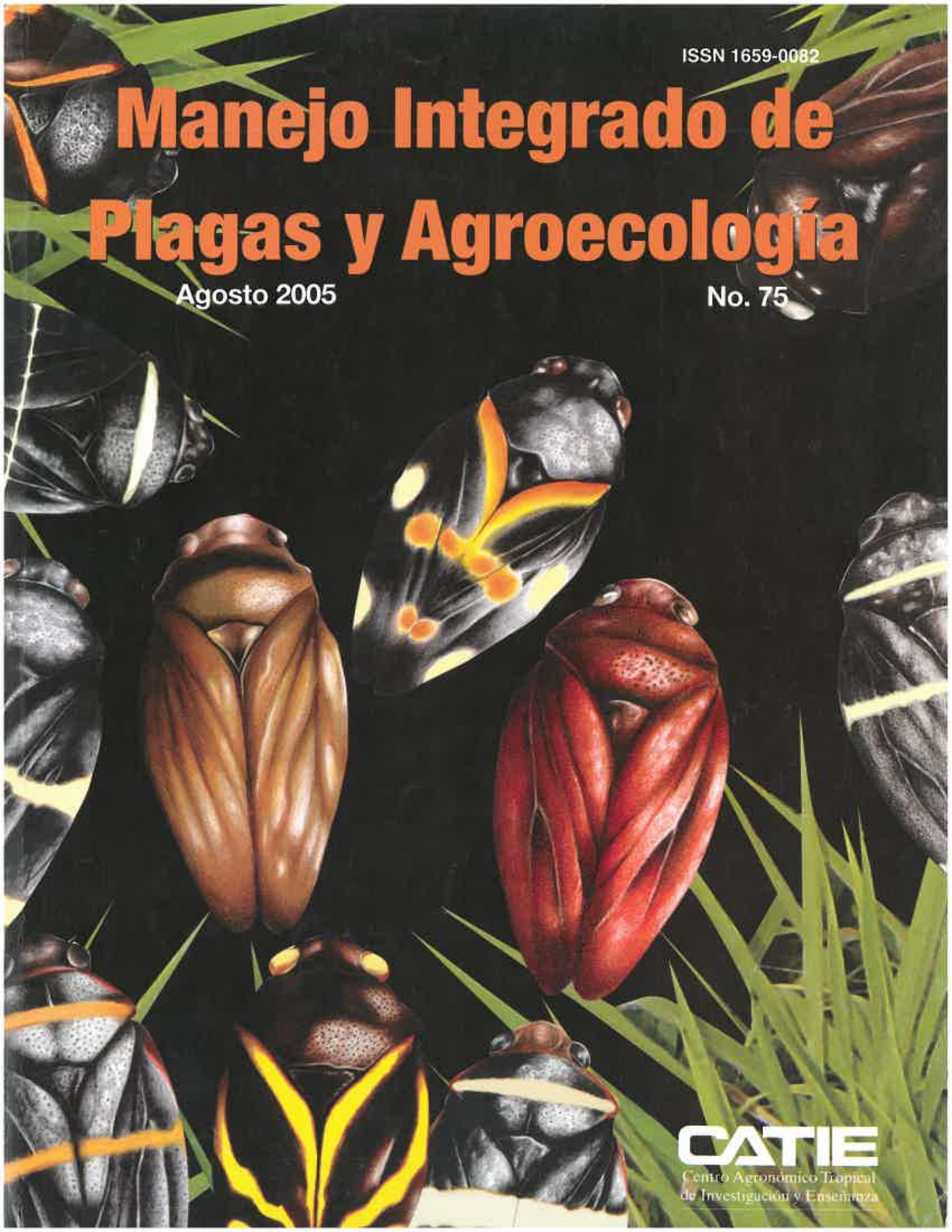


ISSN 1659-0082

# Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

Agosto 2005

No. 75



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

# Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

- En congruencia con el lema institucional del CATIE de *producir conservando, conservar produciendo*, esta revista tiene como objetivo contribuir con el desarrollo de sistemas agrícolas y forestales sostenibles, la conservación de los recursos naturales, y la protección de la salud de los agricultores y los consumidores.
- Constituye un foro de discusión, así como un instrumento para la difusión de los resultados de investigación, experiencias prácticas y transferencia de tecnologías en los campos de la protección vegetal y la agroecología, con énfasis en la región neotropical.
- Cuenta con una sólida trayectoria, pues se publica de manera ininterrumpida y puntual, en forma trimestral (en marzo, junio, setiembre y diciembre) desde setiembre de 1986. Hasta marzo de 2002 se denominó *Manejo Integrado de Plagas*.
- Tiene un contenido versátil, ya que además de artículos científicos incluye textos de formato diverso (hojas técnicas, boletines, secciones especializadas, reseñas bibliográficas y anuncios de eventos), para así estimular la formación de redes de colaboración en el ámbito continental, en investigación, transferencia de tecnología, enseñanza y cooperación técnica, para contribuir así al desarrollo social y económico de los países de América Latina y el Caribe.
- Está indizada en bases de datos prestigiosas, como CAB 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.

## 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. Ghesman  
(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:** Unidad de Comunicación

**Secretaria:** 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: ggilti@catie.ac.cr ó ccmip@catie.ac.cr

www.catie.ac.cr

## Fecha de inicio y periodicidad:

No. 1, setiembre, 1986.

Cuatrimestral (abril, agosto, diciembre).



Los salivazos (Homoptera: Cercopidae) constituyen plagas importantes en el cultivo de la caña de azúcar y de pastos introducidos en Costa Rica y en otros países de América Latina. En Costa Rica hay nueve especies importantes, que se encuentran dentro de tres géneros: *Aeneolamia albofasciata*, *A. lepidior*, *A. contigua*, *A. reducta*, *Prosapia plagiata*, *P. simulans*, *Zulia vilior*, una especie relacionada a *Prosapia bicinta* y una relacionada a *P. plagiata*. Nuestra portada ilustra estas especies con dibujos provenientes del artículo "La identificación y distribución de los salivazos de la caña de azúcar y los pastos (Homoptera: Cercopidae) en Costa Rica", de Vinton Thompson y Ruth León (p. 43) (dibujos de Humberto J. Lezama).

# Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

Agosto 2005

No. 75

## CONTENIDO

### BIOGRAFÍA

**Dr. Leslie R. Holdridge: la capacidad de crear a partir de lo cotidiano** ..... 1-6  
Humberto Jiménez Saa

### FORO

**Abejas silvestres y polinización** ..... 7-20  
Guioamar Nates-Parra

### ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

**¿Existe la tolerancia genética del cacao (*Theobroma cacao*) a *Rosellinia bunodes* y *Rosellinia pepo*?** ..... 21-31  
Johnny García Córdoba, André George, Tim Argyle, Martijn ten Hoopen, Ulrike Krauss

**Variabilidades inter e intraespecíficas na susceptibilidade de ácaros fitoseídeos à deltametrina em cítricos no Brasil** ..... 32-37  
Marcelo Poletti, Celso Omoto

**Reproducción y esporulación in vitro de la bacteria *Paenibacillus (=Bacillus) lentimorbus* para el control de larvas de *Phyllophaga elenans*** ..... 38-42  
Geovanny Fernández Redondo, Eduardo Hidalgo Jamieson, Francisco Badilla Fernández

**La identificación y distribución de los salivazos de la caña de azúcar y los pastos (Homoptera: Cercopidae) en Costa Rica** ..... 43-51  
Vinton Thompson, Ruth León González

**Produtos naturais e sintéticos no controle do bichomineiro-do-cafeiro *Leucoptera coffeella* e seus efeitos sobre vespa predadora *Polybia scutellaris*** ..... 52-59  
José Marcos A. Mendonça, Geraldo A. Carvalho, Paulo R. Reis, Rubens J. Guimarães, Luiz Carlos D. Rocha

### NOTAS TÉCNICAS

**Micobiota epífita y contaminantes fúngicos del establecimiento in vitro de *Eucalyptus grandis*** ..... 60-63  
Mayra Acosta, Yelenys Alvarado, Mileidy Cruz, Michel Leiva, Luis Delgado

**Nuevos registros de hongos en semillas de *Oryza sativa* en Cuba** ..... 64-67  
L.M. Barrios, I.O. Pérez

**Diagnóstico del uso de insecticidas utilizados contra *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate y chile en Costa Rica** ..... 68-76  
Lisbeth Araya R., Elizabeth Carazo R., Víctor M. Cartín L.

### EXPERIENCIAS

**Aportes de productores y científicos al entendimiento de la agregación de *Hypothenemus hampei* en Chiapas, México** ..... 77-82  
Ramón Jarquín Gálvez, Leobardo Jiménez Sánchez, Falguni Guharay, Juan F. Barrera

### HOJA TÉCNICA

**La estadística no paramétrica para el análisis e interpretación de estudios de plagas: alternativas al análisis de varianza** ..... 83-89  
Bielinski M. Santos, James P. Gilreath, Ramón Arbona, Ángel R. Pimentel

### BOLETINES

Plagas Forestales Neotropicales ..... 90-92  
Boletín de Producción Orgánica ..... 93-96

**INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES** ..... 97-98

# 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

Alan González

### Administración y Finanzas

Viviana Sánchez

## Representaciones Nacionales del CATIE

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

### COLOMBIA

Convenio Universidad  
Tecnológica de Pereira-  
CATIE.  
Apartado Postal 097,  
Pereira, Colombia  
Tel. directo (00576)  
321 3651  
Telefax: (57) 63218738  
Correo electrónico:  
catiecolombia@utp.edu.co

### EL SALVADOR

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

### GUATEMALA

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

### HONDURAS

Primera planta, edificio  
principal Secretaria de  
Agricultura y Ganadería SAG  
Bulevar Miraflores avenida  
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 1026/1109  
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  
Tel. (507) 317 0514  
Fax: (507) 317 0518  
Correo electrónico:  
catiepanama@cwpanama.net

### BOLIVIA

Calle Batallón Colorados  
Edificio El Condor No.24,  
Piso 10, Oficina 1006  
Tel. (591) 2 2442 193  
Fax: (591) 2 2790 666  
Correo electrónico:  
catiebolivia@catie.ac.cr

## Representaciones Nacionales del IICA

### 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

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

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



## Dr. Leslie R. Holdridge: la capacidad de crear a partir de lo cotidiano

Humberto Jimenez Saa<sup>1</sup>

El doctor Leslie R. Holdridge llegó a Turrialba, Costa Rica, en 1949 para servir en el IICA como Jefe del Departamento de Recursos Naturales y permaneció con la institución hasta 1961. Al año siguiente inició su vida de consultor independiente, para lo cual, junto con otros importantes científicos extranjeros y costarricenses, fundó en San José el Centro Científico Tropical (CCT). Este centro, junto a otras instituciones similares que se crearon bajo su influencia, han servido en Costa Rica como sostén de la causa principal que marcó la vida del doctor Holdridge: la conservación de los recursos naturales. A Holdridge le sobreviven tres grupos de hijos: tres mujeres de madre estadounidense; dos varones y una mujer de madre puertorriqueña (doña Lidia); y siete mujeres y un varón, exsacerdote católico, de madre costarricense (doña Clara Luz Melendez).

Holdridge nació en Connecticut, EUA, en 1907 y, después de trabajar por períodos cortos en Haití, Guatemala y Honduras, permaneció en Costa Rica hasta que su salud comenzó a quebrantarse, cuando decidió trasladarse a Puerto Rico y luego a Easton, Maryland, donde murió el 19 de junio de 1999. Quienes estuvimos cerca del Dr. Holdridge, pudimos gozar de sus grandezas intelectual, de su extraordinario don de síntesis y su agradable sencillez y sentido del humor. Una de sus frases preferidas cuando contestaba alguna de nuestras preguntas era: "Eso es algo de sentido común". Quienes la oímos no podíamos menos que pensar cuán poco frecuente era esa extraordinaria capacidad de crear basándose en observaciones cotidianas.

### Ecología de zonas de vida

El aporte más conocido de Holdridge es el sistema de clasificación de zonas de vida del mundo, con el cual se han preparado mapas de casi la totali-

dad de los países latinoamericanos, así como de algunos países y regiones de Norteamérica, África, Asia y Europa. Holdridge se sintió oprimido e intimidado por la fuerza cohesiva del bosque tropical, como se desprende de la vigorosa y poética descripción que hace de un sector del bosque húmedo tropical en la introducción a su libro *Ecología de Zonas de Vida* (Holdridge 1977), que el autor de este escrito tuvo el honor de traducir del inglés (Holdridge 1967). Escribe Holdridge:

"Como una fracción del cielo azul brillante, impulsándose erráticamente a través del bosque, una mariposa *Morpho* de amplias alas, desciende y se levanta rápidamente, entre variadas sombras de los verdes contornos del follaje. Abajo, sobre las hojas caídas y los sectores descubiertos del suelo húmedo, también llama la atención la pequeña *Dendrobates*, una rana saltarina color rojo brillante, de zancas azul oscuro. Alrededor, los árboles, en su mayoría de corteza gris y lisa, se levantan por entre la espesa sombra; algunos exhiben proporciones majestuosas, con sus troncos de enormes aletones laminares, formando ángulo con las bases; otros, de fustes cilíndricos o angulosos, desaparecen entre la masa general del dosel superior. Árboles grandes y pequeños de sólo pocos metros de altura; palmas con fustes largos y esbeltos, apoyadas sobre una masa de raíces fúlcreas, unas altas, otras bajas, a veces rectas, a veces arqueadas; palmas enanas, arbustos; heliconias con hojas semejantes a las del banano; brinzales de alguna leguminosa con hojas pinnadas; altos y robustos jenjibres silvestres, y uno que otro helecho arborecente de tronco llamativamente marcado por cicatrices foliares; todo este conjunto enmarca la visión de quien sigue la ruta de *Morpho*. Pero esto representa sólo el

<sup>1</sup> Centro Científico Tropical. San José, Costa Rica. [hjimenessaa@racsa.co.cr](mailto:hjimenezsaa@racsa.co.cr), [www.hjimenez.org](http://www.hjimenez.org)

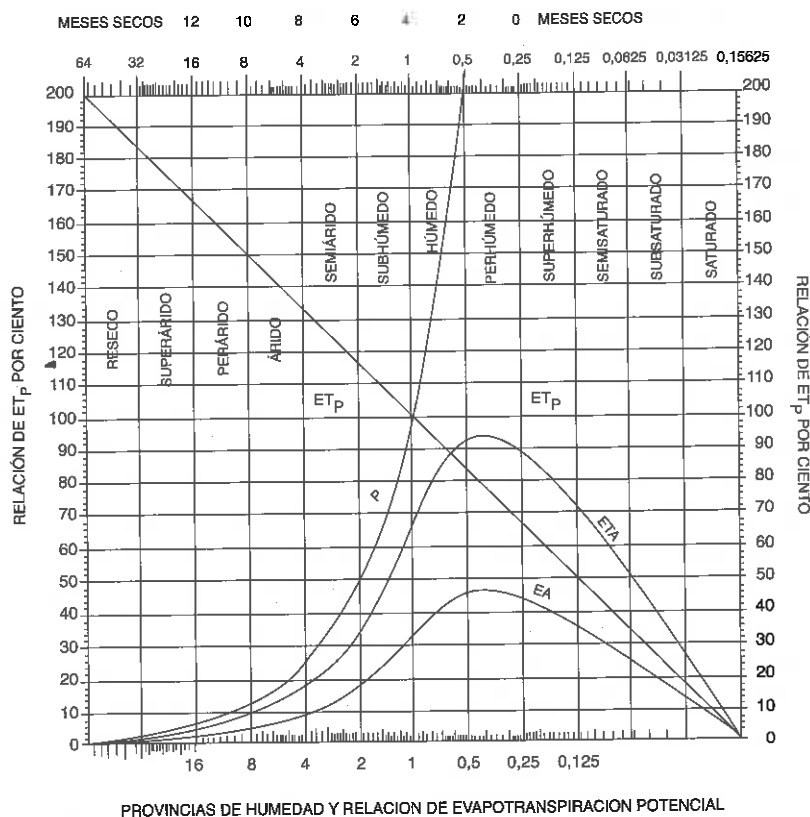


Figura 1. Movimientos del agua en asociaciones climáticas.

nada con el movimiento de agua en las cuencas hidrográficas. El método se basa en el “nomograma de movimientos de agua en asociaciones climáticas” (Fig. 1) (Holdridge 1962, 1977). Para la construcción del nomograma se supuso, en primer lugar, que el valor de evapotranspiración potencial es único en cualquier isoterma de la superficie terrestre y, en segundo lugar, que los movimientos de agua atmosférica siguen un patrón regular en áreas de climas y suelos zonales. Con ese nomograma se puede extrapolar la magnitud de los movimientos de agua de estaciones localizadas dentro de cualquier asociación climática. Para calcular los movimientos en asociaciones de tipo edáfico, atmosférico e hídrico, se han venido desarrollando formulas y ajustes a esas fórmulas.

Basándose en el citado nomograma, desde los años 70 en el Instituto Costarricense de Electricidad (ICE) se hicieron cálculos de los movimientos de agua en algunas cuencas hidrográficas del país, donde no existían datos de aforo. Un dato de gran utilidad práctica que resulta de los cálculos es la escorrentía (*runoff*) promedio mensual. Para la estimación de la escorrentía total generada por la cuenca del Lago Arenal, el Dr. Joseph Tosi, co-creador con Holdridge del CCT, hizo los cálculos teóricos basándose en el

citado nomograma, lo cual dio un promedio anual de 50 litros por segundo. Ese dato y algunos ajustes técnicos sentaron las bases para la construcción de la represa del Arenal, que hoy suministra el 45% de la energía eléctrica del país. Simultáneamente, el ICE procedió a instalar estaciones de aforo en varios ríos del país y, después de una década, se compararon los datos medidos contra los calculados por Tosi. Se alcanzó un alto grado de exactitud cuando la información básica era correcta. Por ejemplo, para el caso de la represa del Arenal los datos de las mediciones dieron un promedio de 49 litros por segundo como promedio anual. Los técnicos del ICE concluyen que “el grado de exactitud que se alcanza aplicando esta metodología, es suficientemente alto (90% en promedio), como para ser usado en los estudios preliminares de los aprovechamientos hidráulicos, especialmente en regiones carentes de información hidrológica completa” (Rodríguez y Saborío 1983). Los resultados alcanzados a mediados de los 90 permitieron a los especialistas del ICE montar hace unos pocos años un programa computarizado que permite conocer la escorrentía basándose en los parámetros del sistema de Holdridge, es decir, la precipitación y la biotemperatura.

### El clima y el origen de los grupos raciales humanos

Holdridge propuso la existencia de cuatro subdivisiones climáticas naturales en estrecha correlación con los distintos grupos raciales originales (Holdridge 1973). Para resumir su hipótesis invitamos al lector a imaginar dos ejes perpendiculares que forman un sistema cartesiano. El eje vertical separa dos regiones, la fría y la caliente, y el eje horizontal separa otras dos regiones, la seca y la húmeda, lo cual arroja cuatro cuadrantes. El cuadrante del ambiente frío-seco sirvió de asiento a los grupos raciales mongoloide o amarillo (Mongolia, China, la Meseta Central de México, los Andes altos secos de Perú). El cuadrante del ambiente frío-húmedo indujo el desarrollo del grupo racial caucasoide o blanco (Europa Central y del Norte, Rusia); el cuadrante del ambiente caliente-húmedo a los grupos raciales negroides (África Central, Sudeste de Asia, norte de Australia); el cuadrante del ambiente caliente-seco a los grupos raciales moreno (India, Medio Oriente, países alrededor del Mar Mediterráneo). La antropología clásica integra un único grupo racial (caucasoide), que abarca las actuales razas blancas de Europa Central y del Norte junto con los hindúes, árabes, griegos y latinos, pero en la práctica el segundo grupo de caucasoides mencionados no se considera blanco. Esa costumbre tiene una base real, puesto que el fenotipo del propuesto grupo moreno (ambiente caliente-seco) es completamente diferente del caucasoide (ambiente frío-húmedo). En décadas pasadas, en algún momento se pensó que los "caucasoides" mediterráneos habían resultado de integraciones entre negros del África subsahariana con caucasoides del norte de Europa. Sin embargo, esta hipótesis no explica cuál fue la interacción que originó los "caucasoides" hindúes y los árabes del Medio y Extremo Oriente, pues aunque sí había blancos en el norte (Rusia), al sur solo está el Océano Índico.

Las propuestas de Holdridge van de la mano con descubrimientos recientes que muestran al *Homo sapiens* con una base genética muy uniforme, por lo que no es aventurado pensar que el clima (calor-frío, altura sobre el nivel del mar, calidad de las radiaciones) influyó en la definición de las razas. El clima, a su vez, influye sobre los productos vegetales y animales de la dieta de las personas (ácido fólico, melanina). Esta idea ha estado presente en las hipótesis del origen de las razas y se supone que esa es la razón del color de la piel cada vez más pálido a medida que los grupos humanos emigraron hacia los polos. La contribución de la propuesta de Holdridge es unir calor con humedad y que hay cuatro complejos raciales en lugar de los

tres tradicionales. El grupo amarillo tomó sus características en Mongolia y China (ambiente frío-seco) y que en su viaje a América desarrolló dos de las mayores empresas en el centro de México y en los Andes peruanos, ambos de clima tipo frío-seco. El complejo moreno pudo desarrollar sus mayores empresas alrededor del Mediterráneo, en el cercano y Medio Oriente y también en India, con climas de tipo caliente-seco. En Guanacaste, Costa Rica, y en la zona pacífica de Nicaragua (ambiente caliente-seco) es notoria la abundante cantidad de personas con fenotipos cercanos a los de los habitantes del sur de la India. El complejo blanco llegó solo recientemente al norte y centro de Europa y al norte y centro de Asia.



El Dr. Holdridge junto al autor en 1979.

### Dendrología o identificación rápida de las plantas en el campo

Como complemento a sus estudios de la clasificación ecológica, el doctor Holdridge contribuyó substancialmente a la enseñanza de la dendrología (identificación de los árboles y arbustos en el campo), cuyas técnicas didácticas han permitido que docenas de biólogos y forestales (me cuento entre ellos) ayuden a que las gentes se acerquen al mundo de las plantas sobre bases cada vez más sólidas. Durante mi trabajo como dendrólogo, he tenido la oportunidad de constatar lo indicado por Holdridge en cuanto a áreas de transición. Escribe Holdridge que "... con mucha frecuencia resulta que cuando los recolectores de plantas o animales se refieren a localidades especialmente interesantes para la recolección, tales localidades caen dentro del área de tres triángulos vecinos, o sea, donde convergen tres zonas de vida" (Holdridge 1977).

## Cosmología y velocidad de la luz

Menos conocidos, pero no por ello de menor significado, son los aportes del doctor Holdridge a la teoría del desplazamiento de la luz y de la masa de los fotones, que en ciertos aspectos básicos siguen caminos diferentes a las conocidas teorías de Albert Einstein. En 1981, Holdridge propuso que la ruta del desplazamiento de los fotones no es una línea recta, sino una línea helicoidal. Por lo tanto, la velocidad de desplazamiento de los fotones no está cerca de los 300000 km seg<sup>-1</sup>. En lugar de esa cifra ya clásica, él propuso que los fotones viajan a distintas velocidades e indica una cifra cercana a 424000 km seg<sup>-1</sup> cuando la ruta helicoidal tiene generatrices de 45 grados. Varios otros temas novedosos fueron tratados por el doctor Holdridge en sus últimos años, como por ejemplo la liberación de energía por la clorofila; la estructura de los átomos, las moléculas y los cristales, entre otros. Sus teorías y cálculos fueron consignados en la serie *Occasional Papers* del CCT y en su libro *A Complete Cosmology* (1987).

Creemos que el sistema basado en zonas de vida de L.R. Holdridge es una herramienta valiosísima, entre otras cosas, para el ordenamiento territorial, para el planeamiento del uso de la tierra, la delimitación de áreas protegidas, y otros campos. Es una pena que no se hayan dado las condiciones para que los seguidores de Holdridge hubieran conducido al perfeccionamiento y ampliación de tan valiosos productos. Por supuesto que la tarea es gigantesca y no puede ser llevada a cabo por un grupo reducido de personas; por el contrario, tendría que reunir a todos los seguidores del sistema de zonas de vida en Costa Rica y fuera del país.

Abrigamos la esperanza de que en unos años ocurrirá algo análogo al redescubrimiento del creador del

mendelismo. Mendel leyó su artículo "Versuche über Pflanzenhybriden", en dos sesiones (febrero y marzo de 1865) en la Natural Science Society of Brünn y fue publicado en 1866 en las memorias de la sociedad. Es bien conocido que solo 34 años más tarde se reconoció su importancia. Sucedió que el escrito original de Mendel permaneció por 36 años en una biblioteca cuando, en 1900, Hugo Marie de Vries, Carl Correns y Erick von Tschermak simultánea e independientemente lo redescubrieron y continuaron sus investigaciones en genética vegetal.

En el mismo orden de ideas, esperamos que en el futuro cercano la estatura intelectual de Holdridge y su fama se incrementará cuando, como ocurre tantas veces con científicos de su talla, se redescubra la sin igual trascendencia de sus teorías y sus propuestas. Al respecto, recordamos lo que escribiera el venezolano Arturo Uslar Pietri en su columna aparecida en el periódico costarricense *La República*:

"Alejandro de Humboldt es una figura cimera de la humanidad. La visión del planeta que los hombres hemos llegado a tener hoy se le debe a su esfuerzo personal en grado incomparable. En una larga vida de exploraciones que lo llevaron desde el inicio del siglo XIX al continente americano y muy especialmente a sus regiones equinocciales, a Asia y a muchos sectores de Europa, y en un conjunto impresionante de obras, creó las bases de una nueva concepción de la Geografía y de la naturaleza. La deuda que tienen con él las zonas tropicales de la América Latina es inmensa. Todavía hoy, a los dos siglos de su visita es una fuente válida de descripción del paisaje, de las costumbres y de las peculiaridades de la naturaleza".

Al leer este párrafo, pensamos que algo similar podría afirmarse acerca de L.R. Holdridge.

## Literatura citada

- Brown, S; Lugo, AE. 1982. The storage and production of organic matter in tropical forests and their role in the global carbon cycle. *Biotropica* 14:161-187.
- Groonbridge, B. 1992. Global biodiversity status of the Earth's living resources; a report compiled by the World Conservation Monitoring Centre. Ondon, Chapman and Hall. 588 p.
- Holdridge, LR. 1962. The determination of atmospheric water movements. *Ecology* 43(1):1-9.
- \_\_\_\_\_. 1967. Life zone ecology. San José, CR, Tropical Science Center. 206 p.
- \_\_\_\_\_. 1977. Ecología basada en zonas de vida. Trad. H. Jiménez Saa. San José, CR, IICA. 216 p.
- \_\_\_\_\_. 1987. A complete cosmology; the cyclic universe. New York, US, Vantage. 179 p.
- Jiménez Saa, H. 2003. Anatomía del sistema de ecología basada en zonas de vida de L. R. Holdridge. San José, CR, Centro Científico Tropical. 32 p.
- Lasco, RD. 2005. Assessment of climate change inputs on and vulnerability of forests ecosystems in the Philippines using GIS and Holdridge life zones. Forthcoming.
- Rodríguez M, A; Saborío L, J. 1983. Evaluación indirecta de los recursos hídricos de una cuenca; modelo de precipitación-escorrentía. San José, CR, Instituto Costarricense de Electricidad (ICE). 32 p.
- Tosi, JA. 1997. An ecological model for the prediction of carbon offsets by terrestrial biota. San José, CR, Tropical Science Center. Occasional Paper No. 17. 34 p.
- Uslar Pietri, A. 1981. *La República*, San José, CR, mar 28.



## Abejas silvestres y polinización

Guíomar Nates-Parra<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Un tercio de los alimentos que consumimos está disponible gracias a la polinización, y aproximadamente la mitad de los animales que polinizan las plantas tropicales son abejas. Se considera que en el Neotrópico hay casi 6000 especies de abejas —3000 especies de lengua larga (Apidae y Megachilidae) y 3000 de lengua corta (Colletidae, Andrenidae y Halictidae)— que con sus visitas frecuentes a las flores se convierten en polinizadores eficientes, a diferencia de otros animales, que solo las visitan ocasionalmente. Para Colombia se estiman aproximadamente 1000 especies de abejas, agrupadas en 90 géneros y cinco familias. Este artículo versa sobre las abejas no-*Apis* y su relación con las plantas. Las abejas silvestres no-*Apis* conforman aproximadamente el 90% del total de las abejas del mundo, son muy variadas, y su biología y sus relaciones con el ser humano son poco conocidas.

