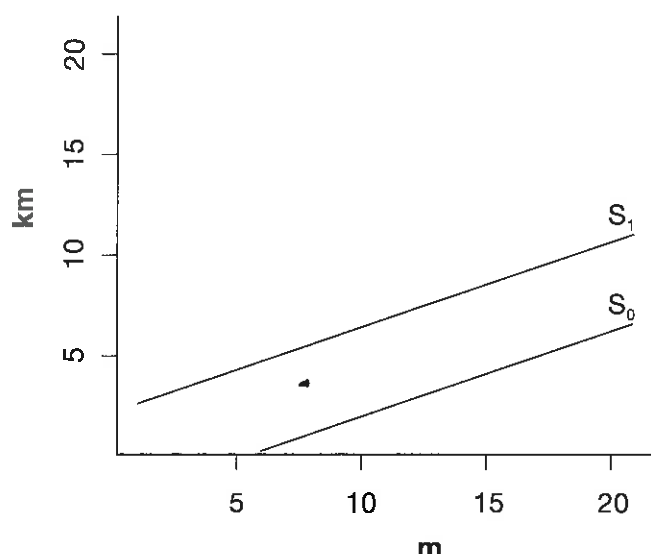
### Resultados e discussão

Ao aplicar o teste de  $\chi^2$  para verificar o ajuste da distribuição binomial aos dados de presença-ausência da cochonilha-branca na cultura da manga (ver Tabela 3), não foram satisfeitas todas as exigências do teste. Houve frequências esperadas inferiores a 1 (um), mas isso deve-se ao fato de não terem sido encontradas cochonilhas vivas durante o período de frutificação para a amostragem tanto em ramos quanto em frutos em todos os talhões. Apenas no talhão SM4 no período vegetativo, foram obtidas frequências esperadas superiores a 5 (cinco).

O teste foi significativo para a amostragem em ramos durante o período vegetativo no talhão SM3, como na maioria dos casos (90%) o teste não foi significativo, pode-se afirmar que, as frequências observadas “combinaram” com as frequências esperadas, ou seja, que a distribuição binomial ajustou-se aos dados de presença-ausência.

**Tabela 3.** Ajuste da distribuição binomial aos dados para a amostragem realizada na Fazenda Santa Maria, onde  $\chi^2$  calc. méd. é o valor de  $\chi^2$  calculado na comparação entre médias observadas em cada data de amostragem com a média da distribuição binomial,  $\chi^2$  tabela é o valor de  $\chi^2$  tabelado com nível de probabilidade igual a 0,05 e NO dados não observados. Jaboticabal, SP, 2003

Período	Talhão	Parte da planta	Média típica da distribuição binomial	Variância típica da distribuição binomial	Nº g.l.	$\chi^2$ calc. méd.	$\chi^2$ tabela
Vegetativo	SM1	Ramos	2,666667	1,955556	5	9,5	11,070
	SM2	Ramos	1,8	1,476	4	7,111111	9,488
	SM3	Ramos	1,6	1,417143	4	13,25	9,488
	SM4	Ramos	6,666667	3,492063	5	8,9	11,070
Frutificação	SM1	Ramos	0	0	1	0	3,841
		Frutos	0	0	1	0	3,841
	SM2	Ramos	0	0	1	0	3,841
		Frutos	0	0	1	0	3,841
	SM3	Ramos	0	0	1	0	3,841
		Frutos	0	0	1	0	3,841
	SM4	Ramos	NO	NO	NO	NO	NO
		Frutos	NO	NO	NO	NO	NO



**Figura 1.** Linhas de decisão do plano de amostragem seqüencial para ramos no período vegetativo, onde  $m$  é o número de plantas observadas e  $km$  é o número de plantas observadas com a presença da cochonilha viva.

Para a amostragem em ramos no período vegetativo, essas expressões encontram-se na Figura 1 e correspondem a  $S_0 = -2,239429 + m*0,423825$  até a qual aceita-se  $H_0$ , e  $S_1 = -2,239429 + m*0,423825$  a partir da qual deve-se aceitar  $H_1$ .

Através dos dados de  $S_0$  e  $S_1$  foi desenvolvida uma planilha para inspeção de ramos no período vegetativo visando a realização do trabalho de amostragem no campo (Tabela 4). O procedimento é feito da seguinte forma: na coluna da esquerda (limite inferior) foram anotados os pontos da linha  $S_0$  e na coluna da direita (limite superior), os pontos da linha  $S_1$ . A tomada de decisão só pode ser feita a partir da 6ª unidade amostral. À medida que forem feitas as observações, deve-se anotar na coluna do meio (número acumulado de plantas infestadas) o número acumulado de unidades amostrais com a presença da cochonilha. Quando esse valor acumulado for igual ou inferior ao número da coluna da esquerda (salvo quando o limite inferior for igual a zero (0), pois por motivos óbvios, o valor acumulado só poderá ser igual ou superior a esse limite - isso vale também para os outros planos de amostragem elaborados neste trabalho), suspende-se a amostragem e aceita-se  $H_0$  não havendo a necessidade do controle. Quando o valor acumulado for igual ou superior ao número da coluna da direita, suspende-se a amostragem e aceita-se  $H_1$  e, nesse caso, deve-se recomendar o controle. Se o número acumulado de plantas infestadas permanecer entre os limites inferior e superior, deve-se dar prosseguimento à amostragem

até atingir o número máximo esperado de unidades amostrais que é de 21 plantas.

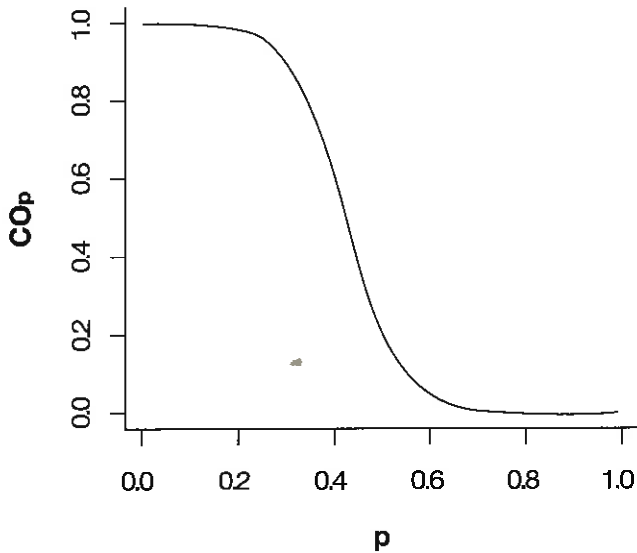
Se após ter atingido o número máximo esperado de plantas e nenhuma decisão tiver sido tomada, deve-se reduzir o período de amostragem pela metade, por exemplo, se o “pragueiro” estiver amostrando a cada duas semanas, este deverá amostrar a cada sete (7) dias.

A curva característica operacional representada na Figura 2 apresenta a probabilidade de aceitação de  $H_0$  para algum nível de infestação. Por exemplo, para uma proporção de aproximadamente 17% de unidades amostrais infestadas, o teste tem uma probabilidade igual a 0,9961 de aceitar  $H_0$ , ou seja, a probabilidade de recomendar o controle é igual a 0,0039. Para uma proporção de 58% de unidades amostrais com a presença da cochonilha, verifica-se que a probabilidade de aceitação de  $H_0$  é igual a 0,0588, ou seja, a probabilidade de recomendar o controle é igual a 0,9412.

Na curva que representa o número médio de unidades amostrais (Figura 3), observa-se que para uma proporção de 71% de plantas infestadas,

**Tabela 4.** Plano de amostragem seqüencial para o monitoramento da cochonilha-branca em ramos no período vegetativo

Plantas observadas	Limite inferior	Nº acumulado de plantas infestadas	Limite superior
1			
2			
3			
4			
5			
6	0		5
7	1		5
8	1		6
9	2		6
10	2		6
11	2		7
12	3		7
13	3		8
14	4		8
15	4		9
16	5		9
17	5		9
18	5		10
19	6		10
20	6		11
21	7		11

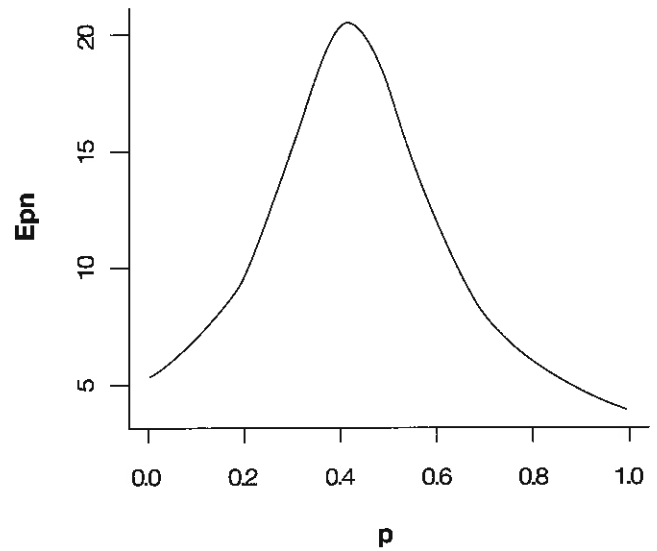


**Figura 2.** Curva característica operacional do plano de amostragem seqüencial para ramos no período vegetativo, onde  $p$  é a proporção de plantas infestadas e  $Cop$  representa a probabilidade de aceitar  $H_0$ .

recomenda-se aproximadamente 8 observações para se tomar uma decisão, enquanto que para uma infestação de aproximadamente 28% seriam necessárias 14 plantas. O máximo valor esperado de unidades amostrais ocorre para uma infestação de aproximadamente 42%, concordando com Wald (1945), o qual afirma que o máximo valor esperado de unidades amostrais para se tomar uma decisão, ocorre quando  $p_0 < p < p_1$ .

As expressões das linhas de decisão para ramos no período de frutificação encontram-se na Figura 4, que correspondem a  $S_0 = -2,571991 + m * 0,2477407$  até a qual  $H_0$  deve ser aceita, e a linha  $S_1 = -2,571991 + m * 0,2477407$  a partir da qual a aceitação de  $H_1$  é necessária.

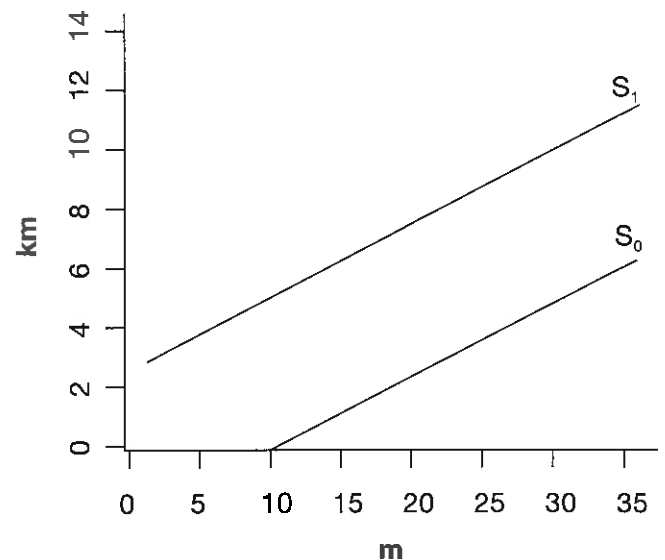
Para o trabalho de amostragem no campo, foi elaborada uma planilha para inspeção dos ramos no período de frutificação (Tabela 5). Os procedimentos para a marcação dos limites inferior e superior e, também da marcação dos dados é o mesmo citado anteriormente para a amostragem em ramos no período vegetativo. Agora, a tomada de decisão deve ser feita a partir da 11ª unidade amostral. Enquanto o número acumulado de unidades amostrais com a presença da cochonilha permanecer na coluna do meio, deve-se continuar o processo de amostragem até atingir o valor máximo esperado de unidades amostrais que é de 36 plantas. Após ter alcançado o número máximo esperado de plantas e nenhuma decisão tiver sido tomada, dever-se-á então, reduzir o período de amostragem pela metade.



**Figura 3.** Número médio de unidades amostrais observadas ( $Epn$ ) do plano de amostragem seqüencial para ramos no período vegetativo, onde  $p$  é a proporção de plantas infestadas.

A Figura 5 mostra a curva característica operacional, que apresenta a probabilidade de aceitar a hipótese  $H_0$  para um nível de infestação qualquer.

A curva que representa o número esperado de unidades amostrais (Figura 6), mostra que para uma infestação de 74% de plantas com cochonilha, são necessárias 5 unidades amostrais para se tomar uma decisão, e para uma infestação de 12%, são necessárias



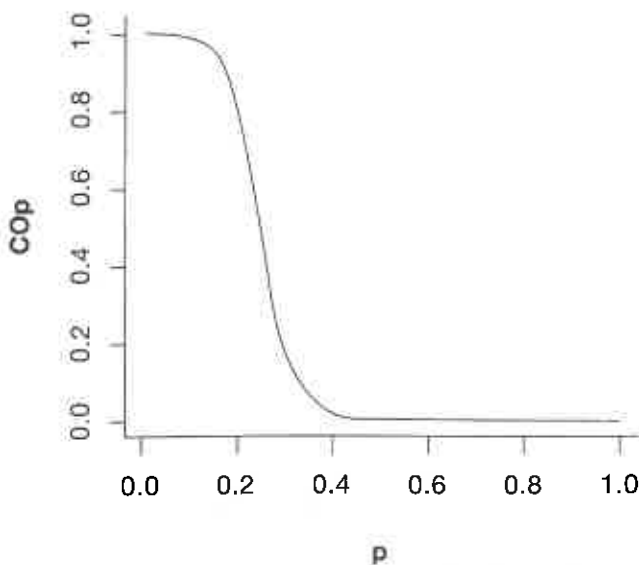
**Figura 4.** Linhas de decisão do plano de amostragem seqüencial para ramos no período de frutificação, onde  $m$  é o número de plantas observadas e  $km$  é o número de plantas observadas com a presença da cochonilha viva.

**Tabela 5. Plano de amostragem seqüencial para o monitoramento da cochonilha-branca em ramos no período de frutificação.** P.O. (Plantas observadas), L.I. (Limite inferior), N° Ac. (Número acumulado de plantas infestadas) e L.S. (Limite superior)

P.O.	L.I.	N° Ac.	L.S.	P.O.	L.I.	N° Ac.	L.S.
1				19	2		7
2				20	2		8
3				21	3		8
4				22	3		8
5				23	3		8
6				24	3		9
7				25	4		9
8				26	4		9
9				27	4		9
10				28	4		10
11	0		5	29	5		10
12	0		6	30	5		10
13	1		6	31	5		10
14	1		6	32	5		10
15	1		6	33	6		11
16	1		7	34	6		11
17	2		7	35	6		11
18	2		7	36	6		11

20 plantas. Verifica-se novamente que o máximo valor esperado ocorre quando  $p_0 < p < p_1$ , ou seja, para uma proporção de 25% de plantas infestadas, ocorre o número máximo esperado de unidades amostrais que é de 36 plantas.

As expressões das linhas de decisão para a amostragem em frutos estão representadas na Figura 7, onde as mesmas correspondem a  $S_0 = -1,145851 + m * 0,09193433$  até a qual



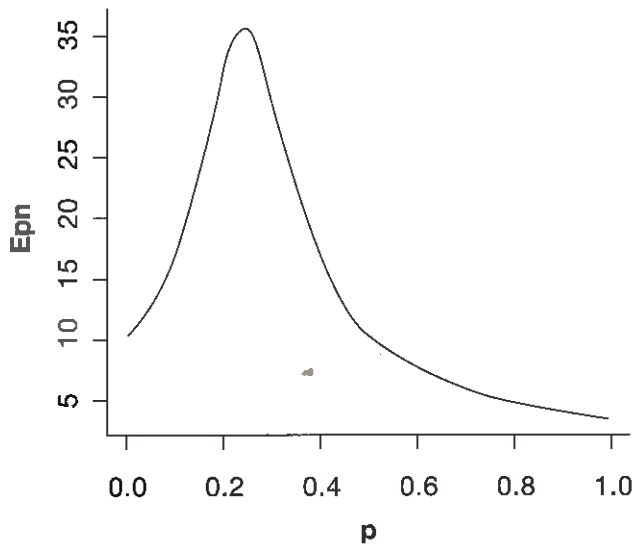
**Figura 5.** Curva característica operacional (COP) do plano de amostragem seqüencial para ramos no período de frutificação, onde p é a proporção de plantas infestadas.

deve-se aceitar  $H_0$  e  $S_1 = -1,145851 + m * 0,09193433$  a partir da qual aceita-se  $H_1$ .

Também foi elaborada uma planilha para inspeção em frutos (Tabela 6) para a realização de amostragem no campo. As definições dos limites inferior e superior e de anotação dos dados seguiram os mesmos procedimentos aplicados para ramos nos períodos vegetativo e de frutificação, citados anteriormente. Agora, a tomada de decisão deve ser feita a partir da 13ª unidade amostral. Enquanto o número acumulado de plantas infestadas permanecer na coluna do meio, deve-se dar prosseguimento à amostragem até atingir o valor máximo esperado de unidades amostrais que é de 17 plantas. Quando o número máximo esperado de plantas tiver sido alcançado, e nenhuma decisão for tomada, dever-se-á então, diminuir o tempo de amostragem pela metade.

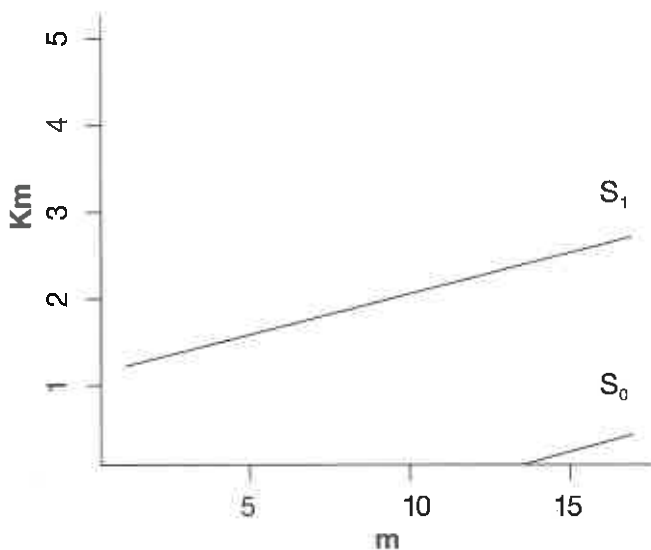
Através da curva característica operacional (Figura 8), pode-se tomar como exemplo, uma proporção de 29% de plantas infestadas, nesse caso a probabilidade de aceitar  $H_0$  é de 0,0154, ou seja, a probabilidade de recomendar o controle é de 0,9846. Considere-se agora uma proporção de 2% de unidades amostrais infestadas, verifica-se daí que a probabilidade de aceitar  $H_0$  é igual a 0,9411, ou seja, a probabilidade de recomendar o controle é de 0,0589.

Pode-se verificar através da curva que representa do número esperado de unidades amostrais (Figura 9),



**Figura 6.** Número médio de unidades amostrais observadas (Epn) do plano de amostragem seqüencial para ramos no período de frutificação, onde p é a proporção de plantas infestadas.

que o máximo valor esperado de observações (17 plantas) ocorre para uma proporção de 7% de unidades amostrais infestadas. Como exemplo, pode-se verificar, também, que para uma proporção de 43% de plantas com a presença da cochonilha, são necessárias apenas 3 unidades amostrais para se tomar uma decisão, enquanto que para uma infestação de 1%, são necessárias 14 observações.



**Figura 7.** Linhas de decisão do plano de amostragem seqüencial para frutos, onde m é o número de plantas observadas e km é o número de plantas observadas com a presença da cochonilha viva.

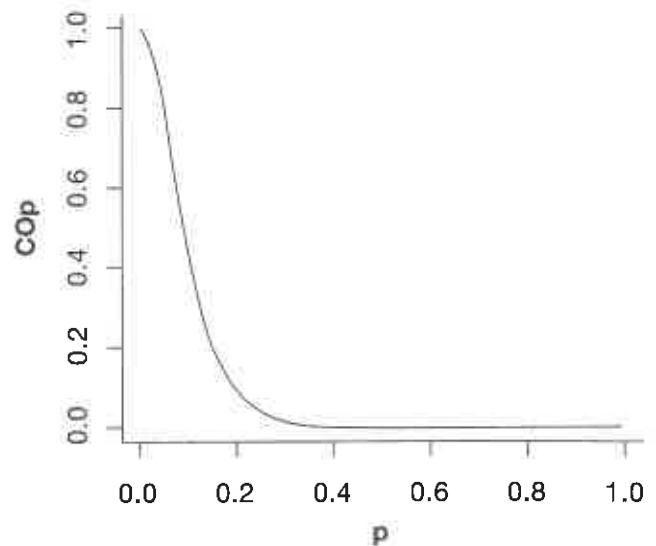
**Tabela 6.** Plano de amostragem seqüencial para o monitoramento da cochonilha-branca em frutos

Plantas Observadas	Limite inferior	Nº acumulado de plantas infestadas	Limite Superior
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13	0		2
14	0		2
15	0		3
16	0		3
17	0		3

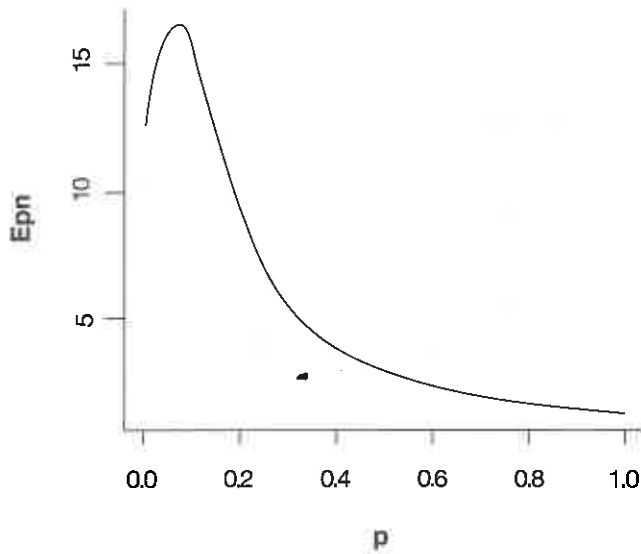
### Conclusões

A distribuição binomial ajustou-se aos dados de presença-ausência da cochonilha-branca na cultura da manga.

A aplicação desses planos deve ser feita apenas em propriedades localizadas nos municípios da região noroeste do estado de São Paulo, em função dos dados terem sido coletados nessa região.



**Figura 8.** Curva característica operacional (COp) do plano de amostragem seqüencial para frutos, onde p é a proporção de plantas infestadas.



**Figura 9.** Número médio de unidades amostrais observadas (Epn) do plano de amostragem seqüencial para frutos, onde p é a proporção de plantas infestadas.

Recomenda-se que os planos de amostragem seqüencial elaborados, sejam aplicados somente em talhões de até cinco (5) hectares.

### Agradecimentos

Aos engenheiros agrônomos do Comitê Gestor da PIF Manga Jair Marconato, João Murakami, Luis Bassoli, Mario Frederico, Ryosuke Kavati e Vera Palla pela orientação a respeito do monitoramento da cochonilha. Ao Dr. Marcus Barifouse Matallo pesquisador do Intituto Biológico de Campinas pela tradução do resumo para o espanhol.

### Literatura citada

- Bechinski, EJ; Stoltz, RI. 1985. Presence-absence sequential decision plans for *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in garden-seed beans, *Phaseolus vulgaris*. Journal of Economic Entomology 78:1475-1480.
- Crocomo, WB. 1990. O que é o manejo de pragas. In Crocomo, WB. (Org.). Manejo Integrado de Pragas. Botucatu: UNESP; São Paulo: CETESB. p. 9-34.
- Farias, PRS; Barbosa, JC; Busoli, AC. 2001. Amostragem seqüencial (presença-ausência) para *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho. Neotropical Entomology 30(4): 691-695.
- Perosa, JMY; Pierre, FC. 2002. Técnicas de pós-colheita e expansão da cultura da manga no estado de São Paulo. Revista Brasileira de Fruticultura 24(2): 381-384.
- Scorza Junior, RP; Aquino, LH De; Bueno, VHP. 1996. Plano de amostragem seqüencial para avaliação de infestação de *Therioaphis trifolli* (Monell) f. maculata (Homoptera: Aphididae) em Albany, Califórnia, EUA. Ciências e Agrotecnologia 20(3): 346-351.
- Silveira Neto, S. 1990. Monitoramento e decisão no controle de pragas. In: CROCOMO, W.B. (Org.). Manejo Integrado de Pragas. Botucatu: UNESP; São Paulo: CETESB. p. 71-86.
- Souza Filho, MF; Costa, VA; Pazini, WC. 2004. Manejo Integrado de Pragas na cultura da manga. In Rozane, DE; Darezzi, RJ; Aguiar, RL; Aguilera, HA; Zambolim, L. (ed.). Manga: Produção Integrada, Industrialização e Comercialização. Viçosa: UFV. p. 339-376.
- Taylor, LR. 1984. Assessing and interpreting the spatial distributions of insect populations. Annual Review of Entomology 29: 321-357.
- Wald, A. 1945. Sequential tests of statistical hypothesis. Annals of Mathematical Statistics 16: 117-186.
- Wilson, LT; Room, PM. 1983. Clumping patterns of fruit and arthropods in cotton with implications for binomial sampling. Environmental Entomology 12: 50-58.

# Emprego de inseticidas alternativos no controle da mosca-branca (*Bemisia tabaci*, biotipo B, Homoptera: Aleyrodidae) no tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Antônio Nustenil de Lima<sup>1</sup>  
Jacinto de Luna Batista<sup>2</sup>  
Walter Esfrain Pereira<sup>2</sup>  
Nivânia Pereira da Costa<sup>3</sup>  
José Lucínio de Oliveira Freire<sup>4</sup>  
Serverino Pereira de Sousa Jr.<sup>5</sup>  
Ridelson Farias de Sousa<sup>5</sup>

**RESUMO.** A produção de tomates tem sofrido perdas pela grande quantidade de pragas que atacam essa cultura, e conseqüentemente pelo custo com grande número de aplicações com inseticidas convencionais utilizados para controlar insetos-pragas, onerando o custo de produção e agredindo o meio ambiente. O objetivo desse de este experimento foi avaliar o efeito da aplicação de soluções à base de enxofre, detergente neutro e óleo mineral, como inseticidas alternativos, no controle da população da mosca-branca na cultura do tomateiro. O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Setor de Fitossanidade do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Areia – PB. Foram utilizados seis tratamentos: T1=enxofre, T2=enxofre + detergente neutro, T3=detergente neutro, T4=óleo mineral, T5=óleo mineral + detergente neutro, T6=testemunha. Após 25 dias da germinação, as mudas foram transplantadas para baldes onde foram feitas aplicações dos produtos aos 20, 30 e 40 dias após o transplantio. Foram realizadas duas contagens do número de larvas, uma antes e a outra após a aplicação dos produtos. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial 6x3 (6 produtos x 3 épocas de aplicação) a 5% de significância pelo teste F. Foram observados para todos os produtos utilizados, efeitos na redução da população de *B. tabaci*, sendo os tratamentos com enxofre os mais eficientes.

**Palavras chaves:** inseticida alternativo, *Bemisia tabaci*, *Lycopersicon*, enxofre, óleo mineral.

**ABSTRACT.** Effects of alternative insecticides on white fly (*Bemisia tabaci*, biotype B, Homoptera: Aleyrodidae) control on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Tomato production is adversely affected by several insect pests, and the great number of conventional insecticides used to control them, increasing the cost of production and affecting the environment. We evaluated the effect of sulfur, neutral detergent and mineral oil as alternative insecticides to control whitefly populations on tomato. The experiment was conducted in a greenhouse located at the Centro de Ciencias Agrarias of the Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB. Six treatments were used: T1 = sulfur, T2 = sulfur + neutral detergent, T3 = neutral detergent, T4 = mineral oil, T5 = mineral oil + neutral detergent and T6 = control. Seedlings were transplanted 25 days after germination into buckets where applications of products were made at 20, 30 and 40 days after transplanting. We did counts of the number of nymphs, one before and one after each application. A completely randomized 6 x 3 factorial experimental design (6 products x 3 application time) with 5% of significance was set. Effects on the reduction of *B. tabaci* populations were observed for all products, with sulfur being the most efficient treatment.

**Keywords:** alternative insecticide, *Bemisia tabaci*, *Lycopersicon*, sulfur, mineral oil.

<sup>1</sup> Pos Doutorado em Engenharia Agrícola, Bolsista Do CNPq-Brasil. Escola Agrotécnica Federal de Crato-CE-Brasil nuster@oi.com.br

<sup>2</sup> CCA-Universidade Federal da Paraíba-Areia-PB-Brasil.

<sup>3</sup> Pesquisadora CNPq

<sup>4</sup> Escola Agrotécnica Federal de Crato-CE-Brasil.

<sup>5</sup> Universidade Federal de Campina Grande. Paraíba, Brasil. severino-ita@bol.com.br; ridelsonfarias@yahoo.com.br



## Introdução

A mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Homoptera: Aleyrodidae), também conhecida como *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring é, atualmente, uma das principais pragas do tomateiro e seu controle é dificultado pelo seu hábito de permanecer na face abaxial das folhas (Villas Boas *et al.* 1997). Esse biótipo é bastante agressivo e desenvolve resistência aos inseticidas convencionais com maior facilidade quando comparado ao biótipo "A" (Bethke *et al.* 1991, Prabhaker *et al.* 1998).\*

No Brasil a mosca-branca encontra-se disseminada desde o Paraná até o Rio Grande do Norte, atacando um grande número de plantas cultivadas (Villas Boas *et al.* 1997). O uso excessivo de defensivos agrícolas no controle da mosca-branca se deve, em parte, à falta de conhecimento dos fatores que regulam as suas populações. Esse conhecimento poderia facilitar a previsão do ataque e sua magnitude, como também reduzir os danos econômicos (Dent 1995). Nas últimas duas décadas, o controle das *Bemisia spp.* foi baseado exclusivamente nos inseticidas convencionais (Sharaj 1986). Em virtude do rápido desenvolvimento de resistência dessa praga aos inseticidas convencionais (Prabhaker *et al.* 1998) e dos problemas resultantes do uso de tais produtos para o ambiente, soluções alternativas de controle têm sido pesquisadas e, entre estas, incluem-se o uso de detergente neutro (0,5%) e óleos minerais (0,5% a 0,8%) (Villas Boas *et al.* 1997), aplicados puros, ou misturados com outros produtos alternativos ou com inseticidas convencionais, para o controle destes insetos. Esses produtos reduzem a oviposição de mosca-branca e causam redução no desenvolvimento das larvas, especialmente no primeiro estágio (Villas Boas *et al.* 1997).