**Palabras clave:** abejas no-*Apis*, polinizadores, diversidad, producción, abejas sin aguijón.

**ABSTRACT. Wild bees and pollination.** One third of the food consumed by humans today is available to us thanks to pollination, and about half of the animals pollinating tropical plants are bees. It is thought that there are almost 6000 species of bees in the Neotropics —3000 long-tongue species (Apidae and Megachilidae), and 3000 short-tongue species (Colletidae, Andrenidae and Halictidae)— which, through frequent visits to flowers, become efficient pollinators. In Colombia there are approximately 1000 bee species, grouped into 90 genera and five families. This paper focuses on non-*Apis* bees and their relationship with plants. Non-*Apis* bees make up nearly 90% of all bees, are extremely varied, and their biology and relations with human beings are little known.

**Key words:** non-*Apis* bees, pollinators, diversity, production.

### Introducción

La calidad de nuestra vida está directamente relacionada con la salud de nuestro planeta, puesto que la población humana depende de gran cantidad de otras especies animales y vegetales para su supervivencia. Un tercio de los alimentos que consumimos está disponible gracias a la polinización, y aproximadamente la mitad de los animales que polinizan las plantas tropicales son abejas (O'Toole 1993; el resto conforma un grupo extremadamente variado). Las abejas son, probablemente, el grupo de insectos mejor adaptado a la visita floral y, debido al gran número de especies y a la abundancia de algunas de estas, se

convierten en un grupo esencial para la polinización y por tanto para la reproducción sexual de la mayoría de las plantas con flores, en especial para muchas plantas de interés agrícola (Michener 2000). Se considera que en el Neotrópico hay casi 6000 especies de abejas —3000 especies de lengua larga (Apidae y Megachilidae) y 3000 de lengua corta (Colletidae, Andrenidae, Halictidae)— que con sus visitas frecuentes a las flores se convierten en polinizadores eficientes, a diferencia de otros animales, que solo las visitan ocasionalmente (Roubik 1995). Para Colombia se estiman aproximadamente 1000 especies de abejas, agrupadas en 90 géneros y cinco familias.

<sup>1</sup> Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. mgnatesp@unal.edu.co

### ¿Qué es una abeja?

Según Michener (1974), "Las abejas son un grupo de avispa visitantes de flores que abandonaron sus hábitos de avispa de aprovisionar sus nidos con insectos o arañas y en cambio alimentan a sus larvas con polen y néctar recolectado de flores o con secreciones glandulares, finalmente derivadas de la mismas fuente". Las abejas son uno de los grupos más comunes de insectos, de gran importancia ecológica y económica gracias a sus hábitos alimenticios. La visita a las flores en busca de néctar y polen tiene como consecuencia la polinización de un gran número de plantas de interés para otros organismos.

Al igual que muchos grupos de insectos, la fauna Apoidea de Colombia ha permanecido desconocida, debido principalmente a la ausencia de trabajos sistemáticos de investigación. Se cuenta con algunos trabajos, muy específicos, que han contribuido al conocimiento de las abejas de nuestro país, así como de sus relaciones con la vegetación local (Vergara y Villa 1982, Moreno y Devia 1982, Nates-Parra y Cepeda 1983, Nates-Parra 1983, Parra 1984, Fernández y Nates-Parra, 1985, Nates-Parra et al. 1989, Bonilla 1991, Pardo y Nates-Parra 1994, Giron 1996, González y Nates-Parra 1999, Liévano et al. 1999, Smith 1999, Nates-Parra y González 2000). En su serie de monografías sobre meliponinos tropicales, Pedro y Camargo (2003) y Camargo y Pedro (2003) incluyen discusiones sobre especies colombianas de *Partamona*, *Ptilotrigona* y *Paratrigona*.

### ¿Cómo reconocer una abeja?

En general, las abejas son más robustas y peludas que las avispa, aunque algunas de ellas presenten un fenotipo vespoideo (cuerpo delgado, largo y con poca pilosidad; p. ej. *Hylaeus*, nómadas y en general abejas parasíticas). Algunas características morfológicas ayudan a diferenciarlas (Michener et al. 1994):

1. Presencia de pelos plumosos o ramificados en varias partes del cuerpo y de las patas, aunque algunas veces están restringidos a pocas áreas, p. ej. el propodeo.
2. El basitarso posterior es más ancho que los segmentos siguientes del tarso y generalmente es aplanado. Los esfeciformes (una de las divisiones de Apoidea que agrupa a las avispa esfecoideas) tienen el primer y segundo segmentos tarsales similares en ancho y junto con el espolón tibial forman un órgano limpiador de antenas (*strigil*).

3. Ausencia de pelos dorados o plateados en la parte inferior de la cara. Esta característica es especialmente importante cuando se trata de separar abejas con fenotipo vespoideo de muchas avispa esfecoideas: éstas presentan pelos dorados o plateados que, a la luz, les confieren brillo en la cara.

Actualmente se reconocen siete familias de abejas en el mundo: cinco de lengua corta (*Stenotritidae*, *Colletidae*, *Andrenidae*, *Halictidae*, *Melittidae*) y dos de lengua larga (*Megachilidae* y *Apidae*) (Michener 2000). El comportamiento social, primitivo o avanzado, se presenta en menos del 10% de las especies, originado independientemente en dos familias: *Halictidae* y *Apidae* (Snelling 1981).

Hasta hace algún tiempo, la abeja más conocida en el Neotrópico era *Apis mellifera*, introducida con la llegada de los conquistadores a estos territorios. Desde esa época la especie se adaptó a las nuevas condiciones y hoy en día se considera naturalizada, con poblaciones silvestres establecidas en todo el territorio, y otras poblaciones criadas bajo condiciones de explotación comercial.

También se consideran abejas silvestres aquellas diferentes de *A. mellifera* (abejas no-*Apis*) que no han sido sometidas a domesticación, en su mayoría de hábitos solitarios (una hembra cava, aprovisiona y pone huevos en un nido y generalmente no está presente cuando nace su descendencia) que construyen nidos en suelo, paredes y troncos; no producen miel ni forman grandes colonias. Los únicos grupos muy sociales pertenecen a las tribus *Apini* y *Meliponini*, donde una hembra (reina) vive en un nido muy complejo, con panales de cría y celdas o potes para almacenamiento de reservas alimenticias; existe una casta de obreras que generalmente no pone huevos y se dedica a las labores de mantenimiento del nido total.

Este artículo versa sobre las abejas no-*Apis* y su relación con las plantas. Las abejas silvestres no-*Apis* conforman aproximadamente el 90% del total de las abejas del mundo, son muy variadas, su biología es poco conocida y sus relaciones con el ser humano mucho menos.

### Abejas silvestres en Colombia

En Colombia hay cinco familias de abejas y solo una de ellas agrupa a las abejas sociales:

#### *Colletidae*

Abejas solitarias que construyen nidos en el suelo, en huecos en la madera o tallos de plantas. Recubren el

interior de las celdas con la secreción de una glándula ubicada en el abdomen, llamada *glándula de Dufour*, que en contacto con el aire toma la apariencia de una bolsa transparente, impermeable al agua y a microorganismos. Existen dos formas generales: grandes, con pilosidad abundante, y pequeñas, con pilosidad escasa y esparcida. La mayor parte de las especies se encuentran en el hemisferio sur, especialmente en Australia. Algunos autores las consideran como “abejas fabricantes de poliéster” (Batra 1985).

### Andrenidae

Abejas solitarias. Se encuentran en todos los continentes excepto Australia. Nidifican en agujeros en el suelo. Son oligoléticas (restringen la recolecta de polen a especies vegetales particulares o grupos especiales de flores). En esta familia se incluyen las abejas del género *Oxaea*, abejas grandes, solitarias, de vuelo rápido, que nidifican en el piso y que fueron clasificadas en el nivel de subfamilia (Oxaeinae) por Alexander y Michener (1995).

### Halictidae

Abejas solitarias-parasociales (constituyen colonias pequeñas con adultos de una sola generación), primitivamente eusociales (pequeñas colonias en las que la reina y las obreras son muy parecidas morfológicamente; hay división de trabajo; la reina o hembra fundadora puede vivir sola). Es un grupo con muchas especies. Suelen ser llamadas “abejitas del sudor” (*sweat bees*) porque en climas cálidos frecuentemente se les ve lamiendo el producto de la transpiración sobre la piel. Hacen nidos en el suelo y en troncos de madera. Muchos grupos exhiben coloración metálica, verde, azul, roja, amarilla o negra.

### Megachilidae

Abejas solitarias, con algunas pocas especies comunales: dos o más hembras comparten un nido pero cada una construye, aprovisiona y oviposita su propia celda (Silveira et al. 2002). La familia contiene algunos géneros que son parásitos de nidos de otras abejas. Es un grupo con muchas especies, ampliamente distribuido. Se caracterizan porque transportan el polen en la escopa esternal (parche de pelos plumosos localizado en los últimos esternos abdominales), y porque hacen sus nidos con pedazos de hojas, resinas, ceras y otros materiales removidos de las plantas. Por esto se les conoce como “abejas cortadoras de hojas”.



*Bombus atratus* visitando una flor de *Dalia* sp. en los Andes colombianos (G. Nates-Parra).

### Apidae

Después de Roig-Alsina y Michener (1993), quedó convertida en una familia extremadamente diversa con muchas especies; agrupa las subfamilias Nomadinae, Xylocopinae y Apinae, con abejas tanto solitarias como eusociales. Se pueden encontrar desde especies parásitas en nidos de otras abejas hasta formas cuasi-sociales; esto es, pequeñas colonias en las que dos o más hembras construyen, aprovisionan y ovipositan las celdas cooperativamente; generalmente son de la misma edad y la misma generación o comunales. Nidifican en el suelo, en troncos de madera y paredes. En esta familia se encuentran las abejas de mayor tamaño, que pertenecen al género *Xylocopa* y nidifican en madera; también están las abejas sociales con cuatro tribus, dos altamente sociales: Apini (que incluye el género *Apis*) y Meliponini (llamadas “abejas sin aguijón”). Las otras dos tribus son: Bombini (abejorros del páramo, primitivamente sociales, género *Bombus*) y Euglossini (abejas de las orquídeas, solitarias y con algunas especies cuasisociales; géneros *Euglossa*, *Eulaema*, *Eufriesea*, *Aglae* y *Exaerete*). Meliponini, Bombini y Euglossini presentan algunos géneros que son parásitos de otras abejas.

## ¿Para qué sirven las abejas?

Uno de los compromisos de los representantes de todos los continentes que asistieron a la reunión de Río de Janeiro es mantener la diversidad de la vida. Y el grupo de organismos llamados por Buchmann y Nabham (1996) "polinizadores olvidados" está necesitando urgentemente que se tomen medidas para protegerlos. ¿Por qué hacerlo? Porque la supervivencia del resto del mundo depende de ellos. Con la agricultura masiva, la deforestación, el desarrollo urbano en regiones antes silvestres, los polinizadores han visto disminuidas sus poblaciones al no encontrar recursos alimenticios, sitios de nidificación y recursos para hacer sus nidos. Con la disminución de los polinizadores naturales, causada por el aumento en la destrucción del ambiente, se da la disminución de las especies de plantas a las cuales polinizan.

Los principales polinizadores están agrupados en cuatro órdenes de insectos: Hymenoptera (abejas, avispas, hormigas), Diptera (moscas, mosquitos), Lepidoptera (polillas y mariposas) y Coleoptera (abejones, cucarrones); entre ellos, las abejas desempeñan un papel preponderante en varios aspectos que se mencionan a continuación:

### Producción de miel, polen y otros productos

Además de *A. mellifera*, las abejas sin aguijón (Meliponini) producen pequeñas pero importantes cantidades de miel. En Colombia hay aproximadamente 100 especies de esta subfamilia y tan solo 17 son utilizadas para producción de miel, cera, polen o resinas. De ellas, solamente 11 se explotan, ya sea en forma rústica o semidomesticada, para obtención de miel. Las abejas del género *Melipona* (*M. favosa*, *M. gr. fasciata*, *M. interrupta*, *M. compressipes*) y especialmente *Trigona* (*Tetragonisca*) *angustula* son frecuentemente objeto de búsqueda para obtención de miel de excelente calidad y a la cual la medicina popular le asigna propiedades terapéuticas. El polen es obtenido en menor proporción y aún menos la cera o las resinas. En épocas precolombinas, los pobladores indígenas utilizaban en diversas formas los productos de las abejas (Nates-Parra 1996); hay relatos de cronistas que evidencian la obtención de cera, polen y miel por parte de los muiscas, tayronas, tunebos, etc. (Cabrera y Nates-Parra 1997). En Centroamérica se mantiene esta tradición, pero en Colombia se ha perdido. Existen estudios etnozoológicos en los que se demuestra que los insectos, especialmente las abejas, son parte importante de la estructura social de ciertas

comunidades indígenas y, además, se percibe un alto grado de conocimiento sobre la vida de las abejas sin aguijón. Los indios kayapo de la Amazonía brasileña (Posey y Camargo 1985), los andoke de la Amazonía Colombiana (Jara 1996), los nukak del noroeste Amazónico (Cabrera y Nates-Parra 1999) y los uwa de la Sierra Nevada del Cocuy en la Cordillera Oriental de Colombia (Falchetti 1997, Falchetti y Nates-Parra 2002) son algunos de los pueblos en los que se ha investigado este aspecto.

### Polinización y mantenimiento de la diversidad de los recursos vegetales

Las abejas se alimentan casi exclusivamente de polen y néctar y necesitan visitar grandes cantidades de flores diariamente para satisfacer sus requerimientos individuales, los de la cría y de la colonia. Este trabajo de visita a las flores hace de las abejas los principales agentes polinizadores de las plantas.

La eficiencia polinizadora de cualquier visitante floral está íntimamente relacionada con la biología floral de la planta y el comportamiento de forrajeo del animal. Durante millones de años las flores desarrollaron mecanismos con pétalos de colores, olores y recompensas de néctar, polen, esencias y aceites para atraer otros organismos y obtener la polinización. Sin embargo, no todo visitante floral es un polinizador eficiente. Para que una especie animal cualquiera pueda ser catalogada como buen polinizador de una especie vegetal particular, tiene que cumplir ciertos requisitos (Freitas 1998a):

- Ser atraída en forma natural por las flores de esa especie.
- Ser fiel a la especie.
- Poseer el tamaño y comportamiento adecuados para remover el polen de los estambres y depositarlos en los estigmas.
- Transportar en su cuerpo grandes cantidades de polen viable y compatible.
- Visitar las flores cuando los estigmas tengan buena receptividad y antes del inicio de la degeneración de los óvulos.

Las abejas cumplen con estos requisitos dado que son atraídas naturalmente a las flores por sus colores y olores y muchas de ellas mantienen su constancia floral. Hay abejas de tamaños diversos y con adaptaciones morfológicas (presencia de escopas o corbículas y pelos plumosos o ramificados en diferentes partes del cuerpo) y de comportamiento (forrajeo por zumbido: las abejas utilizan los músculos indirectos del vuelo,

localizados en el tórax, para hacer vibrar su cuerpo y de esta manera transmitir el movimiento a las antenas de plantas que expulsan el polen a través de un poro apical) que les permiten estar en contacto con el polen, removerlo y traspasarlo de una flor a otra, facilitando así el proceso de polinización.

La especie de abeja más utilizada por el ser humano en polinización, aunque no la única, es *Apis mellifera*, principalmente por sus hábitos generalistas de forrajeo y su facilidad de manejo. Por su producción de miel, esta especie, de origen africano y sudeuropeo, fue domesticada e introducida en casi todo el mundo. Se cree, erróneamente, que es el polinizador más eficiente, pero este concepto no ha sido probado para todas las especies de plantas. Algunos autores han mostrado que en muchas ocasiones *A. mellifera* es un visitante frecuente pero un polinizador pobre, especialmente cuando se compara con abejas silvestres (Raw 1979, Tepedino 1981, Westerkamp 1991, Freitas 1998b). Por otro lado, *A. mellifera* es un polinizador costoso: el mantenimiento de las colonias (incluyendo los caros tratamientos para mantenerlas libres de enfermedades) y su transporte a los sitios donde se requieren los servicios de polinización suben los costos del mantenimiento y producción del cultivo. Una de las primeras reacciones de los agricultores cuando tienen problemas de polinización es incrementar el número de colmenas de *A. mellifera* por área; esto conduce a una saturación del cultivo, más de las que el cultivo puede sostener, dando lugar a colmenas hambrientas (Westerkamp y Gottsberger 2002). Otras veces, los cultivos no suplen completamente los requerimientos nutritivos de las abejas y es necesario adicionar suplementos a las colonias, para evitar que vayan a explorar otros recursos (Westerkamp y Gottsberger 2002).

Las abejas silvestres (no-*Apis*) también cumplen una función polinizadora y, en muchos casos, con mayor eficiencia, visitando flores que son inaccesibles para *Apis* y a un menor costo. Tanto es así que en algunos países ya se tiene una tecnología establecida para la cría y uso de abejas silvestres en polinización de cultivos (Sihag 1995, Camilo 1996, Freitas y Oliveira 2001). Ante la diversidad de flores es apenas obvio que exista también una gran diversidad de polinizadores. Muchas flores en la naturaleza son melitófilas, es decir, adaptadas a la polinización por abejas, pero abeja no es sinónimo de *Apis mellifera*. La selección del polinizador adecuado depende de los requerimientos particulares de las especies vegetales por ser polinizadas. Algunos ejemplos son:

### ***Abejas sin aguijón***

La idea de mantener abejas sin aguijón para polinización en campo abierto es relativamente nueva. En Brasil, mediante la aplicación de la meliponicultura migratoria se ha observado que algunas especies de *Melipona* recolectan y polinizan flores de naranja (Barros 1994). *Trigona corvina* y *Trigona cupira* fueron registradas como dos de los polinizadores primarios mas importantes de *Sechium edule* (guatilla, chayote) en Costa Rica (Wille et al. 1983).

También han sido utilizadas con éxito en invernaderos. En 1992, Maeta et al. importaron *Nannotrigona perilampoides* desde Brasil hasta Japón, donde fue utilizada exitosamente en la polinización de fresa; colonias pequeñas de *Plebeia* del sur de Brasil, algunas *Melipona* de México y *Lepidotrigona* de Taiwán han sido llevadas a climas subtropicales, donde se han adaptado bien. En Costa Rica, *T. angustula* y *Nannotrigona testaceicornis* fueron efectivas para polinizar *Salvia farinacea* en invernaderos (Slaa et al. 2000). En México, *Partamona bilineata* para polinizar cucurbitáceas (Aguilar 2001). En invernaderos de tomates, *N. perilampoides* puede ser una alternativa al uso de *A. mellifera* y *Bombus* spp. (Cauich et al. 2004), y en Australia se han utilizado especies de *Trigona* para polinizar macadamia (Aguilar 2001).

Si bien algunas especies no son muy apropiadas para polinización (tienen colonias pequeñas, son muy agresivas, tienen hábitos de nidificación restringidos, cortan, perforan, muerden flores, frutos, tallos de plantas, p. ej. *Trigona s. str.*) es posible encontrar otras que si se adaptan muy bien y pueden ser susceptibles de ser manejadas como polinizadores efectivos (tienen colonias grandes, son dóciles, adaptables a domicilios artificiales y especialmente, pueden ser mantenidas en los mismos nidos originales en los que se encuentran, Roubik 1995). *Trigona angustula* (angelita) y especies de los géneros *Melipona*, *Nannotrigona*, *Scaptotrigona* y *Cephalotrigona* son algunas de las que se podrían utilizar como polinizadores.

Sin embargo, hasta ahora no hay muchos estudios referentes a la importancia de las abejas sin aguijón en cultivos: Heard (1999) hizo una revisión del efecto polinizador de los meliponinos en el que muestra que si bien son polinizadores efectivos para aproximadamente unas 10 especies de plantas y se han visto como visitantes de unas 60 más, no hay suficientes datos que permitan aclarar el papel de tan abundante recurso. Castro (2005) menciona varios frutales tropicales y nativos del nordeste Brasileño para los cuales

las abejas sin aguijón son polinizadores potenciales: *Spondia tuberosa*, *Psidium guajava*, *Eugenia aquea*, *Eugenia uniflora*, *Talisia esculenta*. Afortunadamente ya hay varios investigadores que están abordando este tema y comienzan a surgir estudios importantes, no solo sobre la utilización de los meliponinos en polinización de diversos cultivos, sino también en el conocimiento de las plantas que ofrecen recursos alimenticios a las abejas (Venturieri et al. 2003, Nates-Parra 2005).

*T. angustula*, en particular, es una abeja generalista y poliléctica; esto es, visita muchas especies vegetales de donde obtiene el polen para su consumo. Sin embargo muestra una gran constancia floral, ya que al analizar sus cargas polínicas se pudo evidenciar que aproximadamente el 60% de las muestras analizadas (104) presentan entre el 90 y 99,9% de un tipo de polen dominante (Nates-Parra, datos sin publicar.). En este mismo estudio se identificaron 59 especies de plantas, de las cuales esa especie recoge polen y probablemente néctar. Sin embargo, a pesar del comportamiento generalista de *T. angustula*, se observó que uno de los tipos polínicos más comunes en las muestras corresponde al género *Solanum*. Es de presumir que en este caso las obreras de *T. angustula* actúan como oportunistas, puesto que las especies vegetales del género tienen anteras poricidas que hacen necesario un mecanismo especial (vibración) para extraer el polen; así, las obreras de *T. angustula* recogen el polen que queda sobre los pétalos u hojas, después de la acción de polinizadores más grandes (*Bombus*, *Centris*, *Eulaema*, *Melipona*, *Xylocopa*), que por vibración de los músculos torácicos hacen que las anteras liberen el polen (Buchmann 1983); este polen es muy apetecido porque se considera muy rico en proteínas (Roubik 1989).

El conocer los hábitos de nidificación de los meliponinos, sus hábitats naturales, ámbito de vuelo y comportamiento de forrajeo, son aspectos que permitirán definir más claramente su potencial como polinizadores y de esta forma aprovechar estos insectos no solo en polinización de cultivos sino en el mantenimiento de los bosques que aún nos quedan.

### **Megachilidae**

La abeja cortadora de hoja, *Megachile rotundata*, fue introducida accidentalmente en la parte este de los Estados Unidos en los años 30 y desde entonces se ha diseminado por todo el país. Desde la década de los 50, los productores de semilla de alfalfa (*Medicago sativa*)

de los EUA se dieron cuenta de la importancia de ese insecto en este cultivo. Generalmente, basta con una hembra por cada 4,175 m<sup>2</sup> para lograr una buena polinización (Richards 1993).

La especie también fue introducida en Canadá en 1961 y desde esa época la industria de la producción comercial de abejas corta hojas se desarrolló junto con la producción de semilla de alfalfa (Richards 1984). Además de polinizar alfalfa, los megaquílidos pueden visitar legumbres forrajeras (mentas, crucíferas) y trébol dulce (*Trifolium repens*). Los productores han diseñado varios tipos de nidos artificiales con el fin de atraer y mantener las abejas en los cultivos que quieren polinizar, como tubos de papel colocados en cajoncitos de madera y bloques de madera con túneles donde se almacenan los pitillos.

Los megaquílidos se pueden conseguir durante la época en que las larvas están en fase de hibernación, cuando pueden ser trasladadas a los nidos artificiales (Sihag 1983, 1995). Además, existe la metodología para adaptar la época de emergencia de las abejas con la época de la floración del cultivo respectivo (Stephens 1981). Una vez adquirida la especie, las abejas se pueden reproducir dentro del cultivo, dando excedentes de abejas que pueden ser vendidas a otros productores (Westerkamp y Gottsberger 2002).

### **Xylocopa**

Abejas carpinteras. La polinización de Pasifloraceae (maracuyá, badea, granadilla, gulupa) por abejas del género *Xylocopa* es un ejemplo clásico de la interrelación entre abeja y planta mediante la polinización. En Colombia, *Xylocopa frontalis*, *Xylocopa fimbriata* y *Xylocopa aenipennis* son las especies que suelen polinizar estos cultivos. El gran tamaño de la flor hace necesarias abejas del porte de *Xylocopa* (2 a 3 cm de longitud) para una polinización eficiente. Las abejas no recolectan polen sino néctar (Mardan 1995); sin embargo, en la tarea de recolección de néctar llevan granos de polen adheridos al dorso, que son transferidos a otras flores y, de esta forma, se promueve la polinización cruzada. Las técnicas para criar estas abejas van desde el simple traslado de los troncos en los que anidan hasta la elaboración de sofisticados cajones de madera. Ya se ha demostrado que la introducción de nidos de *Xylocopa* en cultivos de maracuyá incrementa en un 25% el porcentaje de fructificación (Camilo 1996).

En Colombia, Caicedo et al. (1993) determinaron que el sustrato preferido por *Xylocopa* en

un cultivo de maracuyá en el Valle del Cauca era siempre madera muerta y por observaciones personales se determinó que los troncos viejos de *Theobroma cacao* (cacao) son usados por esos insectos para hacer sus nidos. Según Peláez (2004), *Cedrella montana* (cedro), *Psidium guajava* (guayabo) e *Inga edulis* (guamo) son los sustratos preferidos de *X. frontalis*, y *Gliricidia sepium* (mataratón) de *X. aenipennis* en Viterbo (Caldas, Colombia).

### **Euglossini**

Abejorros de las orquídeas. Estas abejas desempeñan un papel muy importante en los sistemas de polinización neotropicales. Los machos polinizan cientos de especies de orquídeas en la región neotropical (Dodson 1967, Dressler 1982) mientras que las hembras rara vez lo hacen. Más de 600 especies de orquídeas dependen de los machos euglosinos para su polinización (Ackerman 1986) y más de 200 especies de abejas pueden actuar como visitantes. Este sistema de polinización está restringido a las tierras bajas del Trópico y bosques montanos.

Los machos de *Euglossa*, *Eulaema* y *Eufriesea* son atraídos por las fragancias emitidas por las orquídeas, y a menudo los polinios se adhieren a sus cuerpos, que dejan en la siguiente flor que visitan, promoviendo la polinización cruzada entre las orquídeas. La *Vainilla* es polinizada por *Eulaema polychroma*, *E. speciosa*, *E. cingulata* y *E. nigrita*. Las hembras euglosinas visitan varios tipos de flores en busca de néctar y polen, incluyendo algunas de corolas cortas (Michener 2000). Según Roubik (1989), los euglosinos visitan por lo menos 23 fami-

lias vegetales para obtener néctar, nueve para polen y tres para resinas.

Otros tipos de flores son polinizadas por los dos sexos de las abejas euglosinas y ofrecen néctar como recompensa. Entre ellas están miembros de las familias Lecythidaceae, Gesneriaceae, Costaceae y Orchidaceae (Gerlach y Schill 1991).

Gilbert (1980) considera a los euglosinos como especies claves en la polinización de los bosques tropicales debido a su estrategia de forrajeo, conocida como *trap-lining*: muchas plantas presentan pocas flores, pero estas persisten por varios días e incluso semanas y, según Janzen (1971), son visitadas por abejas específicas que tienen un ámbito de vuelo bastante amplio y pueden viajar en búsqueda de recursos por largas distancias, de forma que cubren áreas relativamente grandes (Roubik 1989).

### **Bombus**

Abejorros. Son polinizadores eficientes de muchas plantas cultivadas, debido a su gran tamaño (especialmente las reinas), al uso del sistema de vibración sobre las flores (“polinización por zumbido”) y a su capacidad de forrajear a bajas temperaturas; gracias a esta última particularidad es uno de los mejores polinizadores de la flora de las regiones alto andinas.

*Trifolium pratense* es una especie vegetal muy utilizada como forraje para ganado, cuyas flores tienen una corola muy profunda que es solamente accesible para abejas de lengua larga; las especies de *Bombus* de lengua larga (p. ej., *B. atratus*) son los polinizadores más eficaces de *T. pratense*, ya que son los únicos abejorros que alcanzan el néctar almacenado



*Bombus transversalis* visitando una flor de *Miconia serrulata* en la Amazonía colombiana (M. Cadavid).

en las profundas corolas de esas plantas. Únicamente después de la importación de esas abejas a Nueva Zelanda se logró producir masivamente este forraje para el ganado (Roubik 1995). *A. mellifera* visita pero no poliniza esta planta.

El kiwi (*Actinidia deliciosa*) puede ser polinado por *A. mellifera* o por *Bombus*; en Nueva Zelanda y en Europa están utilizando *Bombus* porque su eficiencia polinizadora es superior a la de la abeja melífera (Macfarlane 1995). Las solanáceas son las plantas que más se benefician con la visita de *Bombus*. Sus flores tienen anteras largas, con dehiscencia poricida que hace necesario un manejo especial del polinizador para obtener su polen. *Bombus*, *Eufriesea*, *Eulaema*, *Euglossa*, *Melipona* y algunas abejas solitarias utilizan los músculos indirectos de vuelo para que su cuerpo vibre y así transmitir este movimiento a las anteras, de forma tal que el polen es expulsado y las abejas lo recogen rápidamente. Este sistema de polinización se conoce como *buzz pollination* (polinización por zumbido). Si bien las solanáceas producen poco o ningún néctar, sí ofrecen un polen abundante y rico en proteínas (Buchmann 1995).

Curiosamente, *A. mellifera* y otras abejas sin aguijón no recogen polen de esta manera, sino utilizando otros métodos que no siempre son los más eficientes. *Solanum quitoense* (lulo ó naranjilla) se cultiva mucho en Ecuador y Costa Rica; *Bombus* y quizás *Eulaema* son sus polinizadores principales. Los frutos producto de su polinización son muchísimo más pesados que los polinizados por *A. mellifera*. Se necesitan de ocho a 10 colonias de abejorros por hectárea de cultivo en un invernadero (Macfarlane 1995). Otras plantas para las cuales *Bombus* es polinizador eficiente son girasol (*Helianthus annuus*), calabacita italiana, zucchini (*Cucurbita pepo*) y feijoa (*Feijoa sellowiana*) (Freitas 1998b). Por observaciones personales, confirmadas por Roubik (1995), se sabe que *Bombus* también es polinizador muy eficiente de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*).

En Colombia existen nueve especies de *Bombus* con potencial para la polinización, pero para que se puedan establecer programas de polinización dirigida es necesario conocer la biología de las especies (hábitos de nidificación, ciclos de desarrollo, ciclos estacionales), adaptarlas a nidos artificiales y seleccionar las especies apropiadas para cada cultivo teniendo en cuenta sus características morfológicas, particularmente la longitud de su lengua, y de comportamiento, especialmente el defensivo. Estudios preliminares

indican que *B. atratus* es una especie muy defensiva, que debería ser tratada con sumo cuidado si se quiere utilizar en polinización de cultivos (Mejía 1999). Actualmente se están popularizando los invernaderos para cultivo de tomate en algunas regiones de Colombia, por lo que se hace necesario un trabajo intensivo con estos abejorros para lograr su introducción como polinizadores de este y otros cultivos.

### Otras abejas y otros cultivos

Otros cultivos comerciales son visitados por otras especies sociales y solitarias. Este es el caso de *C. pepo*, polinizada por *A. mellifera*, *Bombus morio*, *Ptiloglossa pretiosa*, *Trigona spinipes* y *Xylocopa griseescens* en cultivos comerciales en Brasil (Ávila et al. 1989). La polinización incrementa tanto el número de frutos por planta como el de semillas por fruto. Investigaciones hechas en cultivos comerciales de la misma planta en los Estados Unidos mostraron que *Peponapis pruinosa* y *Xenoglossa* (Anthophoridae) son las abejas especializadas en la polinización de estos cultivos. *P. pruinosa* es superior a *A. mellifera* en la polinización de *C. pepo*. Para estas abejas, las plantas del género *Cucurbita* son las únicas o principales fuentes de néctar y polen. *C. melo*, *C. sativus* y *C. anguria* (melón) producen néctar y polen muy atractivos para muchas especies de abejas (Roubik 1995). El tiempo diurno de vuelo de estas abejas está sincronizado con la apertura y oferta de recursos por parte de la planta (Tepedino 1981). Los polinizadores de *F. sellowiana* son *Bombus*, *Xylocopa* y halictidos pequeños; se ha demostrado que los frutos productos de polinización son de 200 a 300% más pesados que los producidos por autopolinización y que la maduración se reduce en 10 días.

Además de *Xylocopa*, pasifloráceas como badea, maracuyá y granadilla también son polinizadas por otros abejorros grandes como los de los géneros *Centris*, *Eulaema* y *Ptiloglossa*. El girasol (*H. annuus*) es autoincompatible y la polinización cruzada es obligatoria. Entre sus polinizadores se cuentan especies de Megachilidae, *Bombus* y otras abejas solitarias grandes. Algunos autores sostienen que *A. mellifera* visita por néctar pero que no es un polinizador efectivo (Hurd et al. 1980). *Solanum melongena* (berenjena) es polinizada por *Exomalopsis*, y *Malpighia glabra* (acerola) proporciona aceites como atrayentes para abejas recolectoras de aceites como las del género *Centris* (Westerkamp y Gottsberger 2002).



Antes de iniciar un cultivo de abejas con fines de polinización y producción es necesario considerar los siguientes aspectos:

- Identificación de los polinizadores naturales de la especie vegetal seleccionada.
- Estudio detallado de la historia natural de la especie polinizadora candidata.
- Los datos obtenidos en trabajo de campo o de laboratorio, sumados a la información existente, se usarán para desarrollar métodos exitosos de nidificación, supervivencia de los inmaduros, control de parásitos y programas de reproducción y mejoramiento de la especie.
- Estudio del comportamiento del forrajeo de la especie candidata.
- Análisis de la eficiencia de la polinización en un cultivo de prueba.
- Mantenimiento de una población estable y adecuada del polinizador en el cultivo.

#### Indicadores de calidad de hábitat

Para que un grupo de organismos pueda ser utilizado como indicador es necesario que se cumplan ciertos requisitos, a saber: que su taxonomía sea relativamente bien conocida, tenga alta diversificación ecológica y taxonómica, fidelidad ecológica, sea especie endémica, abundante, fácil de encontrar en el campo, funcionalmente importante en los ecosistemas, sensible a perturbaciones, de respuesta rápida y predecible y, finalmente, asociada con otras especies y recursos específicos (Brown 1991). En el caso de las abejas (Hymenoptera: Apoidea), se conoce relativamente bien la taxonomía y distribución geográfica de algunos grupos, lo cual salva el primer obstáculo (Bonilla y Nates-Parra 1992, Cruz 1996, Nates-Parra 1996, 2001, Ospina 1999, González 2000, Hernández 2004).

Por otro lado, las abejas mantienen una relación estrecha con las plantas, que les sirven como fuente de alimento, sitios de nidificación y apareamiento. Las visitas constantes a las flores hacen de las abejas los organismos polinizadores por excelencia de plantas silvestres y cultivadas.

Sus hábitos de nidificación son bastante diversos; es posible encontrar abejas que hacen nidos en el suelo, dentro de cavidades (rocas, árboles, recipientes), nidos expuestos, apoyados o colgados de ramas de grandes árboles. Igual que sus hábitos de nidificación, las abejas también presentan gran diversidad en cuanto a su comportamiento y modos de vida. Así, encontramos abejas solitarias y abejas sociales o

con algún nivel de sociabilidad. Grupos particulares como el de las abejas de las orquídeas (Euglossinae), endémicas del Neotrópico, han sido propuestos como indicadores de atributos de la biodiversidad en áreas de conservación (Bonilla 1997).

Las abejas que presentan un comportamiento social y que dependen de condiciones particulares para hacer sus nidos pueden ser indicadoras del deterioro de un hábitat, por la pérdida de sus sitios de nidificación. Las abejas del género *Melipona* son muy susceptibles a las modificaciones ambientales, tanto que comienzan a ser utilizadas como indicadores de alteraciones en el medio ambiente (Brown y Albrecht 2001).

#### Investigación científica

En comparación con *A. mellifera*, las abejas silvestres no-*Apis* son desconocidas en nuestro medio. Sus hábitos de nidificación, comportamiento reproductivo, hábitos de forrajeo, defensa y asociación con otros organismos son algunos de los campos en los cuales se deben iniciar trabajos de investigación. Algunos grupos de abejas silvestres producen y utilizan sustancias químicas de muchas formas; por ejemplo, sintetizan compuestos para construir sus nidos, sintetizan alimentos para sus crías y se comunican mediante señales químicas (feromonas). De interés para el ser humano es la regulación del comportamiento social mediante feromonas en abejas y termitas; la producción de seda y miel; la producción de venenos por abejas, avispas y hormigas; y el uso de atrayentes sexuales sintéticos para interrumpir los ciclos reproductivos de especies perjudiciales.

#### Consideraciones generales

Generalmente, cuando se habla de la conservación de la biodiversidad se mencionan plantas y animales grandes como felinos, osos, ballenas, focas, reptiles y aves, que han generado importantes campañas para su recuperación, conservación y protección, pero... ¿y los insectos? En relación con los polinizadores vertebrados, hay datos (Allen-Wardel et al. 1998) que indican que 1200 especies podrían encontrarse en riesgo; sin embargo, esta clase de información no existe para los invertebrados.

Exceptuando algunas especies de mariposas, para los demás invertebrados y particularmente los insectos no se han generado campañas de protección. Entre las abejas, *A. mellifera* es la especie más estable, estudiada, con tecnología muy sofisticada para su conservación y explotación y, aun así, las poblaciones

han disminuido drásticamente en países como EUA, donde se lleva un registro razonable del número de colonias existente en el país, y el número de colonias manejadas comercialmente ha disminuido de 5,9 millones en 1940 a 2,7 millones en 1995 (Kearns et al. 1998). Ni qué decir de aquellas especies que no producen miel o muy poca, aquellas que aparentemente no son útiles al ser humano: ni se mencionan en esos programas.

Cerca de 320 especies de abejas sin aguijón están siendo destruidas en Brasil por factores como la quema de bosques, los cazadores de miel, la explotación irracional del bosque y la fragmentación de áreas boscosas (Kerr 1997).

La disminución de estos polinizadores reduce la producción de semillas en una proporción semejante a los efectos de un gen semiletal. Esto ha sido ilustrado por Kerr (1997) en relación con *G. sepium*: con polinización se producen alrededor de 600 semillas por árbol, sin polinización tan solo 10 semillas; Su valor adaptativo cae de 1,0 a 0,017. Además, la polinización garantiza la formación de frutos y semillas fértiles que van a mantener la diversidad genética y garantizan la segunda, tercera y siguientes generaciones. Si las abejas desaparecieran, los bosques modificarían su estructura, pues las plantas polinizadas por abejas disminuirían tanto su capacidad de producir semillas que pronto se acabarían.

Otra consecuencia ecológica importante de la disminución de los polinizadores es el efecto causado sobre otras poblaciones animales. En Brasil, Kerr (1998) registro que a pesar de la prohibición de cacería, las poblaciones de *Cacajao calvus*, mono blanco de la amazonía, disminuyeron drásticamente. ¿La razón? Tres especies de abejas sin aguijón, grandes y buenas productoras de miel (*Melipona seminigra*, *M. rufiventris* y *M. crinita*) son polinizadores de centenas de árboles frutales aprovechados por estos monos. Pero las poblaciones de indígenas y colonos se benefician de la miel de las abejas y no consideran agresión cortar un árbol del tres metros de circunferencia para saquear los nidos de cualquiera de estas especies. Con la disminución de las poblaciones de meliponinos se ha disminuido la oferta de frutos utilizados por los monos para su alimentación, con la consiguiente reducción de sus poblaciones.

Otro caso de "relaciones rotas" se detectó en Costa Rica (Vinson et al. 1993) cuando los abejorros del género *Centris*, recolectores de aceites, fueron disminuyendo en los bosques secos de ese país porque

desaparecieron sus sitios de nidificación debido a quemas de partes del bosque para adaptar tierras a pastoreo. Ahora, árboles que siempre ofrecieron recursos a las abejas y dependían de estas para su polinización están en grave peligro de desaparecer.

Las prácticas de pastoreo también son muy lesivas sobre los sitios de nidificación de muchas abejas solitarias, como registró Sugden (1985) para especies de abejas de los géneros *Anthidium*, *Anthophora*, *Bombus*, *Colletes* y otras más en California.

Las abejas buscan néctar, polen, resinas o aceites, en un conjunto de especies de plantas que difiere para cada especie, de la misma forma, cada especie de planta tiene uno o varios polinizadores (Kerr 1979, Absy et al. 1984). Como demostró Absy en un estudio llevado a cabo en la Amazonía brasileña, de 192 plantas visitadas por abejas sin aguijón el 42% era polinizada por una especie de abeja, el 12% por dos y las restantes 46 por tres o más especies de meliponinos: si desapareciera una especie de abeja en esta región se verían afectadas 80 especies vegetales.

Sandino et al. (1997) analizaron la distribución de abejas euglosinas en un gradiente de deforestación en el Bajo Anchicayá (Colombia) durante dos años y establecieron que en las zonas de bosque intervenido la riqueza y abundancia de estas abejas disminuye, con la consiguiente pérdida de la diversidad genética debida a polinización. La fragmentación de bosques reduce la presencia de las áreas esenciales para la reproducción, fuentes de alimento, abrigo, agua y número de individuos en muchas abejas silvestres.

La variabilidad genética de las plantas se mantiene gracias a la polinización cruzada facilitada por los polinizadores. Al desaparecer estos, las plantas se vuelven endogámicas obligadas, produciendo cultivos inútiles, como la alfalfa (Bohart 1957). Las especies vegetales más vulnerables o que más dependen de los polinizadores son las dioicas, las autoincompatibles, las que poseen un polinizador específico y las que se propagan solamente por semillas (Kearns e Inouye 1993).

Otro factor que incide en el deterioro de la relación polinizadores-plantas es la introducción de especies foráneas; evento riesgoso, no solo porque simultáneamente se pueden introducir parásitos y enfermedades, sino porque puede afectar las interacciones con las especies animales preexistentes, con los sistemas reproductivos de las plantas o los ecosistemas en general y, además, generar competencia por recursos florales o locales de nidificación (Goulson 2003). Después de la destrucción del hábitat, la introducción de especies es la

segunda causa más importante de la pérdida de diversidad biológica (Vitousek et al. 1997).

En Israel, *Bombus terrestris* resultó invasivo y redujo la población de *A. mellifera* y abejas solitarias, así como el desplazamiento de abejas nativas por depleción de néctar (Dafni y Schmida 1996). En Japón, la misma especie produjo hibridación y desplazamiento de las especies nativas de *Bombus*. No hay diferencias en la eficiencia de la polinización de tomates en comparación con las especies nativas (*B. hypocrita* y *B. ignitus*) (Asada y Ono 1997), pero el desplazamiento de las especies nativas de *Bombus* ha tenido efectos nefastos sobre las poblaciones vegetales beneficiadas por la polinización (Kearns et al. 1998). En Chile, Ruz (2002) comenta que en 1998 introdujeron *B. terrestris* para la polinización de tomates en invernadero. Se ha comprobado su eficiencia en el aumento de la producción de tomates, pero no se ha evaluado su efecto sobre la fauna nativa.

La introducción de *A. mellifera* en el sur de la India trajo consigo el desplazamiento de la especie nativa *Apis cerana*, que producía importantes cosechas de miel. A pesar de que *A. mellifera* se considera como la abeja polinizadora por excelencia, no para todas las especies es igualmente eficiente. Las plantas cuyo sistema de polinización es por zumbido y vibración, como el tomate (*Solanum*) o el achote (*Bixa orellana*) son polinizadas más eficientemente por abejorros del género *Bombus* (Westerkamp y Gottsberger 2002) y abejas del género *Melipona* (Maues y Venturieri 1995) respectivamente. De la misma forma, cultivos que no atraen mucho a *Apis mellifera* (Bohart 1972, Nogueira-Cuoto 1997, Pardo y Nates 1997) o cultivos mantenidos en invernadero dan mejores resultados cuando se utilizan abejas nativas, p. ej. abejas sin aguijón, que además, por la ausencia del aguijón, se prestan para un manejo más seguro.

De esta forma, antes de introducir una especie de abeja para ser utilizada como polinizador, es necesario estudiar las especies locales, porque muy seguramente entre ellas se encontrarán polinizadores competentes para muchos de nuestros cultivos.

### Perspectivas

Acogiéndonos a la Propuesta Mundial de Rescate de los Polinizadores Olvidados (Buchmann y Nabhan 1996) y teniendo presente que la situación de las abejas es cada vez más crítica, se hace necesario no solamente seguir con el inventario de la fauna apoidea del país, sino también estudiar sus relaciones precisas

con la vegetación. De la conservación de las abejas depende la conservación de los bosques y de ellos las de otros organismos, incluso las mismas abejas. Es un círculo que se debe mantener para garantizar un planeta saludable para las generaciones futuras.

La forma de conservar los polinizadores, y en particular las abejas, ha de ser promoviendo su conocimiento integral. Los siguientes pasos servirán como puntos de partida:

1. Identificación de las especies de abejas silvestres del país.
2. Reconocimiento de las especies con usos potenciales.
3. Identificación de polinizadores naturales para una especie vegetal dada y en regiones particulares.
4. Estudios detallados de la biología, los hábitos de nidificación, el comportamiento de forrajeo, la reproducción, etc.
5. Implementación de nidos artificiales.
6. Establecimiento de las técnicas de manejo.
7. Evaluación de cada uso (producción, polinización, monitoreo de biodiversidad, producción científica).



*Melipona* cf. *fuscipes* forrajeando en flores de *Bixa* sp. (B. Mantilla).

La Conferencia de las Partes para la Conservación y Uso Sostenible de los Polinizadores en el año 2000 (Decisión V/5, sección II) aprobó la creación de la Iniciativa Internacional para la Conservación y Uso Sostenible de los Polinizadores (IPI) (Imperatriz-Fonseca y Díaz 2004). En 2002 se adoptó un plan de acción, con la FAO como facilitadora, donde se desarrollan los objetivos propuestos en la IPI mediante la presentación de actividades, metodologías y cronogramas para cada uno de tales objetivos, que involucran los siete aspectos mencionados en el párrafo anterior. Además de Brasil, otros países han generado sus pro-

pías iniciativas enmarcadas dentro de la estructura de la IPI (Eardley et al. 2004, Partap 2004, Potts 2004, Ruggiero et al. 2004). Dentro de ellas se desarrollan proyectos que se espera contribuyan a minimizar el impacto negativo de los humanos sobre los polinizadores a la vez que se promueve la conservación y diversidad de los mismos, además de conservar y restaurar áreas naturales necesarias para optimizar los servicios de los polinizadores en ecosistemas agrícolas y en otros ecosistemas terrestres.

### Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Colombia por el tiempo para la preparación de este trabajo y a los evaluadores anónimos.

### Literatura citada

- Absy, MI; Camargo, JMF; Kerr, WE; Miranda, IPA. 1984. Espécies de plantas visitadas por *Meliponinae* (Hymenoptera: Apoidea), para coleta de pólen na região do Médio Amazonas. *Revista Brasileira de Biologia* 44(2):227-237.
- Ackerman, JD. 1986. Mechanisms and evolution of food-deceptive pollination systems in orchids. *Lindleyana* 1:108-113.
- Aguilar, I. 2001. ¿Cómo manejar abejas nativas sin aguijón (Apidae: Meliponinae) en sistemas agroforestales? (en línea). *Agroforestería en las Américas* 8(31). Disponible en [http://web.catic.ac.cr/informacion/RAFA/rev31/rescom\\_h2.htm](http://web.catic.ac.cr/informacion/RAFA/rev31/rescom_h2.htm)
- Alexander, B; Michener, C. 1995. Phylogenetic studies of the family of the short-tongued-bees. *University of Kansas Science Bulletin* 55:377-424.
- Allen-Wardel, G; Bernhardt P; Bitner R; Burquez, A; Buchmann, S; Cane, J; Cox, PA; Dalton, V; Feinsinger, P; Ingram, M; Inouye, D; Jones, CE; Kennedy, K; Kevan, P; Koopowitz, H; Medellin, R; Medellin-Morales, S; Nabhan, GP; Pavlik, B; Tepedino, DV; Torchio, P; Walker, S. 1998. The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of food crop yield. *Conservation Biology* 12:8-17.
- Ávila, C; Martinho, MR; Campos, JP. 1989. Polinização e polinizadores na produção de frutos e sementes híbridas de abóbora (*Cucurbita pepo*). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 18(1):13-19.
- Barros, JRS. 1994. Genética da capacidade de produção de mel com Abelhas *Melipona scutellaris*, com meliponicultura migratoria e su adaptabilidade no Sudeste do Brasil. Tesis de Maestría. Jaboticabal, BR, UNESP.
- Batra, S. 1985 Polyester-making bees and other innovative insecta chemists. *Journal of Chemistry Educ.* 62:121-124.
- Bohart, GE. 1972. Management of wild bees for pollination of crops. *Annual Review of Entomology* 17:287-312.
- Bohart, GE. 1957. Pollination of alfalfa and red clover. *Annual Review of Entomology* 2:355-380.
- Bonilla, MA. 1997. Uso de las abejas euglosinas para monitoreo de la biodiversidad en áreas de conservación. *Tacayá* 7: 2-7.
- Bonilla, MA; Nates-Parra, G. 1992. Abejas euglosinas de Colombia (Hymenoptera: Apidae: Euglossinae) I Claves ilustradas. *Caldasia* 17:149-172.
- Bonilla-Gómez, A. 1991. Abejas Euglosinas de Colombia. Trabajo de Grado. Bogotá, CO, Universidad Nacional de Colombia. 103 p.
- Brown Jr., K. 1991. Conservation of neotropical environments: Insects as indicators. In Collins, NM; Thomas, JA. eds. *The conservation of insects and their environments*. London, UK, Academic Press. p. 349-404.
- Brown J, Albrecht C. 2001. The effect of tropical deforestation on stingless bees of the genus *Melipona* (insecta: Hymenoptera:Apidae:Meliponini) in Central Rondonia, Brazil. *Journal of Biogeography* 28:623-634.
- Buchmann, SL. 1983. Buzz pollination in angiosperms. In Jones, CE; Liittle, RJ. eds. *Handbook of experimental pollination biology*. New York, US, Van Nostrand Reinhold Company. p. 73-113.
- Buchmann, S. 1995. Pollen, anthers and dehiscence. In Roubik D. ed. *Pollination of cultivated plants in the Tropics*. FAO Agricultural Services Bulletin 118:121-130.
- \_\_\_\_\_; Nabhan, GP. 1996. *The forgotten pollinators*. Washington, DC, US, Island Press. 292 p.
- Cabrera, G; Nates-Parra, G. 1999. Uso de las abejas por comunidades indígenas: Los Nukak y las abejas sin aguijón. Encuentro IUSSI Bolivariana (3, 1999, Bogotá). Memorias. Bogotá, CO, Universidad Nacional de Colombia y Fondo FEN Colombia. p. 59-70.
- Caicedo, RG; Vargas, GH; Gaviria, H. 1993. Estudio del modelo natural de asentamiento en *Xylocopa* (Hymenoptera: Anthophoridae) para la adaptación de refugios en el cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*, Degener). *Revista Colombiana de Entomología* 19(2):72-78.
- Camargo, JMF; Pedro, SR. 2003. Meliponini neotropicales: o genero Partamona (Schwarz) (Hymenoptera, Apidae, Apinae). *Revista Brasileira de Entomologia* 48(3):353-377.
- Camilo, E. 1996. Utilização de especies de *Xylocopa* (Hymenoptera, Anthophoridae) na Polinização do maracuya amarelo. Encontro sobre abelhas (2, 1996). *Anais. Ribeirao Preto, BR.* 2:141-146.
- Castro, MS. 2005. As abelhas sem ferrão como importantes polinizadores de culturas agrícolas tropicais. *Mensagem doce* 80:11-12.
- Cauich, O; Quezada-Euan, JJ; Reyes-Oregel, V; Medina-Peralta S; Parra-Tabla, V. 2004. Behavior and pollination efficiency of *Nannotrigona perilampoides* (Hymenoptera: Meliponini) on greenhouse tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) in subtropical México. *Horticultural Entomology* 97(2): 475-481.
- Cruz, S. 1996. Abejas carpinteras de Colombia (Hymenoptera: Apidae: Xilocopini). Trabajo de Grado. Bogotá, CO, Universidad Nacional de Bogotá. 239 p.
- Dafni, A; Schmida, A. 1996. The possible ecological implications of the invasion of *Bombus terrestris* (L) (Apidae) at Mt Carmel, Israel. In Matheson, A; Buchmann, SL; O'Toole, C; Westrich, P; Williams, P. eds. *The conservations of bees*. International Bee Research Association y Linnean Society of London.
- Dodson, CH. 1967. Relationships between pollinators and orchid flowers. In Tasei, JN. ed. *Symposium internationale sur la pollinisation* (5, Versailles, FR). p. 61-64.
- Dressler, RL. 1982. Biology of the orchid bees (Euglossini). *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 13: 373-394.
- Falchetti, A. 1997. La ofrenda y la semilla: nota sobre el simbolismo del oro entre los Uwa. *Boletín del Museo del Oro* 43:3-37.