Para o desenvolvimento de estratégias de manejo dessa praga, um dos pontos fundamentais é a disponibilidade de produtos de baixo custo e eficientes.

O objetivo de este experimento foi avaliar o efeito da aplicação de soluções alternativas no controle da mosca-branca em plantas de tomateiro.

## Materiais e métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Setor de Fitossanidade do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, em Areia-PB.

As sementes de tomateiro da variedade Santa Clara foram semeadas em bandejas de isopor de 120 células, utilizando como substrato terra vegetal e

areia (2:1). Aos 20 dias após a germinação, as plantas foram transplantadas para baldes plásticos, contendo 10 litros de substrato (terra vegetal e areia) na mesma proporção descrita anteriormente.

A população de mosca-branca utilizada no experimento foi proveniente de criação mantida em plantas de couve, algodão e feijão, em vasos, na mesma casa de vegetação. Essas plantas foram colocadas próximas as mudas de tomateiros para que ocorresse infestação.

Para fins de descontaminação do substrato, foi feito a esterilização em auto-clave à temperatura de 120 °C durante 20 minutos. Os tratamentos utilizados foram enxofre diluído, na proporção de 2 g (0.2%) 2 g/1000 ml de água destilada, detergente neutro na proporção de 20 ml/1000 ml de água destilada, enxofre + detergente neutro na proporção de 2 g de enxofre + 20 ml de detergente neutro em 1000 ml de água destilada, óleo mineral parafínico (Assist®) na proporção de 10 ml/1000 ml de água destilada, óleo mineral + detergente neutro na proporção de 10 ml de óleo mineral + 20 ml de detergente neutro para 1000 ml de água destilada, e água destilada como testemunha. As aplicações foram feitas aos 20, 30 e 40 dias após o transplante, em toda planta, com auxílio de um pulverizador manual com capacidade para 1000 ml. Foram feitas contagens do número de larvas de mosca-branca que se encontravam no quarto estágio de desenvolvimento (pupário) no terceiro folíolo da planta antes e depois de três dias da aplicação dos produtos.

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado com 18 tratamentos, em esquema fatorial 6x3 (seis produtos e três épocas de aplicações) e 6 repetições para cada tratamento. A comparação de médias foi feita por meio de contrastes à 5% de probabilidade pelo teste F. Para análise, os dados foram transformados em  $\ln(x+1)$  utilizando o método de Box, que indicou ser a logarítmica a transformação adequada para obter variâncias homogêneas.

## Resultados e discussão

De acordo com os resultados mostrados na Tabela 1, observou-se que não houve efeito significativo para a interação épocas de aplicação x tratamentos, portanto, optou-se por estudar os tratamentos em função dos contrastes, uma vez que houve significância apenas para os tratamentos isolados.

A Fig. 1 representa a porcentagem de larvas no 4º estágio de desenvolvimento após a aplicação do

**Tabela 1.** Análise de variância do número de pupários vivos de mosca-branca em plantas de tomateiros. Areia, CCA/UFPB, 2004

Fonte de variação	GL	F
Tratamento (T)	(5)	62,63**
Testemunha vs Demais	1	43,27**
1 vs. 2	1	3,85 NS
3 vs. 4, e 2	1	0,33 NS
4 vs. 2	1	3,98 NS
5 vs. 4	1	1,26 NS
1, e 2 vs. 3, 4 e 5	1	14,25**
Época (E)	2	1,71 NS
T x E	10	2,37 NS
Resíduo	90	1,61
C.V.(%)		37,88

NS e \*\* = Não significativo e significativo a 1% de probabilidade, respectivamente pelo teste F.

1 = enxofre; 2 = enxofre + detergente; 3 = detergente neutro; 4 = detergente neutro + óleo mineral; 5 = óleo mineral; 6 = testemunha.

produto, sendo observado que a testemunha teve um aumento de larvas em 160% (tabela 2), provavelmente pela migração dos insetos das plantas que foram tratadas com produtos repelentes para as plantas utilizadas como testemunha, pois nas plantas tratadas com produtos repelentes a porcentagem de larvas foi consideravelmente diminuída.

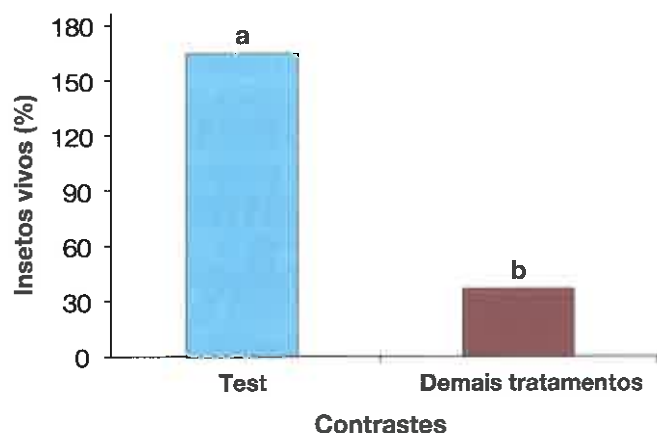
Observou-se ainda, que houve efeito significativo entre a testemunha e os demais tratamentos, sendo observado que os produtos utilizados (enxofre a 0.2% (2 g/1000 ml) de água; óleo mineral a 1% (10 ml/1000 ml) de água e detergente neutro a 2% (20 ml/1000 ml) de água foram eficientes na redução da população de pupários de mosca-branca, em comparação com a testemunha (Fig. 1).

No tratamento com enxofre houve redução da população de larvas de mosca-branca, porém, não deferiu significativamente do tratamento à base de

**Tabela 2.** Médias do número de ninfas antes e depois das aplicações dos tratamentos. Areia, CCA/UFPB, 2004

Tratamentos	Antes	Depois
1	195,6	38,2
2	197,3	65,4
3	238,7	72,0
4	170,3	71,7
5	209,3	55,8
6	123,0	155,3

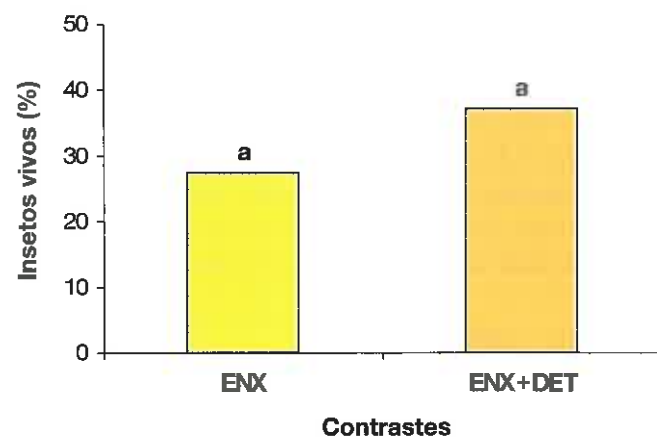
1 = enxofre; 2 = enxofre + detergente; 3 = detergente neutro; 4 = detergente neutro + óleo mineral; 5 = óleo mineral; 6 = testemunha.



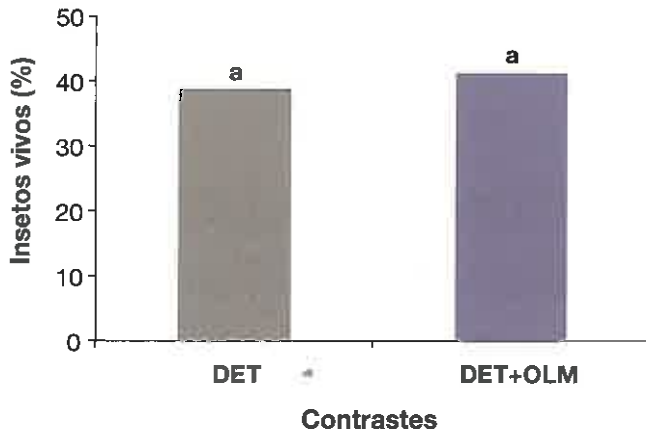
**Figura 1.** Porcentagem de insetos vivos em plantas de tomateiro. Contrastes entre a testemunha e os demais tratamentos. Areia, CCA/UFPB, 2004. Colunas com letras iguais não diferem a 5% de probabilidade pelo teste F.

enxofre + detergente neutro (Fig. 2). O número de pupários de mosca-branca vivas na planta de tomate com o uso de ambos os produtos, foi de 28% e 38%, respectivamente, quando se utilizou os tratamentos a base de enxofre e enxofre + detergente neutro, o qual poderia indicar que a adição de detergente ao enxofre não é necessária, já que não houve um efeito sinérgico e que ao usar o detergente só foi efetivo na redução da população de larvas sem níveis de significância.

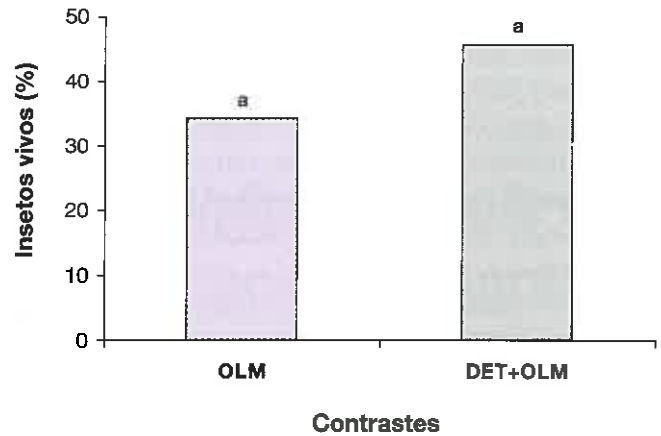
Observou-se pelas Fig. 3 e 4, que o tratamento utilizando apenas detergente neutro (det) foi eficiente na redução da população de larvas da mosca-branca, muito embora não tenha havido diferença significativa



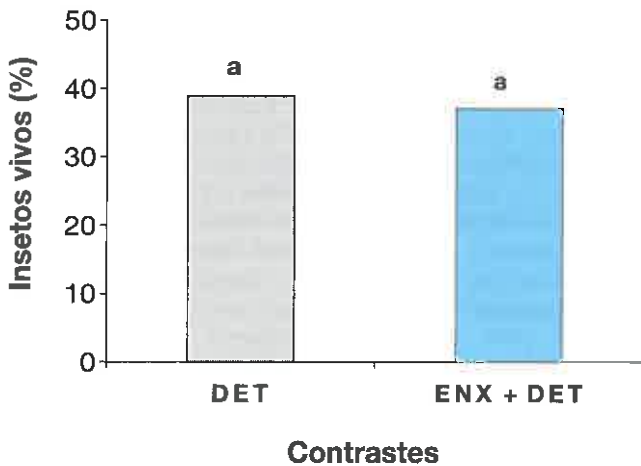
**Figura 2.** Porcentagem de insetos vivos em plantas de tomateiro. Contrastes entre os tratamentos à base de enxofre (enx) e enxofre + detergente (enx + det). Areia, CCA/UFPB, 2004. Colunas com letras iguais não diferem a 5% de probabilidade pelo teste F.



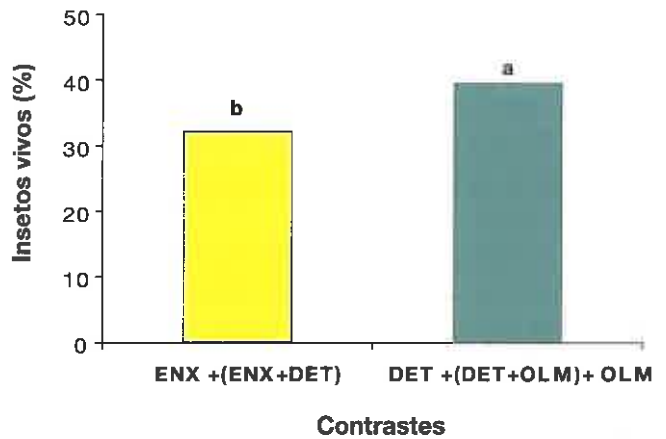
**Figura 3.** Porcentagem de insetos vivos em plantas de tomateiro. Contrastes entre os tratamentos com produtos a base de detergente (det) e detergente + óleo mineral (det + olm). Areia, CCA/UFPB, 2004. Colunas com letras iguais não diferem a 5% de probabilidade pelo teste F.



**Figura 5.** Porcentagem de insetos vivos em plantas de tomateiro. Contrastes entre os tratamentos com produtos a base de óleo mineral (olm) e detergente + óleo mineral (det + olm). Areia, CCA/UFPB, 2004. Colunas com letras iguais não diferem a 5% de probabilidade pelo teste F.



**Figura 4.** Porcentagem de insetos vivos em plantas de tomateiro. Contrastes entre os tratamentos com produtos a base de detergente (det) e enxofre+ detergente (enx + det). Areia, CCA/UFPB, 2004. Colunas com letras iguais não diferem a 5% de probabilidade pelo teste F.



**Figura 6.** Porcentagem de insetos vivos em plantas de tomateiros. Contrastes entre os tratamentos com produtos a base de enxofre e enxofre + detergente (enx e enx+det), detergente e detergente + óleo mineral e óleo mineral (det + det+olm + olm). Areia, CCA/UFPB, 2004.

entre este e os tratamentos compostos com detergente neutro (det + olm e enx + det).

O tratamento com óleo mineral foi eficiente na redução da população de larva da mosca-branca, mas não deferiu significativamente do tratamento composto com detergente e óleo mineral (Fig.5). O óleo mineral, quando utilizado isoladamente, provocou redução da população, de modo que somente havia aproximadamente 34% de larvas vivas na planta. A aplicação do produto composto com detergente mais óleo mineral, na concentração utilizada, permitiu que aproximadamente 45% das larvas permanecessem vivas na planta.

Após a utilização de contrastes, observou-se que houve efeito significativo entre os tratamentos compostos com enxofre em relação àqueles compostos com detergente neutro e óleo mineral na redução da população de larvas de mosca-branca (Fig. 6).

Colunas com letras iguais não diferem a 5% de probabilidade pelo teste F.

De maneira geral, constatou-se que a utilização do enxofre quer seja apenas em água ou misturado com detergente, proporcionou um menor número de larvas vivas na planta (Fig. 2 e 4). No entanto, esse aspecto foi mais evidenciado quando os tratamentos utilizando enxofre foram contrastados

com os demais tratamentos como observado na Fig. 6, de modo que os tratamentos com enxofre (enx e enx + det) permitiram estatisticamente uma menor porcentagem de larvas vivas, quando comparadas com os tratamentos detergente, detergente + óleo e óleo mineral, sendo que todos os produtos utilizados provocaram redução da população de larvas de mosca-branca.

Estes resultados podem ser comparados com os obtidos por Hilje (1996), quando verificou redução na população de larvas e pupários de mosca-branca, com detergente neutro associado à inseticidas, à base de enxofre.

O uso de óleo mineral e detergente neutro vem sendo recomendado na concentração de 0,5 à 0,8% na calda, três dias após o uso de agroquímicos (Kissman 1997). A eficiência desses produtos depende muito de uma boa cobertura de aplicação, principalmente na face inferior da folha (Gallo *et al.* 2002).

Waller (1990) observou a eficiência da imersão de asparago em soluções de sabão e detergente neutro mais óleo mineral para o controle de *Thrips tabaci*. Também foi observado por Gómez *et al.* (1997) redução em população de larvas de mosca-branca quando usado o óleo mineral.

Provavelmente, os tratamentos à base de enxofre, detergente neutro e óleo mineral utilizados no trabalho exerceram efeitos inseticidas sobre as larvas de *B. tabaci*. Entretanto, são recomendados estudos visando avaliar as concentrações efetivas em condições de campo, a persistência, os mecanismos de ação e os demais aspectos necessários a sua utilização, para o controle dessa praga, contribuindo consideravelmente para o manejo integrado.

## Agradecimentos

Ao setor de Pós-Graduação em Agronomia do CCA da Universidade Federal da Paraíba; a Escola Agrotécnica Federal do Crato; a CAPES.

## Literatura citada

- Bethke, JA; Paine, TD; Nuessly, GS. 1991. Comparative biology, morphometrics, and development of two populations of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on cotton and poinsettia. *Annals of the Entomological Society of America* 84(4):407-411.
- Dent H, JR. 1995. Four new principles transforming our work and business. Jobshock. New York, US, St. Martin's Press.
- Gallo, D. 2002. Manual de entomologia agrícola. 2 ed. São Paulo – SP, BR, Agronômica Ceres. 649 p.
- Gomez, P; Cubillo, D; Mora, GA; Hilje, L. 1997. Evaluación de posibles repelentes de *Bemisia tabaci*: I. Productos comerciales. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* no. 46:9-16.
- Hilje, L. Repelentes. In: Hilje, L. (ed.) 1996. Metodologia para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Turialba, Costa Rica, CATIE. Unidad de Fitoproteccion. Cap. 9, p. 77-83.
- Kissman, KG. 1997. Adjuvantes para caldas de produtos fitossanitários. In Congresso Brasileiro da Ciência de Plantas Daninhas (21, 1997, Caxambu, MG). Palestras e mesas redondas. Viçosa, MG, BR, SBCPD. p. 61-77.
- Prabhaker, N; Toscano, NC; Henneberry, TJ. 1998. Evaluation of insecticide rotations and mixtures as resistance management strategies for *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 91(4):820-826.
- Sharaf, N. 1986. Agriculture. *Ecosystems and Environment* 17:111.
- Villas Bôas, GL; França, FH; Ávila, AC; Bezerra, IC. 1997. Manejo integrado da mosca-branca, *Bemisia argentifolii*. Brasília, BR, Embrapa-CNPq. 11 p. (Embrapa-CNPq. Circular Técnica, 9).
- Waller, JB. 1990. Insecticidal soaps for postharvest control of thrips in asparagus. In: Weed and Pest Control Conference (43, 1990, Nova Zelândia). *Proceedings*. p. 60-62.

# Ocurrencia estacional de *Coccidophilus citricola* y de sus principales presas en una plantación de naranjos

Julio César Guerreiro<sup>1</sup>  
Evoneo Berti Filho<sup>2</sup>  
Antonio Carlos Busoli<sup>3</sup>  
Marcelo Gustavo Ruiz<sup>4</sup>

**RESUMEN.** Este trabajo describe la ocurrencia estacional, la constancia de ocurrencia de *Coccidophilus citricola* y la correlación de su presencia con la de las escamas. El estudio se desarrolló en una plantación de naranjos en el municipio de Taiúva, Estado de São Paulo, Brasil. Los muestreos se llevaron a cabo quincenalmente tomando 25 plantas al azar, desplazándose el observador alrededor de la planta y registrando la presencia de *C. citricola* en los estratos superior (hojas y ramas) e inferior (troncos y ramas principales) de la planta. De cada planta muestreada se retiraron hojas del estrato superior y una pequeña porción de corteza del estrato inferior para observar la presencia concomitante de escamas. Los muestreos fueron considerados eficientes, observándose que *C. citricola* tiene una ocurrencia similar en ambos estratos de la planta, siendo más abundante a mediados de primavera y principio de verano. *C. citricola* demostró ser una especie constante en el huerto de cítricos, estando su presencia correlacionada positivamente con la de las escamas *Parlatoria ziziphi* y *P. cinerea*, plagas importantes de los cítricos.

**Palabras clave:** escamas, vaquitas depredadoras, depredadores, enemigos naturales.

**RESUMO.** Ocorrência estacional de *Coccidophilus citricola* e de suas principais presas na cultura dos cítricos. Este trabalho trata da ocorrência estacional, constância de ocorrência de *Coccidophilus citricola* e a correlação de sua ocorrência com a das cochonilhas de carapaça. O estudo foi desenvolvido em um pomar de citros, no município de Taiúva, SP, durante o período de 2002/2003. As amostragens foram realizadas quinzenalmente em 25 plantas ao acaso, através de observações da ocorrência de *C. citricola*, no estrato superior da planta (folhas e ramos) e no estrato inferior (troncos e pernadas), em um caminhamento ao redor de cada planta. Em cada planta amostrada retiraram-se folhas do estrato superior e uma pequena porção da casca do estrato inferior, para que fosse observada a ocorrência concomitante de cochonilhas de carapaça. As amostragens foram consideradas eficientes, observando-se que *C. citricola* tem ocorrência semelhante no estrato inferior e superior da planta, sendo mais abundante em meados da primavera e início do verão. *C. citricola* mostrou, ser uma espécie constante no pomar cítrico, tendo sua ocorrência correlacionada positiva e significativamente com as cochonilhas *Parlatoria ziziphi* e *P. cinerea*, pragas importantes da cultura dos citros.

**Palavras-chave:** Cochonilhas de carapaça, joaninhas, predadores, inimigos naturais.

**ABSTRACT.** Seasonal occurrence of *Coccidophilus citricola* and its scale preys in an orange grove. This paper describes the seasonal occurrence of *Coccidophilus citricola* and its correlation to that of the citrus armored scales. The experiments were set in a citrus crop in the municipality of Taiúva, State of São Paulo, Brazil. We

<sup>1</sup> Escola Superior de Agronomia de Paraguaçu Paulista, São Paulo, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Av. Pádua Dias, nº 11, 13418-900, Piracicaba, São Paulo, Brasil.

<sup>3</sup> Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellani, s/n, 14880-900, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

<sup>4</sup> Depto. de Fitossanidade - UNESP/FCAV, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. - CEP: 14880-900 - Jaboticabal, SP - Brasil.

took random samples from 25 plants by observing the occurrence of *C. citricola* in the plant upper stratum (leaves and twigs) and the inferior stratum (trunk) walking around each plant. Our results show that *C. citricola* occurs in both strata, and is more abundant in mid-spring and early summer. We also observed that its occurrence is positively and significantly correlated with that of the armored scales *Parlatoria ziziphi* and *P. cinerea*, important pests of citrus crops.

**Keywords:** armored scales, lady beetle, predators, natural enemies

## Introducción

El agroecosistema cítrico presenta una rica entomofauna, que incluye una gran cantidad de especies de ácaros, insectos fitófagos, depredadores y parasitoides pertenecientes a diferentes grupos taxonómicos. Entre las plagas se destacan ácaros, escamas, moscas de la fruta, gusanos del fruto, coleópteros depredadores de las raíces, cigarritas y minadores de los cítricos (Gravena 1984, Busoli 1992, Paiva et ál 2000, Dantas 2002).

La aparición de desequilibrios ambientales debido a la aplicación intensiva de plaguicidas de amplio espectro ha sido observada desde hace mucho tiempo en varios cultivos, destacándose el de los cítricos (Gravena y Lara 1976).

Con el objetivo de preservar sus plantaciones de las plagas primarias, los fruticultores utilizan plaguicidas, la mayoría de las veces no selectivos, que producen efectos adversos sobre la fauna benéfica, causando así el aumento poblacional de plagas secundarias como consecuencia de la reducción de las poblaciones de sus enemigos naturales (Gravena 1990, Busoli 1992).

Las escamas que aparecen en el agroecosistema cítrico son plagas secundarias que pueden resultar importantes según el desequilibrio ambiental producido. Entre estas destacan las escamas *Selenaspidus articulatus* Morgan; *Parlatoria ziziphi* (Lucas), *Parlatoria pergandii* Comstock; *Parlatoria cinerea* Deane & Hadden; *Chrysomphalus aonidium* L. y *Unaspis citri* Comstock (Gravena 1986, Busoli 1992, Pinto 1995).

Según Pinto (1995), las escamas causan daños que pueden ser severos cuando alcanzan poblaciones numerosas, ya que además de la continua succión de savia de las hojas, frutos y ramas, introducen toxinas que causan el debilitamiento de las plantas, defoliación y pérdida de la calidad de los frutos.

Una de las alternativas al uso continuo de plaguicidas es el aumento y la conservación de depredadores y parasitoides en los frutales (De Bach 1964, Hodek 1973). Los depredadores actúan de

forma enfática en el control biológico de escamas, disminuyendo los daños causados por esta plaga en el agroecosistema cítrico (Silva et ál. 2003).

Entre esos depredadores destacan las llamadas "vaquitas depredadoras", pertenecientes a la familia Coccinellidae, gracias a su capacidad de reducir las poblaciones de áfidos, escamas y ácaros (Hagen 1962, Parra et ál. 2003). Según Olkowski et ál. (1990), los insectos pertenecientes a esta familia están distribuidos mundialmente, comprenden cerca de 5000 especies conocidas, son cosmopolitas y están presentes en casi todos los ecosistemas, como bosques, sabana, tundra, cultivos agrícolas, etc, y están adaptadas a las más variadas condiciones ambientales, con comportamientos diferentes según el nicho ecológico ocupado (Iperti 1999).

En América del Sur y el Brasil, la vaquita depredadora *Coccidophilus citricola* Brèthes se destaca como uno de los más importantes depredadores de escamas de los cítricos (Gravena 1990, Santos 1995, Silva et ál. 2003). Por su parte, según Silva (2002) se encuentran pocos estudios respecto de su bioecología, debido a su diminuto tamaño y a las dificultades para su cría en laboratorio.

Considerando la existencia de pocas referencias, principalmente en lo que se refiere a estudios realizados en el campo, el presente trabajo ha tenido como objetivo determinar la ocurrencia estacional de esta especie, el estrato de la planta ocupado, y la correlación entre su ocurrencia y la de sus principales presas.

## Materiales y métodos

El experimento fue realizado en una plantación de naranjos *Citrus sinensis* (L.) 'Pêra-Rio', conformada por 2000 plantas de 4 años de edad, situada en el municipio de Taiúva, Estado de São Paulo, Brasil. Se realizaron muestreos quincenales durante las cuatro estaciones entre los meses de marzo de 2002 y febrero de 2003. En cada muestreo se evaluaron 25 plantas durante 5 minutos cada una, tomadas al azar siguiendo la metodología descrita por Iperti (1999) y Lo (2000),

que se basa en realizar una inspección visual durante un período mínimo de observación.

El muestreo se realizó caminando alrededor de la planta y observando en este proceso la presencia de larvas y adultos de *C. citricola* en las hojas y ramas del estrato superior de la planta y en los troncos y ramas principales en el estrato inferior. Los coccinélidos fueron identificados por comparación con material identificado y mantenido en el Departamento de Fitosanidad de la FCAV-UNESP/Jaboticabal.

Además de la observación y recolección de *C. citricola*, se realizó un muestreo concomitante de las principales plagas asociadas a la presencia o no del depredador en el área estudiada. Para ello, se retiraron 5 hojas al azar del estrato superior de la planta a la altura del pecho del observador (1,50 m aproximadamente), pues según Pinto (1995) esta región de la planta es una de las más representativas en cuanto a la presencia de escamas tales como *S. articulatus* e *P. ziziphi*. En el estrato inferior se retiró, con la ayuda de una navaja, una porción de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> de la superficie de la corteza de troncos y de las ramas principales para el conteo del número de escamas de *P. cinerea*.

El material recolectado fue acondicionado en bolsas de material plástico y enviado al laboratorio, donde utilizando lupa binocular, pincel y agujas histológicas, se procedió a determinar el número de escamas vivas (levantando para ello los escudos) y la identificación de las especies a través de su comparación con material identificado y mantenido en el Departamento de Fitosanidad de la FCAV-UNESP/Jaboticabal.

Con los datos obtenidos se determinó el lugar de la planta para la ocurrencia de *C. citricola*, además del análisis de correlación lineal simple entre el número medio de *C. citricola* por unidad de muestra y de las principales escamas observadas, determinando la abundancia de este coccinélido en las diferentes estaciones del año.

Con el estudio del porcentaje de ocurrencia de *C. citricola* en los muestreos fue calculada la constancia de ocurrencia de las especies estudiadas mediante la fórmula propuesta por Silveira Neto et ál. (1976):

$$C = \frac{p \times 100}{N}$$

donde:

*C* = constancia de ocurrencia

*p* = número de muestreos que contienen la especie estudiada

*N* = total de muestreos realizados

## Resultados y discusión

El tipo de muestreo utilizado demostró una gran eficiencia. En todos los muestreos *C. citricola* fue observada, contada y algunos ejemplares fueron recolectados, lo que concuerda con Ipertí (1999) y Lo (2000), quienes indicaron que el método visual es el más adecuado para coccinélidos en frutales, como son los naranjos.

Sin embargo, este método de muestreo no permitió la visualización de oviposiciones pues según Silva (2002) y Guerreiro et ál. (2003), los coccinélidos depredadores de escamas ovipositan debajo de los escudos de las escamas depredadas. Este comportamiento podría atribuirse a la protección de la descendencia respecto de la depredación, el parasitismo y las condiciones climáticas desfavorables (Guerreiro 2001).

En la mayoría de los muestreos efectuados se observó la presencia de *C. citricola* en los estratos superior e inferior de la planta (Cuadro 1). Estos resultados indican que *C. citricola* no demostró preferencia por las presas presentes en uno u otro estrato; en concordancia con Hagen (1962), Hodek (1973) y Hodek y Honek (1996), los coccinélidos presentan una dinámica de caminar en la planta, siempre en busca de presas más abundantes y, según Silva (2002), de fases de desarrollo preferidas tales como ninfas móviles o recién fijadas.

El punto de ocurrencia más alto en el estrato superior (Cuadro 1) se presentó a principios de enero de 2003 con un valor medio de 11,32 ± 1,43 vaquitas depredadoras por planta, lo que representó el 77,53 % del total de individuos de esta especie observados en ese período. Para el estrato inferior, la mayor ocurrencia se verificó en noviembre de 2002 con 8,80 ± 1,87 vaquitas depredadoras/planta, lo que representó el 88,35 % del total de *C. citricola* en el período.

Ambos picos poblacionales ocurrieron en los meses de mayor abundancia de la especie en el campo, que de acuerdo con los resultados (Cuadro 1) ocurrió entre el inicio de noviembre de 2002 y el final de enero de 2003, período que corresponde a mediados de la primavera y principios del verano. De acuerdo con Hagen (1962), Hagen (1970) e Ipertí (1999), es este período el de mayor ocurrencia de coccinélidos en el campo debido principalmente a la presencia abundante de presas para su alimentación, lo cual implica un mejor desarrollo, aumento de la cópula, la oviposición y un consecuente aumento de la población en el campo.