- \_\_\_\_\_; Nates-Parra, G. 2002. Las hijas del sol: Las abejas sin aguijón en el mundo Uwa, Sierra Nevada del Cocuy, Colombia. *In* Rostros Culturales de la Fauna. Colombia, Instituto Colombiano de antropología e historia y Fundación Natura. p. 175-214.
- Fernández, F; Nates-Parra, G. 1985 Hábitos de nidificación en abejas carpinteras del género *Xylocopa*. *Revista Colombiana de Entomología* 11(2):36-41.
- Freitas, B. 1997. Number and distribution of cashew (*Anacardium occidentale*) pollen grains on the bodies of its pollinators, *Apis mellifera* and *Centris tarsata*. *Journal of Apiculture Research* 36(1): 15-22.
- \_\_\_\_\_. 1998a. Avaliação da eficiência de polinizadores potenciais. *In* Congresso Brasileiro de Apicultura (12, 1998). Anais. p. 105-107.
- \_\_\_\_\_. 1998b. A importância relativa de *Apis mellifera* e outras espécies de abelhas na polinização de culturas agrícolas. *In* Encontro sobre abelhas (3, 1998). Anais. Ribeirão Preto, BR. p. 10-20.
- \_\_\_\_\_; De Oliveira Filho, JH. 2001. Criação racional de mamangavas para polinização em áreas agrícolas. Fortaleza, Seara, BR, Banco del Nordeste. 96 p.
- Gerlach, G; Schill, R. 1991. Composition of orchid Scents attracting Euglossine Bees. *Bot.- Acta* 104:379-391.
- Gilbert, LE. 1980. Food-webs and the conservation of Neotropical diversity. *In* Souleacute, ME; Wilcox, BA. eds. Conservation biology. Massachusetts, US, Sinauer Associates. p. 11-33.
- Giron, M. 1996. Melisopalínología: Recolección de polen y néctar por *Apis mellifera* en algunas especies de plantas silvestres y cultivadas del municipio de Salgar (Antioquia). Colombia, Universidad del Quindío. 84 p.
- González, VH; Nates-Parra, G. 1999. Sinopsis de *Parapartamona* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini), un género estrictamente Andino. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias* 23 (Supl.): 171-180.
- Goulson, D. 2003. Effects of introduced bees on native ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 34:1-26.
- Heard, T. 1999. The role of the stingless bees in crop pollination. *Annual Review of Entomology* 44:183-206.
- Hurd, P; LaBerge, W; Linsley, G. 1980. Principal sunflower bees of North America with emphasis on the Southwestern United States (Hymenoptera: Apoidea). *Smithsonian Contribution to Zoology* No. 310. 158 p.
- Imperatriz-Fonseca, VL; Dias, BFS. 2004. Brazilian Pollinators Initiative. *In* Freitas, BM; Pereira, JO. eds. Solitary Bees: Conservation, rearing and management for pollination. Fortaleza, Ceará, BR, Universidad Federal de Ceará, Imprensa Universitaria. p. 27-34.
- Janzen, DH. 1971. The ecological significance of an arboreal nest of *Bombus pullatus* in Costa Rica. *Journal of the Kansas Entomological Society* 44(2):210-216.
- Jara, F. 1996. La miel y el aguijón: taxonomía zoológica y etnobiología como elementos en la definición de las nociones de género entre los Andoke (Amazonía Colombiana). *Journal de la Société des americanistes* 82:209-258.
- Kearns, C; Inouye, D. 1993. Techniques for pollination biologists. University Press of Colorado. 583 p.
- Kearns, C; Inouye, D; Waser, N. 1998. Endangered mutualisms: The conservation of plant pollinator interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29:83-112.
- Kerr, WE. 1979. Papel das abelhas sociais na Amazônia. *In* Simpósio Internacional da Apimondia sobre Apicultura em clima quente. Anais. Florianópolis, BR. p. 119-129.
- \_\_\_\_\_. 1997. Native Bees: A neglected issue in the conservation and use of genetic resources. *In* Workshop to develop guidelines for the CGIAR. Proceedings. Foz de Iguaçu, BR, International plant genetic resources institute (IPGRI). p. 60-61.
- \_\_\_\_\_. 1998. As abelhas e o meio ambiente. *In* Congresso Brasileiro de Apicultura (12, 1998, Salvador, Bahia, BR). Anais. Confederação Brasileira de Apicultura. p. 27-30.
- Liévano, A; Ospina, R. 1984. Contribución al conocimiento de los abejorros sociales de Cundinamarca. Trabajo de Grado. Bogotá, CO, Universidad Nacional de Colombia. 177 p.
- Liévano, A; Ospina, R; Nates-Parra, G. 1991. Distribución altitudinal del género *Bombus* en Colombia (Hymenoptera: Apidae) *Trianea* 4:541-550.
- Macfarlane, RP. 1995. Applied pollination in temperate areas. Roma, IT, FAO Agricultural Services Bulletin 118:20-39.
- Maeta, Y; Tezuka, T; Nadano, H; Suzuki, K. 1992. Utilization of the Brazilian stingless bee *Nannotrigona perilampoides* as pollinator of strawberries. *Honey Science* 13:71-75.
- Mardan, M. 1995. Varied pollinator for Southeast Asian crops. Roma, IT, FAO Agricultural Services Bulletin 118:142-148.
- Mejía, A. 1999. Revisión de aspectos de nidificación y ciclo de desarrollo en *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apoidea) con fines comerciales. Trabajo de Grado. Bogotá, CO, Universidad Nacional de Colombia. 123 p.
- Michener, CD. 1974. The social behavior of the bees. Cambridge, Mass., US, Harvard University Press. 404 p.
- Michener, CD; McGinley, R; Danforth, B. 1994. The Bee Genera of North and Central America (Hymenoptera: Apoidea). Washington, DC, US, Smithsonian Institution Press. 209 p.
- Michener, CD. 2000. The bees of the world. Estados Unidos, The Johns Hopkins University Press. 913 p.
- Moreno, E; Devia, W. 1982. Origen botánico de la miel y el polen almacenados por las abejas *Apis mellifera*, *Melipona eburnea* y *Trigona (Tetragonisca) angustula* en Arbelaez, Cundinamarca. Trabajo de Grado. Bogotá, CO, Universidad Nacional de Colombia. 272 p.
- Nates-Parra, G. 1983. Abejas de Colombia. 1. Lista preliminar de algunas especies de abejas sin aguijón (Hymenoptera: Apidae Meliponinae). *Revista de Biología Tropical* 31(1):155-158.
- \_\_\_\_\_; Cepeda, O. 1983. Comportamiento defensivo en algunas especies de meliponinos colombianos (Hymenoptera: Meliponinae), Universidad Nacional de Colombia, Boletín del Departamento de Biología 1(5):65-82.
- \_\_\_\_\_; Villa, A; Vergara, C. 1989. Ciclo de desarrollo de *Trigona (Tetragonisca) angustula* Lat. 1811 (Hymenoptera: Trigonini). *Acta Biológica Colombiana* 1(5):91-98.
- \_\_\_\_\_; González, VH. 2000. Las abejas silvestres de Colombia: por qué y como conservarlas. *Acta Biológica Colombiana* 5(1):5-37.
- \_\_\_\_\_. 2005. Las abejas silvestres del piedemonte llanero. *In* Congreso Internacional de apicultores de los Andes (1, 2005, San Cristóbal, VE). Resúmenes. Venezuela, Universidad Nacional Experimental del Táchira. p. 21-25.
- Nates-Parra, G. 1996. Abejas sin aguijón (Hymenoptera: Meliponinae) de Colombia. *In* Amat, G; Andrade, G; Fernández, F. eds. Insectos de Colombia: Estudios escogidos. Bogotá, CO, Universidad Javeriana y Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. p. 181-268.

- Nates-Parra, G. 2001. Guía para la cría y manejo de la abeja angelita o virginita *T. (Tetragonisca) angustula* Illiger. Bogotá, CO, Convenio Andrés Bello. 43 p. (Serie Ciencia y Tecnología no. 84).
- Nates-Parra, G. 1996. Abejas sin aguijón y su origen dentro de la mitología Muisca. *Tacaya* 5:3-5.
- Nogueira-Couto, RH. 1997. Insect Pollination and plant guiding in *Galactia striata* (Leguminosae). *Pasturas Tropicales* 19(1):51-54.
- O'Toole, C. 1993. Diversity of native bees and agroecosystems. In LaSalle, J; Gauld, ID. eds. *Hymenoptera and Biodiversity*. Wallingford, UK, Commonwealth Agricultural Bureau International. p. 169-196.
- Pardo, R; Nates-Parra, G. 1994. Aumento de visitas florales en *Apis mellifera* en cultivos al usar feromona de Nasanov sintética. *Revista Colombiana de Entomología* 20(3):187-192.
- Parra, G. 1984. Censo parcial de las abejas sin aguijón (Apidae: Meliponinae) del Occidente Colombiano. *Cespedesia* 13(4):277-290.
- Partap, U. 2004. An overview of pollinators research and development in Hindu Kush-Himalayan region. In Freitas, BM; Pereira, JOP. eds. *Solitary bees: conservation, rearing and management for pollination*. Fortaleza, BR, Imprensa Universitaria, Universidad Federal do Ceará. p. 57-66.
- Pedro, SR; Camargo, JMF. 2003. Meliponini neotropicales: o genero *Partamona* (Schwarz, 1939) (Hymenoptera, Apidae). *Revista Brasileira de Entomologia* 47(supl.1): 1-117.
- Pelaez, JM. 2004. Recursos florales usados por *Xylocopa frontalis* en el Valle del Risaralda, Colombia. Encuentro colombiano sobre abejas silvestres (2, Colombia). *Memorias. (CD):90-100*.
- Posey, D; Camargo, JMF. 1985. Additional notes on the classification and knowledge of stingless bees (Meliponinae, Apidae, Hymenoptera) by the Kayapo Indians of Gorotire, Para, Brasil. *Annals of the Carnegie Museum* 54(8):247-274.
- Potts, S. 2004. European Pollinator Initiative (EPI)-assessing the risks of pollinator lost. In Freitas, BM; Pereira, JOP. eds. *Solitary bees: conservation, rearing and management for pollination*. Fortaleza, BR, Imprensa Universitaria, Universidad Federal do Ceará. p. 43-55.
- Raw, A. 1979. *Centris dirrhorda* (Anthophoridae), the bee visiting West Indian Cherry flowers (*Malpighia punicifolia*). *Revista de Biología Tropical* 27(2):283-285.
- Richards, K. 1984. Alfalfa leaf-cutter bee management in Western Canada. Canadá, Agriculture Canada, Publication 1495E.
- \_\_\_\_\_. 1993. Non-*Apis* bees as crop pollinators. *Revue Suisse de Zoologie* 100:807-822.
- Roig-Alsina, A; Michener, C. 1993. Studies of the phylogeny and the classification of long tongued bees. *University of the Kansas Science Bulletin* 55:123-162.
- Roubik, DW. 1989. *Ecology and Natural History of tropical Bees*. Cambridge, UK, Cambridge University Press. 514 p.
- \_\_\_\_\_. 1995. Pollination of cultivated plants in the tropics. *FAO Agricultural Services Bulletin* 118:1-6.
- Ruggiero, M; Buchmann, S; Adams, L. 2004. The North American Pollinator Initiative. In Freitas, BM; Pereira, JOP. eds. *Solitary bees: conservation, rearing and management for pollination*. Fortaleza, BR, Imprensa Universitaria, Universidad Federal do Ceará. p. 35-41.
- Ruz, L. 2002. Bee pollinators introduced to Chile: a review. In Kevan, PG; Imperatriz-Fonseca, VL eds. *Pollinating bees: The conservation link between agriculture and nature*. Brasilia, BR, Ministerio del Medio Ambiente. p. 155, 167, 56.
- Sandino, JC; Otero, JT; Santaella, M. 1997. Dos años de la distribución de machos de las abejas euglosinas (Apidae, Euglossinae) en un gradiente de deforestación, Bajo Anchicayá. In Congreso de Biología de la Conservación (1, Cali, CO). *Resúmenes*. p. 71.
- Sihag, RC. 1983. Life cycle pattern, seasonal mortality, problem of parasitization and sex ratio pattern in alfalfa pollination megachilid bees. *Sweden Angew Entomol* 96:368-379.
- \_\_\_\_\_. 1995. Management of subtropical solitary bees for pollination. *FAO Agricultural Service Bulletin (Pollination of cultivated plants in the tropics)* 157-159.
- Slaa, EJ; Sánchez, LA; Sandf, M; W. Salazar, W. 2000. A scientific note on the use of stingless bees for commercial pollination in enclosures. *Apidologie* 31:141-142.
- Smith, AH. 1999. Abejas (Hymenoptera: Apoidea) de la zona de influencia del embalse Porce II (Antioquia, Colombia). Tesis Magister Entomología. Medellín, CO, Universidad Nacional de Colombia. 255 p.
- Snelling, R. 1981. *Systematics of Social Hymenoptera. Social Insects*. Nueva York, US, Academic Press. v. 2, p. 369-453
- Stephen, WP; Vandenberg, JD; Fichter, BL. 1981. Etiology and epizootiology of chalkbrood in the leafcutting bee, *Megachile rotundata* (Fabricius) with notes on *Ascosphaera* species. *Oregon State University, Agric. Exp. Stn. Bull.* 65.
- Sudgen, EA. 1985. pollination of *Astragalus monoensis* Barneby (Fabaceae): new host record; potencial impact of sheep grazing. *Gt basin natur.* 45:299-312.
- Tepedino, VJ. 1981. The pollination efficiency of squash bee (*Peponapis pruinosa*) and the honey bee (*Apis mellifera*) on summer squash (*Cucurbita pepo*). *Journal of Kansas Entomological Society* 54:359-77.
- Venturieri, G; Oliveira, VF; Pereira, ChAB. 2003. Avaliação da introdução de novos sistemas de manejo para *Melipona fasciculata* (Apidae : Meliponina) entre os agricultores de Bragança, PA, Brasil. *Biota Neotrópica* 3(2):1-7.
- Vergara, C; Villa, A. 1982. Algunos aspectos de la biología y comportamiento de *Trigona angustula* (Hymenoptera: Apidae). Trabajo de grado. Bogotá, CO, Universidad Nacional de Colombia. 203 p.
- Vinson, SB; Frankie, GW; Barthell, J. 1993. Threats to diversity of solitary bees in a neotropical dry forest in Central America. In lasalle, J; Gauld, ID. eds. *Hymenoptera and biodiversity*. p. 53- 82.
- Vitousek, PM; Mooney, HA; Lubchenco, J; Melillo, JM. 1997. Human domination of Earth's Ecosystems. *Science* 277:(494-499).
- Westerkamp, C. 1991. Honeybees are poor pollinators-why? *Plant Systematic and Evolution* 177:71-75.
- \_\_\_\_\_; Gottsberger, G. 2002. The costly crop pollination crisis. In Kevan, PG; Imperatriz-Fonseca, VL. eds. *Pollinating bees: The conservation link between agriculture and nature*. Brasilia, BR, Ministerio del Medio Ambiente. p. 51-56.
- Wille, A; Orozco, E; Raabe, C. 1983. Polinización del chayote *Sechium edule* (Jacq.) Swartz en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 31(1):145-154.

## ¿Existe la tolerancia genética del cacao (*Theobroma cacao*) a *Rosellinia bunodes* y *Rosellinia pepo*?

Johnny García Córdoba<sup>1</sup>  
 André George<sup>2</sup>  
 Tim Argyle<sup>1,3</sup>  
 Martijn ten Hoopen<sup>4</sup>  
 Ulrike Krauss<sup>1</sup>

**RESUMEN.** *Rosellinia* spp. son patógenos oportunistas del suelo con un amplio rango de hospedantes. Una vez establecidos en el suelo, son difíciles de controlar. Se han sugerido la resistencia genética y el control biológico para complementar las medidas agronómicas. Sin embargo, casi no existe evidencia de resistencia hacia *R. bunodes* y *R. pepo*. En este estudio evaluamos progenitores de una polinización abierta de clones de cacao (*Theobroma cacao*) susceptibles (UF667, PA121 y CC222) y tres clones para los cuales se reportó cierta tolerancia hacia *R. pepo* (IMC67, Pound 7 y UF613) con respecto a su reacción frente a este patógeno, empleando un bioensayo con plántulas. No logramos estimar la reacción hacia *R. bunodes*. Además, analizamos las poblaciones de micoparásitos en la rizosfera de los clones puros utilizando 'tortas mixtas' de hongos y *R. bunodes* como cebos.

A pesar de diferencias significativas en las longitudes de raíces entre clones, estas diferencias no fueron relacionadas con la reacción genética presunta hacia *R. pepo*. Más bien, estas diferencias solamente se observaron en plántulas del testigo, mientras que la inoculación redujo la longitud de las raíces independientemente del clon. Todas las muestras de suelo rizosférico albergaron múltiples especies de micoparásitos con potencial documentado para el control biológico. Las más comunes fueron *Clonostachys* spp., seguidas por *Trichoderma* spp. Seis especies de micoparásitos fueron más abundantes en clones susceptibles, dos no mostraron ninguna preferencia de germoplasma y solamente una especie relativamente rara colonizó preferentemente clones supuestamente tolerantes. No obstante, este comportamiento dependió fuertemente del hongo cebo usado. No se detectó preferencia hacia germoplasma con *R. bunodes* como cebo. Los números de micoparásitos de *R. bunodes* llegaron a sobrepasar las 1000 unidades formadoras de colonias por gramo de suelo. A pesar de que los distintos clones soportaron cantidades diferentes de micoparásitos de *R. bunodes*, no se observó ningún patrón con relación al germoplasma para ninguno de los micoparásitos.

No encontramos evidencia que soporte el postulado de tolerancia a *Rosellinia*, ni en bioensayos con plántulas, ni evaluando la micoflora antagonista en la rizosfera. Sin embargo, el desarrollo de metodologías para medir resistencia a patógenos de suelo en forma cuantitativa y reproducible requiere más trabajo. Asimismo, se debería considerar la diversidad de poblaciones de los patógenos. Los antagonistas de *Rosellinia* son abundantes y valdría la pena estudiar con mayor detalle su eficacia como biocontroladores.

**Palabras clave:** *Clonostachys*, cacao, germoplasma, llaga, micoparásitos, patógenos de suelo, resistencia genética, *Rosellinia bunodes*, *Rosellinia pepo*, *Theobroma cacao*, *Trichoderma*.

**ABSTRACT.** Does genetic tolerance of cocoa (*Theobroma cacao*) to *Rosellinia bunodes* and *Rosellinia pepo* exist? *Rosellinia* spp. are opportunistic soil-borne pathogens with a wide host range. Once established, they are difficult to control. Both genetic resistance and biocontrol have been suggested as promising supplements to cultural methods. However, evidence of tolerance towards *R. bunodes* and *R. pepo* is virtually non-existent. We evaluated openly pollinated progeny from three susceptible cocoa (*Theobroma cacao*) clones (UF667, PA121 and CC222) and three clones with a reported tolerance towards *R. pepo* (IMC67, Pound 7 and UF613) for their reaction towards this pathogen using a seedling bioassay. We were unable to test the reaction towards *R. bunodes*. We also analysed mycoparasite populations in the rhizosphere of the pure clones using 'mixed fungal pies' and *R. bunodes* as baits.

<sup>1</sup> Convenio CABI/CATIE/USDA, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), 7170 Turrialba, Costa Rica. u.krauss@cabi.org

<sup>2</sup> Universidad de Costa Rica, Escuela de Agronomía, Sede del Atlántico, Turrialba, Costa Rica.

<sup>3</sup> Department of Biology and Biochemistry, University of Bath, Bath BA2 7AY, Reino Unido.

<sup>4</sup> Convenio CABI/CATIE/DGIS, CATIE, 7170 Turrialba, Costa Rica.

Although significant differences in root length were detected between clones, these were not related to the presumed genetic reaction of this germplasm towards *R. pepo*. In fact, these differences were only observed in control plants, whereas inoculated plants exhibited reduced root growth with no differences between clones. All rhizosphere soil samples harboured multiple mycoparasite species of known biocontrol potential. *Clonostachys* spp. were the most common, followed by *Trichoderma* spp. Six mycoparasite species were more abundant on susceptible clones, two showed no preference and only a relatively rare species preferentially colonised supposedly tolerant clones. This behaviour, however, strongly depended on the bait fungus used and, no preference of mycoparasites of *R. bunodes* was observed. On occasions, mycoparasites of *R. bunodes* exceeded 1000 colony-forming units per gram of soil. Although different clones supported different population levels, no relationship with supposed reaction was discernible for any taxon.

We did not find evidence of a differential reaction of cocoa germplasm to *Rosellinia* using a seedling bioassay and assessing the associated rhizosphere antagonist flora. However, more work is needed on quantitative and reproducible screening procedures for resistance to soil-borne pathogens. The diversity of pathogen isolates should also be considered. Antagonists of *Rosellinia* are plentiful, and their efficacy as biocontrol agents merit further study.

**Key words:** *Clonostachys*, cocoa, genetic resistance, germplasm, mycoparasites, root rot, *Rosellinia bunodes*, *Rosellinia pepo*, soil-borne pathogens, *Theobroma cacao*, *Trichoderma*.

## Introducción

La podredumbre radicular —también llamada “llaga negra”, “llaga radicular negra”, “llaga estrellada”, “podredumbre negra” y “roselinia” (Merchán 1990)— es una enfermedad que ataca muchos cultivos a escala mundial, causando pérdidas económicas importantes en algunos de ellos. Tal es el caso de Colombia, donde los problemas más graves se presentan en cacao (*Theobroma cacao*), café (*Coffea arabica*; pérdidas de hasta US \$489 ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>; Bautista y Magdiel 2000) y frutales (Merchán 1993).

El agente causal de la enfermedad pertenece al género *Rosellinia*, asociado a *Rosellinia bunodes* (Berk. & Br.) Sacc. y *Rosellinia pepo* Pat. como los causantes de pudriciones radiculares en cacao (Nowell 1916, Aranzazu et al. 1999). En condiciones de cultivo, *R. pepo* ataca principalmente cacao y *R. bunodes* café; sin embargo, ambas especies pueden afectar simultáneamente la misma planta (Merchán 1990, Aranzazu et al. 1999). La enfermedad suele presentarse generalmente afectando plantas localizadas en pequeños parches (Merchán 1990) y se extiende en forma progresiva con el pasar del tiempo (Merchán 1993).

La propagación de la enfermedad suele darse por contacto entre raíces sanas con raíces enfermas portadoras del patógeno (Fernández y López 1964, Merchán 1993), hasta el punto de que estudios realizados por Salazar y Aranzazu (1987) demostraron que la principal fuente natural de inóculo son las raíces enfermas. Investigaciones realizadas en el pasado

atribuyen a *Rosellinia* spp. un carácter de parásito facultativo más que de parásito obligado. Aranzazu (1996) concluyó que *R. pepo* se comporta como un organismo con habilidades más saprofíticas que parasíticas, y que el parasitismo de *R. pepo* es incidental a su existencia saprofítica y que, por lo tanto, las especies de *Rosellinia* son consideradas como parásitos débiles (Aranzazu 1997). Es importante mencionar que Waterston (1941) y Aranzazu (1996), aunque concuerdan en el carácter saprofítico de *Rosellinia*, también advierten que una vez establecida la enfermedad es difícil de controlar.

En investigaciones anteriores varios autores coinciden en que la materia orgánica, la humedad del suelo y el pH son factores determinantes en el desarrollo del hongo. Cárdenas et al. (1998) mencionaron que contenidos elevados de materia orgánica y una alta humedad del suelo favorecen el desarrollo del patógeno. A su vez, Mendoza et al. (2003) mencionaron el alto contenido de materia orgánica y un pH relativamente bajo como los factores óptimos para el desarrollo del hongo. Contrario a lo descrito anteriormente, Cadavid (1995) y Waterston (1941) no demostraron relación entre la acidez y el desarrollo de la enfermedad, por lo que el pH no fue considerado como un factor relevante.

Desde hace ya varios años se han realizado experimentos con el propósito de determinar un método eficiente de control de la enfermedad, probando diferentes condiciones de manejo químico, agronómico, genético y biológico. El control químico ha demostra-



do no ser una herramienta viable para el control de la enfermedad en cacao, e investigaciones en el pasado así lo demuestran; Merchán (1993) y Restrepo (1997) mencionaron que el uso de productos químicos contra *Rosellinia* puede favorecer el desarrollo del patógeno mediante la reducción de la microflora antagonista del suelo. En general, el control químico dio resultados insatisfactorios, erráticos y antieconómicos (Cubillo 1988, Merchán 1989).

El control agronómico es otro método utilizado. Entre sus recomendaciones se describen la erradicación de árboles muertos, la poda de raíces laterales, el repique del suelo en una franja no menor a un metro de ancho y la quema de residuos infectados (Aranzazu 1997). La incorporación de enmiendas al suelo, como carbonato de calcio para elevar el pH (Fig. 1), también podría ayudar a controlar la enfer-

medad (Nowell 1916, Aranzazu et al. 1999, Mendoza et al. 2003). Es importante observar que, dadas las características propias de la enfermedad, donde los síntomas muchas veces no son visibles inmediatamente después de la infección, este procedimiento puede resultar ineficiente como método de control.

Un método en el cual están cifradas muchas esperanzas es el control genético, que consiste en la utilización de materiales (clones, híbridos) que tengan tolerancia o resistencia a la enfermedad. Las pocas investigaciones en control genético de *Rosellinia* fueron enfocadas hacia *Rosellinia necatrix* Prill., principalmente en los cultivos de manzana (*Pyrus malus*) (Sztejnberg et al. 1983, Johnson 2000, Lee et al. 2000), aguacate (*Persea americana*) (López et al. 1999), caqui (*Diospyros* spp.) (Sztejnberg y Jabareen 1985, Jabareen y Sztejnberg 1986), y morera (*Morus* spp.)



**Figura 1.** El mal de machete, causado por *Ceratocystis fimbriata*, muchas veces antecede las llagas causadas por *Rosellinia* spp. Con el mal de machete (A), las hojas secas quedan prendidas en el árbol y el sistema vascular demuestra una decoloración característica (flecha roja). Si *Rosellinia* spp. son la causa principal de la muerte de la planta, las hojas con amarillamiento se caen poco a poco (B). Debajo de la corteza, se nota la típica llaga estrellada de *R. pepo* (bóli-grafo). Para su control se aplica carbonato de calcio.

(Philip et al. 1995). Compuestos fenólicos extraídos de raíces de pecana (*Carva illinoensis*), caqui, carambola (*Averroa carambola*) y un cultivar de manzana, todos resistentes a *R. necatrix*, mostraron inhibición del crecimiento del hongo, pero compuestos fenólicos extraídos de melocotón, almendra y otro cultivar diferente de manzana, todos susceptibles a *R. necatrix*, no mostraron inhibición en el crecimiento del hongo (Sztejnberg et al. 1983). Por lo tanto, los autores piensan que la resistencia natural puede deberse a las altas concentraciones de compuestos fenólicos y que ésta puede inducirse por medio del tratamiento con estos compuestos. El hongo contiene polifenoloxidasas que pueden oxidar fenoles hasta quinonas disminuyendo la inhibición en el crecimiento.

Wellman (1954) mencionó que en El Salvador *C. arabica* era muy susceptible a *R. bunodes*, pero *Coffea robusta*, híbridos entre *C. robusta* y *C. arabica* y *C. arabica* injertado sobre *C. robusta* mostraron cierta resistencia. En cacao, tras analizar investigaciones de otros autores, Simmonds (1994) concluyó que hay evidencia sobre la existencia de resistencia genética horizontal de clones de cacao hacia cualquier enfermedad para la cual se realizó una búsqueda sistemática, como escoba de bruja (*Crinipellis perniciosus* (Stahel) Singer), mal de machete (*Ceratocystis fimbriata* Ellis y Halsted) y mazorca negra (*Phytophthora* spp.). Sustancias polifenólicas (Capriles de Reys y Reys 1968) y ácido clorogénico (Capriles de Reys et al. 1964) se consideran responsables de la resistencia del cacao al mal de machete, por ejemplo en el clon IMC67. La resistencia a *Verticillium dahliae* Kleb. en el clon Pound 7 se atribuye a azufre elemental en forma octocíclica ( $S_8$ ), el cual actúa directamente como fungicida e indirectamente como fitoalexina (Cooper et al. 1996).

Prácticamente no existe información sobre materiales genéticos en cacao que presenten tolerancia o resistencia a *Rosellinia*, con excepción de lo que menciona Merchán (1990), quién recomendó la siembra de nuevas plantaciones de cacao con los materiales IMC67, Pound 7 y UF613, los cuales describe como más tolerantes hacia *R. pepo* y con la característica adicional de ser altamente resistentes a la enfermedad del mal del machete, la cual muchas veces antecede a *Rosellinia*. El hecho de que se pueden encontrar ambos patógenos en un árbol muerto causa cierta confusión diagnóstica, aunque sí se pueden distinguir en el campo (Fig. 1).

Otro método prometedor para el combate de *Rosellinia* spp. es el control biológico. Se presentan enfoques con una clara tendencia hacia el uso de antagonistas, principalmente de los géneros *Trichoderma* y *Pseudomonas* (Burbano 1992, Castro 1995, Aranzazu 1996, Cárdenas 1997, Mendoza et al. 2003). Estudios anteriores revelaron que *R. pepo* es susceptible a la acción de organismos antagonistas, ya sea por micoparasitismo o por competencia sobre la base alimenticia (Aranzazu 1996). Recientemente, Mendoza et al. (2003) mostraron que la eficiencia de los micoparásitos *Clonostachys* spp. y *Trichoderma* spp. en el control biológico de *Rosellinia* spp. depende del pH del suelo y su contenido de materia orgánica, pero no del contenido de fósforo. Por otro lado, no se sabe qué influencia tendrá el germoplasma de cacao sobre el antagonismo.

Las poblaciones de micoparásitos epifíticos encontrados en la superficie de mazorcas de cacao fueron independientes de la reacción genética del cacao a la moniliasis, causada por *Moniliophthora roreri* (Cif.) Evans y la mazorca negra (ten Hoopen et al. 2003). Blaha y Paris (1987) sugirieron que bacterias epifíticas están involucradas en la resistencia del cacao a *Phytophthora megakarya* Bra. & Grif. Aún no se investigó este efecto en la rizosfera del cacao, pero en otros cultivos, en el hábitat suelo, el fenómeno es controversial. En algodón (*Gossypium* spp.), la resistencia a *Fusarium oxysporum* Schlecht fue negativamente correlacionada con la producción de antibióticos por el antagonista *Aspergillus terreus* Thom. (Chadova et al. 1980). Atkinson et al. (1974) sospecharon que cultivares de trigo (*Triticum aestivum*) resistentes a *Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib.) Drechs. albergaban poblaciones mayores de antagonistas en sus rizosferas que los cultivares susceptibles. Sin embargo, después de un estudio genético profundo, los autores rechazaron su hipótesis inicial.

Dada la necesidad creciente de lograr el control, tanto en Costa Rica como en el resto de los países productores de cacao, este trabajo se llevó a cabo con el objetivo de comprobar la existencia de tolerancia en los clones IMC67, Pound 7 y UF613 a *Rosellinia*, comparándolos con tres clones cuya susceptibilidad al patógeno está comprobada y así incorporar dichos materiales en futuras investigaciones y planes de manejo de la enfermedad. Se comparó además, en términos cualitativos y cuantitativos, las poblaciones de micoparásitos en las rizosferas de cacao supuestamente tolerante o susceptible a *R. pepo*.

## Materiales y métodos

Este estudio se realizó en las instalaciones del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) entre los meses de mayo y diciembre del 2003, siguiendo la metodología de Mendoza et al. (2003).

### Evaluación de la tolerancia del germoplasma

Cuatro semanas antes de instalar el ensayo se preparó el inóculo de *R. bunodes* (RB1) utilizando semillas de trigo como sustrato. Se llenaron botellas de vidrio de 1 l de capacidad con 100 g de semillas de trigo y 100 ml de agua destilada. Las botellas fueron autoclavadas una vez al día durante dos días consecutivos. Posteriormente, el contenido de las botellas fue inoculado con las diferentes cepas de *Rosellinia* e incubado a 26 °C en oscuridad durante tres semanas.

Se eligieron seis clones para la realización de este experimento, tres supuestamente tolerantes y tres susceptibles, de los cuales —según estudios preliminares de Merchán (1990)— IMC67, Pound 7 y UF613 fueron tolerantes a *Rosellinia*. En el caso de los clones susceptibles, se quiso utilizar los descritos como tales por ese autor (EET8, ICS1, ICS40, ICS95, Pueblo Quemado, R30, SC6, TSH565 y TSH792), pero ya habían muerto en el banco de germoplasma del CATIE debido a una infección producida por *Rosellinia* sp. o no se encontraron disponibles en la colección. Por lo tanto, se procedió a localizar aquellos clones del banco que tuvieran antecedentes de muerte por *Rosellinia*, los cuales fueron UF667, PA121 y CC222.

Se recogieron mazorcas maduras de cacao, producidas por polinización abierta, pertenecientes a los clones descritos anteriormente. Se sembraron en bandejas plásticas 15 semillas por cada uno de los clones, cuatro semanas antes del inicio del experimento. El suelo utilizado fue obtenido de un área no infectada del banco de germoplasma de cacao en Cabiria, CATIE (para un análisis de este suelo, ver Mendoza et al. 2003). Utilizando el mismo suelo, se llenaron las macetas (2 kg por maceta).

Aproximadamente cuatro semanas después de la inoculación de las botellas, cuando las semillas de trigo fueron completamente cubiertas por el patógeno, se inoculó el suelo de cada maceta con la cepa RB1, utilizando una proporción de 100 g de semillas de trigo inoculado por cada kg de suelo. Los testigos no se inocularon. Se transplantaron las plántulas a sus respectivas macetas inmediatamente después de la inoculación del suelo y éstas fueron ubicadas en el invernadero, tomando este momento como el inicio

del experimento. Se utilizaron plántulas de cuatro semanas de edad que fueron similares en cuanto a altura y número de hojas.

Cuando no se observó ningún síntoma seis semanas después de la inoculación con RB1, se procedió a preparar un nuevo inóculo, como el anteriormente descrito, pero con *R. pepo* (RB3, RB4 y RB5). A los 70 días después del inicio del ensayo se realizó una segunda inoculación en cada una de las macetas utilizando una mezcla de las cepas RB3, RB4 y RB5 en proporciones iguales. Para ésta, se incorporó una porción de 100 g de semilla colonizada por cada kg de suelo alrededor del sistema radicular. Se tapó el inóculo con aproximadamente 100 g de suelo. También se agregaron 100 g de suelo a los testigos.

Las plantas de cacao permanecieron en el invernadero, donde fueron regadas con agua dos veces por semana. Allí se evaluaron los siguientes aspectos para cada una de las plantas 180 días después del inicio del ensayo (es decir, 110 días después de la segunda inoculación): número de hojas, área foliar en centímetros cuadrados; peso seco de hojas en gramos (secado de hojas a 60 °C por 24 horas); y longitud del tallo en centímetros desde su base hasta el extremo superior.

Las raíces de cada planta se separaron del tallo y se eliminó cuidadosamente gran parte del suelo. Luego fueron colocadas en recipientes plásticos bien rotulados, con etanol al 70% para su conservación. En el laboratorio se lavaron las raíces con agua destilada, eliminando el resto del suelo y otras impurezas para la posterior medida de la longitud total de las raíces en centímetros, utilizando el programa de cómputo WinRHIZO (WinRHIZO v. 3.9a, Regent Instruments, Quebec, Canada) y un equipo Hewlett Packard ScanJet 6100C/T. La medida del peso seco de las raíces se perdió debido a una falla técnica.

### Micoflora de las raíces

Para el análisis de la micoflora de las rizosferas de los clones, se usaron los clones establecidos en el banco de germoplasma del CATIE, en Turrialba, Costa Rica. Se recolectaron muestras de cinco árboles como repeticiones, excepto para CC222, para el cual solamente fueron disponibles tres árboles. Las muestras de suelo (aproximadamente 50 g por árbol) se secaron al aire a temperatura ambiente durante tres días.

El objetivo del primer aislamiento fue obtener una vista amplia del espectro de micoparásitos presentes en la rizosfera del cacao. Para este propósito, se utilizó el método de tortas mixtas de hongos



**Figura 2.** Torta mixta de hongos cebos inoculada con suelo rizosférico para la detección de micoparásitos.

cebos (Mulligan y Deacon 1992), con las siguientes modificaciones: (i) se usó agar papa dextrosa (apd) a concentración media (20 g apd y 10 g agar granulado por litro); (ii) los hongos hospedantes (cebos) fueron *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. (Straminipile), *Moniliophthora roreri* (Basidiomicete), *Rosellinia* sp. (Ascomicete) y *Fusarium* sp. (Ascomicete), todos aislados originalmente de cacao; (iii) se sembraron 0,05 g de suelo secado al aire en cada sector (Fig. 2). Las placas (tres repeticiones) se incubaron a temperatura ambiente.

El objetivo del segundo aislamiento fue hacer una evaluación cuantitativa de micoparásitos de *R. bunodes*. Se juntaron las muestras de suelo de todos los árboles de un clon; las seis muestras de suelo resultantes fueron diluidas en forma serial, mezclándolas con el mismo volumen de arena estéril, de 1:1 hasta 1:512 (Mulligan et al. 1995). Se prepararon cinco series de diluciones independientes como repeticiones; se sembraron 0,25 g de cada mezcla en una placa cebo completamente precolonizada por *R. bunodes*, y se incubaron a 26 °C en oscuridad.

#### **Diseño experimental, toma de datos y análisis estadístico**

La evaluación de la tolerancia y el espectro de micoparásitos tuvieron un diseño jerárquico con arreglo factorial. En la evaluación de tolerancia, el factor A correspondió a la inoculación (con inóculo y sin inóculo), el factor B (=grupo) a la supuesta reacción genética (tolerante o susceptible) y el factor C (=subgrupo)

al clon (IMC67, Pound 7, UF613, UF667, PA121 y CC222), el cual fue anidado dentro de la interacción de inoculación por reacción genética. Por lo general se hicieron cinco repeticiones, pero debido a la muerte de algunas plántulas por otras causas, este número pudo disminuirse hasta un mínimo de tres. Los datos de la variable número de hojas se normalizaron transformándolos a logaritmo en base 10. Todos los datos obtenidos se examinaron por medio de un análisis de varianza en el programa estadístico SAS, y las diferencias significativas se separaron por medio de la prueba de Tukey al 5% de significancia.

Para la evaluación cualitativa de la micoflora, el factor A correspondió a la supuesta reacción genética, el factor B fue el hongo hospedante (cebo) y el factor C correspondió a clones de cacao y fue anidado en factores A y B. En ambos experimentos, los factores A y B fueron fijos, mientras que el factor C se seleccionó al azar (modelo mixto).

Cada placa de la torta de hongos cebo fue evaluada dos veces para detectar micoparásitos de crecimiento rápido o lento. Por las susceptibilidades diferentes de los hospedantes, se seleccionaron los siguientes intervalos: *P. palmivora*, 4 días después de la inoculación (ddi) y 7 ddi; *M. roreri*, 21 ddi y 29 ddi; *Rosellinia* sp. y *Fusarium* sp., 18 ddi y 21 ddi. Cada micoparásito se analizó en forma individual. El porcentaje de cebos positivos se transformó mediante la función arcoseno antes del análisis de varianza.

Las evaluaciones cuantitativas de micoparásitos de *Rosellinia* sp. se realizaron a los 24 y 27-28 ddi. Se determinó el número de formadores de colonia (nfc) y su intervalo de confianza al 95% con la técnica de números más probables (NMP) (Fisher y Yates 1963). Se compararon las dos clases de reacción genética usando el nivel promedio de fertilidad, como lo recomendaron dichos autores.

## **Resultados**

### **Evaluación de la tolerancia del germoplasma**

De las variables evaluadas en este ensayo, la longitud de raíces fue la única en donde se encontraron diferencias significativas en el factor inoculación ( $p = 0,002$ ), en donde las plantas con inóculo tuvieron una longitud de raíces significativamente menor a las plantas sin inóculo (Cuadro 1). No se detectaron diferencias entre los grupos supuestamente tolerantes y susceptibles ( $p = 0,378$ ), ni una interacción de inoculación con la reacción genética ( $p = 0,885$ ). Por otro lado, el factor clon dentro de la interacción fue significativo

**Cuadro 1.** Longitud radicular (cm) de seis clones con supuestamente diferentes reacciones genéticas a *Rosellinia*

Clon	Tratamiento	
	Con inoculación de <i>Rosellinia</i>	Sin inoculación de <i>Rosellinia</i>
<b>Supuesta reacción genética susceptible</b>		
CC222	734,7 <sup>a</sup>	908,0 <sup>c</sup>
PA121	722,4 <sup>a</sup>	1064,7 <sup>bc</sup>
UF667	997,8 <sup>a</sup>	2874,1 <sup>a</sup>
Promedio	818,3	1615,6
<b>Supuesta reacción genética tolerante</b>		
IMC67	1105,4 <sup>a</sup>	1637,0 <sup>bc</sup>
P7	1128,8 <sup>a</sup>	2050,3 <sup>ab</sup>
UF613	772,2 <sup>a</sup>	1924,9 <sup>abc</sup>
Promedio	1002,1	1870,8
<b>Promedio general</b>	<b>946,9<sup>B</sup></b>	<b>1729,1<sup>A</sup></b>

<sup>A, B</sup> Tratamientos con diferentes letras en mayúscula difieren significativamente ( $p = 0,002$ ).

<sup>a, b, c</sup> Clones dentro de una columna (comparación de seis valores) seguidos por la misma letra en minúsculas no difieren a  $p < 0,05$  según prueba de Tukey.

( $p = 0,041$ ). No se encontraron diferencias significativas entre clones con inóculo, independientemente de que fueran clasificados como tolerantes o susceptibles a la enfermedad, mientras que los clones sin inóculo sí mostraron diferencias significativas entre ellos: el clon UF667 presentó una longitud de raíces significativamente mayor que los clones CC222 ( $p < 0,001$ ), PA121 ( $p = 0,003$ ) e IMC67 ( $p = 0,026$ ). El clon Pound 7 presentó una longitud de raíces significativamente mayor que el clon CC222 ( $p = 0,025$ ).

**Cuadro 2.** Micoparásitos asociados con las raíces de clones de cacao supuestamente tolerantes y susceptibles a *Rosellinia bunodes*, detectados por tortas mixtas de hongos cebos (porcentajes de cebos positivos)

Micoparásitos	Hospedante cebo							
	<i>Phytophthora palmivora</i>		<i>Moniliophthora roreri</i>		<i>Rosellinia bunodes</i>		<i>Fusarium</i> sp.	
	Tolerante	Susceptible	Tolerante	Susceptible	Tolerante	Susceptible	Tolerante	Susceptible
<i>Clonostachys</i> spp.	71,1 ab	75,6 abc	68,9 ab	85,2 abc	91,1 bc	97,8 c	62,2 a	77,0 abc
<i>Trichoderma harzianum</i>	88,9 c	50,4 ab	40,0 a	41,5 a	91,1 c	79,3 bc	22,2 a	46,7 ab
<i>Trichoderma piluliferum</i>	86,7 b	82,2 b	26,7 a	28,1 a	24,2 a	28,1 a	2,2 a	8,9 a
<i>Trichoderma hamatum</i>	31,1 bc	48,9 c	2,2 a	5,9 ab	11,1 ab	2,2 a	0,0 a	0,0 a
<i>Penicillium</i> spp.	15,6 ab	20,0 b	2,2 ab	0,0 a	8,9 ab	11,9 ab	6,7 ab	18,5 b
No identificado Csw	42,2 abc	54,8 abcd	37,8 ab	78,5 cd	88,9 d	73,3 abcd	22,2 a	19,3 a
No identificado Chn	28,9 bc	55,6 d	0,0 a	5,9 ab	22,2 abc	43,0 cd	2,2 a	0,0 a
No identificado Pel	22,2 ab	33,3 b	22,2 ab	32,6 b	26,7 ab	34,8 b	8,9 a	12,6 ab
No identificado Sms	17,8 b	4,4 ab	0,0 a	0,0 a	11,1 ab	0,0 a	0,0 a	2,2 a
Otros	0,0 a	3,7 ab	2,2 ab	0,0 a	6,7 ab	13,3 b	4,4 ab	0,0 a

a, b, c, d: valores seguidos por la misma letra no difieren a  $p = 0,05$  (ANDEVA de porcentajes transformados por el arcoseno, seguido por la prueba de Fisher; comparación válida dentro de un mismo micoparásito solamente).

### Espectro de micoparásitos

Se detectaron varios micoparásitos en todas las muestras de todos los clones. Nueve aislamientos diferentes fueron comunes (Cuadro 2): *Clonostachys* spp. (78,6% de todos los cebos), *Trichoderma harzianum* (57,5%), *Trichoderma piluliferum* (35,2%), *Trichoderma hamatum* (12,7%), *Penicillium* spp. (10,5%) y cuatro hongos no identificados: "Csw" (52,1%), "Chn" (19,7%), "Pel" (24,2%) y "Sms" (4,4%). Las demás cepas conjuntas contribuyeron solamente un 3,8% de cebos colonizados.

Se detectaron diferencias significativas entre las reacciones genéticas en siete de los nueve micoparásitos (factor A): *Clonostachys* spp. ( $p < 0,001$ ), *T. hamatum* ( $p < 0,05$ ), *Penicillium* ( $p < 0,05$ ), Csw ( $p < 0,01$ ), Chn ( $p < 0,001$ ), Pel ( $p < 0,001$ ) y Sms ( $p < 0,001$ ). Con excepción de Sms, se observó una mayor cantidad de cebos positivos en clones susceptibles que en clones supuestamente tolerantes. Además, los cuatro hongos cebos (factor B) difirieron significativamente en todos los casos ( $p < 0,001$ ). *P. palmivora* fue el hospedante más susceptible, seguido por *R. bunodes*, *M. roreri* y *Fusarium* sp. Para todos los micoparásitos, incluso el grupo "otros", hubo una interacción significativa entre reacción genética y especie cebo ( $p < 0,001$ ) (Cuadro 2). Vale destacar que los micoparásitos detectados encima de *R. bunodes* fueron igualmente comunes para las dos clases de reacción, sin excepción. En ningún caso se detectó una diferencia entre clones dentro de una clase de reacción genética (factor C;  $p > 0,5$ ).

*Clonostachys* spp. se detectaron más frecuentemente (97,8%) en suelo de clones susceptibles sembrados con *R. bunodes* (Cuadro 2). Este valor fue semejante en los demás hospedantes para clones susceptibles. En suelo obtenido de clones supuestamente tolerantes, se detectaron significativamente menos *Clonostachys* spp. en todos los demás hospedantes, pero en *R. bunodes* el éxito de detección se mantuvo alto (91,1%).

*T. harzianum* se manifestó más frecuentemente en suelo rizosférico de clones supuestamente tolerantes, sembrado encima de *P. palmivora* y *R. bunodes*. De nuevo, el único cebo con un valor semejante para suelo proveniente de clones susceptibles fue *R. bunodes*. *T. piluliferum* y *T. hamatum* se detectaron mejor con *P. palmivora* como cebo, con pocas diferencias entre clases de reacción genética.

*Penicillium* sp. en suelo de clones susceptibles se detectó mejor con *P. palmivora* y *Fusarium* sp. que con *M. roleri*. Los demás valores no difirieron significativamente. De los micoparásitos no identificados, Csw se encontró repetidamente en *R. bunodes*, independiente de la procedencia del suelo. Por otro lado, suelo de clones susceptibles albergó también grandes números de Csw, invasor de *P. palmivora* y *M. roleri*.

Chn y Pel se detectaron preferentemente en clones susceptibles cuyo suelo fue sembrado en *P. palmivora* y *R. bunodes* y, en el caso de Pel, también en *M. roleri*. Sms se descubrió mejor en clones supuestamente tolerantes usando el cebo *P. palmivora*, seguido por *R. bunodes* y clones susceptibles con *P. palmivora*. Todos los demás micoparásitos ("otros" en Cuadro 2) se manifestaron mejor en clones susceptibles con *R. bunodes* como hospedante de detección.

A pesar de las diferencias complejas entre germaplasma susceptible y supuestamente tolerante a *Rosellinia* spp., en relación con el espectro total de micoparásitos detectados en cebos pertenecientes a cuatro grupos de hongos distintos, en ningún caso se observó frecuencias diferentes encima de *Rosellinia*, el patógeno de interés (Cuadro 2,  $p > 0,05$ ). Esta observación motivó el estudio cuantitativo sobre micoparásitos de *R. bunodes* que se presenta a continuación.

**Poblaciones de micoparásitos de *Rosellinia bunodes***  
*Clonostachys* fue el género más común que invadió a *R. bunodes*, con algunas NMP encima de 1000 ufc g<sup>-1</sup> de suelo, con pocas diferencias entre clones de cacao (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Números más probables de unidades formadores de colonias por gramo de suelo rizosférico (intervalo de confianza al 95% en paréntesis) de micoparásitos de *Rosellinia bunodes* asociados con clones de cacao con una reacción genética supuestamente diferente a *R. bunodes*

Clon	Supuesta reacción genética					
	Tolerante			Susceptible		
	UF 613	Pound 7	IMC 67	UF 667	PA 121	CC222
<i>Clonostachys</i> spp.	1,186,4 (598,9-2,576,9)	862,6 (445,6-1,777,0)	471,0 (249,0-918,1)	635,9 (332,3-1,262,6)	1,980,9 (952,8-5,149,0)	862,6 (445,6-1,777,0)
<i>Trichoderma harzianum</i>	407,2 (216,2-782,8)	48,4 (26,2-89,4)	129,2 (69,9-241,0)	112,2 (60,8-208,8)	198,0 (106,4-372,1)	36,6 (19,6-67,6)
<i>Trichoderma piluliferum</i>	84,8 (45,9-157,2)	74 (40-137)	20,8 (10,3-38,7)	55,7 (30,2-103,0)	84,8 (45,9-157,2)	73,7 (39,9-136,5)
<i>Trichoderma hamatum</i>	7,6 (5,0-16,3)	6,0 (4,3-13,9)	3,3 (3,3-9,9)	4,6 (2,5-6,6)	6,0 (4,3-13,9)	4,6 (2,5-6,6)
<i>Penicillium</i> spp.	4,6 (2,5-6,6)	9,2 (2,8-18,9)	6,0 (4,3-14,0)	4,0 (2,2-5,1)	4,6 (2,5-6,6)	4,0 (2,2-5,1)
No identificado Csw	546,0 (288,0-1,076,6)	546,0 (288,0-1,076,6)	546,0 (288,0-1,076,6)	739,0 (384,4-1,494,5)	4,067,2 (3,322,3-7,467,3)	352,0 (187,4-673,7)
No identificado Chn	15,4 (6,9-29,2)	2,1 (<8,2)	7,6 (5,0-16,3)	7,6 (5,0-16,3)	7,6 (5,0-16,3)	17,9 (8,6-33,6)
No identificado Pel	9,2 (2,8-18,9)	263,1 (141,0-489,9)	20,8 (10,3-38,7)	20,8 (10,3-38,7)	407,2 (216,2-782,8)	48,4 (26,2-89,4)
No identificado Sms	4,0 (2,2-5,1)	4,0 (2,2-5,1)	4,0 (2,2-5,1)	4,0 (2,2-5,1)	4,0 (2,2-5,1)	4,0 (2,2-5,1)

Las tres especies de *Trichoderma* que atacaron a *R. bunodes* fueron más abundantes en el clon UF613. Para *T. harzianum*, las poblaciones de 407 ufc g<sup>-1</sup> difirieron significativamente de otro clon supuestamente tolerante: Pound 7, con 48 ufc g<sup>-1</sup>, y los clones susceptibles UF667 (112 ufc g<sup>-1</sup>) y CC222 (37 ufc g<sup>-1</sup>). Para *T. piluliferum*, poblaciones de 84,8 ufc g<sup>-1</sup> de un clon supuestamente tolerante (UF613) y un clon supuestamente susceptible (PA121), y 73,7 ufc g<sup>-1</sup> de otro clon supuestamente susceptible (CC222), difirieron solamente con un clon supuestamente tolerante: IMC67 (20,8 ufc g<sup>-1</sup>). Para *T. hamatum*, la tendencia no alcanzó un nivel significativo (Cuadro 3).

De los micoparásitos no identificados, Csw fue más numeroso en el clon susceptible PA121 (4067 ufc g<sup>-1</sup>) que en cualquier otra variedad. Este clon (407 ufc g<sup>-1</sup>) y Pound 7 (263 ufc g<sup>-1</sup>) tuvieron las poblaciones más altas de Pel, el cual fue más escaso en UF613 (9,2 ufc g<sup>-1</sup>). Para los demás micoparásitos, los NMP no difirieron entre clones (Cuadro 3).

A pesar de diferencias entre clones (Cuadro 3), no existió ninguna relación con la supuesta reacción genética: *Clonostachys* spp.,  $p = 0,574$ ; *T. harzianum*,  $p = 0,658$ ; *T. piluliferum*,  $p = 0,519$ ; *T. hamatum*,  $p = 0,494$ ; *Penicillium* spp.,  $p = 0,090$ ; Csw,  $p = 0,433$ ; Chn,  $p = 0,590$  y Pel,  $p = 0,645$ .

## Discusión

En clones susceptibles, el inóculo de *R. bunodes* no produjo síntomas en seis semanas, mientras Mendoza et al. (2003) observaron síntomas pronunciados y muerte siguiendo la misma metodología y usando el mismo aislamiento RB1. Eso indica que la cepa había perdido su patogenicidad, un fenómeno común con patógenos cultivados en el laboratorio por períodos prolongados (Aranzazu 1996). Por lo tanto, se logró evaluar si existe tolerancia hacia este patógeno común en Costa Rica. Vale destacar que casi no existen metodologías estandarizadas para la inoculación de suelo y/o plantas con patógenos de suelo para cuantificar su resistencia (Resende et al. 1995, Purdy 1999). Este problema se ve agravado para *Rosellinia* spp. porque, en la ausencia de esporas, no se puede cuantificar con exactitud el inóculo. El método desarrollado por Mendoza et al. (2003) es un primer paso hacia esta meta.

Utilizando una mezcla de tres cepas de *R. pepo* hubo una respuesta, expresada como una disminución significativa en la longitud de raíces de los clones inoculados en comparación con los clones que no fueron inoculados (Cuadro 1). A partir de este resultado,

los clones considerados por Merchán (1990) como tolerantes a *R. pepo* tuvieron, al igual que los clones susceptibles, un desarrollo radical menor ante la presencia del patógeno, sin mostrar alguna característica que sugiera algún grado de tolerancia hacia la enfermedad por parte de uno de estos materiales.

Por otra parte, los resultados obtenidos al analizar el factor clon dentro de la interacción inoculación por la reacción genética evidencian que todos los clones con inóculo se comportan de una manera similar, independientemente de si se trata de los clones clasificados en el ensayo como tolerantes o susceptibles al patógeno, no observándose nuevamente alguna característica que haga suponer que algunos de los clones descritos por Merchán (1990) presentan algún grado de tolerancia. En el caso de los clones que no fueron inoculados, el material UF667, denominado como susceptible, y Pound 7, denominado como tolerante, obtuvieron la mayor longitud de raíces. Aparentemente, cada clon tiene características anatómicas diferentes, las cuales se expresan mejor en ausencia del patógeno.

Los resultados obtenidos en esta investigación no respaldaron lo descrito por Merchán (1990) en cuanto a la tolerancia de los clones IMC67, Pound 7 y UF613, ya que no hubo diferencias entre el germoplasma anterior y los materiales que se utilizaron en este estudio como susceptibles. Cabe mencionar que, en este ensayo, se trabajó con progenitores F<sub>1</sub>, resultados de polinizaciones abiertas, los cuales deberían mostrar cierta segregación para las características maternas, algo que puede reducir los efectos promedio de la reacción genética. También es posible que la supuesta tolerancia sea eficaz solamente contra la raza de *R. pepo* usada por Merchán (1990) en Colombia, mientras que en el presente trabajo se inoculó con una mezcla de tres aislamientos costarricenses para detectar solamente tolerancia general. Estudios futuros deberán considerar el uso de materiales clonales, así como la inoculación con aislamientos agresivos de *R. bunodes*.

Las placas precolonizadas con hongos cebos son una metodología sencilla para la detección y el aislamiento de micoparásitos de suelo (Foley y Deacon 1985). Como los hongos cebos difieren en su susceptibilidad al micoparasitismo, el espectro de micoparásitos encontrados es una función de los hospedantes seleccionados. Por lo tanto, Mulligan y Deacon (1992) recomendaron el uso de tortas mixtas de hongos cebos para ampliar el rango de micoparásitos detectados. En el presente trabajo se utilizaron cuatro especies de hospedantes dispares y así se encontraron

micoparásitos en todas las muestras de suelo rizosférico, representados por un mínimo de nueve taxones distintos. De estos nueve taxones, seis se detectaron con más frecuencia en clones susceptibles que en clones supuestamente tolerantes (Cuadro 2), refutando la hipótesis de que una tolerancia hacia *R. bunodes*, si existiera, sería mediada por estos antagonistas. Dos taxones de micoparásitos no mostraron ninguna preferencia por el germoplasma de cacao con una reacción genética definida. Una sola especie, *Sms*, prevaleció en clones supuestamente tolerantes pero, en términos cuantitativos, *Sms* contribuyó las menores poblaciones de todos los micoparásitos (Cuadro 3) y no es una especie conocida como biocontrolador. Por lo tanto, *Sms* tampoco parece proveer tolerancia a *R. bunodes*. Estos resultados coinciden con los de Atkinson et al. (1974) en otro patosistema.

Entre los micoparásitos que invadieron *R. bunodes*, el más abundante fue *Clonostachys*, un género conocido por su potencial como biocontrolador de *Rosellinia* (Mendoza et al. 2003). Este género fue igualmente común en todos los clones, independiente de su supuesta reacción genética. Para *Trichoderma* spp., otro género promisorio en el control biológico de *Rosellinia* (Mendoza et al. 2003), y varios micoparásitos no-identificados, se detectaron algunas diferencias en abundancia entre clones, pero no se observó ningún patrón respecto a la supuesta reacción genética (Cuadro 3). Por lo tanto, los antagonistas propios de *R. bunodes* no parecen responsables de una reacción diferenciada del germoplasma hacia este patógeno, si es que existe, algo que aún falta demostrar.

### Conclusiones

Para los clones de cacao IMC67, Pound 7 y UF613, no se encontró evidencia de tolerancia hacia tres cepas costarricenses de *R. pepo*. Un amplio espectro de micoparásitos en la rizosfera de cacao no mostró relación con la reacción supuesta del germoplasma hacia *R. pepo*. Respecto a *R. bunodes*, no se logró juzgar el comportamiento del germoplasma. Las poblaciones de micoparásitos propios de este patógeno no siguieron ningún patrón sistemático en relación con el germoplasma del cacao.