**Cuadro 1.** Número medio y porcentaje de ocurrencia de *C. citricola*/planta en las diferentes estaciones del año, en los estratos superior (hojas y ramas) e inferior (troncos y ramas principales). Taiúva, SP, Brasil, 2002/2003

Fecha de Muestreo	Estación del año	<i>C. citricola</i> /planta		% de ocurrencia		Total / muestreo	
		Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior
07/03/02	Verano	0,20 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,08 ± 0,08	71,43	28,57	5	2
14/03/02	Verano	0,28 ± 0,11	0,64 ± 0,32	30,43	69,57	7	16
27/03/02	Otoño	0,52 ± 0,22	0,64 ± 0,28	44,83	55,17	13	16
11/04/02	Otoño	0,16 ± 0,08	0,28 ± 0,14	36,36	63,64	4	7
25/04/02	Otoño	0,12 ± 0,07	0,12 ± 0,12	50,00	50,00	3	3
08/05/02	Otoño	0,08 ± 0,08	0,60 ± 0,34	11,76	88,24	2	15
23/05/02	Otoño	0,16 ± 0,09	0,32 ± 0,18	33,33	66,67	4	8
12/06/02	Otoño	0	0	0	0	0	0
27/06/02	Invierno	0	0,12 ± 0,12	0	100,00	0	3
04/07/02	Invierno	0	0,12 ± 0,09	0	100,00	0	3
19/07/02	Invierno	0,12 ± 0,12	0,68 ± 0,30	15,00	85,00	3	17
07/08/02	Invierno	0,04 ± 0,04	0,60 ± 0,28	6,25	93,75	1	15
16/08/02	Invierno	0	0,28 ± 0,16	0	100,00	0	7
06/09/02	Invierno	0	0,44 ± 0,25	0	100,00	0	11
12/09/02	Invierno	0,40 ± 0,20	0,44 ± 0,15	47,62	52,38	10	11
03/10/02	Primavera	0,40 ± 0,18	0,84 ± 0,48	32,26	67,74	10	21
12/10/02	Primavera	0,16 ± 0,12	0,80 ± 0,31	16,67	83,33	4	20
27/10/02	Primavera	1,52 ± 0,34	1,32 ± 0,57	53,52	46,48	38	33
07/11/02	Primavera	1,04 ± 0,30	8,80 ± 1,87	10,44	88,35	26	220
21/11/02	Primavera	3,52 ± 0,99	3,24 ± 0,60	52,07	47,93	88	81
05/12/02	Primavera	4,12 ± 0,98	3,40 ± 0,50	54,79	45,21	103	85
19/12/02	Primavera	5,64 ± 0,97	6,28 ± 1,54	47,32	52,68	141	157
09/01/03	Verano	11,32 ± 1,43	3,28 ± 0,46	77,53	22,47	283	82
31/01/03	Verano	3,88 ± 0,76	1,68 ± 0,35	69,78	30,22	97	42
14/02/03	Verano	1,08 ± 0,33	1,16 ± 0,72	48,21	51,79	28	29
27/02/03	Verano	1,96 ± 0,42	0,68 ± 0,26	74,24	25,76	49	17
<b>TOTAL</b>		1,41 ± 0,50	1,42 ± 0,41	49,95	50,05	919	921

Notas: <sup>a</sup> Media ± desviación estándar.

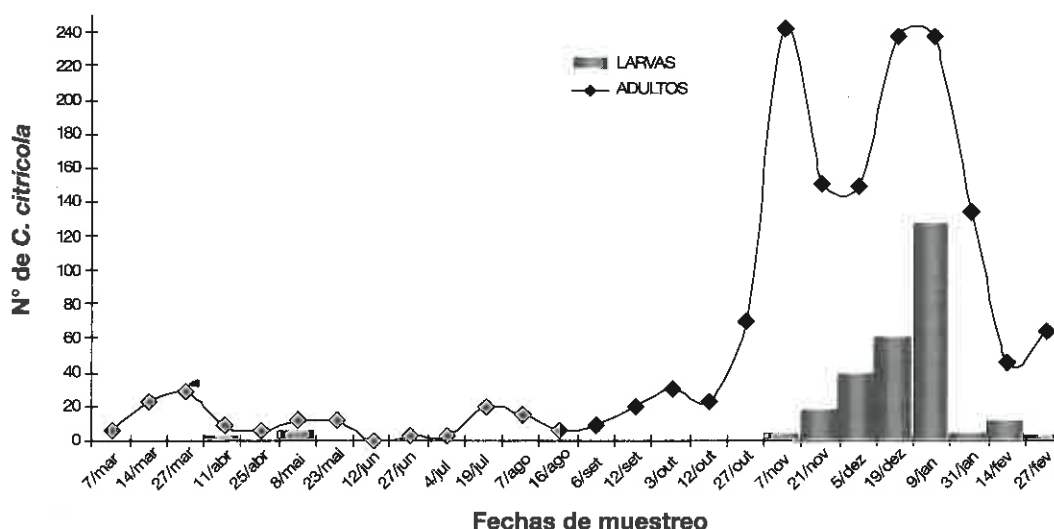
Durante el período en estudio los individuos adultos de *C. citricola* tuvieron mayor ocurrencia que aquellos en fase larval, los cuales prácticamente no fueron observados durante todos los muestreos. La ocurrencia de las fases larvales se vio aumentada a mediados de primavera e inicio del verano, período en el que se produce un aumento del número de presas y por consecuencia un aumento de las fases no migrantes del depredador, como es la larval (Silveira Neto et ál. 1976, Guerreiro et ál. 2003) (Figura 1).

Mediante la fórmula propuesta por Silveira Neto et ál. (1976), se obtuvo una constancia de ocurrencia de *C. citricola* durante el año de 80,76% en el estrato superior y 96,15% en el inferior; de acuerdo con estos resultados se puede concluir que *C. citricola* es una especie constante en el cultivo de cítricos.

De modo general, sin considerar el estrato de la planta o la fase de desarrollo de *C. citricola*, se observa que el coccinélido estuvo presente en prácticamente todos los muestreos, aun durante el invierno (Cuadro 1). De acuerdo con Hall & Ehler (1979) y Wissinger (1997), los cultivos perennes como los cítricos son un hábitat preferido por los coccinélidos debido a la mayor estabilidad y mejores opciones en cuanto a alimentación y abrigo, aun en épocas desfavorables.

Los resultados de la ocurrencia de la cochinilla en la parte aérea de la planta descritos anteriormente concuerdan con los resultados obtenidos por Pinto A.S. (1995) y Pinto (1995), quienes observaron una mayor ocurrencia de las escamas en la parte aérea de la planta en períodos calientes y húmedos del año.





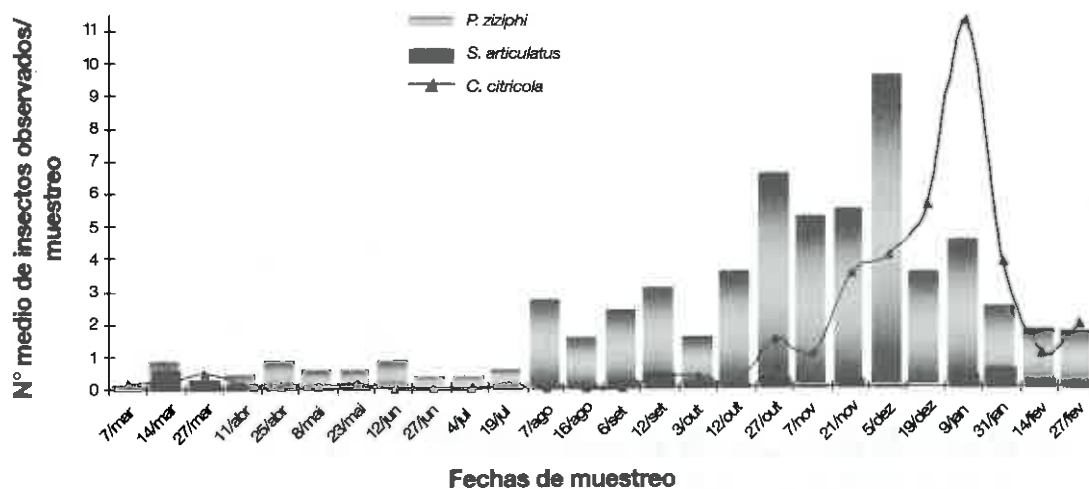
**Figura 1.** Ocurrencia estacional de larvas y adultos de *C. citricola* en naranjos durante el período de marzo/2002 a febrero/2003 en Taiúva, SP, Brasil.

La ocurrencia de *C. citricola* en el estrato superior de la planta es concomitante con el período de mayor presencia de las escamas *P. ziziphi* e *S. articulatus* (Figura 2). La presencia de este depredador en el campo fue correlacionada con la presencia de *P. ziziphi*, observándose una correlación lineal positiva y significativa ( $r = 0,52$ ;  $t = 2,89$ ;  $p = 0,01$ ), lo que implica un aumento del depredador con el aumento de su presa.

Respecto a la ocurrencia de escamas en la parte inferior de la planta (troncos y ramas principales),

se verificó la presencia de *Parlatoria cinerea*, con un valor medio de ocurrencia de  $1,10 \pm 0,22$  escamas en cada muestreo. La máxima presencia de *P. cinerea*, fue de  $4,60 \pm 1,06$  escamas por muestra en el inicio de la primavera (Cuadro 2; Figura 3).

En coincidencia con lo observado en el estrato superior, se notó que en el estrato inferior el período de mayor presencia de *C. citricola* fue concomitante con el aumento de la incidencia de la cochinilla *P. cinerea*, observándose una correlación lineal, positiva y significativa ( $r = 0,46$ ;  $t = 2,45$ ;  $p = 0,05$ ) (Figura 3).

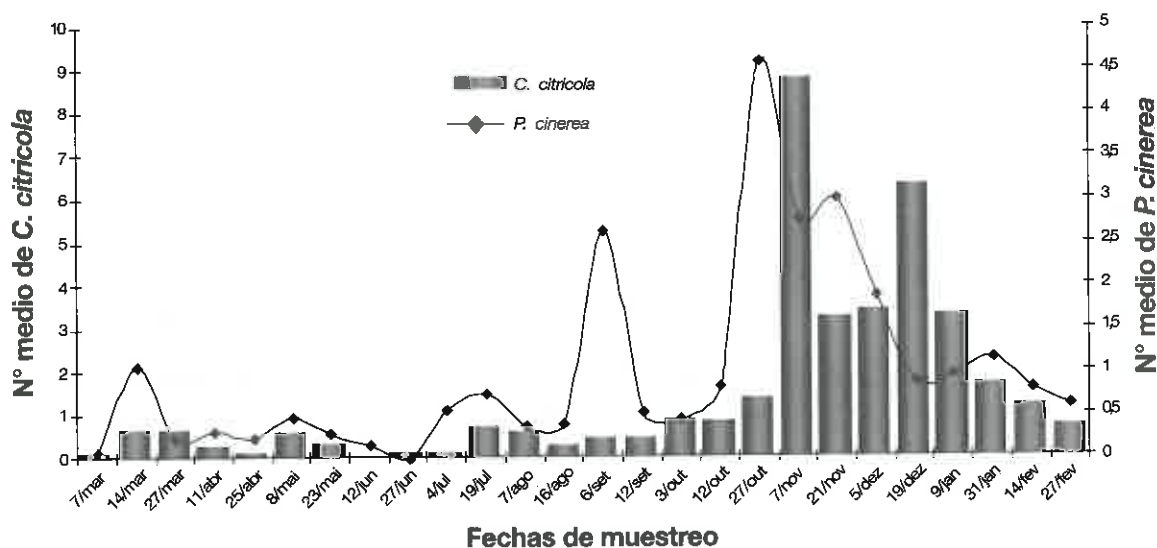


**Figura 2.** Ocurrencia estacional de *C. citricola* y de sus principales presas, *P. ziziphi* y *S. articulatus* en el estrato superior de la planta durante el período marzo/2002 a febrero/2003 en Taiúva, SP, Brasil.

**Cuadro 2.** Número medio de las cochonilhas *Parlatoria ziziphi*, *Selenaspilus articulatus* y *Parlatoria cinerea* observadas en las diferentes estaciones del año en Taiúva, SP, Brasil, 2002/2003

Fecha de muestreo	Estación del año	<i>Parlatoria ziziphi</i>	<i>Selenaspilus articulatus</i>	<i>Parlatoria cinerea</i>
07/03/02	Verano	0,128 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,136 ± 0,01	0,080 ± 0,08
14/03/02	Verano	0,792 ± 0,24	0,600 ± 0,12	1,080 ± 0,57
27/03/02	Otoño	0,248 ± 0,08	0,328 ± 0,10	0,240 ± 0,14
11/04/02	Otoño	0,384 ± 0,14	0,160 ± 0,04	0,320 ± 0,15
25/04/02	Otoño	0,808 ± 0,30	0,184 ± 0,05	0,240 ± 0,14
08/05/02	Otoño	0,528 ± 0,11	0,100 ± 0,04	0,480 ± 0,23
23/05/02	Otoño	0,512 ± 0,19	0,064 ± 0,03	0,280 ± 0,18
12/06/02	Otoño	0,800 ± 0,18	0,007 ± 0,04	0,160 ± 0,09
27/06/02	Invierno	0,360 ± 0,10	0,024 ± 0,01	0
04/07/02	Invierno	0,336 ± 0,09	0,016 ± 0,01	0,56 ± 0,32
19/07/02	Invierno	0,576 ± 0,23	0,112 ± 0,04	0,760 ± 0,30
07/08/02	Invierno	2,736 ± 0,62	0,112 ± 0,05	0,360 ± 0,17
16/08/02	Invierno	1,496 ± 0,44	0,104 ± 0,05	0,400 ± 0,79
06/09/02	Invierno	2,368 ± 0,76	0,272 ± 0,07	2,640 ± 1,51
12/09/02	Inverno	3,112 ± 0,93	0,440 ± 0,28	0,520 ± 0,23
03/10/02	Primavera	1,496 ± 0,47	0,160 ± 0,12	0,440 ± 0,19
12/10/02	Primavera	3,576 ± 0,86	0,136 ± 0,07	0,840 ± 0,30
27/10/02	Primavera	6,616 ± 1,11	0,328 ± 0,30	4,600 ± 1,06
07/11/02	Primavera	5,240 ± 0,89	0,056 ± 0,03	2,760 ± 0,80
21/11/02	Primavera	5,456 ± 1,89	0,240 ± 0,14	3,00 ± 0,69
05/12/02	Primavera	9,648 ± 2,28	0,040 ± 0,03	1,880 ± 0,43
19/12/02	Primavera	3,528 ± 1,22	0,016 ± 0,02	0,880 ± 0,43
09/01/03	Verano	4,456 ± 0,78	0,424 ± 0,20	0,960 ± 0,24
31/01/03	Verano	2,440 ± 0,45	0,632 ± 0,18	1,160 ± 0,26
14/02/03	Verano	1,760 ± 0,33	0,264 ± 0,07	0,800 ± 0,41
27/02/03	Verano	1,680 ± 0,32	0,224 ± 0,07	0,600 ± 0,25
<b>Media total</b>		<b>2,35 ± 0,46</b>	<b>0,20 ± 0,34</b>	<b>1,10 ± 0,22</b>

Notas: <sup>a</sup>Media ± desviación estándar.


**Figura 3.** Ocurrencia estacional de *C. citricola* y *P. cinerea* en el estrato inferior de la planta durante el período marzo/2002 a febrero/2003 en Taiúva, SP, Brasil.

## Conclusiones

*C. citricola* es una especie clasificada como constante en el cultivo de naranjos, tanto en el estrato superior como en el inferior de la planta, donde actúa como depredador de escamas.

La población de formas no migrantes de *C. citricola*, como las larvas, es mayor a partir de mediados de primavera a inicio del verano, período en el que se produce abundancia de presas, principalmente *P. ziziphi* en el estrato superior y *P. cinerea* en el inferior.

## Literatura citada

- Busoli, AC. 1992. Uso do enxofre em citros e dinâmica populacional de cochonilhas e ácaros. *Laranja* 13:353-395.
- Dantas, IM. 2002. Distribuição espacial e plano de amostragem sequencial para a lagarta dominador-dos-citros *Phyllocnistis citrella* Stainton 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae) em laranjeira 'pêra-rio' *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. Tesis de Doctorado. Jaboticabal, BR, UNESP/FCAV. 63 p.
- De Bach, P. 1964. Biological control of insects pests and weeds. New York, US, Reinhold Publ. 844 p.
- Gravena, S. 1984. Manejo integrado de pragas dos citros. *Laranja* 5:323-361.
- Gravena, S. 1986. *Parlatoria pergandii* Comstock e primeiros resultados de observações e controle na citricultura brasileira. *Laranja* 1:45-57.
- Gravena, S. 1990. Manejo integrado de pragas de citrus na atualidade. In Fernandes, OA; Correia, ACB; Bortoli, SA. eds. Manejo integrado de pragas e nematóides. Jaboticabal, BR, FUNEP 1:107-126.
- Gravena, S; Lara, FM. 1976. Efeito de alguns inseticidas sobre predadores entomófagos em citros. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 5(1):39-42.
- Guerreiro, JC; Silva, RA; Busoli, AC. 2001. Comportamento de oviposição de *Pentilia egeni* Mulsant 1850 (Col.: Coccinellidae) In Congresso de Ecologia Do Brasil (4, Porto Alegre, 2001). Resumos. Porto Alegre, BR, Sociedade Brasileira de Ecologia. 16 p.
- Guerreiro, JC; Berti Filho, E; Busoli, AC. 2003. Oviposition and predation of *Pentilia egeni* Mulsant (Coleoptera:Coccinellidae) in response to temperature. *Scientia Agricola* 60(3):587-589.
- Hagen, KS. 1962. Biology and ecology of predaceous Coccinellidae. *Annual Review of Entomology* 7:289-326.
- Hagen, KS. 1970. Following the ladybug home. *National Geographic* 137(4):542-553.
- Hall, RW; Ehler, LE. 1979. Rate of establishment of natural enemies in classical biological control. *Bulletin of the Entomological Society of America* 25:280-282.
- Hodek, I. 1973. Biology of Coccinellidae. Prague, Czechoslovakia, Academy of Sciences. 260 p.
- Hodek, I; Honek, A. 1996. Ecology of Coccinellidae. Dordrecht, Kluwer Academic. 464 p.
- Iperti, G. 1999. Biodiversity of predaceous Coccinellidae in relation to bioindication and economic importance. *Agriculture, ecosystems and environment* 74:323-342.
- Lo, PL. 2000. Species and abundance of ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae) on Citrus orchards in Northland, New Zealand, and comparison of visual and manual methods of assessment. *New Zealand Entomologist* 23:61-65.
- Olkowski, W; Shang, A; Thiers, P. 1990 Improved biocontrol techniques with lady beetles. *IPM-Practitioner* 12:1-12.
- Paiva, PEB; Gravena, S; Amorim, LCS. 2000. Introdução do parasitóide *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya para o controle biológico da minadora das folhas dos citros *Phyllocnistis citrella* Stainton 1856 no Brasil. *Laranja* 21(2):217-288.
- Parra, JRP; Oliveira, HN; Pinto, AS. 2003. Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos dos citros. Piracicaba, US, A.S. Pinto. 140 p.
- Pinto, AS. 2000. Flutuação populacional de *Selenaspis articulatus* (Morgan) (Hemiptera: Diaspididae) em citros e ocorrência de inimigos naturais no município de Taquaritinga – SP. Disertación de Maestría. Jaboticabal, BR, UNESP/FCAV. 100 p.
- Pinto, WBS. 1995. Coleobrocas e cochonilhas dos citros. *Laranja* 16(2):87-95.
- Santos, AC. 1995. Aspectos bioecológicos e seletividade de agroquímicos a *Coccidophilus citricola* Brèthes (Coleoptera: Coccinellidae). Disertación de Maestría. Jaboticabal, US, UNESP/FCAV. 91 p.
- Silva, RA. 2002. Aspectos bioecológicos e caracterização morfológica de *Coccidophilus citricola* Brèthes, 1905 (Coleoptera: Coccinellidae). Tesis de Doctorado, Jaboticabal, US, UNESP/FCAV. 147 p.
- Silva, RA; Guerreiro, JC; Michelotto, MD; Busoli, AC. 2003. Desenvolvimento e comportamento de predação de *Coccidophilus citricola* Brèthes, 1905 (Coleoptera: Coccinellidae) sobre *Aspidiotus nerii* Bouché, 1833 (Hemiptera: Diaspididae). *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 29(1):9-15.
- Silveira Neto, S; Nakano, O; Barbim, D; Villa Nova, NA. 1976. Manual de ecologia dos insetos. São Paulo, US, Agronômica Ceres. 419 p.
- Wissinger, SA. 1997. Cyclic colonization in predictably ephemeral habitats: a template for biological control in annual crop systems. *Biological Control* 10:4-5.

# Uso del pH, la luminosidad, temperatura y vitaminas del complejo B en el diagnóstico de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, patógeno del arroz en Cuba

L. M. Barrios<sup>1</sup>  
I.O. Pérez<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Entre los hongos más importantes reportados en el cultivo del arroz en Cuba se encuentra *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, el cual causa la pudrición del pie del arroz. Debido a que en los últimos años la incidencia de la enfermedad en Cuba ha aumentado y que ha resultado difícil diagnosticarla, se realizó un estudio biológico del patógeno, donde se incluyó el efecto del pH, la luminosidad, temperatura y vitaminas del complejo B en las características agronómicas y en la formación-maduración de los peritecios del hongo. Se realizaron 5 réplicas por tratamiento empleando el medio agar papa; los pH fueron de 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5; 8; 8,5 y 9. Las temperaturas fueron de 20, 22, 25, 28, 30, 32 y 34 °C; luminosidad (alternancia luz-oscuridad, luz fluorescente continua y oscuridad continua) y 0,05 g de B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub>. Las observaciones se realizaron a los 3, 7, 14, 21, 30 y hasta los 60 días. Se describieron las características agronómicas y morfológicas del patógeno. El estudio reveló que en todos los tratamientos predominó el micelio rastrero/algodonoso, los bordes regulares y la coloración verde. Los nuevos elementos ofrecidos para el diagnóstico tradicional del patógeno fueron incubación en oscuridad continua, 25-30 °C y pH de 3,5, lo que permite un diagnóstico rápido entre los 14 y 21 días. Los criterios ofrecidos para el diagnóstico de *G. graminis* var. *graminis* son una herramienta de trabajo importante para los Laboratorios de Sanidad Vegetal en Cuba, donde se procesa anualmente un gran volumen de muestras de arroz mediante técnicas tradicionales de micología vegetal.

**Palabras clave:** hongos, luz, peritecios, medios de cultivo.

**ABSTRACT.** Using pH, light, temperature and complex B vitamins to diagnose *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, a rice pathogen in Cuba. Among the most important fungi attacking rice in Cuba is *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, which causes the take-all of rice. In recent years, the incidence of this hard to diagnose disease has increased in this country; therefore, we undertook a biological study of the pathogen, studying the effect of pH, light, temperature and B vitamins on the cultural characteristics and the formation-maturation of the fungus' perithecium. We carried out 5 repetitions per treatment, using potato agar medium and pH values of 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5 and 9. The temperatures used were 20, 22, 25, 28, 30, 32 and 34 °C, brightness (alternating light/darkness, continuous fluorescent light and continuous darkness) and 0,05 g of B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> and B<sub>12</sub>. Observations were carried out at 3, 7, 14, 21, 30 and 60 days. We described the cultural characteristics and morphology of the pathogen. The runner-cotton growth micelia, with regular borders and green coloration, prevailed in all the treatments. The new elements offered for the diagnosis of the pathogen were incubation in continuous darkness, at 25-30 °C and pH of 3.5, which allow a quick diagnosis of the disease within 14 to 21 days. The new approaches offered for the quick diagnosis of *G. graminis* var. *graminis* are an important tool for the Plant Health Laboratories in Cuba, where a great volume of rice samples are processed annually.

**Keywords:** fungi, perithecium, light, growth media.

## Introducción

Los hongos han sido reportados como el grupo de microorganismos que más afecta el cultivo de arroz, atacando las plántulas, área foliar, vainas y tallos, raíces,

corona y granos. Las enfermedades más importantes son las manchas foliares (*Cochliobolus miyabeanus*; *Gerlachia oryzae*; *Cercospora oryzae* y *Alternaria padwickii*, entre otros), la pirculariosis (*Magnaporthe*

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones de Bioelementos Naturales. Departamento de Microbiología. Marina 255, Apto. 512, Esq. a Humboldt, Centro Habana, Ciudad de la Habana, Cuba. febrero15li@yahoo.com, microbiol@infomed.sld.cu

*grisea*), la marchitez de la vaina (*Magnaporthe salvinii*), pudrición del tallo (*Rhizoctonia oryzae*), enfermedades en plántulas (Complejo *Achlya*, *Pythium* y *Fusarium*) y las decoloraciones en las semillas (*Curvularia*, *Fusarium*, *Sclerotium* y *Drechslera*, entre otros), que pueden afectar el cultivo cuando las condiciones ambientales y agronómicas favorecen el desarrollo de la enfermedad (Zillinsky 1984). También se ha reportado un gran número de hongos como causantes de enfermedades de menor importancia (Webster y Gunnell 1992).

*Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) Arx & D. Oliver var. *graminis* causa la pudrición de la vaina de la corona, conocida además como “pudrición oscura”, “pudrición del pie”, “mal del pie” y “pudrición carmelita de las vainas” (*take-all*); también provoca pudriciones de las raíces en los cereales y pastos (Boland y Smith 1991, Datnoff et ál. 1999, Bockus y Tisserat 2000, Elliott 2004). Los daños ocasionados por esta enfermedad son irreparables en las plantaciones de arroz, ya que puede provocar la pérdida de más del 50% de la cosecha (Elliott et ál. 1993, Schuman y MacDonald 1997, Torres 2002).

Un estudio realizado por Torres (2002), donde el autor llevó a cabo una caracterización morfológica y agronómica de varios aislamientos obtenidos de diferentes zonas arroceras en Cuba, demostró que no existían variaciones morfogenéticas entre los diversos aislamientos estudiados y concluyó que el mejor medio de cultivo para una maduración óptima de los peritecios del hongo era agar-papa (AP). Recomendó realizar otros estudios fisiológicos complementarios del patógeno que pudieran aportar nuevos criterios para lograr un diagnóstico más rápido y seguro bajo las condiciones imperantes en los Laboratorios de Sanidad Vegetal de Cuba, donde anualmente se analizan cientos de muestras de arroz mediante las técnicas convencionales o tradicionales de micología vegetal.

Para diagnosticar la presencia de *G. graminis* var. *graminis* es necesario aislar e identificar el hongo en cultivo puro. Esto se puede lograr directamente de los tallos o raíces enfermas del campo o desde raíces de plántulas que son utilizadas como cebo en el campo (Shuman y MacDonald 1997), siendo el criterio más fidedigno de identificación la formación de abundantes peritecios en el substrato natural o en los medios de cultivo (CPC 2000 y 2001, Elliott 2004), pero se trata de un proceso lento y engorroso, ya que los peritecios solo se forman en el medio de cultivo a partir de los

37 días, mientras que en el substrato natural lo hacen a partir de los 20-30 días (Torres 2002), por lo que se hace necesario optimizar las condiciones de incubación para que el diagnóstico tradicional sea un proceso más rápido.

Debido al difícil diagnóstico de *G. graminis* var. *graminis* y a que en los últimos años la incidencia de la enfermedad ha aumentado considerablemente en Cuba (CNSV 1993-2004), se hace necesario obtener nuevos criterios para el diagnóstico rápido de la enfermedad mediante técnicas tradicionales, siendo los objetivos de este trabajo estudiar la influencia del pH, la temperatura, luminosidad y vitaminas del complejo B sobre las características agronómicas y la formación-maduración de los peritecios del hongo.

### **Materiales y métodos**

Se partió del lote de cepas almacenadas en la micoteca de Laboratorio de Central de Cuarentena Vegetal. Se trabajó con la cepa LM833, anteriormente caracterizada por Torres (2002). La cepa se aisló a partir de la pudrición en tallos y vainas; a los 7 días, la colonia se caracterizó por tener bordes regulares, micelio aéreo abundante, micelio rastrero/algodonoso, verde oscuro, y ausencia del estado espermial.

#### **Experimento 1. Influencia del pH en las características culturales y en la formación-maduración de los peritecios de *G. graminis* var. *graminis***

Se preparó el medio de cultivo AP como óptimo para la rápida maduración de los peritecios según Torres (2002), el cual fue ajustado a los pH de 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5; 8; 8,5 y 9. Se realizaron 5 réplicas por tratamiento.

Las placas petri fueron inoculadas centralmente con discos de 0,5 cm de diámetro tomados de inoculaciones previas en placas petri con medio PDA a 28 °C, oscuridad continua y pH = 6,0 (Wong 1983). Los discos fueron tomados de la parte apical del crecimiento micelial, las placas inoculadas se incubaron a 28 °C y oscuridad continua.

#### **Experimento 2. Influencia de la luminosidad en las características agronómicas y en la formación-maduración de los peritecios de *G. graminis* var. *graminis***

Se preparó el medio de cultivo AP y se ajustó a pH óptimo según los resultados obtenidos en el experimento anterior. Se prepararon 5 réplicas por tratamiento. Las placas se inocularon según Wong (1983).

Las placas inoculadas fueron expuestas a luz continua, oscuridad continua y a períodos de alternancia luz/oscuridad (8 horas de luz/16 de oscuridad), todos a temperatura de 22-24 °C. Para suministrar la luminosidad se colocaron dos tubos de luz fluorescente de 40 watt o su equivalencia en tubos de 20 watt a la altura de 42 cm, a partir de la parte superior de las placas petri.

**Experimento 3. Influencia de la temperatura en las características culturales y en la formación-maduración de peritecios de *G. graminis* var. *graminis***

Se preparó el medio de cultivo óptimo siguiendo la metodología establecida y se ajustó a pH óptimo según los resultados obtenidos en el Experimento 1. Se prepararon 5 réplicas por tratamiento. Las placas se inocularon según Wong (1983). Las placas inoculadas se incubaron a 20, 22, 25, 28, 30, 32 y 34 °C.

**Experimento 4. Efecto de las vitaminas del complejo B en las características agronómicas y en la formación-maduración de los peritecios de *G. graminis* var. *graminis***

Se emplearon placas petri de 9 cm de diámetro, las cuales contenían AP más 0,05 g de tiamina (B<sub>1</sub>); riboflabina (B<sub>2</sub>); piridoxina (B<sub>6</sub>) o cianocobalamina (B<sub>12</sub>) (Deacon 1974). El medio de cultivo fue ajustado al pH óptimo (obtenido en experimentos anteriores). Se emplearon 5 réplicas por tratamiento.

En cada una de las réplicas se usaron placas de control sin vitaminas. Las placas se inocularon según Wong (1983), y se incubaron a la temperatura y luminosidad óptimas (obtenidas en experimentos anteriores).