Se requieren más estudios detallados sobre la tolerancia y resistencia del cacao a patógenos de suelo. Para detectar niveles moderados de resistencia horizontal, hay que afinar las metodologías existentes. Recomendamos trabajar con cacao clonal y mezclas diversas de patógenos.

El hecho de que varios clones soportaron poblaciones semejantes de antagonistas, entre ellos altos niveles de biocontroladores reconocidos, como *Clonostachys* spp. y *Trichoderma* spp., ofrece esperanza al control biológico de *Rosellinia* spp. en el campo, donde generalmente se siembran mezclas de clones y/o híbridos debido a la autoincompatibilidad de la mayoría de las variedades del cacao.

### Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por Cocoa Research UK, DGIS y USDA-ARS, y manejada por CABI Bioscience y CATIE. Los autores agradecen el apoyo de la Universidad de Bath, Inglaterra; de la Universidad de Costa Rica, Sede del Atlántico; de estudiantes de pasantía y de nuestros colegas Tony Álvaro, Richard Cooper, Julie Flood, Tom Harrington, Gustavo López, Víctor Marchán y Hank Purdy por compartir sus amplios conocimientos con nosotros.

### Literatura citada

- Aranzazu, HF. 1996. Comportamiento de la llaga estrellada *Rosellinia pepo* Pat. sobre raíces de cacao. *Fitopatología Colombiana* 20:7-10.
- \_\_\_\_\_. 1997. Control de la llaga estrellada en cacao causada por *Rosellinia pepo* Pat. *Fitopatología Colombiana* 21:5-9.
- \_\_\_\_\_; Cárdenas, LJ; Mujica, JJ; Gómez, QR. 1999. Manejo de las llagas radicales (*Rosellinia* sp.). Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) y Corpoica, Santafé de Bogotá, CO. *Boletín de Sanidad Vegetal* 23. 35 p.
- Atkinson, TG; Neal, JJJr; Larson, RI. 1974. Root rot reaction in wheat: resistance not mediated by rhizosphere or laimosphere antagonists. *Phytopathology* 64:97-101.
- Bautista, F; Magdiel, M. 2000. Evaluación de daños económicos causados por *Rosellinia* sp. en un área afectada por el patógeno. In Echevarri, J; Zamora, L. eds. Simposio Latinoamericano de Caficultura (19, 2000, CR). San José, CR. p. 514.
- Blahe, G; Paris, N. 1987. Examen en microscopie électronique de l'aspect externe des carbosés du cacaoyer saines ou infectées par *Phytophthora megakarya*. *Café Cacao Thé* 31:23-33.
- Burbano, V. 1992. Influencia de las micorrizas vesículo arbusculares (MVA) sobre *Rosellinia bunodes*, agente causal de la llaga negra del café. Congreso Ascolfi. (Colombia) *Memorias*. p. 61.
- Cadavid, S. 1995. *Rosellinia* in cocoa. *Cocoa Growers' Bulletin* 49:52-59.
- Capriles de Reys, L; Reys, HE. 1968. Contenido de polifenoles en dos variedades de *Theobroma cacao* L. y su relación con la resistencia a *Ceratocystis fimbriata*. *Agronomía Tropical* 18:339-355.
- \_\_\_\_\_; Schulz, MS; Muñoz, A. 1964. El contenido de ácido clorogénico con diferentes variedades de cacao y su relación con la resistencia contra el hongo *Ceratocystis fimbriata*. *Agronomía Tropical* 16:273-284.
- Cárdenas, J. 1997. Efecto de *Pseudomonas fluorescentes* sobre *Rosellinia bunodes* en plantas de café. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, CATIE. 87 p.



- Cárdenas, S; Bustamante, E; Rivas, G; Rivillas, C; Pérez, C. 1998. Aislamiento de *Pseudomonas fluorescences* antagonista potencial de *Rosellinia bunodes* en raíces de café en Colombia. Manejo Integrado de Plagas 49:35-41.
- Castro, AM. 2001. Efecto de *Entrophospora colombiana*, *Glomus manihotis* y *Burkholderia cepacia* en el control de *Rosellinia bunodes* Berk. y Br. agente causante de la llaga negra del cafeto. Thesis M.Sc. Manizales, CO, Universidad de Caldas.
- Castro, BL. 1995. Antagonismo de algunos aislamientos de *Trichoderma koningii*, originados en suelo Colombiano contra *Rosellinia bunodes*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Pythium ultimum*. Fitopatología Colombiana 19:7-18.
- Chadova, ZS; Sedova, SA; Kurakova, TI. 1980. [Efecto de la planta en la interrelación entre el hongo causante de la marchitez de *Fusarium* y sus antagonistas] Turkmenistan SSR Ylymlar Akademijasyryn Habarlary, Biologik Ylymlaryn 4: 75-77 (en Ruso), solamente se consultó el resumen en inglés (CABDirect 2003).
- Cooper, RM; Resende, MLV; Flood, J; Rowan, MG; Beale, MH; Potter, U. 1996. Detection and cellular localization of elemental sulphur in disease-resistant genotypes of *Theobroma cacao*. Nature 379:159-162.
- Cubillos, G. 1988. Eficiencia de campo del fungicida sistémico tridemorph en el control de la *Rosellinia* del cacao. El Cacaotero Colomb. 11, 27-33.
- Fernández, O; López, S. 1964. Las llagas radicales negra (*Rosellinia bunodes*) y estrellada (*Rosellinia pepo*) del cafeto. I. Patogenicidad e influencias de la clase de inóculo en la infección. Cenicafé (Colombia) 15(3):126-144.
- Fisher, RA; Yates, F. 1963. Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research. 6 ed. Edinburgh, UK, Oliver Boyd. p. 8-10; 66.
- Foley, MF; Deacon, JW. 1985. Isolation of *Pythium oligandrum* and other necrotrophic mycoparasites from soil. Transactions of the British Mycological Society 85:631-639.
- Jabareen, H; Szejnberg, A. 1986. Germination trials and structure of microsclerotia of *Dematophora necatrix*. Phytoparasitica 14:3.
- Johnson, WC. 2000. Methods and results of screening for disease- and insect-resistant apple rootstocks. The Compact Fruit Tree 33:108-111.
- Lee, SB; Ko, K; Aldwinckle, HS. 2000. Resistance of selected *Malus* germplasm to *Rosellinia necatrix*. Journal of the American Pomological Society 54:219-228.
- López, CJ; Pérez, RM; Barceló, A; Zea, T. 1999. Evaluación de patrones de aguacate por su tolerancia a la podredumbre blanca. Revista Chapingo (Serie Horticultura) 5:267-270.
- López, G; Pérez, J; Kleinn, C. 2001. SAS: Aplicaciones en el campo agropecuario y de los recursos naturales. Turrialba, CR, CATIE. p. 2-153.
- Mendoza, RA; Ten Hoopen, GM; Kass, DCJ; Sánchez, GVA; Krauss, U. 2003. Evaluation of mycoparasites as biocontrol agents of *Rosellinia* root rot in cocoa. Biological Control 27:210-227.
- Merchán, VM. 1989. Evaluación de fungicidas para el control de la llaga estrellada (*Rosellinia pepo*) del cacao. In Congreso de la Asociación Latinoamericana de Fitopatólogos, División APS-Caribe, y la Asociación Colombiana de Fitopatólogos y Ciencias Afines. Resúmenes. Cali, CO, CIAT. p. 44.
- \_\_\_\_\_. 1990. La *Rosellinia* del cacao. El Cacaotero Colombiano 13:13-19.
- \_\_\_\_\_. 1993. Experiencias en el manejo de *Rosellinia*. Ascolfi Informa 19:23-24.
- Mulligan, DFC; Deacon, JW. 1992. Detection of presumptive mycoparasites in soil placed on host-colonized agar plates. Mycological Research 96:605-608.
- \_\_\_\_\_; Jones, EE; Deacon, JW. 1995. Monitoring and manipulation of populations of *Pythium oligandrum*, *Pythium mycoparasiticum* and a *Papulaspora* species in soil. Soil Biology and Biochemistry 27: 1333-1343.
- Nowell, W. 1916. *Rosellinia* root diseases in the Lesser Antilles. West Indian Bulletin 16:31-77.
- Philip, T; Bajpai, AK; Govindaiah. 1995. Disease resistance breeding in mulberry. International Journal of Tropical Plant Diseases 13:183-192.
- Purdy, H. 1999. Root diseases of cocoa. In Krauss, U; Hebban, P. eds. Research Methodology in Biocontrol of Plant Diseases with Special Reference to Fungal Diseases of Cocoa. Disponible en [www.dropdata.net/Coco\\_files/Costa\\_Rica\\_WorkShop.htm](http://www.dropdata.net/Coco_files/Costa_Rica_WorkShop.htm).
- Resende, MLV; Flood, J; Cooper, RM. 1995. Effect of method of inoculation, inoculum density and seedling age at inoculation on the expression of resistance of cocoa (*Theobroma cacao* L.) to *Verticillium dahliae* Kleb. Plant Pathology 44:374-383.
- Restrepo, F. 1997. Efecto de los hongos micorrizógenos *Entrophospora colombiana* y *Glomus fistulosum* en el control de la llaga negra del cafeto *Rosellinia bunodes*. M. Sc. Thesis. Manizales, CO, Universidad Católica Manizales.
- Salazar, M; Aranzazu, H. 1987. Estudios preliminares sobre la llaga estrellada (*Rosellinia pepo*) en cacao (*Theobroma cacao*). Cacaotero Colombiano 10(34):40-42.
- Simmonds, N. 1994. Horizontal resistance to cocoa disease. Cocoa Growers' Bulletin 47:42-53.
- Szejnberg, A; Azaizia, H; Chet, I. 1983. The possible role of phenolic compounds in resistance of horticultural crops to *Dematophora necatrix* Hartig. Phytopathologische Zeitschrift 107:318-326.
- \_\_\_\_\_; Jabareen, H. 1985. *Dematophora* root rot disease in persimmon and studies on resistance of rootstocks to the disease. Alon Hanotea 39:757-762.
- Ten Hoopen, GM; Aisa, P; Stirrup, T; Krauss, U. 2003. Independence of genetic disease reaction towards *Phytophthora palmivora* and *Moniliophthora roreri*, and populations of epiphytic, antagonistic fungi in cocoa (*Theobroma cacao*). International Cocoa Research Conference (14, 2003, Accra, GH). Proceedings. p. 1061-1066.
- Waterston, JM. 1941. Observations on the parasitism of *Rosellinia pepo* Pat. Tropical Agriculture 18:174-184.
- Wellman, FL. 1954. Evidencia de resistencia a las enfermedades en los cafetos. Turrialba 4:52-57.

# Variabilidades inter e intraespecífica na suscetibilidade de ácaros fitoseídeos à deltametrina em citros no Brasil

Marcelo Poletti<sup>1</sup>  
Celso Omoto<sup>1</sup>

**RESUMEN. Variabilidad inter e intraespecífica en la susceptibilidad de ácaros fitoseídos a deltametrina en cítricos en Brasil.** El empleo de plaguicidas de amplio espectro en cítricos en Brasil ha perjudicado los ácaros fitoseídos, responsables del control biológico de ácaros plaga como el vector de la leprosis de los cítricos, *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes). Para integrar tácticas de control químico y biológico, el objetivo de este trabajo fue estudiar las variabilidades inter e intraespecífica en la susceptibilidad a la deltametrina en poblaciones de *Euseius concordis* (Chant) e *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma recolectadas en plantaciones comerciales de cítricos. También fue evaluada la susceptibilidad de poblaciones de *Neoseiulus californicus* (McGregor) a la deltametrina, debido a que esta especie es empleada en programas de manejo de ácaros y es una posible candidata a la introducción para el control de ácaros plaga en cítricos en Brasil. Se utilizaron bioensayos de contacto directo y residual, mediante la aplicación de diferentes concentraciones de deltametrina sobre hembras adultas de cada especie en discos de hoja de cítricos o *Canavalia ensiformis* L. Las  $CL_{50}$  estimadas para las poblaciones susceptibles de *E. concordis*, *I. zuluagai* y *N. californicus* fueron de 35,0; 0,7 y 40,0 mg i.a.  $L^{-1}$ , respectivamente. Entre las especies recolectadas en cítricos, *E. concordis* fue 50 veces más tolerante a la deltametrina que *I. zuluagai*. Se observaron diferencias intraespecíficas entre todas las especies estudiadas, con un estimado de resistencia superior a 14 veces para *E. concordis*, de 18 veces para *I. zuluagai* y de 24 veces para *N. californicus*. Estos resultados indican la posibilidad del uso de ácaros fitoseídos resistentes a la deltametrina en cítricos en Brasil.

**Palabras clave:** *Brevipalpus phoenicis*, *Euseius concordis*, *Iphiseiodes zuluagai*, *Neoseiulus californicus*, resistencia.

**ABSTRACT. Inter and intraspecific variability in the susceptibility of Phytoseiid mites to deltamethrin in Brazilian citrus.** The use of broad-spectrum pesticides in citrus groves in Brazil has affected the performance of Phytoseiid mites that are important natural enemies of pests such as the citrus leprosis mite, *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes). For a better integration of chemical and biological control tactics, the objective of this research was to evaluate the inter and intraspecific variability in the susceptibility to deltamethrin in populations of *Euseius concordis* (Chant) and *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma collected from commercial citrus groves. We evaluated also the susceptibility of populations of *Neoseiulus californicus* (McGregor) to deltamethrin, because this species has been successfully used in various mite management programs and could also be exploited in the control of phytophagous mites in citrus in Brazil. Direct contact and residual bioassays were used with application of different concentrations of deltamethrin onto female adults of each species placed on citrus or *Canavalia ensiformis* L. leaf disks. The  $LC_{50}$  estimated for the susceptible reference strains of *E. concordis*, *I. zuluagai* and *N. californicus* were 35.0; 0.7 and 40.0 mg a.i.  $L^{-1}$ , respectively. Between the two species collected in citrus, *E. concordis* was 50 times more tolerant to deltamethrin than *I. zuluagai*. Significant differences in the susceptibility to deltamethrin were observed among all species tested, with resistance ratios of 14-fold to *E. concordis*, 18-fold to *I. zuluagai* and 24-fold to *N. californicus*. These results showed the possibility of exploiting deltamethrin-resistant Phytoseiid mites in Brazilian citrus groves.

**Key words:** *Brevipalpus phoenicis*, *Euseius concordis*, *Iphiseiodes zuluagai*, *Neoseiulus californicus*, resistance.

<sup>1</sup> Depto. de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola – ESALQ/USP, C.P.9 – CEP:13418-900 – Piracicaba, SP, Brasil. mpoletti@esalq.usp.br; celomoto@esalq.usp.br

## Introdução

Os ácaros fitoseídeos (Acari: Phytoseiidae) são importantes inimigos naturais de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) (Moraes & Sá 1995), transmissor do vírus causador da doença conhecida como leprose dos citros, apontada como um dos principais fatores para redução da produtividade de laranja no Brasil (Kitajima 1995, Rodrigues et al. 1997, 2003).

As espécies de ácaros predadores predominantes nos pomares paulistas são *Euseius citrifolius* Denmark & Muma, *Euseius concordis* (Chant) e *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Sato et al. 1994). No entanto, a liberação de outras espécies, como *Neoseiulus californicus* (McGregor), que no Brasil tem se destacado em alguns programas de controle biológico aplicado de ácaros-praga (Monteiro 2002) e que em outros países, como a Espanha, ocorre comumente em pomares de citros (Izquierdo et al. 2002), poderia contribuir com o manejo de *B. phoenicis*.

Devido à elevada suscetibilidade dos ácaros fitoseídeos a pesticidas, como os piretróides (Croft 1990), utilizados para o manejo de insetos-praga em citros, o controle biológico do ácaro da leprose tem sido pouco efetivo. Assim, a integração do controle químico ao biológico pode resultar em uma forma de manejo racional de pragas nesta cultura. Para isso, a utilização de produtos seletivos aos inimigos naturais e o uso de linhagens de ácaros predadores resistentes a pesticidas são práticas viáveis dentro deste cenário.

Com relação à seletividade, vários trabalhos têm sido realizados visando avaliar o efeito dos principais pesticidas sobre os ácaros fitoseídeos (Yamamoto et al. 1992, Sato et al. 1995, Reis et al. 1998a, Monteiro 2001). Porém, estudos relacionados as variabilidades inter e intraespecífica na suscetibilidade de ácaros predadores a pesticidas ainda são incipientes no Brasil (Sato et al. 2001, 2002), ao contrário do que ocorre em outros países, onde a exploração da resistência de ácaros fitoseídeos a pesticidas é parte integrante em programas de manejo de pragas em várias culturas (Blommers 1994, Sabater & Garcia-Mari 1998).

Com intuito de fornecer subsídios para a exploração da resistência de ácaros fitoseídeos a pesticidas em pomares comerciais de citros, a presente pesquisa foi desenvolvida avaliando-se as variabilidades inter e intraespecífica na suscetibilidade de *E. concordis*, *I. zuluagai* e *N. californicus* à deltametrina, que é um dos inseticidas mais utilizados para o controle de pragas na cultura de citros no Brasil.

## Material e métodos

### Obtenção de populações

A coleta de *E. concordis* e *I. zuluagai* foi realizada tomando-se ao acaso diversas folhas localizadas no interior da copa de plantas em pomares de citros. O material obtido foi acondicionado em sacos de papel, sendo encaminhado ao laboratório. Entre 100 e 500 fêmeas adultas de cada espécie foram utilizadas para iniciar as colônias no laboratório. As populações utilizadas como suscetíveis de referência foram coletadas em pomares de citros abandonados, onde não haviam sido efetuadas aplicações de pesticidas por no mínimo três anos. As demais populações foram provenientes de pomares comerciais, onde o uso de pesticidas era freqüente. A identificação dessas populações e seus respectivos dados de coleta encontram-se na Tabela 1.

Com relação à *N. californicus*, foram utilizadas duas populações sendo uma proveniente de um cultivo comercial de morango na região de Atibaia/SP, e mantida em laboratório desde 1999, na Estação Experimental do Instituto Biológico em Campinas/SP (Nc-2) e outra oriunda de criação em larga escala mantida em uma propriedade comercial de maçã situada em Fraiburgo/SC (Nc-1). Ambas populações foram iniciadas com cerca de 200 a 500 indivíduos.

**Tabela 1.** Identificação das populações de *Euseius concordis* e *Iphiseiodes zuluagai* mantidas em criação em condições de laboratório, com seus respectivos dados de coleta

População (denominação) por espécie	Município/Estado	Data (mês/ano)
<i>E. concordis</i>		
Ec-1	Presidente Prudente / SP	Mar / 2001
Ec-2	Juazeiro / BA	Jul / 1999
Ec-3	Limeira / SP	Jan / 2001
<i>I. zuluagai</i>		
Iz-1	Piracicaba / SP	Fev - Out / 2001
Iz-2, Iz-3, Iz-4	Boa Esperança do Sul / SP	Ago / 2001

### Criação em condições de laboratório

Para a manutenção das populações *E. concordis* e *I. zuluagai* em laboratório foram empregadas arenas confeccionadas conforme os métodos descritos por McMurtry & Scriven (1965) e Reis et al. (1998b), respectivamente. Como fonte de alimento, forneceu-se diariamente aos predadores uma pequena porção de pólen de taboa, *Typha angustifolia* L., ou mamona, *Ricinus communis* L. Todas as arenas de criação foram mantidas em sala com ambiente controlado à 25±2 °C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de 14 horas.

As populações de *N. californicus* foram mantidas em laboratório sobre plantas de *Canavalia ensiformis* L. infestadas com ácaro rajado, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Após a transferência dos predadores para as plantas contendo a fonte de alimento, essas foram acondicionadas em câmaras climatizadas à  $25 \pm 2$  °C e fotofase de 14 horas.

### Procedimentos de bioensaio

O bioensaio empregado para avaliar as respostas dos ácaros predadores à deltametrina (Decis 25 CE®, Bayer CropScience) foi de contato direto e residual, sendo efetuado em duas etapas. Inicialmente, discos de folha de citros e *C. ensiformis* (3 cm de diâmetro) foram pulverizados na parte adaxial, com a torre de Potter. A aplicação de 2,0 ml de suspensão de deltametrina resultou em uma deposição média de 1,6 mg de resíduo úmido/cm<sup>2</sup> de área pulverizada. Após a secagem do resíduo, os discos de folha foram acondicionados individualmente sobre uma mistura ainda não geleificada de ágar-água a 3%, contida em placa de Petri de 3,5 cm de diâmetro.

Posteriormente, grupos de 20 fêmeas adultas de cada espécie, com idade variando entre 7 e 15 dias, foram transferidas para um substrato onde receberam a pulverização direta da suspensão do inseticida. Para *E. concordis* e *I. zuluagai* esse substrato foi uma lamínula de vidro de 2 x 2 cm, flutuando em água contida em placa de Petri de 3,5 cm de diâmetro, e para *N. californicus*, um disco de folha de *C. ensiformis* (12 cm de diâmetro), infestado com ovos e adultos de *T. urticae* e circundado com algodão hidrófilo umedecido para impedir a fuga dos predadores.

Após esse processo, grupos de cinco fêmeas de *E. concordis* ou *I. zuluagai* foram transferidas para arenas confeccionadas com discos de folha de citros contendo resíduo do produto. O mesmo procedimento foi adotado para *N. californicus*, porém transferindo-se as fêmeas para as arenas confeccionadas com discos de folha de *C. ensiformis*. O número de ácaros estudados foi variável entre espécies e encontra-se relatado na Tabela 2. Como fonte de alimento forneceu-se uma pequena porção de pólen de *T. angustifolia* ou *R. communis* para *E. concordis* e *I. zuluagai* e ovos de *T. urticae* para *N. californicus*. Todas as arenas foram fechadas com filme plástico transparente (PVC) para evitar a fuga dos ácaros, acondicionadas em caixas plásticas de 24 x 17 x 5 cm e mantidas em câmaras climatizadas à  $25 \pm 2$  °C e fotofase de 14 horas, não tendo sido considerado o efeito fumigante que possa ter ocorrido.

A avaliação do bioensaio foi efetuada 48 horas após a transferência de *E. concordis* e *I. zuluagai* sobre o resíduo e 24 horas após a transferência de *N. californicus*, observando-se o número de indivíduos mortos por arena. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit utilizando-se o programa POLO-PC (LeOra Software 1987) para a estimativa da CL<sub>50</sub> e teste de paralelismo e igualdade para comparar os coeficientes angular e linear das curvas de concentração-mortalidade estimadas para as espécies ou populações avaliadas. A razão de resistência (RR) foi obtida a partir da divisão da CL<sub>50</sub> estimada para a população em estudo pela CL<sub>50</sub> estimada para a população suscetível de referência (Ec-1, Iz-1 ou Nc-1).

### Resultados e discussão

Foi detectada variabilidade intraespecífica nas respostas de todas as espécies à deltametrina (Tabela 2). Para *E. concordis*, verificou-se que dentre as populações avaliadas, Ec-3 destacou-se exibindo uma razão de resistência (RR) superior a 14 vezes. No caso dessa população, o fato de não ter sido realizada a estimativa da CL<sub>50</sub> ocorreu, pois para as concentrações testadas acima de 500 mg i.a. L<sup>-1</sup>, a mortalidade observada foi de apenas 55%. Com relação à Ec-2, apesar da CL<sub>50</sub> estimada ter sido duas vezes superior à obtida para a população suscetível de referência (Ec-1), não houve diferença significativa devido à sobreposição dos intervalos de confiança estimados para as CL<sub>50</sub> das mesmas. Com relação à *I. zuluagai*, todas as populações oriundas de pomares comerciais, foram consideradas resistentes à deltametrina, destacando-se a resposta exibida pela população Iz-3, que apresentou RR de aproximadamente 18 vezes. No caso de *N. californicus*, para a população coletada em cultivo de morango (Nc-2) foi estimada uma RR de aproximadamente 24 vezes.

Além da variabilidade intraespecífica detectada no presente trabalho, observou-se que não houve sobreposição dos intervalos de confiança das CL<sub>50</sub> estimadas para as populações suscetíveis de referência Ec-1 e Iz-1, sendo que *E. concordis* apresentou-se cerca de 50 vezes mais tolerante à deltametrina do que *I. zuluagai*. Essa variabilidade interespecífica na suscetibilidade à deltametrina também foi comprovada nos testes de paralelismo e igualdade, devido a não sobreposição das curvas de concentração-mortalidade estimadas para essas duas espécies, sendo as mesmas consideradas distintas e não paralelas (Fig. 1).

**Tabela 2.** Respostas de concentração-mortalidade exibidas pelas populações de *Euseius concordis*, *Iphiseiodes zuluagai* e *Neoseiulus californicus* à deltametrina

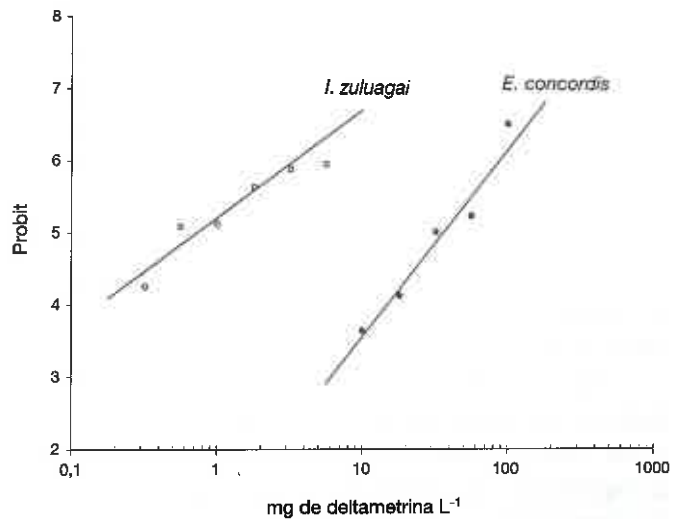
População por espécie	n <sup>(a)</sup>	CL <sub>50</sub> (mg i.a. L <sup>-1</sup> ) (95% IC)	Coefficiente angular ± EP	χ <sup>2</sup>	g.l.	RR <sup>(b)</sup>
<i>E. concordis</i>						
Ec-1 (S)	505	35,4 (19,9 - 53,3)	2,6 ± 0,29	7,9	3	—
Ec-2	558	71,5 (27,1 - 95,6)	4,0 ± 0,68	7,9	4	2,0
Ec-3	578	>500	—	—	—	>14,2
<i>I. zuluagai</i>						
Iz-1 (S)	289	0,7 (0,3 - 1,1)	1,5 ± 0,24	5,7	5	—
Iz-2	304	7,4 (4,9 - 11,2)	1,4 ± 0,19	6,0	5	10,4
Iz-3	300	12,9 (7,0 - 18,4)	2,4 ± 0,35	3,4	3	18,2
Iz-4	315	6,6 (0,9 - 11,7)	1,9 ± 0,38	10,3	4	9,3
<i>N. californicus</i>						
Nc-1 (S)	717	39,99 (29,78-51,44)	1,84 ± 0,15	5,63	3	—
Nc-2	1043	970,10 (680,85-1344,34)	2,15 ± 0,13	18,16	3	24,26

<sup>a</sup> número de ácaros testados. <sup>b</sup> RR = Razão de Resistência: CL<sub>50</sub> população em estudo/CL<sub>50</sub> população suscetível de cada espécie (S).

Trabalhos de flutuação populacional de ácaros fitoseídeos em pomares de citros no Brasil (Sato et al. 1994, Reis et al. 2000) revelaram que *Euseius* spp. ocorrem predominantemente nas épocas mais quentes e úmidas do ano (outubro a março) e que *I. zuluagai*, apresenta elevados picos populacionais nos períodos de baixa precipitação pluvial e temperaturas amenas (abril a setembro). Nos pomares comerciais de citros, o emprego de deltametrina é efetuado para o controle de pragas que ocorrem principalmente em períodos de temperatura e umidade elevadas, coincidindo com a época de pico populacional de *E. concordis*.

Pelos resultados apresentados neste estudo, pode-se inferir que essa espécie seria capaz de tolerar as pulverizações realizadas com deltametrina nessa época, visto que a concentração recomendada desse produto em pomares comerciais de citros no Brasil é de 12,5 mg i.a. L<sup>-1</sup>.