En todos los experimentos, las observaciones de las características de la colonia se realizaron bajo el microscopio estereoscópico a los 3, 7, 14, 21 y 30 días. Se hicieron observaciones bajo el microscopio óptico de las estructuras de reproducción una vez que comenzaron a formarse los cuellos periteciales, a través de preparaciones en fresco con lactofenol. Si a los 30 días los cuerpos permanecían inmaduros, entonces se procedía a la observación cada 7 días con igual metodología. Los datos obtenidos de las medidas del crecimiento lineal del micelio fúngico fueron analizados estadísticamente mediante la prueba de significación de Tukey.

**Resultados y discusión**

El pH influye significativamente en las características agronómicas de la colonia (Cuadro 1). En un ámbito de pH de entre 3,5 y 4,5 predominó el micelio aéreo abundante con bordes regulares y verde muy pálido; a medida que el pH aumentó, las características agronómicas cambiaron completamente, ya que a pH neutro el micelio aéreo es escaso y continúan los bordes regulares, pero la colonia es verde oscuro, con una combinación del micelio algodonoso con el rastrero, donde predomina el algodonoso.

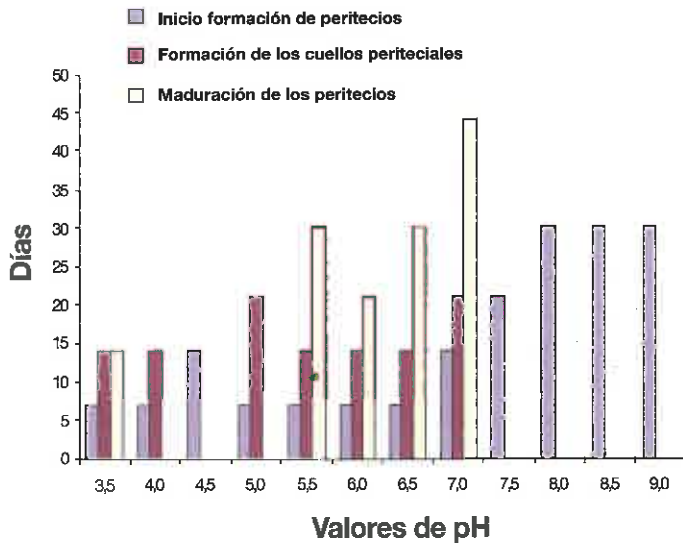
**Cuadro 1.** Influencia del pH en las características culturales de *G. graminis* var. *graminis* en agar-papa

pH	Bordes	Micelio aéreo	Textura del micelio	Color
3,5-4,5	Regulares	Abundante	Algodonoso	Verde pálido
5,0-5,5	Regulares	Abundante	Algodonoso/rastrero	Verde medio
6,0-6,5	Regulares	Abundante	Algodonoso/rastrero	Verde oscuro
7,0	Regulares	Escaso	Algodonoso/rastrero	Verde oscuro
7,5	Irregulares	Escaso	Rastrero/algodonoso	Verde oscuro
8,0-9,0	Irregulares	Ausente	Rastrero	Verde oscuro a negro

**Cuadro 2.** Influencia del pH en el diámetro de la colonia de *G. graminis* var. *graminis*

pH	3 días	7 días	14 días	pH	3 días	7 días	14 días
3,5	0,5i	3,30i	9,00a	6,5	2,88a	6,34a	9,00a
4,0	0,5i	4,00g	9,00a	7,0	2,40c	6,21b	9,00a
4,5	0,5i	5,38e	9,00a	7,5	1,72e	6,12c	9,00a
5,0	2,10d	5,93d	9,00a	8,0	1,60f	5,36e	9,00a
5,5	2,72d	5,98d	9,00a	8,5	1,55g	5,21f	9,00a
6,0	2,90a	6,35a	9,00a	9,0	1,08h	3,88h	9,00a

Notas: C.V. = 3.69. Letras diferentes en la misma línea difieren significativamente a  $P < 0,05$ .



**Figura 1.** Influencia del pH en la formación-maduración de peritecios de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*

A pH alcalinos aparece una pigmentación verde muy oscura, sin presencia del micelio aéreo, observándose solo un enrejado de micelio rastrero, con abundantes hifopodios lobulados y bordes irregulares. Cabe destacar la presencia de varios sectores (zonas mutantes) en las colonias a los pH 8,5 y 9,0, los cuales siempre se mostraron en forma de cuña y con hifas completamente hialinas. Estos resultados finalmente descritos coinciden con los de Yao y Liu (1999), quienes probaron diferentes medidas de pH (4-11) y obtuvieron colonias mutantes a partir de pH superiores a 7,5.

El pH influyó en el diámetro de la colonia (Cuadro 2); se observó un pequeño diámetro de la colonia a pH extremadamente ácidos ó alcalinos, mientras que el diámetro se mantuvo estable a pH de 5,5 a 7,5, donde a los 7 días el rango de crecimiento lineal fue desde 5,98 (pH = 5,5) hasta 6,12 cm (pH = 7,5). Estos resultados no coinciden con los descritos por Yao y Liu (1999), ya que en sus estudios el hongo presentó una elevada velocidad de crecimiento lineal y diámetro de la colonia a pH ácidos. Por su parte, Chent et ál. (1998) refieren que los valores de pH entre 5,5 y 8,5 son los más eficaces para el rápido crecimiento lineal del patógeno, lo cual coincide con nuestros resultados.

La concentración de iones hidrógeno influye positiva o negativamente en el desarrollo y establecimiento de la enfermedad. En los estudios in vitro realizados por Hagan (1999) se demostró que incrementos del pH aumentan considerablemente la formación de abundantes hifopodios lobulados y de micelio rastrero, siendo los pH neutros o alcalinos

los que más favorecen dicha estimulación. Por su parte, Elliott et ál. (1993) concluyen que los pH alcalinos son los más favorables para la formación de abundante micelio rastrero o infectivo en medios de cultivos agarizados. Dichos resultados concuerdan con los obtenidos en este trabajo. Resultados similares también fueron obtenidos por Elliott y Simone (1999) y (2001) y por Coventry et ál. (1989).

Con respecto a la estimulación de la formación-maduración de los peritecios de *G. graminis* var. *graminis* en estas condiciones, al inicio de la formación se observó una relación directamente proporcional (Figura 1), ya que a medida que aumenta el pH el tiempo de formación de las estructuras aumenta, de modo que en pH ácidos el inicio de la formación estuvo entre los días 7-14, mientras que en los pH alcalinos fue de entre 21 y 37 días. Por su parte, la estimulación en la formación de los cuellos periteciales presentó un comportamiento muy diferente, ya que a pH ácidos el hongo comenzó a desarrollar los cuellos periteciales a partir de los 14-21 días, mientras que en los alcalinos nunca se observaron cuellos periteciales. En estas condiciones (pH alcalinos), los peritecios permanecieron en su fase inicial (pequeños ovillos blanquecinos o grises) en el micelio aéreo.

La maduración de los peritecios se observó fuertemente estimulada en el pH de 3,5, donde a los 14 días ya se observaron los primeros peritecios maduros en el medio de cultivo. Otros pH donde se observaron peritecios maduros fue en 5,5 (30 días); 6 (21 días); 6,5 (30 días) y 7 (44 días). En las restantes medidas de pH nunca se observaron peritecios maduros. Estos resultados concuerdan con los descritos por Elliott y Simone (2001) y por Hagan (1999).

Las características agronómicas obtenidas en AP, ajustado a pH = 3,5, no reflejaron variaciones significativas. En estas condiciones el hongo mantiene su coloración verde (oscura o clara), abundantes hifopodios lobulados en el reverso de la placa y la presencia de micelio algodonoso o rastrero.

Es importante destacar que en presencia de los períodos de luz/oscuridad y luz continua el hongo comienza su desarrollo con un exuberante micelio algodonoso, el cual desaparece con el transcurso de los días de incubación. Existen diferencias significativas entre las 3 luminosidades estudiadas a los 3 días, siendo el diámetro de la colonia mayor bajo luz continua (Cuadro 3). A los 7 días, el hongo había cubierto toda la superficie de la placa.

**Cuadro 3.** Influencia de la luminosidad en diámetro de la colonia de *G. graminis* var. *graminis*

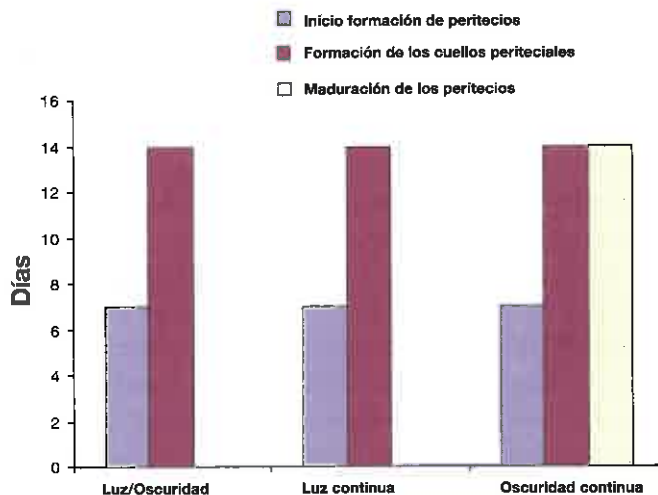
Luminosidad	3 días	7 días
Luz/oscuridad	3,00 c	9,00a
Luz continua	3,55a	9,00a
Oscuridad continua	3,32b	9,00a

Notas: C.V. = 4,05. Letras diferentes difieren significativamente a  $P < 0,05$ .

En condiciones de luminosidad continua se estimuló la formación de los peritecios a partir de los 7 días en todos los tratamientos, mientras que la maduración solo se obtuvo en oscuridad continua (Figura 2); por su parte, en los períodos de luz/oscuridad y luz continua la formación de los cuellos periteciales se estimuló a los 14 días, pero hasta los 60 días aún no aparecieron peritecios maduros. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Walker (1980), donde el autor empleó siempre la oscuridad continua para la producción de los peritecios, mientras que Elliott (2004) emplea 8-12 horas de luz, obteniendo los peritecios a partir de los 30 días en un medio compuesto a base de semillas de arroz, trigo o avena.

Las características agronómicas no sufrieron ningún cambio a las temperaturas entre 20 y 28 °C, donde se observó la prevalencia de la combinación del micelio algodonoso con el rastrero y la coloración verde oscura. A partir de los 30 °C, el micelio aéreo escaseó y la colonia adquirió una coloración verde muy pálida. La temperatura sí influye sobre el diámetro de la colonia de *G. graminis* var. *graminis* (Cuadro 4).

A medida que aumenta la temperatura aumenta el diámetro de la colonia. A partir de los 28 °C, con el



**Figura 2.** Influencia de la luminosidad en la formación-maduración de peritecios de *G. graminis* var. *graminis*

aumento de la temperatura se observó una disminución en el diámetro de la colonia, siendo el menor valor a los 34 °C (1,55 cm) (3 días).

Los mayores valores de crecimiento del hongo fueron a las temperaturas de 28 °C (3,19 cm a los 3 días), seguidas de 30 °C (3,08 cm) y 25 °C (3,00 cm). A los 7 días el hongo cubrió toda la superficie de la placa, desapareciendo las diferencias estadísticas del crecimiento micelial entre las temperaturas desde 22 a 28 °C; por su parte, no existieron diferencias estadísticas entre las temperaturas de 20 °C (8,90 cm) y 30 °C (8,89 cm). El menor diámetro de la colonia se observó a los 34 °C (7,36 cm). A los 14 días, en todas las réplicas el micelio cubrió toda la superficie de la placa petri. Estos resultados coinciden categóricamente con los reportados por Yao y Liu (1999), quienes precisaron un rango óptimo para el crecimiento micelial entre los 25 y 28 °C; por su parte, Chent et ál. (1998) concluyeron que las mejores temperaturas para el crecimiento micelial de *G. graminis* var. *graminis* estaba entre los 21 y 28 °C.

Al analizar la influencia de la temperatura en la estimulación de la formación y posterior maduración de los peritecios del hongo observamos que las mejores temperaturas fueron entre los 25-30 °C (Figura 3), donde los peritecios comenzaron a formarse a los 7 días, los primeros cuellos periteciales se observaron a los 14 días y los peritecios se observaron maduros a los 21 días.

En general, el inicio de la formación de los peritecios en todos los tratamientos se observó entre los 7 días (25, 28 y 30 °C) y los 14 días (20, 22, 32 y 34 °C) (Figura 3), estos resultados nos revelan que tanto las bajas temperaturas como las elevadas retardan la estimulación de la formación de los peritecios de *G. graminis* var. *graminis*. Igual comportamiento mostró la estimulación de los cuellos periteciales, donde se observó fuertemente estimulada a los 14 días en las temperaturas de 25-32 °C y fuertemente retardada a los 34 °C (30 días), seguido de los 20 y 22 °C (21 días). Como nos muestra la figura, a los 60 días aún no se observaban peritecios maduros a los 34 °C; esto demuestra que las elevadas temperaturas retardan la maduración de los peritecios del hongo.

Los estudios realizados por Wong (1983) revelaron que las tres variedades que este autor estudió (var. *graminis*, var. *avenae* y var. *tritici*) para *G. graminis* pueden crecer entre las temperaturas de 10-35 °C, coincidiendo estos resultados con los nuestros, aunque en este estudio el rango de temperatura fue menor (20-34 °C) y solo se trabajó con *G. graminis* var. *graminis*. Wong precisa que



**Cuadro 4.** Influencia de la temperatura en el diámetro de la colonia de *G. graminis* var. *Graminis*

Temperatura (°C)	3 días	7 días	14 días
20	2,89d	8,90b	8,90b
22	2,90d	9,00a	9,00a
25	3,00c	9,00a	9,00a
28	3,19a	9,00a	9,00a
30	3,08a	8,89b	9,00a
32	2,82e	8,63c	9,00a
34	1,55e	7,36d	9,00a

Notas: C.V. = 3,84. Letras diferentes difieren significativamente a  $P < 0,05$ .

30 °C es la temperatura óptima para el crecimiento de *G. graminis* var. *graminis* (7,8 cm) en papa-dextrosa-agar (las observaciones fueron realizadas a los 5, 8 y 14 días). Estos resultados no coinciden en lo particular con los de este trabajo, ya que en el presente estudio *G. graminis* var. *graminis* presentó un crecimiento óptimo a los 28 °C, donde a los 3 días el diámetro de la colonia alcanzó valores de 3,19 cm y a los 7 días ya cubría toda la superficie de la placa.

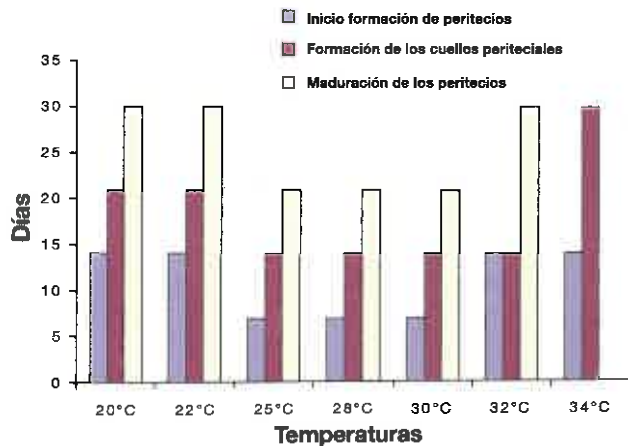
Con todas las vitaminas del complejo B, prevalecieron el color verde claro y los bordes regulares, en coincidencia con lo descrito por Deacon (1974). En este experimento el resultado más importante fue la gran estimulación que tienen estas vitaminas sobre el crecimiento lineal. A los 3 días, el hongo tenía un diámetro de entre 5,0 y 5,2 cm (Figura 4) y a los 7 días el micelio cubrió toda la superficie de la placa petri. Siempre estuvo presente solamente el micelio algodonoso de forma exuberante, tal es el caso que en algunas réplicas este llegó a la tapa superior de la placa petri. Se observaron abundantes hifopodios

lobulados en el reverso de la placa. Al realizar la última observación de la colonia del hongo a los 60 días, se pudo concluir que las vitaminas del complejo B no estimularon la formación de los peritecios de *G. graminis* var. *graminis*.

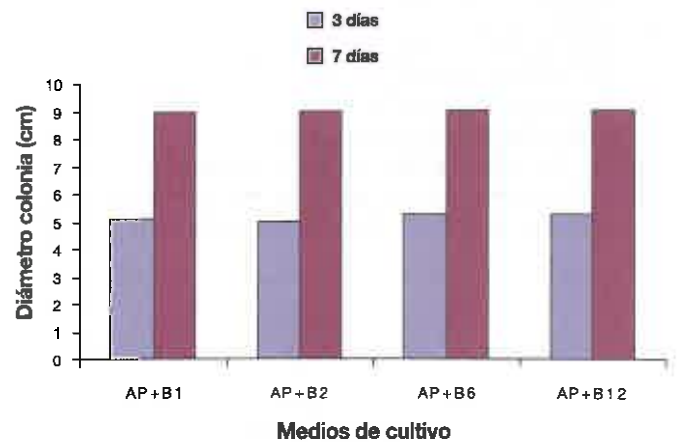
En estudios realizados por Wilkes (2001), se obtuvo que B<sub>1</sub> y B<sub>6</sub> estimularon fuertemente el crecimiento lineal de la colonia, donde el diámetro alcanzó entre 4,8 y 5,5 cm, respectivamente. Por su parte, Henson (2001) obtuvo un rango de crecimiento entre 5,1 y 6,3 cm de diámetro fuertemente estimulado por la vitamina B<sub>12</sub> (6,3 cm). Dichos resultados coinciden con los obtenidos en este trabajo, ya que efectivamente las vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub> fueron las que más estimularon el crecimiento lineal (5,2 cm). Estos autores no refieren el efecto de las vitaminas del complejo B sobre la formación de los peritecios, haciendo solo énfasis en las características agronómicas y el diámetro de la colonia.

Martyniuk y Wroblewska (2000) mencionan que obtuvieron peritecios de *G. graminis* (sin especificar variedad) después de la 8-10 semana en PDA enriquecido con B<sub>1</sub> y B<sub>12</sub>, mientras que Deacon (1974) y Sarwar et ál. (1998) obtuvieron los peritecios después de la semana 7 en un medio de cultivo a base de arroz y vitaminas del complejo B. Estos resultados no coinciden con los nuestros, ya que en ellos ningún tratamiento estimuló la formación de los peritecios del hongo.

De forma general se pudo observar que en todos los aislados predominó el micelio algodonoso/rastrero, los bordes regulares y la coloración verde, y que para realizar un diagnóstico rápido y seguro de la enfermedad se pueden obtener peritecios del hongo entre los 14 y 21 días cuando este es sembrado en AP,



**Figura 3.** Influencia de la temperatura en la formación-maduración de peritecios de *G. graminis* var. *graminis*.



**Figura 4.** Efecto de las vitaminas del complejo B en el diámetro de la colonia de *G. graminis* var. *Graminis*.

ajustado a pH = 3,5, temperatura de incubación 25-30°C y oscuridad continua. Los resultados propuestos en este estudio constituyen una herramienta de suma importancia para los laboratorios del sistema estatal de sanidad vegetal de Cuba donde anualmente se procesan cientos de muestras de arroz. Este trabajo es un documento de gran novedad y utilidad para la sanidad vegetal en nuestro país, ya que es el primer estudio morfofisiológico del hongo que se realiza bajo las condiciones imperantes en Cuba para acelerar el diagnóstico tradicional del patógeno a través de las técnicas convencionales de micología vegetal.

### Agradecimientos

Agradezco a Maria Ofelia López Mesa del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Departamento de Biosistemática de Hongos, por la ayuda ofrecida en la revisión y confección de este documento.

### Literatura citada

- Bockus, WW; Tisserat, NA. 2000. Take-all root rot. The plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-1-2000-1020-01.
- Boland, GJ; Smith, EA. 1991. Take-all diseases. *Phytopathology* 81:766-770.
- CNSV. 1993-2004. Libro de Registros de Análisis de Muestras. Laboratorio Central de Cuarentena Vegetal. Cuba, Centro Nacional de Sanidad Vegetal (CNSV), Ministerio de la Agricultura (MINAGRI).
- Coventry, DR; Brooke, HD; Kollmorgen, JF; Ballinger, DJ. 1989. Increases in wheat yield on limed soil after reduction of take-all by fungicide application and crop rotation. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 29(1):85-89.
- CPC. 2000. Compendium of Crop Protection. 2 ed. CD ROM. APS Press.
- CPC. 2001. Compendium of Crop Protection 3 ed. CD ROM. APS Press.
- Chen, HG; Wang, YZ; Rong, SJ. 1998. Biological characteristics of the Pathogen of Wheat Take -all (*Gaeumannomyces graminis*) and its techniques for isolation. *Jiangsu Agricultural Sciences* 1:41-42.
- Datnoff, EL; Kuharek, TA; Pernezny, KL. 1999. Some common diseases of rice in Florida (en línea). Circular 1242. Florida, US, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Disponible en <http://edis.ifas.edu>.
- Deacon, JW. 1974. Further studies on *Phialophora radiculicola* and *Gaeumannomyces graminis* on roots and stem bases of grasses and cereal. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 63(2):307-320.
- Elliott, M; Simone, G.W. 1999. Take-all Root Rot of St. Augustinegrass. Estados Unidos, Florida Lawn Handbook Series, Plant Pathology Department. 125 p.
- Elliott, ML; Simone, GW. 2001. Take-all Root Rot. Estados Unidos, Florida Lawn Handbook Series, Plant Pathology Department. SS-PLP-16, 45 p.
- Elliott, ML. 2004. Comunicación personal. University of Florida-IFAS. Fort Lauderdale Research and Education Centre.
- Elliott, ML; Hagan, AK; Mullen, JM. 1993. Association of *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* with a St. Augustinegrass root rot disease. *Plant Dis.* 77:206-209.
- Hagan, A. 1999. Control of Spring Dead Spot and Bermudagrass Decline (en línea). Alabama Cooperative Extension System. Austin Hagan's Online Publications. Disponible en <http://www.ag.auburn.edu/dept/ent/hagan.htm>.
- Henson, JM. 2001. The dark side of the mycelium, melanins of phytopathogenic fungi: part II. *Ann. Rev. of Phytopathology* 33(4):447-71.
- Martyniuk, S; Wroblewska, B. 2000. Growth of *Gaeumannomyces graminis* and *Cephalosporium gramineum* on Complex B. *Plant Protection* 39(3):737-39.
- Sarwar, M; Kragegaard, J; Wong, PT; Desmachelier, J. 1998. Effect of Complex B on take-all patch (*Gaeumannomyces graminis*). *Plant and Soil* 201(1):103-29.
- Schuman, GL; MacDonald, JD. 1997. Turfgrass diseases: Diagnosis and Management. CD ROM. APS Press.
- Torres, M. 2002. Estudio de las características culturales y fisiológicas de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* en Cuba. Tesis para optar por el título de Licenciado en Microbiología. La Habana, CU, Facultad de Biología, Universidad de la Habana. p. 83.
- Walker, J. 1980. *Gaeumannomyces*, *Lynocarpon*, *Ophiobolus* and other genera scolecospored ascomycetes and *Phialophora* conidial states, with a note on hyphopodia. *Mycotaxon*, 11, 1-129.
- Webster, R; Gunnell, P. 1992. Compendium of rice diseases. Davis, US, University of California. p. 13, 21, 26.
- Wilkes, FM. 2001. Complex B and *Gaeumannomyces graminis* rot root. *Soil Biology and Biochemistry* 31(13):1832-1836.
- Wong, PT. 1980. Effect of temperature on growth on some avirulent fungi and cross-protection against what take-all. *Ann. Appl. Biol.* 95(2):291-299.
- Wong, PT. 1983. Effect of Osmotic potencial on the growth of *Gaeumannomyces graminis* and *Phialophora* spp. *Ann. Appl. Biol.* 102(1):67-78.
- Yao, JM; Liu, Q. 1999. Study and Bionomics of *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* in rice. *Plant Protection* 25(6):21-23.
- Zillinsky, FJ. 1984. Guía para la identificación de enfermedades en cereales de grano pequeño. Centro Internacional de Mejoramiento del Maíz y Trigo, El Botán. México, CMMYT. 141 p.

# Selección de hongos entomopatógenos para el control de *Bemisia tabaci*

Carlos Espinel<sup>1</sup>  
Lissette Torres<sup>2</sup>  
Victoria González<sup>3</sup>  
Alba M. Cotes<sup>4</sup>

**RESUMEN.** La mosca blanca *Bemisia tabaci* es un insecto de importancia económica debido a las pérdidas que ocasiona en gran variedad de cultivos. Su manejo se realiza principalmente con insecticidas químicos, lo que conlleva altos costos económicos y medioambientales. Por tal razón, el uso de bioplaguicidas basados en hongos entomopatógenos se convierte en una alternativa promisorio mediante su inclusión en programas de manejo integrado de la plaga. En este sentido, se llevó a cabo la selección de hongos entomopatógenos nativos de diferentes géneros mediante la aplicación de una concentración de  $1 \times 10^7$  conidios  $\text{ml}^{-1}$  a ninfas de segundo instar de *B. tabaci*, utilizando como hospedante frijol y evaluando mortalidad a los días 6 y 13 post aplicación. Teniendo en cuenta criterios biológicos y tecnológicos, se seleccionaron los aislamientos Bv 056 de *Beauveria bassiana*, por ocasionar una mortalidad del 58,6% y por presentar una esporulación pulverulenta; Pc 013 de *Paecilomyces* sp., por producir una mortalidad del 91,7%; y VI 026 de *Lecanicillium lecanii*, por producir la mayor mortalidad en el menor tiempo, la cual fue de 47,7% al sexto día postaplicación. A estos aislamientos se les determinó la concentración letal media, encontrándose valores de  $5,0 \times 10^6$  conidios  $\text{ml}^{-1}$ ,  $3,5 \times 10^6$  conidios  $\text{ml}^{-1}$  y  $2,4 \times 10^5$  conidios  $\text{ml}^{-1}$  para los aislamientos de *L. lecanii*, *B. bassiana* y *Paecilomyces* sp., respectivamente. Teniendo en cuenta los resultados promisorios obtenidos, se seleccionaron estos aislamientos como principios activos para el desarrollo de prototipos de bioplaguicidas para el control de *B. tabaci* en condiciones de campo.

**Palabras clave:** mosca blanca, bioensayos, ensayo biológico, control biológico, entomopatógenos, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii*, *Paecilomyces* sp.

**ABSTRACT.** Entomopathogenic fungi to control *Bemisia tabaci*. The whitefly *Bemisia tabaci* is an economically important insect because it generates losses and affects a great variety of crops. Its management relies mainly on chemical insecticides that induce high costs and a negative environmental impact. In consequence, the use of biopesticides based upon entomopathogenic fungi represents a key component of integrated pest management programs. We selected native entomopathogenic fungi applying  $1 \times 10^7$  conidia  $\text{ml}^{-1}$  on second instar nymphs of *B. tabaci* maintained on bean plants. Mortality was evaluated six and 13 days after application. Taking into account biological and technological criteria, the following three isolates were selected: Bv 056 of *Beauveria bassiana*, which caused 58.6% of insect mortality and presented a powdery sporulation; Pc 013 of *Paecilomyces* sp., which caused 91.7% mortality; and *Lecanicillium lecanii* VI 026, which caused the highest mortality in the shortest time (47.7% at six days after spraying). When the  $\text{LC}_{50}$  was determined for each isolate, values of  $5.0 \times 10^6$  conidia  $\text{ml}^{-1}$ ,  $3.5 \times 10^6$  conidia  $\text{ml}^{-1}$  and  $2.4 \times 10^5$  conidia  $\text{ml}^{-1}$  were obtained for *L. lecanii*, *B. bassiana* and *Paecilomyces* sp., respectively. Due to those promising results, we selected the three isolates to develop biopesticides prototypes for *B. tabaci* control under field conditions.

**Key words:** whitefly, biotests, biological control, entomopathogen, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii*, *Paecilomyces* sp.

<sup>1</sup> Laboratorio de Control Biológico, CORPOICA, Centro de Biotecnología y Bioindustria. Km 14. vía Mosquera. Colombia. cespinel@yahoo.com

<sup>2</sup> Laboratorio de Control Biológico, CORPOICA, Centro de Biotecnología y Bioindustria. Km 14. vía Mosquera. Colombia. lissettetorres@yahoo.es

<sup>3</sup> Laboratorio de Entomología, CORPOICA, C.I. Palmira, Colombia. vgv-7@hotmail.com

<sup>4</sup> Laboratorio de Control Biológico, CORPOICA, Centro de Biotecnología y Bioindustria. Km 14. vía Mosquera. Colombia. acotes@corpoica.org.co

## Introducción

El complejo mosca blanca cuenta con más de 1200 especies (López y García 2000). Entre ellas, *Bemisia tabaci* es una de las más limitantes debido al gran número de hospedantes que ataca, a los daños directos e indirectos que ocasiona, a su amplia distribución geográfica y a la ineficiencia de los insecticidas químicos para combatirla, debido a su capacidad de generar resistencia a productos organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides (Rodríguez y Cardona 2001).

La mosca blanca *B. tabaci* se ha encontrado atacando más de 500 especies de plantas agrupadas en 74 familias, en hospedantes que incluyen tomate, pepino, habichuela, frijol, papa, maní, algodón, soya, melón y patilla, y en ornamentales como crisantemo y ponsetia (McAuslane 2000). Los daños ocasionados por el insecto se pueden dar por la succión de savia y por la inyección de toxinas a través de la saliva, ocasionando el debilitamiento de la planta y/o manchas cloróticas. En ataques intensos se producen síntomas de deshidratación, disminución o detención del crecimiento; de igual forma, la excreción de miel de rocío sobre hojas, flores y frutos proporciona el medio adecuado para el establecimiento del hongo *Capnodium* sp., lo cual ocasiona reducción de la fotosíntesis y respiración de la planta, disminución en la calidad de la cosecha y mayores gastos de comercialización. Asimismo, *B. tabaci* es transmisora de virus patógenos en diversos cultivos, tales como el virus del encrespamiento amarillo de la hoja del tomate, el virus dorado del tomate, el virus moteado del tomate y del virus del mosaico dorado del frijol (Infoagro 2004). En algunos cultivos, como tomate, la presencia de un solo adulto de mosca blanca por planta es suficiente para causar el 100% de infección con geminivirus (Faria y Wraight 2001).

A nivel mundial, la mosca blanca ha ocasionado altas pérdidas económicas; en Venezuela ha causado daños de entre el 20 y 60% en tomate, entre 30 y 60% en tabaco y entre 20 y 60% en melón (Salas y Arnal 2000). En algunas regiones de Brasil el daño por mosca blanca ha alcanzado el 100% de disminución en los rendimientos de leguminosas (Martines y Peixoto 1988, citados por López y García 2000). En Cuba se han reportado reducciones de rendimientos de un 63% en tomate y del 65% en frijol (Murguido et ál. 1997, citados por López y García 2000). En República Dominicana se han registrado pérdidas por US\$ 6.000.000 dólares aproximadamente en un período de cuatro años en

cultivos de tomate, habichuela, berenjena, melón, algodón, pepino y sandía (Villar et ál. 2000).

En un estudio realizado sobre la incidencia de la plaga y las pérdidas ocasionadas en varias regiones de Colombia, se mostró una mayor incidencia de la plaga en los departamentos de Tolima, Cundinamarca, Santander y César, con pérdidas que variaron entre el 25 y el 100% en cultivos de frijol, tomate, pepino, melón, algodón y tabaco. En los departamentos de Magdalena, Guajira y Atlántico, la mosca blanca se presentó de manera aislada en algunos municipios, aunque su incidencia fue elevada y registró pérdidas hasta del 100% en cultivos de tomate, sandía, col y melón (López y García 2000).

En trabajos previos, el Laboratorio de Control Biológico del Programa de Manejo Integrado de Plagas de CORPOICA realizó investigaciones encaminadas hacia la búsqueda y selección de microorganismos entomopatógenos para el control de otra de las especies de moscas blancas de gran importancia económica, *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). Es así como se hicieron muestreos en la región del Sumapaz, donde se encontraron 43 aislamientos promisorios y, mediante bioensayos en laboratorio, se seleccionó el aislamiento VI 026 de *Lecanicillium lecanii* por ocasionar una mortalidad del 100% (García 1996). Actualmente, este microorganismo constituye el principio activo de un bioplaguicida, el cual al ser evaluado en un cultivo de habichuela ocasionó un porcentaje de infección del 76,8% y una producción de 11,7 t/ha, en contraste con 7 t/ha obtenidas en el tratamiento en el que se aplicaron insecticidas químicos (Jiménez 2002). Al ser evaluado en un cultivo de tomate bajo invernadero, este mismo producto ocasionó un porcentaje de infección del 68,1% sobre el estado ninfal, el que fue significativamente diferente con respecto al tratamiento correspondiente a la combinación del bioplaguicida con insecticidas químicos (36,6%). Así mismo, el tratamiento con el bioplaguicida resultó en la mayor producción, de 68 kg/ha (Garzón 2004).

Debido al impacto que tiene *B. tabaci* y a las dificultades que presenta su control, el uso de bioplaguicidas representa un componente central de los programas de manejo integrado de plagas. Sin embargo, para garantizar su éxito es necesario contar microorganismos seleccionados por su alta actividad biocontroladora, que cumplan además con los requisitos tecnológicos y legales relacionados con la producción de un bioplaguicida. Por esto, el objetivo de

este trabajo fue seleccionar hongos entomopatógenos con actividad biocontroladora contra *B. tabaci*.

### Materiales y métodos

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Entomología del Centro de Investigación Palmira (Valle del Cauca-Colombia), perteneciente a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA.

**Establecimiento de la cría de *B. tabaci*.** El establecimiento de la cría se hizo sobre plantas de frijol de la variedad ICA-Calima, sembradas en macetas plásticas de 10 cm de diámetro, mantenidas en condiciones de invernadero con una temperatura de  $25 \pm 5$  °C y  $66 \pm 10\%$  HR.

**Infestación del material vegetal.** Se tomaron plantas de frijol que tuvieran un trifolio formado y se infestaron con 30 adultos de *B. tabaci* en jaulas pinza por 24 h

para asegurar suficiente oviposición. Después del tiempo definido, los adultos se retiraron y las plantas se ubicaron en un cuarto aislado hasta que presentaran el segundo instar ninfal.

**Selección de aislamientos nativos de hongos entomopatógenos.** Se evaluaron 15 aislamientos nativos provenientes de adultos de *B. tabaci* recolectados en diferentes zonas agroecológicas del país, pertenecientes a *Beauveria bassiana* y al género *Paecilomyces*, así como ocho aislamientos de las especies *Lecanicillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae* y *Nomuraea rileyi* conservados en el Banco de Germoplasma de Microorganismos con Interés en Control Biológico (Cuadro 1).

Una vez evidenciado el crecimiento y la esporulación de los microorganismos sobre medio YDB (constituido por levadura, dextrosa y peptona), se preparó una suspensión de cada uno de los hongos en Tween 80 al 0,1% ajustada a la concentración de

**Cuadro 1.** Hongos entomopatógenos evaluados en el ensayo de selección de aislamientos nativos para el control de *Bemisia tabaci*

Tratamiento	Código	Género/especie	Origen (Municipio-Departamento)
T1	Bv 056	<i>Beauveria bassiana</i>	Prado - Tolima
T2	Bv 057	<i>B. bassiana</i>	Guamo - Tolima
T3	Pc 016	<i>Paecilomyces</i> sp.	Toro- Valle
T4	Pc 008	<i>Paecilomyces</i> sp.	Toro- Valle
T5	Bv 058	<i>B. bassiana</i>	Toro- Valle
T6	Pc 007	<i>Paecilomyces</i> sp.	Toro- Valle
T7	Bv 055	<i>B. bassiana</i>	Buga - Valle
T8	Pc 014	<i>Paecilomyces</i> sp.	Buga - Valle
T9	Bv 059	<i>B. bassiana</i>	San Pedro- Valle
T10	Pc 015	<i>Paecilomyces</i> sp.	Pradera - Valle
T11	Pc 012	<i>Paecilomyces</i> sp.	Zona bananera - Magdalena
T12	Pc 009	<i>Paecilomyces</i> sp.	Zona bananera - Magdalena
T13	Pc 010	<i>Paecilomyces</i> sp.	Zona bananera - Magdalena
T14	Pc 011	<i>Paecilomyces</i> sp.	Zona bananera - Magdalena
T15	Pc 013	<i>Paecilomyces</i> sp.	Ciénaga - Magdalena
T16	VI 002	<i>Lecanicillium lecanii</i>	Sumapáz - Cundinamarca
T17	VI 006	<i>L. lecanii</i>	Sumapáz - Cundinamarca
T18	VI 011	<i>L. lecanii</i>	Sumapáz - Cundinamarca
T19	VI 015	<i>L. lecanii</i>	Sumapáz - Cundinamarca
T20	VI 026	<i>L. lecanii</i>	Sumapáz - Cundinamarca
T21	Bv 025	<i>B. bassiana</i>	Motavita - Boyacá
T22	Mt 004	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Rionegro - Antioquia
T23	Nm 005	<i>Nomuraea rileyi</i>	Puerto Gaitán - Meta
T24	Testigo tratado		
T25	Testigo absoluto		

$1 \times 10^7$  conidios  $\text{ml}^{-1}$ . Dicha suspensión se aplicó sobre ninfas de segundo instar de *B. tabaci* mantenidas en el trifolío de frijol; para ello, se utilizó un microaspersor con una presión de 50 psi y un volumen de 3 ml por trifolío.

Se hicieron observaciones a los días 6 y 13 después de aplicados los tratamientos; al sexto día se realizó el conteo de las ninfas totales y ninfas enfermas que presentaron cambio de coloración y pérdida de turgencia, evidenciada por un aplastamiento corporal. El día 13 se contaron los adultos emergidos, evidenciados por las exuvias presentes. La unidad experimental correspondió a una planta de frijol con nueve folíolos y la unidad de muestreo correspondió a un folíolo previamente infestado con mosca blanca y tratado con los respectivos aislamientos.

Se utilizó un diseño experimental de bloques divididos con 25 tratamientos, que correspondieron a los 23 aislamientos; un testigo tratado, que consistió en una aplicación de Tween 80 al 0,1%; y un testigo absoluto, al cual no se le hizo ninguna aplicación. Cada tratamiento tuvo tres réplicas.

Se determinó el porcentaje de eficacia de cada uno de los aislamientos mediante la fórmula de Schneider-Orelli (Ciba - Geigy 1973): porcentaje de eficacia =  $[(b-k)/(100-k)] \times 100$ , donde  $b$  equivale al porcentaje de individuos muertos en el tratamiento y  $k$  equivale al porcentaje de individuos muertos en el testigo. Adicionalmente, los datos se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con el fin de evidenciar diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos.

**Determinación de las concentraciones letales de los aislamientos seleccionados.** A partir de los aislamientos seleccionados, se montó el bioensayo para la determinación de las concentraciones letales media y noventa ( $CL_{50}$  y  $CL_{90}$ ).

A partir de material vegetal mantenido en condiciones aisladas, se tomaron plantas de frijol que tuvieran dos trifolios formados. Las plantas se infestaron con 20 adultos de *B. tabaci* en jaulas pinza por 36 horas para asegurar una oviposición suficiente. Después del tiempo definido, los adultos se retiraron y se hicieron observaciones diarias hasta evidenciar la presencia del segundo instar ninfal.

Una vez observado el estado de desarrollo requerido de la plaga, se realizó la aplicación de los aislamientos en las mismas condiciones mencionadas anteriormente. Se evaluaron cinco concentraciones,

correspondientes a  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  y  $1 \times 10^8$  conidios  $\text{ml}^{-1}$  de cada uno de los aislamientos seleccionados, además de un testigo absoluto.

Las variables por medir correspondieron a la población inicial de ninfas y al número total de exuvias (día 14), las cuales correspondieron a los adultos emergidos, y por sustracción se determinó el número de individuos muertos. Los datos de mortalidad obtenidos se corrigieron respecto al testigo por medio de la fórmula de Schneider-Orelli y se analizaron mediante el programa estadístico Polo PC- procedimiento Probit.

La unidad experimental correspondió a una planta de frijol y la unidad de muestreo fueron seis folíolos previamente infestados con mosca blanca y tratados con los respectivos tratamientos.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 16 tratamientos, correspondientes a las cinco concentraciones de cada uno de los tres aislamientos seleccionados, y un testigo absoluto. Cada tratamiento tuvo seis réplicas.

## Resultados y discusión

**Establecimiento de la cría de *B. tabaci*.** Se logró establecer la cría de *B. tabaci* en condiciones de invernadero usando como hospedante frijol; el ciclo de vida de la plaga tuvo una duración de 21 días y no se presentaron retrasos en cada uno de sus estados de desarrollo. El estado de huevo duró 7 días y para el primer, segundo, tercero y cuarto instar ninfal, la duración fue de 3, 3, 4 y 4 días, respectivamente. Asimismo, no se presentaron problemas relacionados con el desarrollo de enfermedades en las plantas, ni parasitismo o depredación de las ninfas.

**Selección de aislamientos nativos.** En la evaluación de la población de ninfas enfermas realizada el día 6 después de la aplicación, el mayor porcentaje de eficacia se observó con el aislamiento VI 026 de *L. lecanii*, con un 45%, seguido por el aislamiento Pc 014 de *Paecilomyces* sp. con un 29,7%; los demás tratamientos mostraron niveles de eficacia inferiores al 25% (Figura 1). A pesar de evidenciarse diferencias numéricas marcadas, la prueba de Kruskal-Wallis no detectó diferencias estadísticas significativas entre la mayoría de los aislamientos ( $\alpha = 0,05$ ).

En la evaluación realizada al día 13, los porcentajes de eficacia fueron superiores para la mayoría de los tratamientos. Se destacó el aislamiento Pc 013 de *Paecilomyces* sp. con un porcentaje de eficacia del 91,7%, seguido por el aislamiento Bv 056 de *Beauveria*

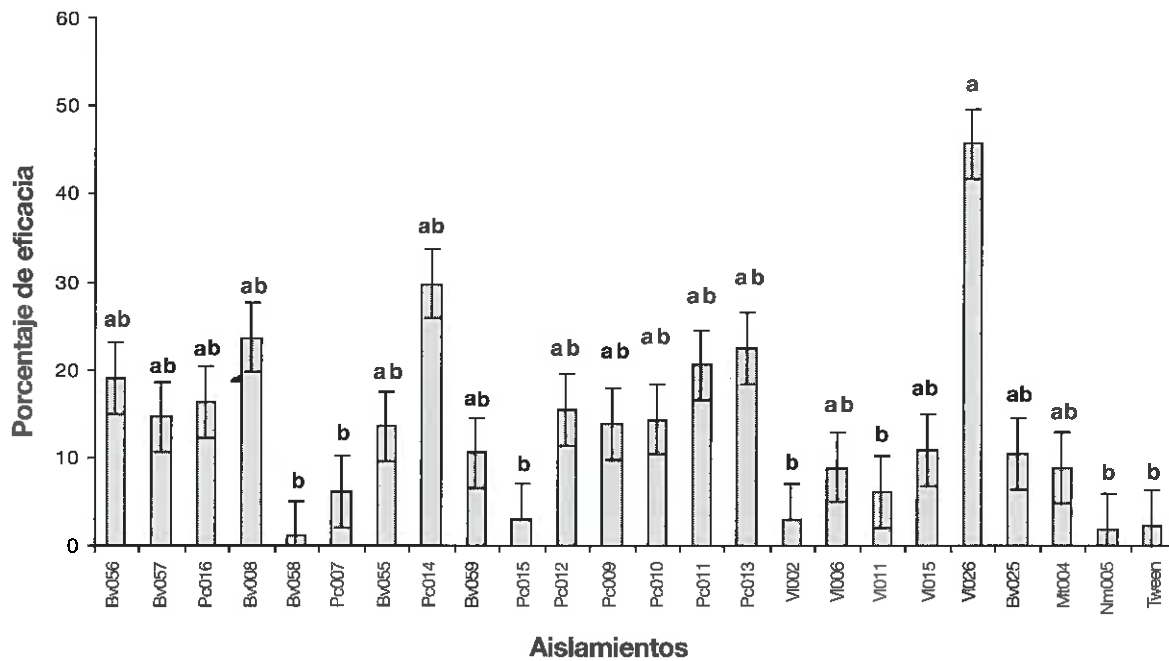


Figura 1. Mortalidad de ninfas de *Bemisia tabaci* a los seis días después de la aplicación de los diferentes aislamientos de hongos entomopatógenos. Bv = *Beauveria*; Pc = *Paecilomyces*; V1 = *Lecanicillium lecanii*; Mt = *Metarhizium anisopliae*; Nm = *Nomuraea rileyi*.

sp. con 58,6%. A pesar de que el aislamiento V1 026 produjo el mayor porcentaje de eficacia a los 6 días después de su aplicación, a los 13 días la mortalidad producida solo aumentó en un 2%. Otros aislamientos de *Beauveria* spp. y de *Paecilomyces* spp. alcanzaron porcentajes de eficacia superiores al 50%; tal fue el caso de los aislamientos Bv 055 y Pc 011, con un 55,2 y 51,5%, respectivamente (Figura 2).

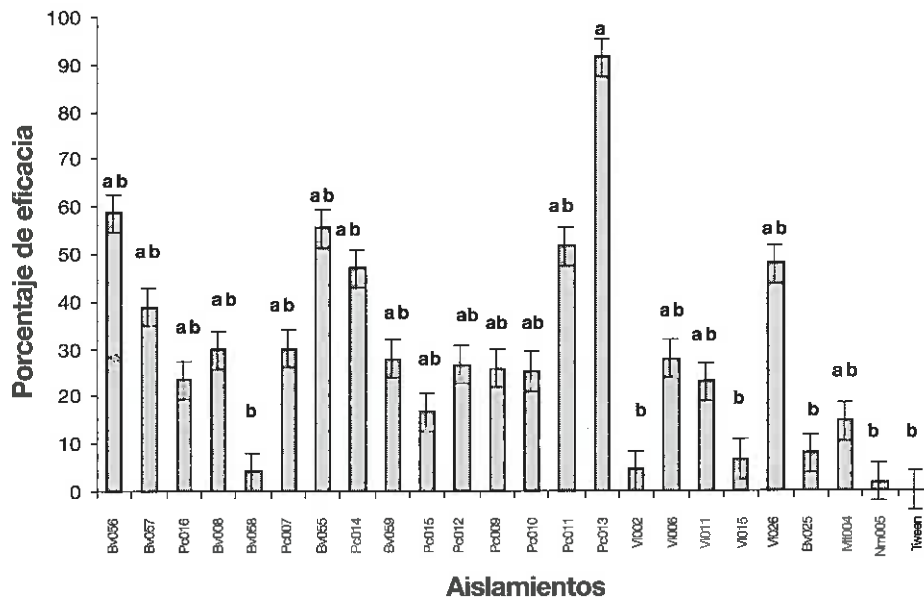
Los hongos entomopatógenos *B. bassiana*, *Paecilomyces* spp. y *L. lecanii* han sido reconocidos como agentes de control biológico importantes para plagas de la familia Aleyrodidae, tanto en el campo como en invernadero, atacando principalmente estados ninfales (Wraight et ál. 1998, Faria y Wraight 2001). Los resultados obtenidos en el presente trabajo concuerdan con los realizados por Wraight et ál. (1998), quienes reportaron niveles de mortalidad sobre ninfas de *B. tabaci* de entre el 68 y el 94%, ocasionados por *Paecilomyces fumosoroseus*. Herrera et ál. (1999) evaluaron aislamientos de *Beauveria* spp., *Metarhizium anisopliae* y *P. fumosoroseus* en condiciones de laboratorio, encontrando una gran variabilidad en los porcentajes de mortalidad, siendo mayor el ocasionado por un aislamiento de *M. anisopliae* (97%), si se tiene en cuenta que los aislamientos de *Beauveria* spp. ocasionaron una mortalidad de entre el 2 y el 63% y los de *P. fumosoroseus* produjeron una mortalidad de entre el 20 y el 52%. En un estudio en el cual se

evaluaron 50 aislamientos de *B. bassiana* sobre ninfas de *B. tabaci* se encontraron porcentajes de mortalidad que variaron entre el 10 y el 93%, de nuevo presentando alta variabilidad entre todos los aislamientos (Vidal et ál. 1997). En general, estos resultados concordaron con los obtenidos en el presente trabajo, debido a que aunque se seleccionó una cepa de *Paecilomyces* sp. por su elevada actividad biocontroladora, para la mayoría se observó una gran variabilidad en ésta y valores que no superaron el 60%, posiblemente debido a que fueron aislamientos con diferente grado de virulencia.

Los criterios para la selección de los microorganismos en el laboratorio involucran factores biológicos y tecnológicos; el principal factor de selección biológico es el mayor porcentaje de eficacia en el menor tiempo sobre el insecto blanco; los factores tecnológicos involucran las características de desarrollo del microorganismo para que las etapas tecnológicas de producción de un bioplaguicida se cumplan en forma eficiente, tales como la cantidad de conidios producidos sobre un medio de cultivo específico y su facilidad de separación de éste.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos y los criterios expuestos anteriormente, se seleccionó un aislamiento de cada especie, siendo estos *Beauveria bassiana* Bv 056, *Paecilomyces* sp. Pc 013 y *L. lecanii* V1 026.

El aislamiento Bv 056 produjo una eficacia del 58,6% y presentó una esporulación pulverulenta,



**Figura 2.** Mortalidad de ninfas de *Bemisia tabaci* a los doce días después de la aplicación de los diferentes aislamientos de hongos entomopatógenos. Bv = *Beauveria*; Pc = *Paecilomyces*; V1 = *Lecanicillium lecanii*; Mt = *Metarhizium anisopliae*; Nm = *Nomuraea rileyi*.

facilitando la etapa de separación. El aislamiento Pc 013, por su parte, además de lograr el mayor porcentaje de eficacia (91,7%) es un aislamiento obtenido de adultos de *B. tabaci* provenientes de un cultivo de tomate en la costa caribe colombiana, zona caracterizada por sus altas temperaturas y baja humedad relativa, factores medioambientales adversos para cualquier microorganismo. Lo anterior sugeriría que el aislamiento Pc 013 tendría la capacidad de tolerar estas condiciones adversas y por lo tanto sería más estable en una formulación. Por último, se seleccionó el aislamiento V1 026, el cual a pesar de no superar una mortalidad de 50% fue el que ocasionó la mayor mortalidad en el menor tiempo, 45% a los seis días post aplicación, con lo cual se podría inferir que su mecanismo de acción es más rápido y posiblemente sería muy eficiente al emplearse en una formulación de manera combinada con otro aislamiento que

causara una mortalidad final mayor, con el fin de atacar a la plaga desde los primeros días de aplicación. Además, este aislamiento es el principio activo de un bioplaguicida que se ha evaluado exitosamente en cultivos de habichuela (Jiménez 2002), tomate (Garzón 2004) y frijol (Carlos Moreno, comunicación personal, datos sin publicar) contra *Trialeurodes vaporariorum*; siendo de gran ventaja la aplicación de este producto en cultivos en donde se presenta una combinación de los dos insectos *B. tabaci* y *T. vaporariorum*, como en el caso de tomate en el Valle del Cauca (Colombia) (observación personal de los autores).

**Cuadro 2.** Porcentaje de eficacia ocasionado por los aislamientos evaluados a diferentes concentraciones sobre ninfas de *Bemisia tabaci*

Concentración (conidios ml <sup>-1</sup> )	V1 026 (% eficacia)	Bv 056 (% eficacia)	Pc 013 (% eficacia)
1 × 10 <sup>4</sup>	22,21	0,59	27,68
1 × 10 <sup>5</sup>	27,69	37,91	50,77
1 × 10 <sup>6</sup>	40,00	49,85	57,53
1 × 10 <sup>7</sup>	48,00	49,06	74,51
1 × 10 <sup>8</sup>	69,58	66,06	81,91

**Determinación de las concentraciones letales de los aislamientos seleccionados.** Al analizar los resultados obtenidos después de aplicar cinco concentraciones de los aislamientos seleccionados Bv 056, Pc 013 y V1 026, al cabo de los 14 días se encontró una mayor mortalidad a medida que aumentó la concentración de los microorganismos. Para el aislamiento Bv 056, los porcentajes de eficacia se encontraron en un rango de entre 0,59 y 66,06%, para las concentraciones 1 × 10<sup>4</sup> y 1 × 10<sup>8</sup> conidios ml<sup>-1</sup>, respectivamente; para el aislamiento V1 026 fueron del 22,21 y 69,58%, respectivamente, y para el aislamiento Pc 013 fueron del 27,68 y 81,91%, respectivamente (Cuadro 2).

Se encontró que las concentraciones letales media y noventa (CL<sub>50</sub> y CL<sub>90</sub>) correspondieron



**Cuadro 3.** Concentraciones letales 50 y 90 de los aislamientos evaluados sobre estados ninfales de *Bemisia tabaci*

Aislamientos	CL <sub>50</sub> (conidios ml <sup>-1</sup> )	CL <sub>90</sub> (conidios ml <sup>-1</sup> )
VI 026	5,0 × 10 <sup>6</sup>	9,9 × 10 <sup>9</sup>
Bv 056	3,5 × 10 <sup>6</sup>	7,9 × 10 <sup>8</sup>
Pc 013	2,4 × 10 <sup>5</sup>	1,9 × 10 <sup>8</sup>

a  $2,4 \times 10^5$  conidios ml<sup>-1</sup> y  $1,9 \times 10^8$  conidios ml<sup>-1</sup> para el aislamiento Pc 013; a  $3,5 \times 10^6$  conidios ml<sup>-1</sup> y  $7,9 \times 10^8$  conidios ml<sup>-1</sup>, respectivamente, para el aislamiento Bv 056; y a  $5,0 \times 10^6$  conidios ml<sup>-1</sup> y  $9,9 \times 10^9$  conidios ml<sup>-1</sup>, respectivamente, para el aislamiento VI 026 (Cuadro 3). Los resultados obtenidos podrían indicar que el aislamiento Pc 013 de *Paecilomyces* sp. es más virulento contra *B. tabaci* que los otros dos aislamientos. Respecto a los resultados obtenidos con el aislamiento VI 026 de *L. lecanii*, las concentraciones letales media y noventa fueron inferiores a las obtenidas por García (1996) al evaluar este mismo aislamiento sobre ninfas de *T. vaporariorum*, donde fueron de  $1,75 \times 10^8$  conidios ml<sup>-1</sup> y  $3,7 \times 10^{11}$  conidios ml<sup>-1</sup>, respectivamente. Lo anterior podría indicar una mayor susceptibilidad de *B. tabaci* al aislamiento de *L. lecanii*.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo se seleccionaron estos tres aislamientos y sus concentraciones letales serán tenidas en cuenta para el desarrollo de prototipos de bioplaguicidas para el control de *B. tabaci*.

### Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a Colciencias y Fontagro, por su apoyo económico, y a todo el personal técnico y administrativo del Centro de Investigación Palmira, por su apoyo incondicional para la realización del presente trabajo.

### Literatura citada

CIBA - GEIGY. 1973. Como realizar un bioensayo. Manual de Ensayos de Campo. p. 2-10.  
 Faria, M; Wraight, S. 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. Crop protection 20:767-778.  
 García, J. 1996. Evaluación de cepas nativas de *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas en el control de la mosca blanca de

los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). Trabajo de grado Ingeniería Agronómica. Colombia, Universidad Nacional de Colombia. 121 p.  
 Garzón, I. 2004. Evaluación de un bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* aplicado con un equipo neumático, para el control de *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). Trabajo de grado. Colombia, Universidad Nacional de Colombia. 48 p.  
 Herrera, F; Carballo, M; Shannon, P. 1999. Eficacia de cepas nativas de hongos entomopatógenos sobre *Bemisia tabaci* en el laboratorio (en línea). Consultado en 28 octubre 2004. Disponible en <http://web.catie.ac.cr/informacion/RMIP/rmip54/art6-a.htm> .  
 INFOAGRO. 2004. Métodos de control de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (en línea). Consultado el 19 octubre 2004. Disponible en <http://www.infoagro.com/abonos/moscablanca.htm>  
 Jiménez, L. 2002. Evaluación de técnicas de aplicación de un bioplaguicida a base de *Verticillium lecanii*, para el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* en un cultivo de habichuela. Trabajo de grado Ingeniería Agronómica. Colombia, Universidad Nacional de Colombia. 83 p.  
 López, A; García, J. 2000. Manejo Integrado sostenible de moscas blancas como plagas y vectores de virus en los trópicos. 1. Reconocimiento, diagnóstico y caracterización de moscas blancas como plagas en el trópico alto de América Latina. Informe final. Convenio Danida - Corpoica. Colombia, CIAT. 43 p.  
 McAuslane, H. 2000. Sweet potato whitefly B Biotype or silverleaf whitefly (en línea). Consultado el 10 Octubre 2004. Disponible en [www.nysaea.cornell.edu/ent/biocontrol/parasitoids/whitefly](http://www.nysaea.cornell.edu/ent/biocontrol/parasitoids/whitefly).  
 Rodríguez, I; Cardona, C. 2001. Problemática de *Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) como plagas de cultivos semestrales en el Valle del Cauca. Revista Colombiana de Entomología 27(1-2):21-26.  
 Salas, J; Arnal, E. 2000. Informe de Venezuela. In Taller Latinoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y Geminivirus (9). Memorias. Ciudad de Panamá, Panamá. p. 47-48.  
 Vidal, C; Lacey, L; Fargue, J. 1997. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Bemisia argentifolli* (Homoptera: Aleyrodidae) with a description of a bioassay method. J. Econ. Entomol. 90:765-772.  
 Villar, A; Alvarez, P; Escarramán, V; Gómez, E. 2000. Informe de la República Dominicana. In Taller Latinoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y Geminivirus (9). Memorias. Ciudad de Panamá, Panamá. p. 33.  
 Wraight, S; Carruthers, R; Bradley, C; Jaronski, S; Lacey, L; Wood, P; Galini-Whaigh, S. 1998. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly *Bemisia argentifolli*. Journal of Invertebrate Pathology 71:217-226.

# Distribución del psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri* Kuwayama) en Costa Rica

William Villalobos<sup>1</sup>  
Carolina Godoy<sup>2</sup>

**RESUMEN.** El insecto plaga *Diaphorina citri* es vector de la enfermedad de los cítricos conocida como “Huanglongbing”. Esta enfermedad, causada por una bacteria limitada al floema, llamada *Candidatus Liberibacter*, es de importancia económica y afecta plantas jóvenes y adultas de los cítricos. En este artículo se informa de la distribución de *D. citri* en Costa Rica, así como de las plantas hospederas de la familia Rutaceae donde se le ha recolectado.

**Palabras clave:** Psyllidae, *Diaphorina*, *Liberibacter*, “Huanglongbing”, “greening”.

**ABSTRACT.** Distribution of *Diaphorina citri* Kuwayama in Costa Rica. *Diaphorina citri* is an insect pest vector of the citrus disease known as “Huanglongbing”. This disease, caused by *Candidatus Liberibacter*, a bacteria in the vascular system, causes economic losses and affects young and mature citrus plants. In this paper we report the distribution of *D. citri* in Costa Rica, as well the host plants in the family Rutaceae where it has been collected.

**Keywords:** Psyllidae, *Diaphorina*, *Liberibacter*, “Huanglongbing”, “greening”.

## Introducción

El psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama y el psílido africano *Trioza erytrae* (Del Guercio) son considerados como las dos plagas de mayor importancia para la producción de cítricos en el mundo (Hoy y Nguyen 1998). Pertenecen al orden Hemiptera, suborden Sternorrhyncha, familias Psyllidae y Triozidae, respectivamente. Ambas especies transmiten la enfermedad de los cítricos conocida como “huanglongbing” descrita en China en 1919 y cuyo nombre significa “enfermedad del dragón amarillo”, debido a la apariencia del árbol enfermo (Halbert et ál. 2002). Esta enfermedad está presente en varios países tropicales y subtropicales de Asia y África (Pasciecznik et ál. 2005); recientemente se informó en Brasil (Texeira et ál. 2004a) y Florida (Chung y Brlansky 2005). La enfermedad se asocia a tres bacterias fastidiosas limitadas al floema: *Candidatus*

*Liberibacter africanus*, *Candidatus Liberibacter asiaticus* y *Candidatus Liberibacter americanus*. La primera de estas se transmite por *T. erytrae* y sólo se ha informado de su presencia en África (Toorawa 1998). *Diaphorina citri* transmite a *Ca. L. asiaticus* y a *Ca. L. americanus* (Texeira et ál 2005b). En América, *Ca. L. asiaticus* se ha detectado en Brasil (Texeira et ál. 2005b) y en Florida (Chung y Brlansky 2005), mientras que *Ca. L. americanus* sólo se ha informado en Brasil (Texeira et ál. 2005a). En condiciones experimentales *D. citri* y *T. erytrae* pueden transmitir tanto la bacteria de origen africano como la asiática (Lallemand et ál. 1986). En ambos casos, los síntomas de la enfermedad corresponden a los del huanglongbing presentes en Asia (da Graça 1991); sin embargo, se han observado síntomas más severos con la bacteria asiática, ya que se presenta más muerte de ramillas y caída de hojas hasta la eventual muerte de la planta (Gottwald et ál. 2007).