Porém, com relação à *I. zuluagai*, eventuais aplicações realizadas com deltametrina na época de ocorrência dessa espécie, poderiam ocasionar um desequilíbrio na relação predador × presa, o que fatalmente acarretaria em um aumento nas dificul-



**Figura 1.** Curvas de concentração-mortalidade de *Euseius concordis* (Ec-1) e *Iphiseiodes zuluagai* (Iz-1) à deltametrina.

dades de manejo de *B. phoenicis*, cuja densidade populacional tem seu incremento a partir dos meses de março e abril, período em que inicia-se a estiagem (Oliveira 1986). No entanto, a variabilidade nas respostas exibidas à deltametrina pelas populações de

*I. zuluagai* avaliadas no presente trabalho, indica que a evolução da resistência à deltametrina nessa espécie pode estar ocorrendo de maneira relativamente rápida em campo, sendo esse fato favorável ao controle biológico do ácaro da leprose dos citros.

Devido às respostas apresentadas pelas populações Iz-2, Iz-3 ou Iz-4, sugere-se que através de um processo de pressão de seleção em laboratório, possam ser obtidas linhagens resistentes a elevadas concentrações de deltametrina, que liberadas em campo sobreviveriam às pulverizações realizadas com esse inseticida. Porém na prática, a multiplicação massal de *I. zuluagai* é tida como um entrave para a liberação dos mesmos em campo com intuito de implementar o controle biológico de *B. phoenicis* em citros no Brasil, pois até o presente momento essa espécie tem sido mantida apenas em criações de pequena escala para o desenvolvimento de pesquisas em laboratório.

Por outro lado, a liberação de *N. californicus* que no Brasil vem sendo multiplicado massalmente e empregado com sucesso em programas de controle biológico de ácaros-praga (Monteiro 2002) poderia ser uma alternativa interessante para otimizar o manejo de *B. phoenicis* em citros. Além de tolerar elevadas concentrações de deltametrina, como foi comprovado neste trabalho, *N. californicus* também apresenta baixa suscetibilidade a outros pesticidas como fenproximate, fenpropatrin, dimetoato, propargite e enxofre (Croft et al. 1976, Sato et al. 2002). O emprego dessa espécie poderia ser útil principalmente em pomares onde há um desequilíbrio evidente devido à excessiva utilização do controle químico para o manejo de pragas. Um fator positivo para a introdução de *N. californicus* em citros é que em outros países, como a Espanha, essa espécie pode ser comumente encontrada nessa cultura (Izquierdo et al. 2002).

Apesar de *N. californicus* ser considerado um predador generalista quanto ao hábito alimentar (Croft et al. 1998), estudos para avaliar parâmetros como a capacidade de predação e aspectos relacionados à sobrevivência e reprodução desse predador sobre *B. phoenicis*, devem ser explorados para que possam ser implementados programas de controle biológico aplicado, baseados na liberação desse ácaro predador em citros. Considera-se ainda que além da liberação de espécies de predadores resistentes a pesticidas, o emprego de produtos seletivos é fundamental para a otimização do manejo do ácaro da leprose, preservando as espécies nativas de ácaros predadores, bem como outros inimigos naturais em citros.

## Agradecimentos

Ao Dr. Gilberto José de Moraes (ESALQ/USP) pelas sugestões e identificação das populações de ácaros predadores coletados em citros e ao Dr. Mário Eidi Sato (Instituto Biológico) por ter cedido a população de *Neoseiulus californicus* coletada em Atibaia/SP, pela coleta de ácaros predadores na Estação Experimental do Instituto Biológico em Presidente Prudente/SP e sugestões.

## Literatura citada

- Blommers, LHM. 1994. Integrated pest management in European apple orchards. *Annual Review of Entomology* 39:213-241.
- Croft, BA; Monetti, LN; Pratt, PD. 1998. Comparative life histories and predation types: are *Neoseiulus californicus* and *N. fallacis* (Acari: Phytoseiidae) similar Type II selective predators of spider mites? *Environmental Entomology* 27:531-538.
- \_\_\_\_\_. 1990. Arthropod biological control agents and pesticides. New York, US, Wiley Interscience. 723 p.
- \_\_\_\_\_; Briozzo, J; Carbonell, JB. 1976. Resistance to organophosphorous insecticides in a predaceous mite, *Amblyseius chilensis*. *Journal of Economic Entomology* 69:563-565.
- Izquierdo, J; Mansanet, V; Sanz, JV; Puiggrós, JM. 2002. Development of Envidor® for the control of spider mites in Spanish citrus production. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 55:255-266.
- Kitajima, EW; Lovisolo, O; Collariccio, A; Chagas, CM; Rosseti, V. 1995. Vírus causador da leprose dos citros. In Oliveira, CAL; Donadio, LC. eds. *Leprose dos citros*. Jaboticabal, BR, FUNEP. p. 19-24.
- Leora Software. 1987. POLO-PC: A user's guide to Probit or logit analysis. Berkeley, US. 20 p.
- McMurtry, JA; Scriven, GT. 1965. Insectary production of phytoseiid mites. *Journal of Economic Entomology* 58:282-284.
- Monteiro, LB. 2002. Criação de ácaros fitófagos e predadores: um caso de produção de *Neoseiulus californicus* em produtores de maçã. In Parra, JRP; Botelho, PSM.; Beatriz, SCF; Bento, JM. eds. *Controle biológico no Brasil*, Barueri, MANOLE. p. 351-365.
- \_\_\_\_\_. 2001. Seletividade de inseticidas a *Neoseiulus californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae) em macieira, no Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Fruticultura* 23 (3):589-592.
- Moraes, GJ; Sá, LAN. 1995. Perspectivas do controle do ácaro da leprose em citros. In Oliveira, CAL; Donadio, LC. eds., *Leprose dos citros*. Jaboticabal, FUNEP. p. 117-128.
- Oliveira, CAL. 1986. Flutuação populacional e medidas de controle do ácaro da leprose *Brevipalpus phoenicis* (Geijsks, 1939) em citros. *Laranja* 7:1-31.
- Reis, PR; Chiavegato, LG; Alves, EB; Sousa, EO. 2000. Ácaros da família Phytoseiidae associados à cultura dos citros no município de Lavras, Sul de Minas Gerais. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 29:435-441.
- \_\_\_\_\_; Chiavegato, LG; Moraes, GJ; Alves, EB; Souza, EO. 1998a. Seletividade de agroquímicos ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 27:265-274.

- \_\_\_\_\_; Chiavegato, LG; Alves, EB. 1998b. Biología de *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 27:185-191.
- Rodrigues, JCV; Kitajima, W; Childers, CC; Chagas, CM. 2003. Citrus leprosis virus vectored by *Brevipalpus phoenicis* (Acari:Tenuipalpidae) on citrus in Brazil. Experimental and Applied Acarology 30 (1-3):161-179.
- \_\_\_\_\_; Nogueira, NL; Freitas, DS; Prates, HS. 1997. Virus-like particles associated with *Brevipalpus phoenicis* Geijskes (Acari:Tenuipalpidae), vector of citrus leprosis virus. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 26:391-395.
- Sabater, C; Garcia-Mari, F. 1998. Evaluación de la resistencia del ácaro fitoseído *Typlodromus phialatus* (Acari: Phytoseiidae) al piretroide deltametrina. Cuadernos de Fitopatología 57:81-83.
- Sato, ME; Silva, M; Gonçalves, LR; Souza Filho, MF; Raga, A. 2002. Toxicidade diferencial de agroquímicos a *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) e *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) em morangueiro. Neotropical Entomology 31:449-456.
- \_\_\_\_\_; Raga, A; Cerávolo, LC; De Souza, MF, Rossi, AC, De Moraes, GJ. 2001. Effect of insecticides and fungicides on interaction between members of the mite families Phytoseiidae and Stigmaeidae on citrus. Experimental and Applied Acarology 25(10-11):809-818.
- \_\_\_\_\_; Raga, A; Cerávolo, LC; Rossi, AC; Cezário, AC. 1995. Efeito da utilização de acaricidas em citros, sobre a população de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) e ácaros predadores (Família Phytoseiidae). Scientia Agricola 52:282-286.
- \_\_\_\_\_; Raga, A; Cerávolo, LC; Rossi, AC; Potenza, MR. 1994. Ácaros predadores em pomar cítrico de Presidente Prudente, estado de São Paulo. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 23:435-441.
- Yamamoto, PT; Pinto, AS; Paiva, PEB; Gravena. S. 1992. Seletividade de agrotóxicos aos inimigos naturais de pragas dos citros. Laranja 13(2):709-755.

# Reproducción y esporulación in vitro de la bacteria *Paenibacillus (=Bacillus) lentimorbus* para el control de larvas de *Phyllophaga elenans*

Geovanny Fernández Redondo<sup>1</sup>  
Eduardo Hidalgo Jaminson<sup>2</sup>  
Francisco Badilla Fernández<sup>3</sup>

**RESUMEN.** Se extrajeron células vegetativas de la bacteria entomopatógena *Paenibacillus lentimorbus* de larvas de *Phyllophaga elenans* infectadas con la enfermedad lechosa con el objetivo de reproducir la bacteria sobre medios artificiales, obteniéndose el máximo incremento en la curva de crecimiento 62 horas después de cultivada en el medio MYPGP a un pH de 8,0. Se estudió el efecto de tres temperaturas y la deficiencia de nutrientes sobre la esporulación de la bacteria. Se determinó que exponer las células vegetativas de la bacteria a un choque de 4 °C por 30 minutos induce la esporulación, no encontrando el mismo efecto al utilizar el estrés nutricional como inductor de la esporulación. Se obtuvo un 10% de infección en larvas de *P. elenans* de un avanzado tercer estadio de desarrollo, cuando estas se alimentaron con una raíz de maíz inoculada con esporas producidas in vitro a una dosis de  $2,0 \times 10^8$  esp ml<sup>-1</sup>.

**Palabras clave:** enfermedad lechosa, esporulación, MYPGP.

**ABSTRACT.** *In vitro* reproduction of the bacteria *Paenibacillus lentimorbus* to control *Phyllophaga elenans* larvae. Vegetative cells of the entomopathogenic bacteria *Paenibacillus lentimorbus* were extracted from infected larvae of *Phyllophaga elenans*, in order to reproduce them using artificial media. The highest increment was obtained with MYPGP media at pH 8, 62 hours after inoculation. The effect of three temperature shocks and nutritional stress on spore formation were tested. The exposure of vegetative cells to short periods of low temperature (4 °C for 30 minutes) induced sporulation, whereas nutritional stress showed no effect. A 10% infection of late third instar larvae of *P. elenans* was achieved when fed with maize roots soaked with a suspension of in vitro produced spores at  $2.0 \times 10^8$  esp ml<sup>-1</sup>.

**Key words:** milky disease, MYPGP, sporulation.

## Introducción

Los escarabajos y sus larvas constituyen una de las mayores plagas en un amplio espectro de cultivos agrícolas y forestales, así como del césped en campos de entretenimiento. La gran cantidad de especies dañinas incluidas dentro del orden Coleoptera se encuentran bien distribuidas alrededor del mundo. En Centroamérica y México el género dominante es *Phyllophaga*, que pertenece a la subfamilia Melolonthinae (Saunders et al. 1998).

Las larvas del género *Phyllophaga* viven en el suelo y pasan por tres estadios de desarrollo, de los cuales solamente el tercero tiene importancia económica, ya que se alimenta de las raíces de gran variedad de hospederos (King 1984).

El ambiente en el cual se desarrollan las larvas de los escarabajos se caracteriza por la gran diversidad de microorganismos que regulan sus poblaciones, lo cual se ha considerado como una ventaja para el control de las especies dañinas. Dentro de este enfoque, los con-

<sup>1</sup> Parte de la tesis de Postgrado del primer autor. CATIE, Turrialba, Costa Rica. geovanni@catie.ac.cr

<sup>2</sup> Unidad de Fitoprotección, CATIE, Turrialba, Costa Rica. ehidalgo@catie.ac.cr

<sup>3</sup> Bioasesoría Internacional (BISA). Belén, Heredia, Costa Rica. franbad@racsa.co.cr



troladores biológicos más promisorios son las bacterias *Paenibacillus popilliae* y *Paenibacillus* (= *Bacillus*) *lentimorbus*, debido a su alta especificidad, elevada resistencia a altas temperaturas y baja humedad y, sobre todo, por su viabilidad prolongada, que les permite mantenerse activas en el suelo durante años (Benintende y Márquez 1996).

En Costa Rica se han seleccionado cepas de *P. popilliae* y *P. lentimorbus* activas contra las especies de *Phyllophaga* más importantes en el país, y su capacidad infectiva ha sido confirmada en el laboratorio (Hidalgo et al. 2000). Sin embargo, por tratarse de patógenos obligados, su reproducción en medios artificiales no ha tenido éxito. Actualmente su reproducción se realiza solamente in vivo, lo cual tiene un alto costo y limita su utilización en pruebas de campo con concentraciones adecuadas de esporas. Esto dificulta la obtención de resultados consistentes entre las pruebas de laboratorio y campo (Krieger et al. 1996).

Debido a lo anterior se ha considerado desarrollar una metodología confiable de producción masiva de *P. popilliae* y *P. lentimorbus*, que permita la aplicación económica de concentraciones adecuadas de la bacteria en áreas extensas donde se presenten problemas de *Phyllophaga*.

Según Stahly et al. (1992), las esporas o células vegetativas libres de hemolinfa provenientes de larvas infectadas pueden colocarse directamente sobre un medio con agar, pero su crecimiento es bajo.

La pérdida de virulencia de las esporas producidas en medios artificiales reportada por Steinkraus y Thashiro (1955) ha sido reforzada por autores como Schwartz y Sharpe (1970), quienes no obtuvieron desarrollo de la enfermedad lechosa en larvas del tercer instar de *Popilliae japonica* expuestas a suelo inoculado con una concentración de dos billones de esporas por kilogramo de *Bacillus popilliae* producida en medios artificiales, ni cuando estas larvas ingirieron concentraciones de  $2 \times 10^5$  esporas  $\text{ml}^{-1}$  de la bacteria en una suspensión acuosa del mismo origen. Lo anterior evidencia la aparente pérdida de infectividad de las esporas de la bacteria producidas en laboratorios sobre medios artificiales.

Stahly y Klein (1992) analizaron lotes de esporas producidas in vitro bajo el nombre comercial Grub Attack (Woodstream Corporation, PA, EUA) y determinaron que la mayoría de ellos contenían la bacteria *Bacillus polymyxa* pero no *Bacillus popilliae*. También examinaron cuatro productos formulados por American Type Culture (Rockville, MD, EUA); en

uno de los cultivos se identificó la bacteria *B. polymyxa* y los otros contenían *Bacillus amylolyticus*. Con base en los resultados anteriores, estos autores concluyeron que la baja virulencia de los productos in vitro se debe principalmente a la poca confiabilidad de los métodos para la producción de esporas de *B. popilliae* puras.

Esta reducida confiabilidad de los métodos actuales para la producción comercial in vitro de *P. popilliae* in vitro también fue demostrada por Redmond y Potter (1995), quienes analizaron muestras de *B. popilliae* producido tanto in vitro como in vivo. Se identificaron nuevamente las bacterias *B. polymyxa*, *B. popilliae* y *B. amylolyticus* en concentraciones de  $1,8 \times 10^9$ ,  $2,6 \times 10^7$  y  $2,1 \times 10^6$  esporas  $\text{g}^{-1}$ , respectivamente. En las muestras de Grub Attack, de todos los lotes analizados solo uno presentó esporas de *B. popilliae* además de las bacterias anteriormente mencionadas.

Se puede obtener una esporulación limitada cuando la bacteria se transfiere de un medio nutritivo a uno pobre y se cultiva a altas temperaturas (37 °C). Otros sistemas para inducir la esporulación son la adición de carbón activado al medio líquido, un procedimiento de cultivo en agitación y reposo, o la adición de una porción específica de estrato de levadura (Tanada y Kaya 1993).

## Materiales y métodos

Los ensayos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Control Microbial de la Unidad de Fitoprotección del CATIE, ubicado en Turrialba, Costa Rica. Se utilizó el aislamiento 0292 de la bacteria *P. lentimorbus*, seleccionada y almacenada en esta misma unidad. Para la reproducción del inóculo inicial y las pruebas posteriores de la bacteria se utilizaron larvas de *P. elenans*.

### Ensayo 1. Extracción de *P. lentimorbus* de larvas de *Phyllophaga elenans* infectadas y su reproducción in vitro

Para facilitar la obtención de la bacteria *P. lentimorbus* en medios de cultivo puro, se procedió a extraer el inóculo inicial de larvas infectadas con la enfermedad lechosa para de esta manera garantizar la pureza del inóculo y su patogenicidad.

Se tomó una larva de *P. elenans* del tercer instar con síntomas de la enfermedad lechosa, y después de desinfectar su superficie con hipoclorito de sodio al 2%, se procedió a perforar la cápsula cefálica con un alfiler entomológico estéril. La primera gota de hemolinfa se desechó para evitar la presencia de contaminantes, la segunda gota se recolectó en un tubo de microcentrí-

fuga con 1 ml de medio MYPGP líquido preparado a un pH de 8,00 (10,0 g Mueller-Hinton; 10,0 g extracto de levadura; 3,0 g  $K_2HPO_4$ ; 1,0 g  $C_3H_3O_3Na$  y 0,5 g glucosa en 1,0 L de agua destilada).

La muestra se dejó reposar durante 2 h a temperatura ambiente y, posteriormente, se extrajo una parte alícuota de 10  $\mu$ l de la superficie del medio inoculado con hemolinfa infectada y se colocó en un plato de medio MYPGP sólido preparado a un pH=8,0. Luego, se incubó a 30 °C durante 48 h.

Una vez desarrolladas las colonias de la bacteria sobre el medio sólido, se colocó una de ellas en un vial con medio MYPGP líquido, pH 8,0, y se dejó reposar durante aproximadamente 50 h en una incubadora a 30 °C para que los bacilos se reprodujeran masivamente en forma pura.

Posteriormente, se colocaron 100 ml del medio MYPGP (pH 8,0) en tres frascos Erlenmeyer de 200 ml de capacidad y se inocularon con 100  $\mu$ l de la suspensión de células vegetativas de *P. lentimorbus*, preparada al inicio del ensayo en el medio MYPGP líquido, con una concentración de  $8,0 \times 10^7$  células  $ml^{-1}$  para obtener una concentración final de aproximadamente  $8,0 \times 10^4$  células  $ml^{-1}$  en cada frasco. Los medios se incubaron a 30 °C y un fotoperíodo de 12 h luz en forma estática.

Una vez obtenido el inóculo en forma pura, se procedió a determinar la curva de crecimiento de la bacteria en el medio MYPGP preparado a un pH de 8,0, incubando el medio de cultivo a 30 °C y con fotoperíodo de 12 h luz en forma estática.

Para determinar la curva de crecimiento de la bacteria, se contaron las células vegetativas cada 12 h con la ayuda de un hemocitómetro de 0,1 mm de profundidad, en un microscopio de contraste de fase a una intensidad de 40X. De cada frasco se tomaron tres muestras a las cuales se les realizó tres conteos. Posteriormente se obtuvo un promedio de células vegetativas por conteo y se graficó tomando como eje X el tiempo, para observar el comportamiento del crecimiento de la bacteria.

### Ensayo 2. Esporulación in vitro de *P. lentimorbus*

En observaciones previas se percibió un cambio de temperatura en la superficie de las larvas infectadas por inyección con la bacteria *P. lentimorbus*. Según Guarín (1997), las larvas infectadas que alcanzan la fase III de desarrollo de la enfermedad lechosa dan una sensación térmica de "frías al tacto", muy diferente a la de las larvas sanas.

Tomando en cuenta esta observación, y considerando el efecto de la temperatura sobre la germinación de las esporas reportado por Fernández et al. (2004), se planteó la interrogante del efecto de la temperatura sobre la esporulación de las células vegetativas, por lo que se procedió a tratar las células vegetativas de la bacteria con cambios de temperatura de aproximadamente 25 °C por arriba y 25 °C por debajo de la temperatura a la cual se incubaron los bacilos (30 °C).

Se analizó también la teoría expuesta por algunos autores, como Steinkraus y Tashiro (1955), quienes proponen que la deficiencia de nutrientes es el factor inductor del proceso de esporulación de *P. lentimorbus*, por lo que se procedió a reducir la concentración de nutrientes por centrifugación de los bacilos y agregando agua destilada estéril (ADE) a un primer tratamiento; en un segundo tratamiento se agregó el medio pobre en nutrientes propuesto por Steinkraus y Tashiro (1955) para promover la esporulación (MP); y, por último, como tercer tratamiento se probó dejar las células vegetativas en el medio MYPGP.

Se prepararon 350 ml de medio MYPGP, pH de 8,0, para la reproducción masiva de células vegetativas de *P. lentimorbus*. Al alcanzar el pico de crecimiento determinado en el ensayo anterior, se procedió a preparar 27 tubos de centrifuga de 25 ml de capacidad, con 12 ml de medio con células vegetativas. Estos tubos se centrifugaron por 20 minutos a 3000 rpm.

Concluido el proceso de centrifugación, se extrajeron y desecharon 10 ml del medio sobrenadante en nueve tubos; posteriormente, se colocó 10 ml de ADE en cada tubo; en otros nueve tubos se extrajo y desechó 10 ml del medio sobrenadante y se colocaron 10 ml de un MP en nutrientes, y los restantes nueve tubos permanecieron con el medio sobrenadante.

Los 27 tubos se agitaron manualmente para permitir que las células vegetativas de la bacteria se mezclaran uniformemente. Estas permanecieron en los tubos durante 24 h en una incubadora a 30 °C y 12 h luz. Transcurrido este tiempo, se realizó un choque de temperatura colocando tres tubos de cada medio con sus células vegetativas por 30 minutos a tres diferentes temperaturas; nueve tubos se colocaron en un horno a una temperatura de 55 °C, otros nueve tubos se colocaron en un refrigerador a 4 °C y los otros nueve se trasladaron a un cuarto con una temperatura controlada de 24 °C. Posteriormente se colocaron todos los tubos en un cuarto con una temperatura controlada de 24 °C, donde se incubaron por 5 días después de realizado el choque de temperatura.

**Diseño experimental**

Se utilizó un diseño factorial 3<sup>2</sup> con un arreglo completamente al azar, donde el factor “A” son tres medios de cultivo y el factor “B” son tres choques de temperatura. El ensayo estuvo compuesto por tres repeticiones, para un total de 27 unidades experimentales.

La variable evaluada fue la concentración de esporas formadas en cada tratamiento 5 días después de realizar los tratamientos de temperatura; a estos datos se les aplicó un análisis de varianza (ANDEVA).

Al final del ensayo se llevó a cabo una prueba de patogenicidad como método de verificación de la identidad de la bacteria con las esporas de *P. lentimorbis* reproducidas in vitro, inoculando raíces de maíz pregerminado con una suspensión de 2,0 x 10<sup>8</sup> esp ml<sup>-1</sup> de ADE. Luego se colocaron 20 larvas de *P. elenans* del tercer instar en vasos individuales de 200 ml de capacidad con una raíz inoculada, y se agregó una capa de suelo de 100 g. Las larvas se incubaron a 24 °C y se alimentaron con semilla de maíz pregerminada limpia cada 15 días, durante 45 días.

**Resultados y discusión**

**Ensayo 1. Extracción de *P. lentimorbis* de larvas de *P. elenans* infectadas y reproducción in vitro**

Después de obtener el inóculo, se procedió a estimar la curva de crecimiento de la bacteria en el medio MYPGP (pH 8,0), y se observó un crecimiento exponencial (Fig. 1), en donde la concentración de bacilos permanece constante las primeras 24 h de incubación, después de las cuales se inicia la reproducción exponencial de la bacteria, alcanzando su máxima concentración (1,1 x 10<sup>8</sup> células ml<sup>-1</sup>) aproximadamente 62 horas después de inoculado el medio.

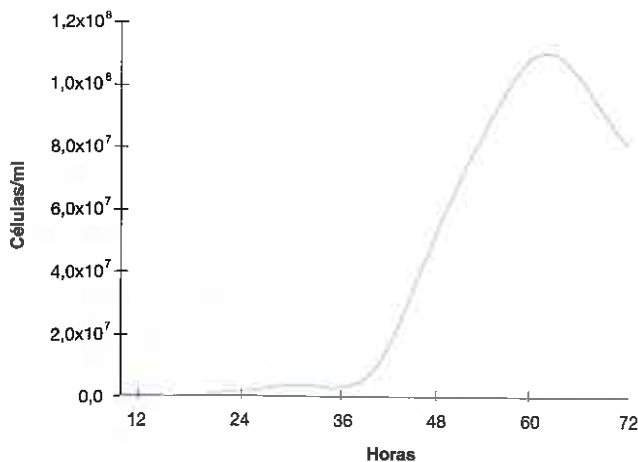


Figura 1. Curva de crecimiento de *Paenibacillus* (=Bacillus) *lentimorbis* en el medio MYPGP preparado a un pH: 8,0.

Lüthy et al. (1970) obtuvieron una concentración máxima de 2,0 x 10<sup>8</sup> células ml<sup>-1</sup> de bacilos de *Paenibacillus* sp. reproducidos in vitro, 4 días después de inocular el medio Grace’s preparado a un pH: 6,8 y agregar hemolinfa de *Phyllophaga anxia* al medio.

**Ensayo 2. Esporulación in vitro de *P. lentimorbis***

Al alcanzar el pico de crecimiento vegetativo es necesario inducir la esporulación de la bacteria, ya que esta no ocurre en condiciones normales y, como se aprecia en la curva de crecimiento (Fig. 1), la concentración de células vegetativas disminuye rápidamente después de alcanzar el pico de crecimiento vegetativo.

Se observaron diferencias altamente significativas entre los tratamientos ( $F_{8,18} = 967,88; P = 0,0001$ ). Estas diferencias se originaron tanto en los factores aislados como en las interacciones de estos ( $F_{4,18} = 77,34; P = 0,0001$ ). La mayor cantidad de esporas se alcanzó en la interacción del medio MYPGP inoculado con vegetativos tratados a una temperatura de 4 °C, seguido en segundo y tercer lugar por los tratamientos compuestos por el mismo medio inoculado con vegetativos tratados a 24 °C y 55 °C, respectivamente.

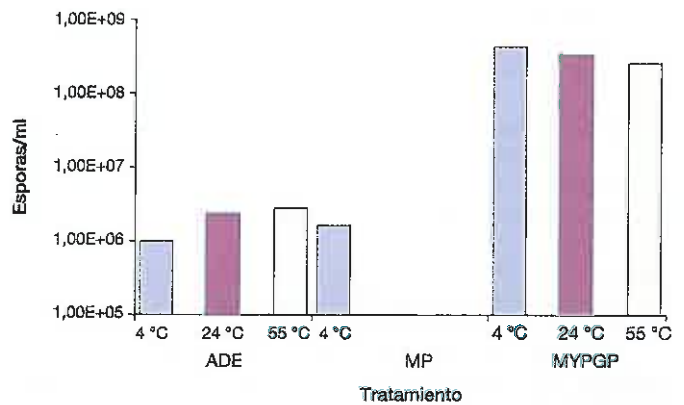


Figura 2. Esporulación de células vegetativas de *Paenibacillus* (=Bacillus) *lentimorbis* en tres medios de cultivo tratadas con tres temperaturas durante 30 minutos.

El factor inductor de la esporulación de *P. lentimorbis* no es la deficiencia nutricional, ya que el ADE y el MP no favorecieron este proceso (Fig. 2).

Las esporas de *P. lentimorbis* producidas in vitro son muy similares a las producidas in vivo si se observan a una intensidad de 40X en un microscopio de contraste de fase, pero si se aumenta la intensidad del objetivo a 100X, las esporas producidas in vitro carecen de una formación clara del cuerpo parasporal.

Al finalizar este ensayo se realizó una prueba de patogenicidad con larvas de *P. elenans* en un tercer estadio de desarrollo larval y se observó que al inocular raíces de maíz pregerminado con las esporas producidas in vitro se obtuvo un 10% de infección, lo cual comprueba que la metodología utilizada para producción in vitro de *P. lentimorbus* es adecuada.