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular, Universidad de Costa Rica, CP 11501-2060, San José, Costa Rica. williamv@cariari.ucr.ac.cr, williamvm@costarricense.cr

<sup>2</sup> Museo de Zoología, Universidad de Costa Rica, CP 11501-2060, San José, Costa Rica. hansongodoy@racsa.co.cr



**Figura 1.** *Diaphorina citri* en diferentes estadios de desarrollo en árboles de limón dulce. **A.** Adulto. **B.** Ninfa. **C.** Ninfa excretando cera y **D.** Deformación de hojas de cítrico.

El psílido asiático *D. citri* se localiza comúnmente en grupos en la parte inferior de las hojas, con la cabeza cerca de la superficie de la hoja y el cuerpo levantado en un ángulo de 30° (Figura 1). La actividad de los psílicos está asociada al desarrollo de los brotes nuevos en los cítricos (Frank 1998). El psílido asiático causa deformación y encrespamiento en brotes tiernos debido al daño directo por alimentación y la saliva tóxica que introduce (Figura 1) (Hoy y Nguyen 1998). En el caso de los psílicos infectados con la bacteria que causa el huanglongbing, cuando el insecto la transmite esta se multiplica en el floema y causa clorosis semejante a una deficiencia de zinc, moteados cloróticos y muerte de ramas.

**Cuadro 1.** Árboles hospederos de *Diaphorina citri* en Costa Rica

Especie	Nombre común
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osb.	Naranja dulce
<i>Citrus paradisi</i> X <i>Poncirus trifoliata</i>	Swingle citrumelo
<i>Citrus reticulata</i> Blanc.	Mandarina
<i>Murraya paniculata</i> L.	Uruca extranjera
<i>Citrus limetoides</i> Tanaka	Limón dulce
<i>Citrus latifolia</i> L.	Lima Tahití
<i>Citrus limonia</i>	Lima Ragpur
<i>Citrus paradisi</i> Macf.	Toronja

Además, la calidad del fruto se afecta severamente debido a la reducción del tamaño y que desarrolla un sabor amargo. Por este motivo, la presencia de este patógeno causa pérdidas importantes (Garnier y Bové 2000).

Capoor et ál. (1974) informaron de una alta tasa de transmisión de la bacteria en asocio con ninfas del cuarto y quinto estadio, y adultos de *D. citri*. El período de adquisición en plantas infectadas fue de 30 minutos para el psílido asiático (Roistacher 1991). Los psílicos adultos pueden transmitir la enfermedad si se alimentan de una planta infectada por un período no menor de 15 minutos, pero el porcentaje de transmisión es bajo. Sin embargo, cuando los psílicos se alimentan durante 1 hora o más tiempo, la transmisión puede alcanzar el 100% (Capoor et ál. 1974).

La bacteria se multiplica en el psílido vector (transmisión propagativa) y requiere de un período de incubación de 21 días para que *D. citri* sea capaz de transmitir el patógeno. Una vez que el insecto es capaz de transmitir la bacteria, se mantiene infectivo durante toda su vida; sin embargo, la bacteria no se transmite transovarialmente (Capoor et ál. 1974).

En el continente americano, la presencia del psílido asiático en Río de Janeiro (Brasil) se reportó en 1942 por Lima y se reconfirmó en 1970 por Catling. En 1989 se encontró en Honduras (Burckhardt y Martínez 1989). En junio de 1998, el insecto se detectó en las islas del Caribe y Florida: en septiembre del 2000 esta plaga ya se había diseminado por 31 condados de la Florida (Halbert 1998 y 2002). En el año 1999 se informó de su presencia en Venezuela (Cermeli et ál. 2000), en el 2003 en Costa Rica (Villalobos et ál. 2005a, 2005b), en el 2004 en México (Coronado-Blanco & Ruiz-Cancino 2004), y en el 2005 en Panamá (H-CIRSA 2005) y la región noroeste de Argentina (Augier et ál. 2006a, 2006b). El presente trabajo busca informar las especies de rutáceas y zonas geográficas en las que se ha encontrado *Diaphorina citri* en Costa Rica

### Materiales y métodos

Se recolectaron muestras de insectos sobre árboles de cítricos de las especies indicadas en el Cuadro 1.

Se recolectaron insectos adultos, ninfas y huevos con la ayuda de un pincel y se preservaron en alcohol al 70%. Posteriormente, se compararon con los especímenes clasificados previamente por el especialista en Psylloidea, Dr. David Hollis, del Museo de Historia Natural de Londres (Inglaterra).

## Resultados y discusión

En noviembre del 2003, *D. citri* fue recolectado por primera vez en Costa Rica en la Meseta Central, en las localidades de San Pedro de Montes de Oca, San José; San Josecito de Alajuela y Birrú de Heredia (Villalobos et ál. 2005b). En el 2005 se encontró en diferentes localidades fuera de la Meseta Central, entre ellas Aranjuez de Puntarenas; Cañas de Guanacaste; San Isidro del General, San José; Ujarrás, Cartago; Los Chiles, Muelle; y Aguas Zarcas de San Carlos, Alajuela. A partir del 2006, *D. citri* se ha observado en altas poblaciones en todo el país en las diferentes especies de cítricos o rutaceas relacionadas donde se buscó (Cuadro 1) por ser reconocidas hospederas de este insecto (Mead et ál. 1977).

Las poblaciones de *D. citri* aumentan al inicio y al final de la época lluviosa y cuando se estimulan nuevos brotes por el crecimiento normal de las plantas en desarrollo o por el estímulo de la poda (Frank 1998). En Costa Rica se presentó el mismo comportamiento de las poblaciones, observándose un aumento en el número de huevos, ninfas y adultos de *D. citri*, lo cual coincide con lo reportado en la literatura.

Es de gran importancia monitorear árboles con síntomas sospechosos de la enfermedad huanglongbing, la cual puede ser transmitida por estos insectos, por injerto, por semilla y por *Cuscuta* spp. (Raychaudhuri et ál. 1974). La detección de la bacteria en la planta puede ser difícil debido a que su distribución irregular implica realizar más de una prueba de diagnóstico a los árboles sospechosos.

Por este motivo, es necesario alertar a los organismos de fitoprotección, a las instituciones asociadas con la producción de cítricos, y a los agricultores que importan semillas y material para propagación sobre la importancia de evitar el ingreso al país de material contaminado con la bacteria.

Lo recomendable es utilizar material certificado, además de controlar las poblaciones del psílido y destruir cualquier fuente de inóculo. En Sudáfrica se ha visto que al controlar los psílicos se minimiza la enfermedad, lo que permite mantener rentable la producción de cítricos (Le Roux et ál. 2006).

Dada la capacidad de este insecto para alcanzar altas poblaciones y rápida dispersión, como se constató en Costa Rica, es probable que se encuentre en todo el istmo centroamericano, ya que como se mencionó también se ha detectado en Honduras (Burckhardt et ál. 1989), Venezuela (Cermeli et ál. 2000), México

(Coronado-Blanco et ál. 2004), Panamá (H-CIRSA 2005) y las Islas del Caribe (Étienne et ál. 1998).

## Agradecimientos

Al Dr. David Hollis, Museo de Historia Natural, Londres, por los especímenes de referencia

## Literatura citada

- Augier, L.; Gastaminza, G.; Lizondo, M.; Argañaraz, M.; Acosta, M.; Willink, E. 2006. Detección del vector del Huanglongbing *Diaphorina citri* Kuwayama en el noroeste argentino. *Avance Agroindustrial (Argentina)* 27(4): 10-12.
- Augier, L.; Gastaminza, G.; Lizondo, M.; Argañaraz, M.; Willink, E. 2006. Record of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in the North West Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 65: 67-68
- Burckhardt, D.; Martínez, M. 1989. Notes sur la présence au Honduras d'un redoutable ennemi des citrus: *Diaphorina citri* Kuwayama (Hom. Psylloidea psyllidae). *Bulletin de la société entomologique de France* 94:65-66.
- Capoor, SP; Rao DG; Viswanath SM. 1974. Greening disease of citrus in the Deccan Trap Country and its relationship with the vector, *Diaphorina citri* Kuwayama. *In Weathers LG; Cohen M. eds. Conference of the International Citrus Virology* (6, University of California, Division of Agricultural Sciences). *Proceedings*. p. 43-49.
- Catling HD. 1970. Distribution of the psyllid vectors of citrus greening disease, with notes on the biology and bionomics of *Diaphorina citri*. *FAO Plant Protection Bulletin* 18:8-15.
- Cermeli, M; Morales, P; Godoy, F. 2000. Presencia del psílido de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en Venezuela. *Boletín de Entomología Venezolana* 15(2):235-243.
- Chung, K-R; Brlansky. HR. 2005. Citrus Diseases Exotic to Florida: Huanglongbing (Citrus Greening). Florida, US, University of Florida IFAS Extension. p. 210.
- Coronado-Blanco, J. M. y E. Ruiz-Cancino 2004. Registro del "Psílido asiático de los cítricos", *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) para México. *Folia Entomologica Mexicana* 43(1):165-166.
- Da Graça, JV. 1991. Citrus greening disease. *Annu. Rev. Phytopathology* 29:109-136.
- Étienne, J; Burckhardt, D; Grapin, C. 1998. *Diaphorina citri* (Kuwayama) [sic] en Guadeloupe, premier signalement pour les Caraïbes (Hem., Psyllidae). *Bulletin de la Société Entomologique de France* 103:32.
- Frank, WM. 1998. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry. Originally published as FDACS/DPI Entomology Circular No. 180. Disponible en <http://creatures.ifas.ufl.edu/citrus/acpsyllid.htm>
- Garnier, M; Bové, JM. 2000. Huanglongbing (Greening). *In Timmer, LW; Garnsey, SM; Graham, JH. eds. Compendium of Citrus Diseases*, 2 ed. St. Paul, MN, US, APS Press. p. 46-48.
- Gottwald, TR; da Graça, JV; Bassanezi, RB. 2007. Citrus Huanglongbing: The pathogen and its impact. *Online. Plant Health Progress* doi: 10.1094/PHP-2007-0906-01-RV.
- H-CIRSA, Comisión Ejecutiva. 2005. XXIII Reunión de la Comisión Ejecutiva, Ciudad de Panamá, Panamá, 11 de marzo de 2005. Disponible en <http://www>.

- oirsa.org/documentos/Actas%20y%20Resoluciones/  
RESOLUCIONES/XXIII-10-11-Mar.-2005-  
Recomendaciones.pdf
- Halbert, SE. 1998. Entomology Section. Tri-ology (May-June 1998) 37(3):6-7.
- Halbert, SE; Niblett, CL; Manjunath, KL; Lee, RF; Brown, LG. 2002. Establishment of two new vectors of citrus pathogens in Florida. International Soc. Citriculture Congress (9). Proceedings Alexandria, VA, US, ASHS Press. p. 1016-1017.
- Hoy, MA; Nguyen, R. 1998. Citrus psylla: here in Florida - an action plan. Pest Alert. Disponible en <http://extflab7.entnem.ufl.edu/PestAlert/hoy-0615.htm>.
- Lallemand, J; Fos, A; Bové, JM. 1986. Transmission de la bacterie associé à la forme africaine de la maladie du "greening" par le psylle asiatique *Diaphorina citri* Kuwayama. Fruits 41:341-343.
- Le Roux, HF ; van Vuuren, SP ; Pretorius, MC ; Buitendag, CH. 2006. Management of Huanglongbing in South Africa. Huanglongbing-Greening Intl. Workshop (2006, Ribeirão Preto, Brasil). Proceedings. p. 43-47.
- Lima A. M. Da C. 1942. Insectos do Brazil; Homopteros 3. Rio de Janeiro, BR, Imprenso National. p. 101.
- Mead, FW. 1977. The Asiatic citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). Gainesville, FL, US, Fla. Dept. of Agric. and Consumer Serv., Div. of Plant Indust., Entomol. Circular No. 180.
- Pasiecznik NM; Smith, IM; Watson, GW; Brunt, AA; Ritchie, B; Charles, LMF. 2005. CABI/EPPO distribution maps of the plant pests and plant diseases and their important role in plant quarantine 35: 1-7.
- Raychaudhuri, SP; Nariani, TK; Ghosh, SK; Viswanath, SM; Kumar, D. 1974. Recent studies on citrus greening in India. In Weathers, LG; Cohen, M. eds. Intl. Conf. Organ. Citrus Virol. (6). Proceedings. Univ. California, Div. Agric. Sci. p. 53-57.
- Roistacher, CN. 1991. Techniques for biological detection of specific citrus graft transmissible diseases. Roma, IT, FAO. p. 35-45.
- Sutton, BD; Duan, Y-P; Halbert, S; Sun, X-A; Schubert, T; Dixon, W. 2005. Detection and identification of citrus huanglongbing (greening) in Florida, USA. Intl. Citrus Canker and Huanglongbing Workshop (2, Orlando, FL). Proceedings. p. 59.
- Teixeira, DC; Ayres, J; Kitajima, EW; Tanaka, FAO; Danet, L. 2005a. First report of a Huanglongbing-like disease of citrus in Sao Paulo State, Brazil and association of a new *Liberibacter* species, "*Candidatus* *Liberibacter americanus*", with the disease. Plant Disease 89: 107.
- Teixeira, DC; Danet, JL; Eveillard, S; Martins, EC; Jesus Junior, WC; Yamamoto, PT; Lopes, SA; Bassanezi, RB; Ayres, AJ; Saillard, C; Bové, JM. 2005b. Citrus huanglongbing in São Paulo State, Brazil: PCR detection of the "*Candidatus*" *Liberibacter* species associated with the disease. Mol. Cell. Probes 19:173-179.
- Toorawa, P.1998. La maladie du huanglongbing (greening) des agrumes a L'Île Maurice. Detection de "*Candidatus* *Liberobacter asiaticum*" et "*Candidatus* *Liberobacter africanum*" dans les agrumes et les insectes vecteurs. Doctoral Thesis. Francia, L'Universite de Bordeaux. 186 p.
- Villalobos, W; Godoy, C; Rivera C. 2005a. Ocurrance of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in Costa Rica, the Vector of Huanglongbing. Conference of the International Organization of Citrus Virologist (16, Monterrey, Nuevo León, México). Proceedings. p. 509.
- Villalobos, W; Hollis, D; Godoy, C; Rivera C. 2005b. First report of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Costa Rica. Insecta Mundi 19: 191-192.

## En busca de coberturas vivas para el manejo de *Bemisia tabaci* como vector de virus en tomate

Luko Hilje<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Se describe la génesis completa de las coberturas vivas —una tecnología funcional, rentable y ambientalmente inocua—, desde cómo surgió la idea de utilizarlas para el manejo del vector *Bemisia tabaci* en tomate, hasta su exitosa validación agronómica y económica en campos de agricultores en Costa Rica. Entre dichas coberturas sobresale el culantro (*Coriandrum sativum*, Umbelliferae), que puede venderse una vez cumplida su función en los campos de tomate, aportando ingresos adicionales para los agricultores. Por sus características agronómicas, así como por ser aptas para la agricultura orgánica, las coberturas vivas podrían eventualmente convertirse en un valioso componente de la producción orgánica de hortalizas.

**Palabras clave:** cobertura verde, *Bemisia tabaci*, Begomovirus, culantro, agricultura orgánica, Costa Rica.

**ABSTRACT.** In search of living ground covers for managing *Bemisia tabaci* as a virus vector in tomatoes. The entire genesis of this functional, cost-effective and environment-friendly technology is described, all the way from the original idea of using living ground covers for managing *Bemisia tabaci* in tomato production to its successful agronomic and economic validation in farmers' fields in Costa Rica. Coriander (*Coriandrum sativum*, Umbelliferae) stood out among them because it can be sold once accomplished its role in tomato fields, providing additional economic returns to farmers. Because of their agronomic characteristics, as well as their suitability for organic agriculture schemes, living ground covers could eventually become a valuable component of vegetable organic production systems.

**Key words:** live mulches, *Bemisia tabaci*, Begomoviruses, coriander, organic agriculture, Costa Rica.

### Introducción

A inicios del decenio de los 90, cuando recién había iniciado mis labores como entomólogo en el CATIE, comenzó a correr, primero como un rumor cada vez más difundido y después como una realidad inobjetable, la crisis agrícola que habían empezado a causar la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) y los virus transmitidos por ella, no solo en el sur de EUA, sino también en los países centroamericanos y caribeños.

Por ejemplo, en el caso del cultivo de tomate había antecedentes desde 1986 en Nicaragua, 1987 en Guatemala, 1988 en República Dominicana y Costa Rica, 1989 en Honduras y El Salvador, y 1991 en Panamá

(Hilje 1993), pero la situación se fue complicando hasta tornarse inmanejable. Los valles de Zacapa (Guatemala), Zapotitán (El Salvador), Comayagua (Honduras), Sébaco (Nicaragua), Central (Costa Rica) y Azua (República Dominicana), así como la península de Azuero (Panamá), donde históricamente se había concentrado la producción de tomate, se convirtieron en escenarios donde centenares o miles de agricultores eran presa de la desesperación.

En respuesta a esto, se recurrió a una amplia gama de insecticidas piretroides, organofosforados, carbamatos, organoclorados, detergentes y aceites, e incluso a mezclas de piretroides con organofosforados,

<sup>1</sup>Departamento de Agricultura y Agroforestería, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica. lhilje@catie.ac.cr

tomando como modelo lo que se hacía en EUA. Hubo casos en que los agricultores los aplicaban día de por medio e incluso todos los días, sin resultados perceptibles, pues los campos eran reinfestados por la plaga casi de inmediato.

Dicha crisis obligó a los técnicos agrícolas a buscar soluciones de emergencia, creándose en varios países Comisiones Nacionales, aunque con poca o nula comunicación con los demás países. Tras varios intentos de colaboración, en agosto de 1992 se efectuó en el CATIE el *Primer Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas*, convocado para configurar el *Plan de Acción Regional para el Manejo de las Moscas Blancas*, que fuera elaborado por representantes de instituciones de investigación, transferencia de tecnología y cooperación técnica de los sectores público y privado (Hilje 1998). Su objetivo general era el desarrollo simultáneo e interactivo de actividades de validación y transferencia de tecnologías, complementado con labores de diagnóstico, capacitación e investigación orientadas hacia el manejo integrado del complejo mosca blanca-virus.

Puesto que, para ganar en eficacia, se procuraba la especialización temática por país o por institución—según sus fortalezas específicas—, además de su papel como coordinador general del Plan, el autor se responsabilizó de trabajar con prácticas agrícolas, en lo cual ya había iniciado esfuerzos que incluían el manejo de semilleros, así como la utilización de cultivos trampa y coberturas al suelo.

En relación con este último componente, el presente artículo describe la experiencia de cómo se generó, paso a paso, una tecnología basada en coberturas vivas al suelo, desde la idea germinal hasta su exitosa validación agronómica y económica en campos de agricultores.

### ¿Por qué las coberturas vivas?

La idea de utilizar coberturas vivas provino de conversaciones del autor con agricultores en Zacapa, (Guatemala) y Azuero (Panamá). En el primer país, dos agricultores expresaron que cuando, de manera accidental, sus semilleros se habían retrasado para el trasplante y había crecido vegetación silvestre a su alrededor, las plantas se notaban bastante sanas semanas después. Por su parte, en Panamá, un agricultor nos mostró una parcela de tomate profusamente infestada por el coyolillo o coquito (*Cyperus rotundus*, Cyperaceae) que, aunque considerada como una de las principales malezas en América Central, en este caso más bien “protegió” el tomate contra la mosca blanca.

Aunque en ese momento ignorábamos el posible mecanismo mediante el cual la presencia de vegetación silvestre beneficiaba el cultivo de tomate, poco después recordamos un artículo clásico de Kennedy et ál. (1961), quienes demostraron que algunas especies de áfidos emplean el contraste de color (diferentes longitudes de onda) entre las plantas y el suelo desnudo para localizar a sus hospedantes. Estos hallazgos serían confirmados y ampliados en años subsiguientes por otros autores (A'Brook 1968, Smith 1976).

La subsecuente búsqueda de literatura nos reveló que no se había avanzado mucho en este campo. Sin embargo, pronto hallamos información muy estimulante al respecto, proveniente de Israel y recopilada por Cohen (1982). En ella se indicaba que, mediante el uso de varios tipos de coberturas al suelo (aserrín, paja de arroz y plástico amarillo) era posible reducir la abundancia de adultos de *B. tabaci*, así como la incidencia del Virus del rizado amarillo del tomate (TYLCV). Además, se indicaba que en general el efecto de estas coberturas era de apenas 20-30 días desde el establecimiento del cultivo y, aunque no se mencionaba nada sobre coberturas vivas, esta información fue bastante esclarecedora, pues demostraba un interés por el uso de coberturas al suelo, a la vez que exploraba opciones para su aplicación en campos de agricultores.

Para entonces, el autor había avanzado bastante en la conceptualización de un esquema de manejo preventivo del complejo *B. tabaci*-virus. Este parte de la premisa de que, como el efecto de los geminivirus (hoy begomovirus, de la familia Geminiviridae) sobre el rendimiento del tomate depende de la edad de la planta en el momento de la infección (Franke et ál. 1983, Acuña 1993) y es más serio en los primeros dos meses del desarrollo de la planta, es solamente durante ese *período crítico* cuando deben aplicarse las medidas de manejo. Es decir, la idea central es evitar del todo o minimizar la posibilidad de contacto entre el vector y la planta de tomate durante el período de mayor susceptibilidad a los virus, para retrasar la epidemia (reduciéndose la incidencia y severidad virales) y obtener rendimientos satisfactorios.

En tal sentido, se consideró que para ese período crítico de dos meses, la primera etapa (de al menos 22 días) podría abordarse mediante la producción de plántulas en túneles cubiertos con malla fina, así como en recipientes que eviten el estrés del trasplante; esto se lograría años después, tras varias experiencias en el CATIE (Cubillo et ál. 1999a). En cuanto a la segunda etapa, el dato de la experiencia israelí (de 20-30 días de

duración de las coberturas desde el establecimiento del cultivo) resultaba promisorio, pues ahora se trataba no de siembra directa sino de trasplante, y ese intervalo se aproximaba bastante al tiempo necesario para proteger completamente las plantas durante el período crítico.

### Los primeros pasos

En realidad, inicialmente desconocíamos por completo cuáles coberturas vivas evaluar. Por tanto, pensando en utilizar una leguminosa que pudiera además incorporar nitrógeno al suelo y sobre la cual se contara con información acerca de cómo establecerla (de la Cruz 1990), se incluyó al maní forrajero (*Arachis pintoi*, Fabaceae) (Fig. 1A).

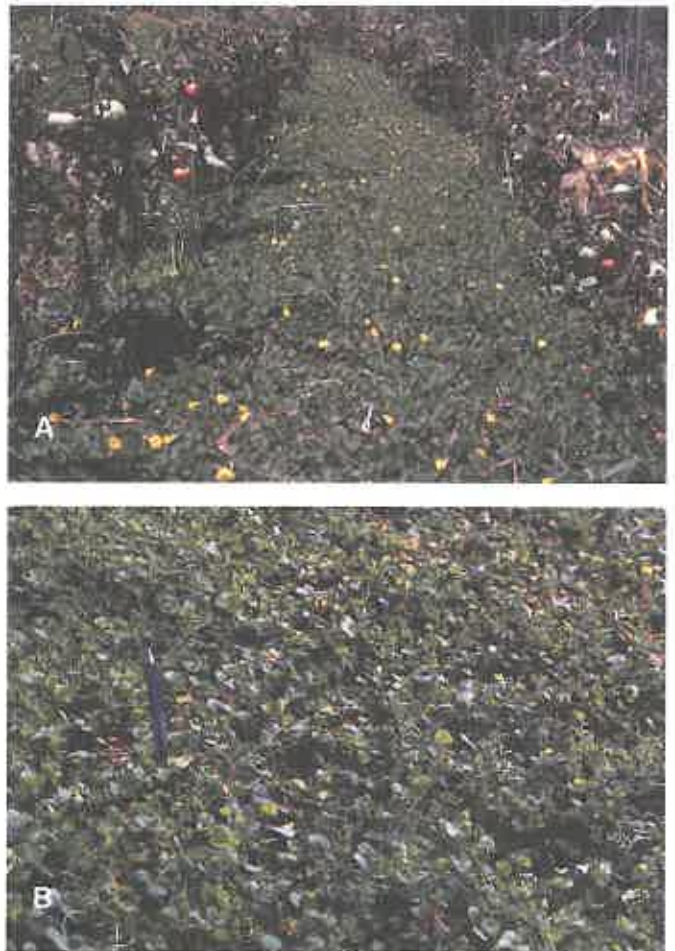
Asimismo, en estos primeros experimentos, efectuados en Alajuela (en la Estación Experimental Fabio Baudrit, de la Universidad de Costa Rica) en 1993 (Amador y Hilje 1993), se decidió incluir un tratamiento en que se dejara crecer de manera espontánea la vegetación (en el cual aparecerían 17 especies, varias de ellas conocidas hospedantes de *B. tabaci*). Ambos tipos de cobertura se compararon en un diseño formal de bloques completos al azar con una cobertura de granza de arroz y dos plásticas (amarilla y verde claro, obtenidas de bolsas para basura), más un testigo (tomate en suelo desnudo) (Fig. 2A). No se aplicaron insecticidas, para evitar interferencias con los datos experimentales. Aunque los rendimientos no se pudieron evaluar debido a un severo ataque de maya (*Pseudomonas solanacearum*), hubo resultados alentadores. La eliminación del contraste entre el suelo y el cultivo redujo la atracción de adultos de *B. tabaci* y retardó la diseminación de la virosis, destacando los dos tipos de coberturas vivas.

Por su parte, las coberturas plásticas (amarilla y verde claro) no mostraron diferencias significativas con respecto al testigo, mientras que la granza de arroz redujo la cantidad de adultos pero no retardó la epidemia viral, quizás porque las parcelas se enmalezaron levemente. En realidad, la tonalidad del plástico verde era clara, por lo que quizás el insecto no la discriminó del amarillo. Curiosamente, con el plástico amarillo los resultados fueron más bien contraproducentes, en contraste con los obtenidos en Israel (Cohen y Melamed-Madjar 1974, 1978, Cohen 1982, Cohen y Berlinger 1986), quizás porque la temperatura acumulada durante el día no superó los 23 °C, en tanto que en el Valle del Jordán, Israel, ese valor puede duplicarse; el mecanismo sugerido es la fuerte atracción de esos materiales amarillos o amarillentos,

sobre los cuales las moscas permanecen hasta morir por desecación.

El aprendizaje más relevante de esta primera experiencia fue que, si en una parcela pequeña (de 1800 m<sup>2</sup> y subdividida en 24 unidades experimentales de apenas 43 m<sup>2</sup>) fue posible detectar diferencias entre tratamientos, estas se magnificarían al aumentar el tamaño de cada unidad experimental. Otro aprendizaje fue que la cobertura *A. pintoi* fue difícil de establecer y, por la profundidad de su sistema radical, eventualmente sería difícil de remover. Finalmente, el ataque de *P. solanacearum* en este y otros experimentos conducidos de manera simultánea en la estación nos hizo ver que era preferible no trabajar más ahí, donde habría más riesgos en este sentido, por tratarse de un predio experimental, donde en el pasado quizás hasta hubo experimentos con inoculaciones de dicha bacteria.

Por tanto, la segunda experiencia se realizó en la parcela de un agricultor, en Guayabo, Turrialba, con



**Figura 1.** Aspecto del hábito de las dos coberturas silvestres evaluadas: **A.** Maní forrajero (*Arachis pintoi*); **B.** Cinquillo (*Drymaria cordata*).



unidades experimentales de 130 m<sup>2</sup> (Blanco y Hilje 1995); se trataba de un cafetal, puesto que en Costa Rica es común que el tomate se siembre entre las hileras de café, especialmente al podar o renovar el café; aquí tampoco se aplicaron insecticidas. Esta vez nos concentramos en tres coberturas vivas de crecimiento relativamente rápido: una leguminosa fijadora de nitrógeno, como la mucuna (*Stylobium deeringianum*, Fabaceae); el cinquillo (*Drymaria cordata*, Caryophyllaceae) (Fig. 1B), que crece profusamente en esta zona tan húmeda, forma una capa tupida y baja, tiene raíces someras que no compiten por los nutrientes y el agua con el tomate recién trasplantado; y una mezcla de vegetación espontánea.

Las coberturas vivas se compararon con un plástico coextruido plateado/negro, de 1,25 milésimas de pulgada y 1,4 m de ancho (Olefinas S.A., Guatemala) que habíamos observado aportaba buenos resultados en Guatemala, y un plástico verde oscuro (un tipo de mantenido entretejido, utilizado para cubrir camiones de carga), que se asemejaba a la tonalidad de la vegetación, más un testigo (suelo desnudo). Ambos se colocaron en camas hechas entre las hileras del cafeto y se les hicieron orificios de 20 cm de diámetro para trasplantar allí el tomate.

Lamentablemente, de nuevo los rendimientos no se pudieron cuantificar debido al ataque de *P. solanacearum*, un poco tardío. Sin embargo, fue posible determinar que todas las coberturas, inertes o vivas, disminuyeron la abundancia de adultos de *B. tabaci*, aunque en general su población fue baja durante el experimento.

De las inertes, el plástico verde se decoloró en dos semanas, adquiriendo una tonalidad verde claro, inconveniente para nuestros fines. En cambio, el plástico plateado redujo marcadamente la abundancia de adultos, como lo sugería la literatura, tanto para áfidos inicialmente (Smith y Webb 1969), como para *B. tabaci* en años más recientes (Swuan et ál. 1988, Csizinszky et ál. 1995, 1997, Berlinger y Lebiush-Mordechi 1996).

Las coberturas vivas, aunque eficaces, mostraron algunos problemas. La mucuna creció rápidamente por su hábito de enredadera, enrollándose en las plantas de tomate, en los tutores y en el cafeto, por lo que se debió podar constantemente y requirió mucha mano de obra. Con la vegetación espontánea (hubo 16 especies) podría haber riesgos, sobre todo si fuera hospedante de los virus. En cuanto al cinquillo, inicialmente se sembró por semilla, pero debido a su lento crecimiento se debió propagar de manera vegetativa, requiriendo bastante mano de obra; no

obstante, aparte de las ventajas previamente indicadas, es de fácil manejo.

En todo caso, aunque en la siembra por trasplante ciertamente se reducen los problemas de competencia (por espacio, luz y nutrientes) al combinar el tomate con coberturas vivas, en comparación con la siembra directa siempre hay problemas, a diferencia de las coberturas plásticas, que evitaron el crecimiento de malezas mientras estuvieron instaladas; asimismo, estas reducen la lixiviación de fertilizantes, ayudan a conservar el agua y regulan la temperatura y la humedad del suelo, aunque tienen el inconveniente de no ser biodegradables y, por tanto, causar contaminación ambiental.

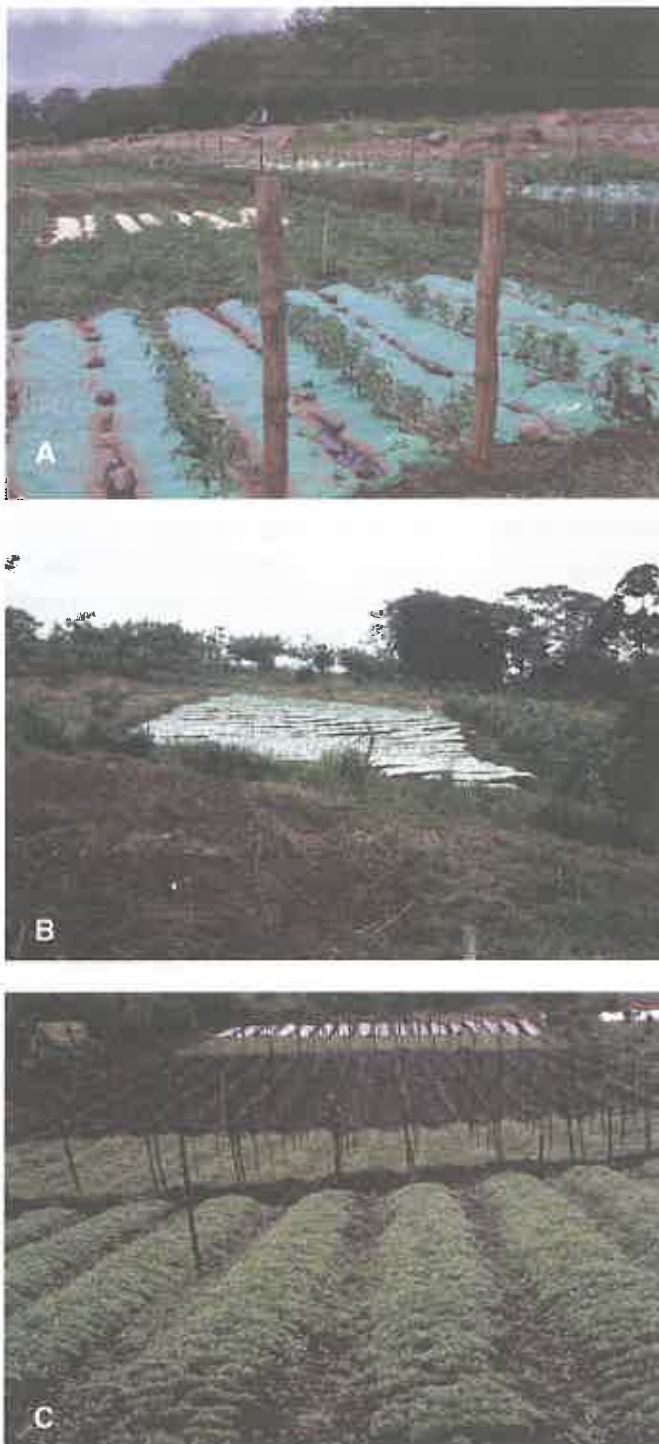
### La verificación de los hallazgos

Tras estas dos primeras experiencias (Amador y Hilje 1993, Blanco y Hilje 1995), y ante la carencia de financiamiento para realizar experimentos más ambiciosos, decidimos cambiar el enfoque de nuestras investigaciones. Esto implicó trabajar siempre en parcelas de agricultores, pero sin diseño experimental (Fig. 2B); de ese modo podríamos disponer de parcelas mucho más grandes, parecidas a las de ellos, lo cual podría permitirnos avanzar más rápido hacia su eventual adopción.

Fue así como se efectuaron cuatro experimentos, entre 1995 y 1997, con agricultores de la Colonia Agrícola de Guayabo, en Turrialba (Cubillo et ál. 1999b). En los dos primeros hubo un solo tratamiento, el cual se comparó con un testigo (una parcela adyacente de tomate, con el suelo desnudo), en parcelas pareadas grandes separadas por una barrera de maíz.

En el primer experimento, realizado en parcelas de 600 m<sup>2</sup> cada una, se evaluó solamente el plástico plateado, para contar así con un patrón de referencia para los futuros experimentos. En este caso los números de adultos de *B. tabaci* siempre fueron inferiores en el plástico plateado, especialmente durante el período crítico. Esto se reflejó en una tasa mucho menor de diseminación de la epidemia viral (causada por el Virus del moteado amarillo del tomate, ToYMoV) y en un mayor rendimiento (21 t/ha) y un mayor beneficio neto (US\$ 22.664/ha); en el testigo dichos valores correspondieron a 11 t y US\$ 12.200/ha. A pesar de los altos costos del plástico y su instalación, el beneficio neto fue 1,85 veces mayor que en el testigo.

Lo más positivo de esta experiencia fue la confirmación de nuestros datos previos sobre la eficacia de la cobertura de plástico plateado (Blanco y Hilje 1995), así como contar por primera vez con datos de todos los



**Figura 2.** Tipos de disposición espacial de los tratamientos, durante todo el proceso de investigación: **A.** Diseño de bloques completos al azar, para comparar el maní forrajero y un tratamiento de vegetación espontánea con coberturas de granza de arroz y plásticos verde y amarillo; **B.** Parcelas pareadas, grandes (en este caso, el plástico plateado se comparó con un testigo (tomate en suelo desnudo), separadas por una barrera de maíz; **C.** Parcela grande (correspondiente a una repetición en el espacio), con seis tratamientos, en la siguiente secuencia: culantro, cinquillo, testigo, imidacloprid, maní forrajero y plástico plateado.

parámetros relevantes (abundancia del vector, incidencia y severidad virales, rendimiento y beneficio neto) para utilizarlos como referencia en el futuro.

Para el segundo experimento seleccionamos el cinquillo, por ser la cobertura viva más promisoriosa (Fig. 3), el cual se evaluó en parcelas de 450 m<sup>2</sup> cada una. Tal y como se esperaba, los números de adultos siempre fueron inferiores en el cinquillo y hubo una menor tasa de diseminación de la epidemia viral. Lamentablemente, el rendimiento no se pudo cuantificar, ya que la pobre apariencia de los frutos de la variedad usada (Dina Guayabo, resistente a la maya) dificultó mucho la venta en el mercado, por lo que los agricultores colaboradores interrumpieron el registro de los datos cuando cosecharon la parcela.

Para avanzar más rápidamente, para el tercer y cuarto experimentos se decidió variar la metodología e incluir tres tratamientos y dos repeticiones del testigo. En el primer caso las parcelas fueron de 420 m<sup>2</sup> cada una y de 402 m<sup>2</sup> en el segundo caso.

En el tercer experimento, los tratamientos fueron el plástico plateado, un plástico verde claro, simulando la tonalidad de la vegetación (de 1,25 milésimas de pulgada, confeccionado por Olefinas S.A. para este experimento) y el cinquillo, todos los cuales fueron aleatorizados. El cinquillo se propagó tres meses antes del trasplante del tomate mediante estolones, estableciendo trozos grandes de suelo con plantas de esta especie; para facilitar su crecimiento se aumentó la sombra sembrando maíz en los entresurcos. Las parcelas estuvieron separadas por una barrera de maíz.

Los números de adultos de *B. tabaci* fueron inferiores en todas las coberturas, sobre todo durante



**Figura 3.** Enmascaramiento del cultivo de tomate por parte de la cobertura de cinquillo (el observador está indicando la ubicación de las hileras de tomate).

el período crítico, lo que implicó una tasa mucho menor de diseminación de la epidemia viral y mayores rendimientos (50 y 38 t/ha, en los plásticos plateado y verde, respectivamente); sus respectivos beneficios netos fueron de US\$ 19.150 y 15.364/ha. En la cobertura de cinquillo, quizás por la mayor humedad mantenida por este, hubo un fuerte ataque de tizón tardío (*Phytophthora infestans*), lo cual redujo el rendimiento y el beneficio neto a 25 t y US\$ 8250/ha, los cuales fueron inferiores al testigo, en el que estos valores fueron de 32 t y US\$ 13.000/ha.

Es decir, en este experimento se confirmó lo ventajoso de utilizar coberturas, entre las que una vez más sobresalió el plástico plateado. Pero, también, se detectaron algunas dificultades en el uso de coberturas vivas, por favorecer de manera indirecta a un hongo tan serio para el tomate como el tizón tardío.

Esta lección nos remarcó la necesidad de buscar una cobertura de bajo porte y raíces someras, pero que fuera removible una vez completado el período crítico y, ojalá, que aportara ingresos adicionales para los agricultores. Tras indagaciones y cavilaciones, se nos ocurrió que el culantro de castilla (*Coriandrum sativum*, Umbelliferae) podría satisfacer dichos requisitos.

Fue por ello que, después de unas pruebas cortas de campo para conocer su respuesta y fenología, decidimos incluir una cobertura de culantro de castilla en el cuarto experimento, junto con la de cinquillo y el plástico plateado, que fueron comparadas con dos testigos. El culantro se sembró un mes antes del trasplante, directamente en el campo, sobre las "camas", y en forma continua ("a chorro"), en pequeñas hileras transversales, separadas 15 cm entre sí (Fig. 4). Se cosechó a los 35 días de sembrado, una vez superado el período crítico.

Aparte de confirmar lo ya conocido sobre la sobresaliente eficacia del plástico plateado, con rendimientos (36 t/ha) y beneficios netos (US\$ 21.570/ha) elevados, los datos de las coberturas vivas fueron muy estimulantes. De hecho, con el cinquillo y el culantro dichos valores correspondieron a 27 y 30 t/ha, así como a US\$ 16.700 y 17.200/ha, respectivamente; al contabilizar la venta del culantro, el beneficio neto ascendió a US\$ 25.440/ha. Cabe señalar que en el tratamiento con el culantro hubo un fuerte ataque de tizón tardío, recién superado el período crítico.

En síntesis, estos cuatro experimentos permitieron concluir de manera inobjetable que las coberturas vivas pueden reducir la afluencia



**Figura 4.** Fases del establecimiento del culantro como cobertura: **A.** Roturación del suelo; **B.** Plántulas recién emergidas, de semillas sembradas "a chorro"; **C.** Cobertura bien establecida, con las hileras de tomate intercaladas.

de adultos de *B. tabaci*, retardar la diseminación de la epidemia viral y reducir la severidad de la enfermedad viral, así como aportar mayores rendimientos y beneficios netos. No obstante,

**Cuadro 1.** Incidencia, y severidad del virus del moteado amarillo del tomate (ToYMoV), así como rendimiento y beneficios netos derivados del cultivo, según el tipo de cobertura

Cobertura	Incidencia (ABCPE)	Severidad (ABCPE)	Rendimiento (kg/ha) <sup>3</sup> (X ± S.D.)	Beneficio neto (US\$/ha)
Testigo	4505 ± 590 a	2919 ± 467 a	5148 ± 3780 c	-2.564,9
Plástico plateado	1703 ± 1232 b	812 ± 580 c	36378 ± 21227 a	30.347,4
Imidacloprid	2867 ± 600 b	1643 ± 379 b	15701 ± 6155 bc	752,4
Culantro	1741 ± 897 b	838 ± 546 bc	18698 ± 10130 bc	9831,1 *
Maní forrajero	2004 ± 1252 b	951 ± 555 bc	21996 ± 13763 ab	16.078,5
Cinquillo	1632 ± 1188 b	799 ± 583 c	16714 ± 12812 bc	6.017,04

Los promedios seguidos por la misma letra dentro de una misma columna no son significativamente diferentes al nivel de  $P = 0,05$  (Prueba de T-test LSD, de Fischer). ABCPE= Area Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad. \*No incluye los \$ 5000 provenientes de su venta en el mercado.

deseábamos dar a esta información más solidez científica, utilizando un diseño estadístico que aportara mayor sustento experimental, así como compararla con la mejor cobertura (plástico plateado) y el mejor tratamiento químico conocido en el plano mundial, que era el imidacloprid (Confidor 70 WG, Bayer). Asimismo, queríamos confirmar la validez de nuestros datos sobre un ámbito más amplio de condiciones agroclimáticas, así como evaluar el posible rol de las coberturas vivas como fuentes de virus y otros patógenos.

Lo anterior fue posible gracias al proyecto *Development of crop associations for managing geminiviruses vectored by whiteflies in tomatoes*, financiado por tres años (1997-1999) por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA), el cual permitió trabajar en dos localidades contrastantes en términos agroclimáticos (Hilje y Stansly 2008). Guayabo (Turrialba) está a 840 m, en la vertiente del Caribe, muy húmeda y poco o nada estacional, mientras que Santa Gertrudis (Grecia) está a 1074 m, en la vertiente del Pacífico, con marcada estacionalidad climática, y donde se concentra la mayor producción de tomate en Costa Rica.

Dada la imposibilidad de conseguir cuatro parcelas grandes (de al menos 1500 m<sup>2</sup>) de manera simultánea, se hicieron cuatro repeticiones en el espacio y el tiempo (una en Guayabo y tres en Grecia), mediante un diseño de bloques completos al azar (Fig. 2C). Las parcelas midieron 2000, 1400, 1500 y 2000 m<sup>2</sup> y cada una se subdividió en seis subparcelas (tratamientos) de 230-400 m<sup>2</sup>, separadas por un espacio vacío de 1 m<sup>2</sup>. Los tratamientos fueron: culantro, cinquillo, maní forrajero, plástico plateado/negro, imidacloprid (aplicado al follaje) y el testigo absoluto (suelo desnudo). Todas las coberturas permanecieron hasta el final de la temporada del cultivo, salvo el culantro.

En realidad, estos experimentos confirmaron una vez más los resultados previos, pues todas las coberturas superaron al testigo absoluto, destacando el plástico plateado, lo cual se expresó de manera contundente en su sobresaliente beneficio neto (Cuadro 1). Por su parte, los beneficios netos de todas las coberturas vivas superaron holgadamente al del imidacloprid, el mejor insecticida conocido para el combate de *B. tabaci*. Pero, además, el culantro aportó ingresos adicionales por su venta, a lo cual se sumó la ventaja de que puede ser establecido y removido fácilmente.

A pesar de estos resultados alentadores, es necesario alertar sobre los riesgos de las coberturas en cuanto a promover el ataque de patógenos. Por ejemplo, en uno de los experimentos en Grecia, el tomate asociado con el cinquillo fue severamente afectado por la maya, mientras que en otro hubo una combinación de maya y varias especies de nematodos (*Meloidogyne*, *Helicotylenchus*, *Aphelenchus* y algunas saprófitas). De estos, *Meloidogyne* (probablemente *M. incognita*) alcanzó números muy altos (4596-6468 formas juveniles de 2º estadio en 10 g de muestras de raíces de tomate), pero no apareció en el cinquillo ni en el maní forrajero, aunque sí en el culantro; por su parte, *Pratylenchus* apareció en el cinquillo en grandes cantidades (hasta 1067 formas juveniles, de ambos sexos). Es decir, sería esperable que si las coberturas no se eliminaran tras su utilización para manejar a *B. tabaci* (como podría suceder con el cinquillo y maní forrajero), de manera progresiva se incrementarían mucho el riesgo de que el tomate fuese atacado por patógenos y nematodos.

### La validación mediante investigación participativa

La necesidad y hasta urgencia de poner en manos de los productores estas tecnologías funcionales, rentables y

ambientalmente inocuas nos llevó a incluirlas como un componente del proyecto *Validación de tecnologías de bajos insumos para la producción sostenible de tomate en sistemas de laderas* (2000-2002). Dicho proyecto, financiado por Fundecooperación para el Desarrollo Sostenible, con el apoyo económico de Holanda, se concretó en Guayabo (Turrialba) y Tacares (Grecia) con un grupo meta representado por pequeños y medianos productores de tomate que siembran en terrenos de laderas, y con algún nivel formal de organización (cooperativas, asentamientos campesinos, o asociaciones de desarrollo comunal).

Desde el punto de vista científico-técnico, el Proyecto se desarrolló, en su concepción y actividades, con la participación del grupo PECALA (*Producción Ecológica de Cultivos Anuales en Laderas*) del CATIE y de dos entidades nacionales: el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) y el Instituto de Desarrollo Agrario (IDA). PECALA era un equipo interdisciplinario, en el cual participaban especialistas en entomología, fitopatología, edafología, sistemas agroforestales, sistemas de información geográfica, sociología rural y economía.

Se trabajó con un enfoque de *investigación participativa*, según el cual la participación es un objetivo y no un medio, en el sentido de que esta debe procurar el *apoderamiento* de los grupos afectados y un ajuste y reforzamiento de los servicios de las instituciones involucradas (Geilfus 1997). Con este proceso se pretendía que ganaran en autoconfianza y en sus capacidades organizativas, para beneficio propio, de su familia y de su comunidad.

No es del caso citar aquí todas las expectativas planteadas en este proceso. Pero, en términos prácticos y cotidianos, eran los agricultores quienes decidían cuáles opciones tecnológicas validar en sus parcelas (coberturas al suelo, cercas vivas, soportes vivos, abonos orgánicos, etc.), y eran ellos los responsables de la siembra y atención de las parcelas, así como de contabilizar los costos implicados en estas (Fig. 5). Contaban con el apoyo continuo de los técnicos del CATIE, MAG e IDA, con quienes periódicamente efectuaban reuniones de evaluación de la marcha de todo el proceso. Asimismo, se realizaron varios días de campo en ambas localidades, así como “pasantías” o visitas recíprocas entre los agricultores de ambas para discutir sus avances.

En lo pertinente al tema de este artículo, de las coberturas al suelo presentadas al inicio del proyecto (culantro, cinquillo y maní forrajero),

todos los agricultores involucrados (9 parcelas en Guayabo y 12 en Tacares, algunas llevadas por dúos de agricultores) eligieron la primera, que decidieron complementar con la producción de plántulas de tomate en semilleros cubiertos con malla fina, de 50 poros (“mesh”). Ellos mejoraron aún más la tecnología, sobre todo en cuanto a la reducción de la competencia entre el culantro y el tomate. Al final, todo esto les permitió manejar de manera adecuada a *B. tabaci* como vector de virus, obteniéndose rendimientos realmente sobresalientes en algunos casos (de hasta 87 t/ha), lo cual obedeció a la siembra de híbridos como Sunny, Mountain Fresh, Pick Ripe, Sanibel, Electra, Francesca y Naranja. Asimismo, los ingresos netos fueron bastante altos, reduciéndose a la vez el uso de algunos insumos externos.



**Figura 5.** Dos actividades del proceso de validación mediante investigación participativa: **A.** Discusión entre especialistas, extensionistas y agricultores antes de establecer las parcelas; **B.** Participantes en el evento de clausura del proyecto, en el CATIE.

Como producto final del proyecto se publicó una serie de seis folletos profusamente ilustrados, escritos en lenguaje sencillo por un especialista en comunicación rural y revisados por los propios agricultores, para verificar que los contenidos y el estilo fueran adecuados para este grupo meta. Uno de ellos versó sobre los hallazgos relativos a las coberturas vivas (Hilje 2002), el cual fue más amplio y rico que uno escrito previamente (Hilje y Stansly 2000a); cabe indicar que años antes también se había escrito un artículo divulgativo orientado a extensionistas (Hilje y Stansly 2000b). Además, estos hallazgos se divulgaron en varios eventos internacionales.

### Consideraciones finales

En estas páginas queda el testimonio de la génesis de esta tecnología, desde la idea derivada de observaciones empíricas de agricultores —sustentada con la extrapolación del conocimiento generado para áfidos— hasta su validación agronómica y económica.

Aunque aún se desconoce el mecanismo de acción exacto de las coberturas vivas, a primera vista la explicación más lógica es que estas enmascaran el cultivo de tomate, al eliminarse el contraste entre las plantas de tomate y el suelo desnudo, dificultando su localización por parte de *B. tabaci*. Pero, también, podría ser que, dado que por unidad de área hay más plantas de la cobertura que de tomate, la probabilidad de que los adultos del vector aterricen en una planta “inapropiada” (la de la cobertura, que se sabe no es gustada por el insecto) es mucho mayor (Finch y Collier 2000). Así, al probar con su estilete una y otra vez en varias plantas inapropiadas, el insecto posiblemente tiende a abandonar la parcela, por lo que se retarda notablemente el desarrollo de la epidemia viral.

Ahora bien, no obstante las bondades de esta tecnología, apta también para otros cultivos, hasta ahora su utilización no se ha extendido todo cuanto uno deseara. Al respecto, hay que reconocer que normalmente la difusión de tecnologías agrícolas es lenta, y sobre todo ahora, con el serio debilitamiento de los servicios de extensión ocurrido en los últimos lustros no solo en Costa Rica, sino en casi toda América Latina y el Caribe. Sin embargo, dado que es totalmente congruente con los postulados y las prácticas de la agricultura orgánica, confiamos en que eventualmente se convierta en uno de los componentes de la producción orgánica de hortalizas.

### Agradecimientos

A Ricardo Amador, Jorge Blanco, Douglas Cubillo, Manuel Carballo, Edgar Rojas, Guido Sanabria y Claudio Arroyo (CATIE), por su apoyo en el trabajo de campo o en los análisis estadísticos. A Phil A. Stansly (IFAS, Immokalee, Florida), así como a los miembros de PECALA, en particular a Gustavo Calvo y Kees Prins, por sus importantes aportes intelectuales. A Nelson Kopper (MAG) y Juan Carlos Cubero (IDA), por su apoyo logístico, así como a los agricultores colaboradores en Guayabo y Grecia. Al CATIE, al Departamento de Agricultura de los EE.UU. (proyecto FG-CR-108, CS-AES-7) y a Fundecooperación, por el financiamiento de varios componentes de este proceso.

### Literatura citada

- A'Brook, J. 1968. The effect of plant spacing on the numbers of aphids trapped over the groundnut crop. *Ann. Appl. Biol.* 61: 289-294.
- Acuña, W. 1993. Efecto de la infección de un geminivirus sobre el rendimiento del tomate (*Lycopersicon esculentum*) a diferentes estadios de desarrollo de la planta. Tesis Lic. Agr. Turrialba, CR, Universidad de Costa Rica, Sede del Atlántico. 73 p.
- Amador, R; Hilje, L. 1993. Efecto de coberturas vivas e inertes sobre la atracción de la mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Gennadius), al tomate. *Manejo Integrado de Plagas* 29:14-21.
- Berlinger, MJ; Lebiush-Mordechi, S. 1996. Physical methods for the control of *Bemisia*. In Gerling, D; Mayer, RT. eds. *Bemisia* 1995: Taxonomy, biology, damage, control and management. United Kingdom, Intercept. p. 617-634.
- Blanco, J; Hilje, L. 1995. Efecto de coberturas al suelo sobre la abundancia de *Bemisia tabaci* y la incidencia de virosis en tomate. *Manejo Integrado de Plagas* 35: 1-10.
- Cohen, S. 1982. Control of whitefly vectors of viruses by colour mulches. In Harris, KF; Maramorosch, K. eds. *Pathogens, vectors and plant disease: Approaches to control*. New York, US, Academic Press. p. 45-56.
- Cohen, S; Berlinger, MJ. 1986. Transmission and cultural control of whitefly-borne viruses. *Agric. Ecosys. Environ.* 17: 89-97.
- Cohen, S; Melamed-Madjar, V. 1974. Prevention of the spread of tomato yellow leaf curl virus transmitted by *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Israel. *Bull. Ent. Res.* 64(2): 193-197.
- Cohen, S; Melamed-Madjar, V. 1978. Prevention by soil mulching of the spread of tomato yellow leaf curl virus transmitted by *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Israel. *Bull. Ent. Res.* 68(3): 465-470.
- Csizinszky, AA; Schuster, DJ; Kring, JB. 1995. Color mulches influence yield and insect pest populations in tomatoes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120(5): 778-784.
- Csizinszky, AA; Schuster, DJ; Kring, JB. 1997. Evaluation of color mulches and oils sprays for yield and for the control of silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii* (Bellows and Perring) on tomatoes. *Crop Protection* 16(5): 475-481.
- Cubillo, D; Sanabria, G; Hilje, L. 1999a. Evaluación de recipientes y mallas para el manejo de *Bemisia tabaci* mediante semilleros cubiertos, en tomate. *Manejo Integrado de Plagas* 51: 29-35.

- Cubillo, D; Sanabria, G; Hilje, L. 1999b. Eficacia de coberturas vivas para el manejo de *Bemisia tabaci* como vector de geminivirus, en tomate. *Manejo Integrado de Plagas* 51: 10-20.
- De la Cruz, R. 1990. Competencia nutricional de *Arachis pintoii* como cultivo de cobertura durante el establecimiento de pejíbaya *Bactris gasipaes* H.B.K. *Manejo Integrado de Plagas* 18: 1-7.
- Finch, S; Collier, R.H. 2000. Host-plant selection by insects -a theory based on 'appropriate/inappropriate landings' by pest insects of cruciferous plants. *Entomol. Exp. Appl.* 96: 91-102.
- Franke, G; Van Balen, L; Debrot, E. 1983. Efecto de la época de infección por el mosaico amarillo sobre el rendimiento del tomate. *Revista de la Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia (Venezuela)* 6(2): 741-743.
- Geilfus, F. 1997. 80 herramientas para el desarrollo participativo: diagnóstico, planificación, monitoreo, evaluación. San Salvador, El Salvador, IICA-GTZ. 208 p.
- Hilje, L. 1993. Un esquema conceptual para el manejo integrado de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en el cultivo del tomate. *Manejo Integrado de Plagas* 29: 51-57.
- Hilje, L. 1998. Un modelo de colaboración agrícola internacional para el manejo de moscas blancas y geminivirus en América Latina y el Caribe. *Manejo Integrado de Plagas* 49: 1-9.
- Hilje, L. 2002. Coberturas vivas para el manejo de la mosca blanca. Turrialba, CR, CATIE. 12 p.
- Hilje, L; Stansly, PA. 2000a. Manejo de mosca blanca mediante coberturas vivas. Turrialba, CR, CATIE. 6 p.
- Hilje, L; Stansly, PA. 2000b. Coberturas vivas para el manejo de la mosca blanca en tomate. Hoja Técnica No. 33. *Manejo Integrado de Plagas* 56: i-iv.
- Hilje, L; Stansly, PA. 2008. Living ground covers for management of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) and tomato yellow mottle virus (ToYMoV) in Costa Rica. *Crop Protection* 27(1):10-16.
- Kennedy, JS; Booth, CO; Kershaw, WJS. 1961. Host finding by aphids in the field. III. Visual attraction. *Ann. Appl. Biol.* 49: 1-21.
- Smith, JG. 1976. Influence of crop background on aphids and other phytophagous insects on Brussels sprouts. *Ann. Appl. Biol.* 83: 1-13.
- Smith, FF; Webb, RE. 1969. Repelling aphids by reflective surfaces, a new approach to the control of insect transmitted virus. In Maramorosch, K. ed. *Viruses, vectors and vegetation*. New York, US, Interscience Publishers. p. 631-639.
- Suwwan, MA; Akkawi, M; Al-Musa, AM; Mansour, A. 1988. Tomato performance and incidence of tomato yellow leaf curl (TYLC) virus as affected by type of mulch. *Scientia Horticulturae* 37(1/2):39-45.

## La antracnosis del café (*Colletotrichum* spp.), un grave problema fitosanitario en plantaciones cafetaleras

Ramón Mendoza<sup>1</sup>  
Arnulfo Monzón<sup>2</sup>  
Isabel Herrera<sup>2</sup>  
Yaneth Gutiérrez<sup>2</sup>  
Carolina López<sup>2</sup>

**RESUMEN.** La antracnosis (*Colletotrichum* spp.) es una de las principales enfermedades del café presenta mucha variabilidad de síntomas y una gran capacidad de adaptación, y se encuentra en todas las etapas de desarrollo del cultivo, afectando diferentes órganos de la planta, ocasionando defoliación, daño en los frutos y muerte regresiva en las ramas, reduciendo la capacidad productiva de los cafetos. La enfermedad es favorecida por deficiente nutrición de los cafetos. Esta enfermedad se presenta en cafetales manejados con diferentes niveles tecnológicos, localizados tanto en zonas bajas y secas como zonas altas y húmedas. El hongo sobrevive en lesiones de hojas, ramas y frutos y en tejido muerto. Debido a los diversos factores que intervienen en el desarrollo de antracnosis, su manejo debe ser integral, asociando diversos métodos y adaptándolos a las condiciones locales del cultivo. Las prácticas agronómicas orientadas al manejo del tejido y la modificación del ambiente en la plantación mediante regulación de sombra ayudan al manejo de la enfermedad.

**Palabras clave:** manejo, hongo, enfermedad, Nicaragua.

**ABSTRACT.** Anthracnose (*Colletotrichum* spp.) is a very important coffee disease, which may be found in different stages of the coffee plant, affecting leaves, fruits and branches, showing a considerable diversity of symptoms. The disease occurs in different coffee-management systems in coffee fields located not only in low and dry areas, but also in high and wet ones. Anthracnose is favored by stress due to poor plant nutrition, among other adverse factors. The fungus survives in lesions on leaves, branches, fruits and dead mater. Because of the influence of diverse factors on the development of the disease, its management needs to be approached as a part of integrated programs where several methods are selected and adapted to local conditions. Cultural methods focused on pruning coffee plants and modifying microclimate conditions through shade regulation have proved effective in reducing disease levels.

**Keywords:** management, fungus, disease, Nicaragua.

<sup>1</sup> Programa Regional CATIE/MIP-AF (NORAD), Managua, Nicaragua.

<sup>2</sup> Universidad Nacional Agraria (UNA), Universidad Nacional Agraria. Apartado postal 453. km 12 1/2 Carretera Norte. Managua, Nicaragua.



## ¿Qué es la antracnosis del café?

Es una de las principales enfermedades en café, causada por el hongo *Colletotrichum* spp. Afecta los cafetales desde la etapa de semillero-vivero. Este hongo afecta hojas, ramas, flores y frutos. El daño en ramas, conocido como “muerte regresiva”, reduce la capacidad productiva de los cafetos hasta en un 70% (ABECAFE 1994), ya que en etapa reproductiva ocasiona quema en frutos. En hojas causa la defoliación, principalmente si se encuentra en asocio con otras enfermedades foliares. •

La literatura reporta que las afectaciones de este hongo se limitan a zonas altas, húmedas y con abundantes lluvias. Góngora (1991) y Torres et ál. (1994) realizaron estudios en Nicaragua y encontraron que este hongo no se limita a estas condiciones, y que la enfermedad se presenta en todas las zonas cafetaleras, desde zonas bajas y secas hasta zonas altas y húmedas. Estos mismos estudios indican que la enfermedad está más relacionada con el efecto de las condiciones ambientales en el agroecosistema cafetalero y el estado nutricional de las plantas. La influencia de los factores ambientales está asociada con prácticas agronómicas, principalmente la falta de podas o eliminación de tejidos afectados por la enfermedad, mal manejo de sombra, distancias de siembra inadecuadas y la cobertura del suelo. La influencia de la nutrición está asociada con la capacidad que se brinda a la planta para tolerar el ataque de la enfermedad.

*Colletotrichum* se considera un parásito débil, ya que aprovecha cualquier fuente de entrada para penetrar, por lo que se establece en cafetales mal nutridos, suelos pobres en materia orgánica y poco profundos, daños por quemaduras en las hojas, causadas por cambios bruscos en las condiciones ambientales o por quemas por herbicidas, o daños por otras plagas que facilitan la entrada del hongo.

## ¿Cómo reconocer los síntomas de la antracnosis?

### Plantas en semillero y vivero

En estado de plántulas, en las hojas cotiledonales y en el hipocótilo (tallito), aparecen manchas necróticas hundidas y de color oscuro. Las manchas rodean progresivamente al tallito hasta causar la muerte de la plántulas. Cuando esto ocurre, el tallito seco permanece erecto y las hojas cotiledonales se marchitan y mueren (Torres et ál. 1994) (Figura 1).

En hojas verdaderas de plantas jóvenes y adultas, los síntomas usualmente inician en los bordes y ápices, causando lesiones necróticas de color café oscuro



Figura 1



Figura 2



Figura 3



Figura 4

a negro, rodeadas de un anillo café rojizo alrededor de la mancha (Figura 2). Si las manchas se observan detenidamente, se pueden notar las estructuras reproductivas del hongo (acérvulos), las cuales se encuentran dispersas por toda la lesión en forma de puntos negros; además, la hoja presenta un aspecto papeloso seco y se rompe con facilidad (Figura 3) (PROCAFE 1997).

En el campo, también se han encontrado algunas variaciones de los síntomas descritos en la literatura, los cuales se conocen como síntomas atípicos. En la Figura 4 se ilustra una lesión provocada por antracnosis, donde se observa que la lesión inicia de manera circular, muy parecida a las provocadas por la mancha de hierro (*Cercospora coffeicola* Berk & cooke); sin embargo, puede constatar el color café rojizo en el borde de las manchas. Cuando la mancha ocurre en el borde de la hoja, presenta una forma irregular con borde café y con un anillo amarillo muy delgado.

El daño en las ramas o bandolas es fácilmente distinguible. En la parte apical de las ramas se produce una coloración negra cuya intensidad va disminuyendo hacia la base, donde se aloja gran cantidad de acérvulos o puntos negros (Figura 5) (Fernández 1996). La enfermedad puede iniciar en los entrenudos, donde se observan lesiones hundidas de color café oscuro y de forma irregular (Figura 6). Este ataque se inicia en los sitios donde cae el inóculo y encuentra condiciones favorables para causar la infección.

En plantas en producción, el hongo afecta tanto frutos maduros como verdes. Cuando el daño ocurre en frutos verdes, el síntoma se inicia en el pedúnculo y ocasiona su caída prematura y, en ciertos casos, el grano se pone negro. El síntoma inicial consiste en pequeñas lesiones oscuras y hundidas que se extienden rápidamente hasta cubrir todo el fruto; estos se ennegrecen y se secan, produciéndose una momificación, y quedan pegados en las ramas (Figuras 5 y 7). Los frutos son más susceptibles a partir de la sexta semana después de la floración, momento en el cual el ovario del fruto comienza su fase de expansión volumétrica; la susceptibilidad aumenta aun más entre la octava y la duodécima semana después de la floración. Luego disminuye y desaparece en la vigésima semana, que es el momento en que el fruto ha terminado su fase de crecimiento. La ausencia de sensibilidad se traduce en que las lesiones existentes no evolucionan más y que no aparecen nuevas lesiones. Curiosamente, aparecen nuevas lesiones en la fase de premaduración y maduración del fruto. Cuando la



Figura 5



Figura 6



Figura 7



Figura 8

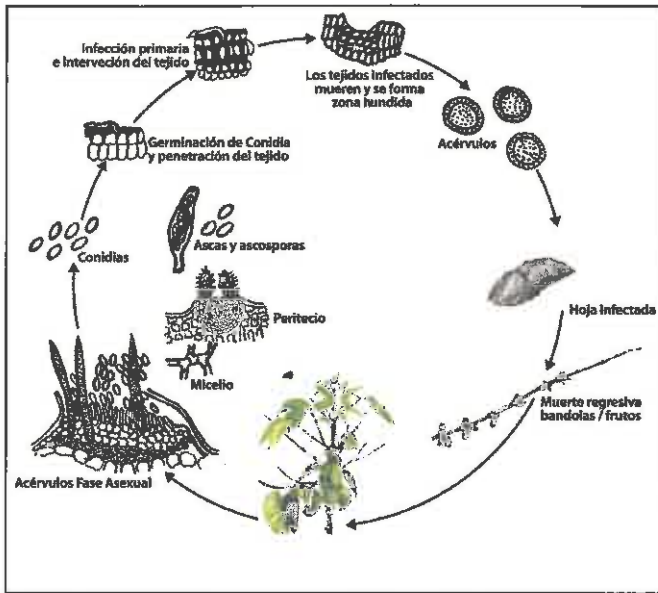


Figura 9 . Ciclo de la antracnosis en el cultivo del café.

infección ocurre sobre frutos maduros, el ataque del hongo se restringe a la pulpa, sin dañar el grano, pero dificulta el despulpado y afecta la calidad del grano.

En general, la literatura cita que el daño de este hongo se limita a afectar solo frutos maduros (Figura 8). Estudios realizados en Nicaragua han comprobado que afecta frutos en diferentes estados de desarrollo (Torres et ál. 1994). Esta información provoca preocupación, debido a que *Colletotrichum* podría estar adaptándose a infectar frutos verdes, probablemente debido a la presión de selección a la que ha sido sometido, producto del manejo con los fungicidas químicos o por los cambios en la tecnología aplicada en las últimas décadas.

### ¿Cómo es la vida de la antracnosis?

*Colletotrichum* tiene la capacidad de permanecer tanto en tejido vivo como en tejido muerto. Sobrevive en lesiones de hojas viejas, ramas y frutos que quedan sobre las plantas después de la cosecha. La presencia del hongo en las hojas es considerada de importancia, porque sirve como fuente de inóculo para las infecciones que ocurren posteriormente en las ramas y frutos.

Las estructuras de reproducción de *Colletotrichum* están fuertemente adheridas al tejido enfermo cuando está seco (ramas), pero cuando inician las lluvias, las masas de esporas se desprenden fácilmente, son liberadas y diseminadas por las lluvias a lo largo de las bandolas y/o ramas, hojas, flores y frutos. Otra forma de diseminación a larga distancia es a través del transporte de material

vegetativo enfermo, herramientas de poda, y por el ser humano durante la realización de las diferentes labores de la fase agrícola.

Los factores que favorecen la esporulación del hongo son el rocío, la lluvia y las temperaturas entre 20 y 30 °C. La infección puede ocurrir a través de la epidermis de la hoja en presencia de humedad y temperaturas de entre 12 y 16 °C. A temperaturas de 22 °C, la infección puede ocurrir en cinco horas. El período de aparición de los síntomas puede manifestarse desde los siete hasta los 24 días después de la infección, dependiendo de qué tan favorables sean las condiciones ambientales y la susceptibilidad de la planta (Figura 9). A lo largo del año, la enfermedad intensifica su daño a medida que avanza el período de lluvias.

### ¿Qué factores favorecen el desarrollo de la enfermedad?

Son numerosos los factores ambientales que predisponen a la planta al ataque de la enfermedad o que se consideran íntimamente asociados. Estos factores incluyen cualquier condición que resulte en un crecimiento deficiente de la planta, como por ejemplo poco vigor inicial en los



Figura 10. Planta de café con deficiencia nutricional.

almácigos por deficiencias de nutrientes, raíces deformes y con deficiencia en el sistema radical, suelos pobres en materia orgánica, variaciones abruptas del clima, podas drásticas o pérdidas de los árboles de sombra, alta producción y daños por otras plagas (Ramaiah y Chokkanna 1964, Bautista et ál. 1999).

### **Condiciones ambientales favorables para el desarrollo de la enfermedad**

Los factores que más se relacionan con la antracnosis son la lluvia, la temperatura y la humedad relativa. La lluvia es el factor de mayor importancia para el desarrollo de la enfermedad, debido a que el hongo necesita agua para su dispersión, germinación y penetración en la planta del cafeto; las temperaturas entre 20 y 30 °C, así como la humedad relativa de 80% o más, son muy favorables para el desarrollo de la enfermedad. En la época lluviosa, el hongo infecta con mayor facilidad los tejidos jóvenes de ramas, tallos y hojas, en donde permanece durante la época seca, convirtiéndose en la principal fuente de inóculo para la próxima epidemia.

### **Plantas con deficiencias nutricionales**

Las plantas que muestran deficiencias nutricionales (Figura 10), principalmente de macronutrientes como el fósforo y potasio y de microelementos como el boro y el zinc, son más susceptibles al ataque de la enfermedad (PROCAFE 1997). El uso excesivo de nitrógeno favorece el desarrollo de la enfermedad, ya que la planta se estimula a formar tejido nuevo, el cual es más succulento y suave. Los suelos en laderas, pobres en materia orgánica, poco profundos y con poca sombra, aumentan aun más la predisposición de la planta al ataque de la enfermedad. En este tipo de suelo las plantas tienen un menor anclaje, condición que provoca mayor estrés y, en consecuencia, la planta se agota más rápido y la incidencia de la enfermedad puede ser mayor.

### **Ataque de plagas y enfermedades**

En el campo, es común observar la asociación de antracnosis en lesiones viejas causadas por roya (*Hemileia vastatrix* Berk y Br.) (Figura 11) y ojo de gallo (*Mycena citricolor* (Berk y Curt) Sacc.), e incluso lesiones causadas por daños de minador (*Leucoptera coffeella* UER-Menev.) o daños por derivas de agroquímicos o quemaduras por el efecto de cambios bruscos que sufre la planta. En estos casos,

aunque el ataque de la enfermedad se considera de carácter secundario, la muerte del tejido ocurre por la antracnosis (Fischersworing y Robkamp 2001), lo cual se puede verificar porque sobre estas lesiones se observa el crecimiento de puntos negros, que son las estructuras reproductivas del hongo, de manera que el daño por otras plagas o daños físicos sirve como fuente de entrada para el hongo que causa la antracnosis.

### **Plantas con malformación de raíces**

Las raíces son el órgano por el cual las plantas absorben el agua y los nutrientes. En el campo se ha observado que las plantas que presentan mala formación de raíces, ya sea por un mal manejo durante el trasplante de la etapa de fosforito al vivero o por daños de plagas de suelo como nematodos (*Meloidogyne* spp.) y gallina ciega (*Phyllophaga* spp.), son condiciones que favorecen el desarrollo de la antracnosis, ya que la planta se debilita al no permitir el paso del agua y los nutrientes necesarios para su desarrollo, afectando la nutrición. Esta condición es aprovechada por la enfermedad, la cual se caracteriza por atacar plantas débiles o mal nutridas.

### **Cafetales a plena exposición solar**

Normalmente, los cafetos a plena exposición solar tienen una alta producción, ya que las plantas se encuentran en su máxima actividad fisiológica. Sin embargo, su vida útil es menor comparada con cafetos bajo sombra, debido a la falta de carbohidratos y otros elementos específicos que las plantas destinan a mantener y garantizar la cosecha. Esto hace que las plantas queden débiles y propensas al ataque de la antracnosis al disminuir su defensa, sobre todo



**Figura 11.** Antracnosis asociada con lesiones viejas causadas por roya.

cuando se trata de variedades altamente productivas, que requieren grandes cantidades de fertilizantes químicos. Otro factor que contribuye al desarrollo de la enfermedad son las plantas sometidas a estrés hídrico, principalmente en zonas bajas, donde hay un período seco muy marcado. Este factor se correlaciona mucho con la nutrición y la disponibilidad de agua, ya que en condiciones soleadas se requiere un mayor suministro de nutrientes, principalmente si se trata de variedades de alto rendimiento.

### **Variedades**

Aunque por lo general la antracnosis se encuentra en cualquier zona, atacando diversas variedades de café, existen algunas variedades más susceptibles que otras. Por ejemplo, se sabe que el café 'Bourbón' es más susceptible y que los derivados del híbrido de Timor son más tolerantes a la enfermedad.

### **¿Cómo determinar el nivel de incidencia de esta enfermedad en el campo?**

En el contexto del manejo integrado de las plagas que afectan el café, los recuentos son la base para entender la variabilidad de las plagas en los agroecosistemas cafetaleros, de manera que se pueda conocer su dinámica en el tiempo y su distribución en el campo; saber cómo sobreviven cuando las condiciones no son favorables para su desarrollo; identificar las causas que más favorecen su desarrollo, y determinar el momento más oportuno para lograr una mayor eficiencia de las acciones destinadas a disminuir su incidencia.

La experiencia de Nicaragua indica que para conocer los niveles de plagas y enfermedades en los cafetales, se debe implementar el recuento integral (Guharay 2001), para lo cual se seleccionan los plantíos de acuerdo con las características que presenten, como la pendiente, tipo de suelo, variedad, edad del cafetal, tipo y cantidad de sombra, etc. En cada plantío se seleccionan cinco puntos de referencia, distribuidos al azar en todo el lote, que pueden ser árboles u objetos que sobresalen en el plantío. En cada punto se establecen dos estaciones de cinco plantas cada una. Las estaciones se ubican ya sea a la derecha, izquierda, delante o detrás del punto de referencia. En cada planta se selecciona al azar una bandola: en la primera planta se selecciona del estrato medio hacia la parte alta de la

planta, en la siguiente planta se selecciona del estrato medio hacia la parte baja y así sucesivamente hasta contar las 10 bandolas del punto de muestreo. En cada bandola se apunta el total de hojas, hojas enfermas, nudos productivos y frutos (Guharay 2001)

La antracnosis afecta diferentes órganos de la planta, como hojas y ramas; en este sentido, es importante medir la intensidad del daño, lo cual puede hacerse a través de la incidencia en el caso del ataque en hojas o de la severidad cuando el ataque es en las ramas. La incidencia de las enfermedades se estima relacionando el número de hojas visiblemente enfermas entre el total de hojas evaluadas y multiplicando este resultado por cien. La severidad expresa la proporción o área de tejido que se está muriendo en el campo. Para estimar la severidad del daño en la rama o bandola, se considera el largo de la bandola como el 100% y en función de la porción afectada se estima el porcentaje de severidad. Por ejemplo, si la afectación cubre solo un cuarto de la rama se estima un 25%, si cubre la mitad de la bandola se estima un 50%, si afecta dos terceras partes de la bandola se estima un 75%, y así sucesivamente. Para estimar la severidad de tejido muerto en el campo, se suman los porcentajes estimados y se divide entre el total de ramas observadas. Por ejemplo, si consideramos los porcentajes arriba descritos (25 + 50 + 75), la sumatoria total es igual a 150. Este total se divide entre el total de bandolas observadas durante el recuento (supongamos que fueron 50;  $150/50 = 3\%$  de tejido que se está muriendo en el campo).

### **¿Qué niveles de la enfermedad se pueden tolerar?**

La experiencia de Nicaragua indica que el criterio para emprender una acción de manejo es 2% de severidad cuando el ataque es en rama y/o 5% de incidencia cuando el ataque es en hojas (Monterroso, comunicación personal)<sup>3</sup>. Sin embargo, los niveles de incidencia y/o severidad no se deben considerar como el único criterio para decidir una acción de manejo. Estos valores más bien sirven de referencia para entender el comportamiento de la enfermedad durante el momento en que se hace el recuento. Además de estos valores, hay que tomar en cuenta las condiciones ambientales que favorecen el desarrollo y multiplicación de la enfermedad, así como el manejo que se le ha dado al cafetal, para decidir si se justifica o no una acción de manejo. En el caso del ejemplo anterior, el 3% es la proporción de tejido enfermo que se está muriendo en el campo, el cual se considera por

<sup>3</sup> Monterroso, D. 2000. Programa Regional CATIE/MIP-AF (NORAD), Managua, Nicaragua.

encima del nivel de daño permitido; eso implica que es necesario tomar una acción de manejo inmediata para reducir el inóculo potencial de la enfermedad. Quizás la acción deba ser podar las ramas enfermas, sacarlas y quemarlas fuera del lote, lo cual ayudaría a reducir el inóculo en el campo, sobre todo si las condiciones ambientales y de manejo son favorables para el desarrollo de la enfermedad.

### ¿Qué acciones podemos tomar para manejar la antracnosis?

Más que buscar su eliminación, las acciones de manejo de la enfermedad deben estar orientadas a evitar que esta alcance niveles altos de incidencia, tratando de minimizar principalmente los factores que más le favorecen. La erradicación de la enfermedad en el contexto de la caficultura sostenible y de conservación al medio ambiente es imposible. Por lo tanto, conviene aprender a convivir con ella, asociando diversos métodos y adaptándolos a las condiciones locales del cultivo, con el fin de mantener la enfermedad por debajo del nivel de daño en que puede disminuir y afectar la calidad de la cosecha.

#### Prácticas agronómicas

##### *Supresión directa del patógeno*

La práctica en sí consiste en podar o cortar la parte afectada por la enfermedad en las ramas. Es importante porque la mayor formación de estructuras reproductivas de la antracnosis se da en las ramas afectadas. Una manera eficaz de disminuir el inóculo primario en el campo es podando las bandolas y eliminando las partes agotadas y afectadas por el hongo, para luego sacarlas del cafetal y quemarlas



Figura 12. Poda de ramas y eliminación de las partes agotadas y afectadas por el hongo *Colletotrichum*.

(Figura 12). El corte de las ramas o bandolas debe hacerse unos 10 centímetros por debajo del límite del tejido afectado.

##### *Manejo de sombra*

Los cafetales con sombra mayor al 70% favorecen el desarrollo de la enfermedad al propiciar mucha humedad en el ambiente. Al regular la sombra, se mejora la entrada de luz y aire, lo cual reduce el rocío sobre las hojas y permite un ambiente menos favorable al desarrollo y multiplicación del hongo.

En el campo se ha observado que las plantas a pleno sol están más predispuestas al ataque de la enfermedad que las plantas con sombra, ya que se cargan más y sufren un mayor estrés. Los cafetos desnutridos y con poca sombra resultan en un desgaste rápido para la planta después del tercer año. La cantidad óptima de sombra crea un ambiente favorable para el cafeto, permitiendo un equilibrio entre la formación de frutos y hojas. Por el contrario, el exceso de sombra produce plantas con muchas hojas que no se desgastan, pero tampoco se obtienen buenas cosechas. Por lo tanto, dependiendo del clima, la altitud sobre el nivel del mar y la nubosidad, la sombra óptima de un cafetal para lograr un equilibrio entre la formación de frutos y hojas puede variar entre un 40 y 60%. En general, se considera que en plantaciones de altura la sombra debería manejarse al 40%, en cambio en plantaciones de lugares de media a baja altura debe manejarse alrededor del 60% de sombra (Guharay et ál. 2001).

##### *Manejo de hierbas*

Un mal manejo de las hierbas crea un ambiente favorable para el desarrollo de la enfermedad, principalmente de aquellas que son muy competitivas por los nutrientes y las que logran un porte alto en el cafetal, porque generan un ambiente húmedo. Por ello, el manejo de las malas hierbas debe estar dirigido principalmente a eliminar aquellas más agresivas, como los zacates y hojas anchas perennes (Staver 2001). Generalmente, este tipo de hierbas predominan en cafetales a pleno sol; al eliminarlas de los cafetales se reduce la competencia, además de crear un ambiente desfavorable al desarrollo del hongo, por lo que la incidencia de la enfermedad va a ser menor. Sin embargo, durante el manejo de hierbas hay que tomar en cuenta que la eliminación total de la cobertura del suelo puede provocar



Figura 13

efectos negativos sobre la planta, principalmente en zonas bajas y con períodos secos bien marcados, porque al quedar descubierto el suelo aumenta la pérdida de agua por efecto de la evaporación y la pérdidas de nutrientes por arrastres del suelo producto de las escorrentías (Figura 13). Durante el período seco, los suelos pesados se resecan y se rajan, provocando ruptura de las raíces, aumentando la predisposición de la planta al ataque de la enfermedad. De este modo, un buen manejo de hierbas sería eliminar las más agresivas y con mayor capacidad de competencia y dejar aquellas menos dañinas al cafetal. Este tipo de manejo permitirá una mayor cobertura al suelo y ayudará a mantener la humedad y reducir la evaporación. Además, estas hierbas mueren, aportan nutrientes al suelo, incrementando la actividad biológica del suelo, por lo tanto, se mejora la capacidad de las plantas para resistir el ataque de la enfermedad.

#### *Fortalecimiento del cultivo*

Una planta bien nutrida aumenta su capacidad de resistir al ataque de la enfermedad (Figura 14). La fertilización química debe basarse principalmente en el análisis de suelo de los cafetales afectados por la enfermedad, y se debe hacer énfasis en corregir las deficiencias de los elementos mayores como fósforo y potasio y evitar el exceso de nitrógeno, ya que este último aumenta la predisposición de la planta al estimular la formación de tejido joven. La fertilización orgánica puede realizarse aprovechando los recursos locales; como la pulpa, gallinaza, el bocachi y aplicarlos principalmente en aquellos suelos pocos fértiles, o suelos de laderas donde el problema es más evidente e ir mejorando la disponibilidad de nutrientes de una forma gradual.



Figura 15

#### **Supresión directa (control químico)**

Para lograr un manejo exitoso de la enfermedad, es necesario combinar prácticas agronómicas para prevenir la enfermedad, pero si el problema persiste, debe realizarse el control químico. La decisión de aplicar un producto químico debe fundamentarse en la observación sistemática que se haga directamente en el campo. Estudios realizados por Pérez et ál. (1999) han comprobado que los productos de contacto a base de cobre (como oxiclورو de cobre 50%, hidróxido de cobre 50%, sulfato de cobre (caldo bordelés), caldo sulfocalcico y caldo visosa) han mostrado una buena eficacia para el manejo de la antracnosis. Los mismos autores reportan que los productos sistémicos del grupo de los tiabendazoles y hexaconazole presentaron resultados muy positivos en el control de la antracnosis del café en dosis de 0,5 L y 1,0 L, respectivamente. Estudios realizados por Cook y Pereira (1977) en Kenia y Muller et ál. (1999) encontraron que *Colletrichum coffeanum* ha ofrecido resistencia hacia productos sistémicos del grupo de los benzimidazole (Carbendazin). Se debe considerar que la pérdida de la eficacia de los productos sistémicos es un fenómeno duradero, y continúa incluso en ausencia de presión de selección. Estos hechos muestran la absoluta

necesidad de asociar fungicidas cúpricos con fungicidas sistémicos. El cobre aplicado en mezclas o en alternancia destruye las cepas mutantes resistentes y contribuye de esta manera a conservar la eficacia de los sistémicos.

### Agradecimientos

Agradecemos especialmente a todos los miembros del Grupo Café Nicaragua (Juanita Salguera, Marisol Baylon, Jeaneth Hernández, Alba de Llana, Moisés Blanco, Erdwin Pérez, Pedro Moroga, Amilcar Aguilar y Mirna Barrios) por sus valiosos aportes.

### Literatura citada

Fernández, M. 1996. La antracnosis del café y su control. Revista cafetalera (Guatemala). p. 19-20.

Góngora, GJ. 1991. Reconocimiento y distribución de las principales enfermedades fungosas que afectan al cultivo de café (*Coffea arabica* L.) en el departamento de Matagalpa, Región VI, Nicaragua. Tesis de Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 89 p.

Guharay, F. 2001. Cómo manejar las plagas y enfermedades en cafetales con sombra. Revista Agroforestería en las Américas 8(9):33-36.

Guharay, F; Monterroso, D; Staver, C. 2001. El diseño y manejo

de la sombra para la supresión de plagas en cafetales de América Central. Revista Agroforestería en las Américas 8(29):33-36.

Guharay, F; Monterrey, J; Monterroso, D; Staver, C. 2000. Manejo integrado de plagas en el cultivo del café. 1 ed. Managua, Nicaragua. p. 244-248.

Kranz, J; Schmutterer, H; Koch, W. 1982. Enfermedades, plagas y malezas de los cultivos tropicales. Berlín y Hamburgo, Alemania, Verlag. p. 202-203.

Monzón, V. 2003. Evaluación de opciones de manejo de la antracnosis (*Colletotrichum* spp.) en el cultivo del café en la zona de Boaco, Nicaragua 2001-2002. Tesis Ing. Agr. Managua, Nicaragua, Universidad Nacional Agraria. 36 p.

Muller, A; Raoul, Berry D; Bieysse, D. 1999. La antracnosis de los frutos: Un grave peligro para la caficultura Centroamericana. Desafíos de la caficultura en Centroamérica. San José, Costa Rica, IICA. p. 261-291.

Pérez, BF; Chaves, AB; Ramírez, R; Orellana, O. 1999. Evaluación técnica y económica de nuevos productos químicos para el combate de *Colletotrichum* sp. San Salvador, El Salvador, PROCAFE. p. 10-16.

Torres, CM; Gutiérrez, Y; Monterroso, D; Góngora, J. 1994. Síntomas causados por *Colletotrichum* spp. en café en Nicaragua. Revista Manejo Integrado de Plagas No. 32. p. 8-11.



# INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

## NATURALEZA

*Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* es una revista que reúne y difunde aportes científicos y técnicos originales (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 tres 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.
- 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, 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 o dibujos pueden enviarse en papel o en diapositiva, o bien como archivos de imagen, escaneadas a 225 dpi y 12 cm de base como mínimo.
- 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 géne-

ros 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. Los autores de lengua portuguesa deben garantizar que su artículo está bien redactado desde el punto de vista lingüístico.

## 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.
- Utilizar los nombres científicos. No es necesario incluir en el título la autoridad taxonómica, pero si en el cuerpo del artículo la primera vez que se menciona el nombre completo de la especie.

## 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.
- 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. Este es un requisito indispensable para la publicación.

## 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. Estas palabras no deben repetir la del título. 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 Materiales y métodos y Resultados.

## EL CUERPO DEL ARTÍCULO

- Se subdivide en las siguientes secciones: *Introducción*, *Materiales y métodos*, *Resultados* y *discusión*, *Agradecimientos* y *Literatura citada*. No debe haber una sección de *Conclusiones*, pues estas 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.
- **Materiales y métodos** 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.
- **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.
- **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. La revista sigue las normas bibliográficas IICA-CATIE, que pueden ser consultadas en [http://orton.catie.ac.cr/bco/normas\\_de\\_redaccion.html](http://orton.catie.ac.cr/bco/normas_de_redaccion.html)
- 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 ál. 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 ál.
- Los trabajos que aún no han sido aceptados para publicación aparecen en el texto, pero no en la sección de **Literatura citada**.

## ILUSTRACIONES, GRÁFICOS, CUADROS Y FOTOS

- 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.
- Recomendamos evitar los gráficos de tres dimensiones cuando la tercera dimensión cumpla un papel meramente estético y no informativo.
- 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, No es necesario tabular condiciones experimentales uniformes. 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.
- Para lograr una buena calidad de impresión, requerimos las fotos y dibujos como archivos de imagen (jpeg, tif, etc.), del mayor tamaño posible (250 dpi y 12 cm de base como mínimo). Si el artículo incluye una figura compuesta por fotos, puede enviarla inserta en el artículo, pero adjunte también los archivos de imagen de las fotos que la componen.

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) 2558 2408 ó 2558 2633

Fax. (506) 2558 2045 ó 2558 2060

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

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

# Manejo Integrado de Plagas y Agroecología



## ¿Desea ser patrocinador de la Revista MIPA?

Cada vez hay más empresas involucradas en la generación y comercialización de tecnologías de manejo integrado de plagas (MIP) y agroecología. Asimismo, hay una amplia y creciente demanda de dichas tecnologías, pero muchas veces los usuarios desconocen cómo adquirirlas.

En su nueva etapa, tras 20 años de publicación ininterrumpida, la revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología desea constituirse en una herramienta para que dichos usuarios cuenten con un directorio de aquellas empresas interesadas en el desarrollo de sistemas productivos sostenibles, la conservación de los recursos naturales, y la protección de la salud de los agricultores y los consumidores.

Nuestra revista es el único foro en español específicamente dedicado al manejo integrado de plagas y la agroecología. Llega a 27 países del mundo. Además, está disponible en línea.

La imagen de su empresa estará vinculada a una publicación amparada por una de las instituciones agrícolas más prestigiosas de América Latina —el CATIE—, y a una revista indexada en las principales bases de datos internacionales en agricultura y premiada por el CONICIT de Costa Rica con el Premio a la Editorial Científica y Tecnológica.

### Espacio publicitario (US \$ 600 por año)

- Diseño y diagramación del anuncio de su empresa, a todo color.
- Publicación impresa de su anuncio a todo color en cada número de la revista.
- Enlaces electrónicos al portal (sitio web) de su empresa.
- Dos ejemplares gratuitos de cada número de la revista durante el año de publicidad.

### Patrocinio (US \$ 1500 por año)

- Publicación del logo de su empresa en la contratapa de cada número de la revista, resaltando así el compromiso de su empresa con la agricultura sostenible.
- Diseño y diagramación del anuncio de su empresa, a todo color.
- Entrega del original electrónico diseñado para su distribución adicional por medio impreso o electrónico.
- Publicación impresa de su anuncio en cada número de la revista.
- Enlaces electrónicos al portal (sitio web) de su empresa.
- Seis ejemplares gratuitos de cada número de la revista durante el año del patrocinio.
- El patrocinio es deducible del impuesto sobre la renta en Costa Rica (sede del CATIE).





# *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)