Aunque obtener un 10% de infección con las esporas producidas in vitro es un resultado poco alentador, se debe tomar en cuenta que la prueba de patogenicidad se realizó en condiciones poco favorables, como son la utilización de una concentración baja de esporas (aproximadamente de  $2,0 \times 10^8$  esp ml<sup>-1</sup>), utilización de larvas de *P. elenans* en un avanzado estado de desarrollo larval y, además, que las esporas se suministraron vía ingestión, por lo que lo verdaderamente importante es la comprobación de la patogenicidad del inóculo reproducido in vitro cuando este se suministró vía ingestión.

### Literatura citada

- Benintende, G; Márquez, A. 1996. Bacterias entomopatógenas. In Leucona, RE. ed. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Buenos Aires, AR, INTA. p. 61-72.
- Fernández, G. 1999. Producción y evaluación de *Bacillus popilliae* contra *Phyllophaga elenans* (Col: Scarabaeidae) en laboratorio. Tesis Lic. Ing. Agr. Turrialba, CR, Universidad de Costa Rica. 68 p.
- \_\_\_\_\_; Hidalgo, JE; Badilla, FF. 2004. Germinación y reproducción in vitro de la bacteria *Paenibacillus* (= *Bacillus*) *lentimorbus*. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología 73:35-41.
- Guarin, JH. 1997. Estudio de la patogenicidad de *Bacillus popilliae* Dutky sobre *Phyllophaga obsoleta* Blanchard y de medios nutritivos para su producción. Tesis Mag. Sc. Medellín, CO, Universidad Nacional de Colombia. 83 p.
- Hidalgo, E; Smith, SM; Shannon, PJ; Arroyo, C. 2000. Metodología para la cría masiva de *Phyllophaga* spp. (COL: SCARABAEIDAE). Manejo Integrado de Plagas 56:70-74.
- King, ABS. 1984. Biology and identification of white grubs (*Phyllophaga*) of economic importance in Central America. Tropical Pest Management 30(1):36-50
- Krieger, L; Franken, E; Schnetter, W. 1996. *Bacillus popilliae* var. *melolontha* H1, a pathogen for the May beetles, *Melolontha* spp. In International Lincoln Workshop on microbial control of soil dwelling pest. Proceedings (3, 1996, New Zealand). New Zealand, AgResearch Lincoln. p. 79-87.
- Lüthy, P; Wyss, Ch; Ettliger, L. 1970. Behavior of Milky Disease Organisms in a Tissue Culture System. Journal of Invertebrate Pathology 16:325-330.
- Milner, RJ. 1974. A new variety of milky disease, *Bacillus popilliae* var. *rhopaea* from *Rhopaea verreauxi*. Australian Journal of Biological Science 27:235-247.
- Milner (1974) reporta que en ensayos realizados con esporas de *B. popilliae* producidas in vivo se puede infectar larvas de *Rhopaea verreauxi* con la enfermedad lechosa cuando esta se suministra por inyección, sin embargo, cuando larvas sanas de la misma especie se alimentan con dosis de  $1,0 \times 10^9$  esp larva<sup>-1</sup> de la bacteria producida in vivo, no se produce infección.
- Tashiro y Steinkraus (1966) obtuvieron hasta un 70% de infección cuando inyectaron larvas de *Amphimallon majalis* con esporas de *B. popilliae* producidas in vivo; no obstante, en pruebas de exposición a suelo inoculado con dosis de  $2,0 \times 10^9$  esp kg<sup>-1</sup> de suelo no se produce infección en ninguna larva.
- Fernández (1999) expone que hay un desarrollo de resistencia conforme avanza el desarrollo de las larvas, por lo que es de esperar que larvas de *P. elenans* más jóvenes sean más susceptibles al uso de las esporas producidas in vitro con la técnica utilizada en este estudio.
- Redmond, CT; Potter, DA. 1995 Lack of efficacy of *In vivo*- and Putatively *In vitro*- produced *Bacillus popilliae* against field populations of Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) grubs in Kentucky. Journal of Economic Entomology 88(4):846-854.
- Saunders, JL; Coto, DT; King, ABS. 1998. Plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. 2 ed. Turrialba, CR, CATIE. 305 p. (Serie Técnica, Manual Técnico no 29).
- Schwartz Junior, PH; Sharpe, E. 1970. Infectivity of spores of *Bacillus popilliae* produced on a laboratory medium. Journal of Invertebrate Pathology 15:126-128.
- Stahly, DP; Klein, MG. 1992. Problems with *in vitro* production of spores of *Bacillus popilliae* for use in biological control of the Japanese beetle. Journal of Invertebrate Pathology 60:283-291.
- \_\_\_\_\_; Takefman, DM; Livasy, CA; Dingman, DW. 1992. Selective medium for quantitation of *Bacillus popilliae* in soil and in commercial spore powders. Applied and Environmental Microbiology 58(2):740-743.
- Steinkraus, KH; Tashiro, H. 1955. Production of milky disease spores (*Bacillus popilliae* Dutky and *Bacillus lentimorbus* Dutky) on artificial media. Science 121:873-874.
- Tanada, Y; Kaya, HK. 1993. Insect pathology. 2 ed. San Diego, US, Academic Press. 689 p.
- Tashiro, H; Steinkraus, KH. 1966. Virulence of species and strains of milky disease bacteria in the European chafer, *Amphimallon majalis* (Razoumowsky). Journal of Invertebrate Pathology 8:382-389.

# La identificación y distribución de los salivazos de la caña de azúcar y los pastos (Homoptera: Cercopidae) en Costa Rica

Vinton Thompson<sup>1</sup>  
Ruth León González<sup>2</sup>

**RESUMEN.** Los salivazos (Homoptera: Cercopidae) constituyen plagas importantes en el cultivo de la caña de azúcar y de pastos introducidos en Costa Rica y en otros países de América Latina. En Costa Rica son nueve las especies de importancia y se encuentran dentro de tres géneros: *Aeneolamia albofasciata*, *A. lepidior*, *A. contigua*, *A. reducta*, *Prosapia plagiata*, *P. simulans*, *Zulia vilior*, una especie relacionada a *Prosapia bicincta* y una especie relacionada a *P. plagiata*. Se incluye información acerca de su distribución geográfica y se discute su estatus como plaga. El presente trabajo es el primer resumen de la taxonomía y distribución de estas especies en Costa Rica.

**Palabras clave:** *Aeneolamia*, Cercopidae, insectos plaga, pastos, *Prosapia*, caña de azúcar, *Zulia*.

**ABSTRACT.** The identity and distribution of sugar cane and pasture spittlebugs (Homoptera: Cercopidae) in Costa Rica. Spittlebugs (Homoptera: Cercopidae) are important pests of sugar cane and introduced pasture grasses in Costa Rica and many other Latin American countries. In Costa Rica, nine important species are found among three genera: *Aeneolamia albofasciata*, *A. contigua*, *A. lepidior*, *A. reducta*, *Prosapia plagiata*, *P. simulans*, *Zulia vilior*, a species related to *Prosapia bicincta* and one related to *P. plagiata*. Their geographic distributions are mapped and their status as pests discussed. This paper constitutes the first overview and clarification of the taxonomy and distribution of these insects in Costa Rica.

**Key words:** *Aeneolamia*, Cercopidae, insect pest, pasture grass, *Prosapia*, spittlebug, sugar cane, *Zulia*.

## Introducción

Los salivazos o baba de culebra (Homoptera: Cercopidae) son plagas muy importantes de la caña de azúcar y de numerosos pastos introducidos en Costa Rica y en muchos otros países de América Latina y el Caribe. Los adultos inyectan una toxina provocando que las hojas cambien su color de verde a café, causando la muerte de la hoja, lo que ocasiona una seria disminución en el área disponible para la fotosíntesis y en la productividad de cañales y pastizales. Por eso se han dedicado muchos esfuerzos al control de cercópidos en la región (Coronado y Sosa 1966, Fewkes 1969, Calderón et al. 1982, Fernández y Ramos 1986, Allard 1987, Salguero-Navas et al. 2000, Peck 2002, Peck et al. 2002).

Los esfuerzos realizados antes de la II Guerra Mundial en busca de medidas que permitieran controlar esta plaga por medios biológicos y agronómicos resultaron infructuosos (Pickles 1942). En los años posteriores a la guerra, los agricultores empezaron a depender cada vez más de los plaguicidas químicos (Fewkes 1969). Recientemente, la aparición de resistencia a plaguicidas, las preocupaciones sobre efectos ambientales y la necesidad de un combate rentable en cultivos de poco valor (como los pastos), han renovado el interés por el combate biológico, principalmente mediante el hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*, así como la utilización de medidas agronómicas como las quemadas controladas, el forrajeo controlado de ganado y el desarrollo de

<sup>1</sup> Department of Biological Sciences, Kean University, 1000 Morris Avenue, Union, New Jersey, 07083, EUA. vthompso@kean.edu

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria. Dpto. de Investigación e Innovación. Tél. 231-5055. San José, Costa Rica. rleongcr@yahoo.com

variedades de plantas resistentes a la plaga (Jiménez 1978, Toriello y Mier 1985, Allard 1987, Thomas y Lapointe 1989, Miles et al. 1995, Badilla et al. 1996, Salazar y Badilla 1997, Grimm 2001, Badilla 2002, Monzon 2002, Thompson 2004). Una identificación precisa de la plaga facilita la implementación de todas estas técnicas; por ejemplo, especies diferentes de salivazos son atacadas por diferentes cepas de *M. anisopliae* (Tigano-Millani et al. 1995).

Desafortunadamente, la identificación de los salivazos que atacan la caña de azúcar y los pastizales en América Central sigue siendo difícil. Muchas especies muestran patrones de coloración muy similares; por ejemplo, muchas tienen dos o tres bandas transversas y otras presentan líneas o hileras de puntos sobre un fondo oscuro (Figs. 1-4, 6-8). Por otra parte, una misma especie puede exhibir múltiples patrones de colores; por ejemplo, algunos individuos de *Prosapia simulans* tienen bandas notables mientras otros son oscuros o sin bandas (Fig. 6a,b) (Clark et al. 1976). Por lo tanto, salivazos aparentemente diferentes podrían pertenecer a una misma especie polimórfica, mientras que otros muy similares podrían pertenecer a diferentes especies e incluso a diferentes géneros. Esta confusión con patrones de color, junto con una uniformidad morfológica entre géneros relacionados, complican el análisis taxonómico y, por esta razón, los trabajos taxonómicos utilizan principalmente la morfología de la genitalia del macho.

La biología de los salivazos ha sido resumida por muchos autores (Vargas Picado 1970, Calderón et al. 1982, Fernández y Ramos 1986, Peck 1998, 2002, Peck et al. 2002). Los huevos se depositan cerca o entre las raíces, enterrados a 1 ó 2 cm de profundidad; también se pueden ovipositar sobre la superficie del suelo o sobre los estolones y residuos vegetales en el suelo. En condiciones ideales, con un 80 ó 90% de humedad, los huevos eclosionan en 12 a 18 días, pero este período puede prolongarse cuando la humedad relativa es menor (hasta varios meses durante la época seca).

Inmediatamente después de emerger, las ninfas buscan refugio en las partes húmedas y sombreadas de la base de las plantas y comienzan a alimentarse en las partes descubiertas de la raíz, en los rebrotes y estolones y en la parte basal del tallo. Desde que inicia la alimentación y durante todo el estado ninfal, el insecto se recubre con una espuma formada por una sustancia de consistencia mucilaginosa, secretada por las glándulas de Batelli, ubicadas en los lados del séptimo y octavo segmento abdominal. La sustancia

que secreta el salivazo está compuesta por el exceso del líquido que extraen del xilema de la planta y un mucopolisacárido. Esta espuma protege a las ninfas contra la desecación y del ataque de varios enemigos naturales.

Después de la primera etapa ninfal empiezan a aparecer los rudimentos alares. La ninfa pasa por cinco etapas y la duración de todas las etapas ninfales es de aproximadamente 40-50 días en condiciones favorables. En la última etapa ninfal, la espuma que recubre a la ninfa se hace más densa y dura varios días hasta que ocurre la última muda y emerge el insecto adulto (el cual no produce espuma). El adulto presenta inicialmente un color blanco y permanece inmóvil durante varias horas dentro de la masa espumosa. Al contacto con el aire, el cuerpo y las alas van adquiriendo lentamente su coloración normal.

Este artículo presenta información sobre nueve especies de salivazos plagas de caña de azúcar y pastos en Costa Rica, específicamente con respecto a su distribución, taxonomía e importancia agronómica. Así, se pretende proveer la base para los trabajos futuros en taxonomía y control de salivazos.

## Materiales y métodos

La distribución de las especies encontradas como plagas en Costa Rica se basa en recolecciones realizadas por los autores durante los meses de agosto a diciembre de 1994, así como en especímenes preservados en el Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio), el Museo de Insectos de la Universidad de Costa Rica (UCR) y del INTA del Ministerio de Agricultura y Ganadería. Las identificaciones se realizaron mediante comparaciones directas con las colecciones depositadas en el Museo de Historia Natural del Museo Británico. Los autores depositaron muestras representativas de los especímenes en el INBio, la UCR, el Ministerio de Agricultura y Ganadería y el CATIE.

## Resultados

Todos los salivazos de importancia agrícola en caña de azúcar y pastos en Costa Rica pertenecen a tres géneros relacionados de la familia Cercopidae: *Aeneolamia*, *Prosapia* y *Zulia*. También se pueden encontrar en estos cultivos *Mahanarva costaricensis* (Thompson 1997) y una o dos especies del género *Sphenorhina* (también Cercopidae), pero estas especies nunca alcanzan niveles altos de población y no se consideran como plagas.

**Clave para la identificación de las especies de salivazos de la caña de azúcar y los pastos  
(Homoptera:Cercopidae) en Costa Rica**

**Nótese:** Debido a la variación que existe entre individuos de la misma especie esta clave no funcionará para algunos especímenes aislados. La clave funciona mejor para una serie de especímenes, en lugar de un solo individuo. Si el usuario tiene dudas, se recomienda que utilice la clave con un grupo de especímenes y use la información geográfica dada en el texto como suplemento.

- 1 Con manchas diagonales distintas de color amarillo y negro (Fig. 4a).....*Aeneolamia reducta*
- Sin manchas diagonales de color amarillo y negro ..... 2
- 2 Fondo negro con dos o tres bandas o líneas transversas de color blanco, crema o anaranjado ..... 3
- Sin bandas o líneas transversas ..... 6
- 3 Con tres líneas transversas de color anaranjado; lado ventral de color rojo carmesí (Fig. 7a)
- .....*Prosapia* sp. cerca a *bicincta*
- Con dos o tres bandas o líneas transversas de color blanco o crema; lado ventral de color amarillo o rojizo ..... 4
- 4 Con tres bandas o líneas transversas, paralelas, de color blanco o amarillo pálido (Fig. 6a)
- .....*Prosapia simulans* (machos y algunas hembras)
- Con dos bandas transversas ..... 5
- 5 Con dos bandas transversas de color blanco o crema (Fig. 1a) ..... *Aeneolamia albofasciata*
- Con dos líneas transversas de color anaranjado pálido; con una línea anaranjada en forma de "V" en los "hombros" (Fig. 3a) ..... *Aeneolamia contigua*
- 6 Con manchas amarillas brillantes en los márgenes externos de las alas; con una línea anaranjada en forma de "V" en los "hombros"; con manchas anaranjadas cerca de los márgenes internos de las alas (Fig. 2a)..... *Aeneolamia lepidior*
- Alas totalmente rojo, café o negro; o alas negras o café con manchas ligeras irregulares ..... 7
- 7 Alas rojas (Fig. 5b) ..... *Prosapia plagiata* (forma roja)
- Alas con fondo negro o café, con o sin manchas ligeras irregulares ..... 8
- 8 Alas con fondo negro o negro-café..... 9
- Alas con fondo café ..... 10
- 9 Alas con fondo negro, usualmente con manchas irregulares (Fig. 6b); cara en perfil con pico
- .....*Prosapia simulans* (hembras oscuras)
- Alas con fondo negro-café (Fig. 8b); cara en perfil redondeada; área atrás de la cabeza con punteaduras; alas a veces con manchas anaranjadas irregulares.....*Zulia vilior* (hembras)
- 10 Cara en perfil con pico (Fig. 5a) ..... *Prosapia plagiata* (forma café)
- Cara en perfil redondeada; área atrás de la cabeza con punteaduras; alas a veces con manchas anaranjadas irregulares (Fig. 8a) ..... *Zulia vilior* (machos)

**El género *Aeneolamia***

Este grupo incluye muchas de las principales plagas que atacan la caña de azúcar desde el sur de México hasta Guyana, así como serias plagas de pastizales. Cuatro especies son consideradas como plagas actuales o potenciales en Costa Rica.

**-*Aeneolamia albofasciata* (Lallemand) (Fig. 1a y b)**  
Esta especie es la principal plaga en caña de azúcar en la provincia de Guanacaste, el norte de la provincia de Puntarenas y la región de San Carlos en la provincia de Alajuela; no se encuentra hacia el sur (Fig. 1b). También se considera como un problema serio en México (Clark et al. 1976, Martin et al. 1995). Esta

especie exhibe alguna variabilidad en la coloración dorsal. Las dos bandas blancas transversas algunas veces son interrumpidas en su área medial y una o las dos pueden estar totalmente ausentes en algunos individuos. Son negros con bandas blancas o crema sobresalientes, 6-8 mm de largo. Algunos individuos carecen de una o las dos bandas, parcial o totalmente superficialmente similar a *P. simulans* (Fig. 6a), pero un poco más pequeña y sin la tercer (anterior) banda de aquella. Similar a *A. contigua* (Fig. 3a), pero sin manchas anaranjadas y usualmente no tiene la mancha en forma de V en los "hombros" (o esta es muy débil).

**-*Aeneolamia lepidior* (Fowler) (Fig. 2a y b)**

Esta especie es esporádicamente abundante en pastizales de ambas costas en el sur de Costa Rica, cerca de la frontera con Panamá; no se encuentra hacia el norte (Fig. 2b). Hasta el momento, no representa una plaga de importancia en Costa Rica, pero se ha informado su presencia como plaga en caña de azúcar y pastizales en Panamá, Colombia y Venezuela (Guagliumi 1962, Calderón et al. 1982, Peck 2001, 2002, Peck et al. 2002). Su cuerpo es negro, con manchas amarillas y anaranjadas brillantes, 6-8 mm de largo. Muy diferente de cualquier otro salivazo de Costa Rica.

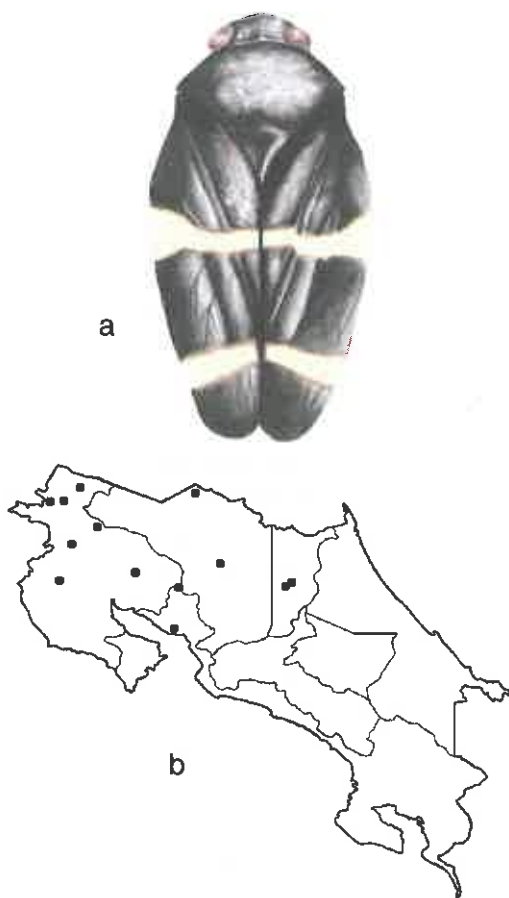
**-*Aeneolamia contigua* (Walker) (= *A. postica*) (Fig. 3a y b)**

Esta especie tiene una amplia distribución en Costa Rica, especialmente en áreas bajas de la zona atlántica y algunas partes de las tierras altas del Valle Central (Fig. 3b). En México es considerada como una de las

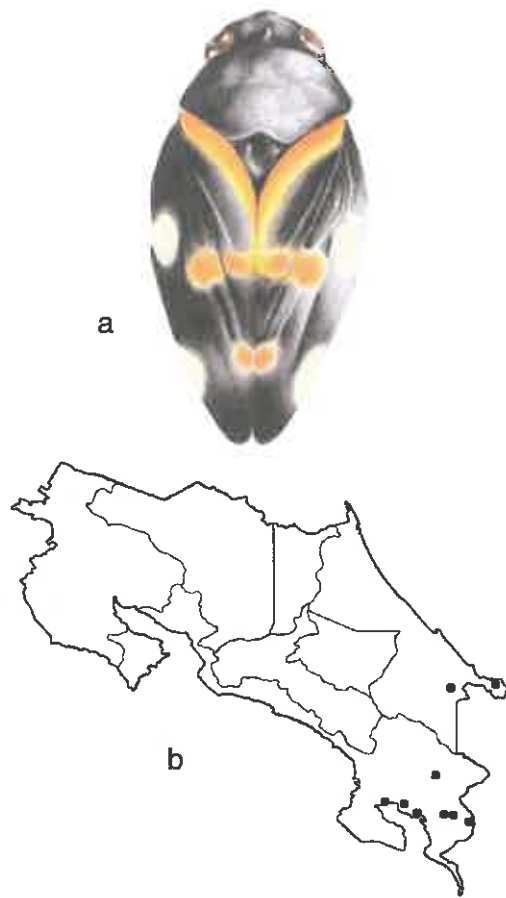
plagas de mayor importancia en pastizales (Calderón et al. 1982). El cuerpo es de color negro-café con dos líneas transversas de color anaranjado claro y una mancha anaranjada más intensa en forma de V en los "hombros", mide 6-8 mm de largo. Similar a *A. albofasciata* (Fig. 1a).

**-*Aeneolamia reducta* (Lallemand) (Fig. 4a y b)**

Esta especie es abundante en los pastizales de las tierras bajas y medias de la costa sur del Pacífico; no se encuentra hacia el norte (Fig. 4b). En Panamá, Colombia y Venezuela es considerada como una plaga de amplia dispersión en pastizales (Calderón et al. 1982, Thomas y Lapointe 1989, Peck 2001 y 2002, Peck et al. 2002). Su presencia ha sido informada en cañales en Panamá (Guagliumi 1962). Su cuerpo presenta rayos diagonales sobresalientes de negro y amarillo, y 6-7 mm de largo. Su aspecto es muy diferente del de cualquier otro salivazo en Costa Rica.



**Figura 1.** *Aeneolamia albofasciata* (a) y su ubicación en Costa Rica (b).



**Figura 2.** *Aeneolamia lepidior* (a) y su ubicación en Costa Rica (b).



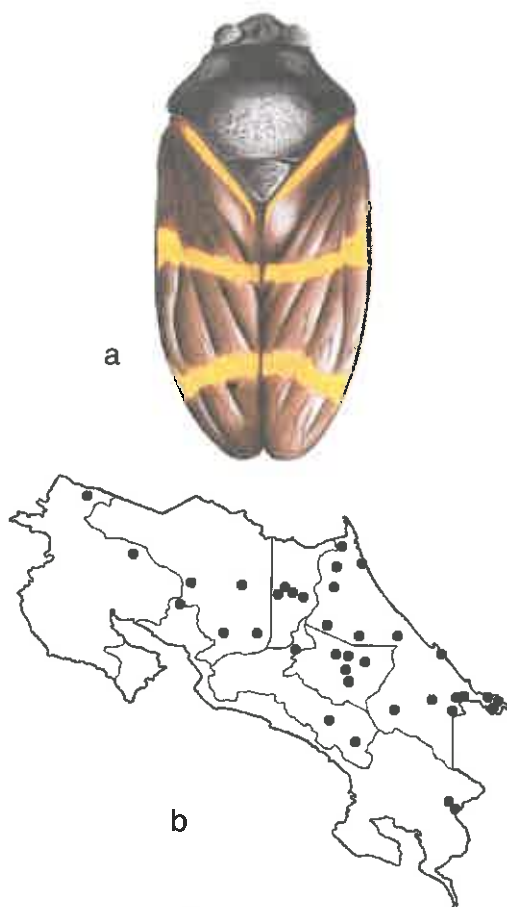


Figura 3. *Aeneolamia contigua* (a) y su ubicación en Costa Rica (b).

### El género *Prosapia*

Este grupo incluye plagas de mucha importancia en pastizales de los Estados Unidos, México, América Central y Cuba. Cuatro especies son plagas en Costa Rica.

#### *-Prosapia plagiata* (Distant) (= *P. distanti*) (Fig. 5a, b y c)

Aparentemente, esta especie se encuentra solamente en Costa Rica (Fig. 5c). Representa la principal plaga en pastizales en las tierras altas del Valle Central de este país (Fagan y Vargas Picado 1969, Vargas Picado 1970) y causa un daño severo en cañales localizados en el área de Juan Viñas (provincia de Cartago) (F. Badilla, comunicación personal). La hembra (Fig. 5b) es notablemente más corta y ancha que el macho (Fig. 5a). Las alas son de color café (Fig. 5a), cabeza y área atrás de la cabeza más oscura, 6-8 mm de largo. Aunque la mayoría de los individuos son de color café, un pequeño porcentaje de cada sexo es de color rojo brillante o café rojizo (Fig. 5b) (Peck 1999). Algunos individuos de cada color tienen una línea o

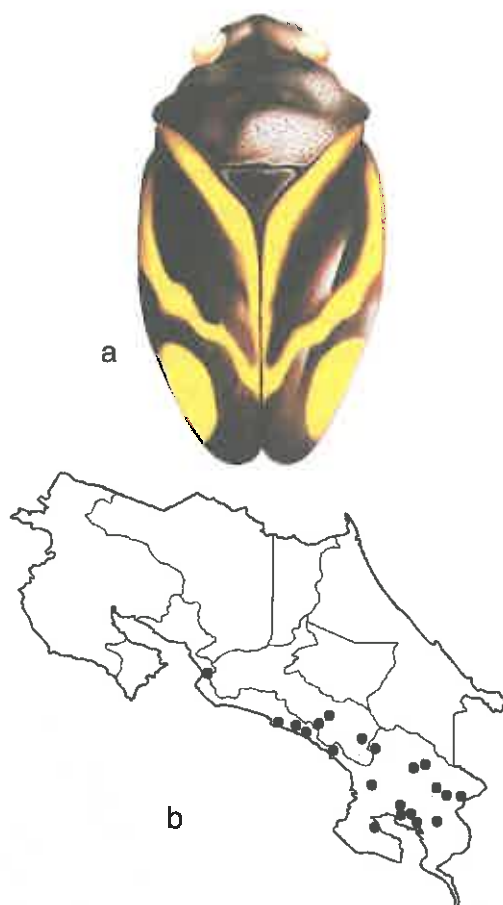


Figura 4. *Aeneolamia reducta* (a) y su ubicación en Costa Rica (b).

banda clara transversa en el área oscura atrás de la cabeza. Los machos de color café (Fig. 5a) son similares a los machos de *Z. vilior* en tamaño, forma y color; como en la Fig. 8a, pero sin las manchas anaranjadas. Sin embargo, *Z. vilior* tiene un área con punteaduras atrás de la cabeza y su cara es redondeada en perfil. La cara de *P. plagiata* es con pico de perfil.

#### *-Prosapia simulans* (Walker) (Fig. 6a, b, c y d)

Esta especie tiene una amplia distribución y es muy común en tierras bajas y medias (Fig. 6d). En Monteverde (provincia de Puntarenas), los machos llegan a tierras aún más altas, aparentemente debido a migraciones anuales (Peck 1999). *P. simulans* alcanza el estatus de plaga en los pastizales ubicados en las tierras bajas de las provincias de Guanacaste y Puntarenas a lo largo de la costa Pacífica. Esta especie usualmente no alcanza el estatus de plaga en cañales en Costa Rica, ni en pastizales de la costa Atlántica. A esta especie se le considera como una de las plagas de mayor importancia en pastizales en algunas partes de México (Clark et al. 1976) y en cañales en

Nicaragua y Honduras (Peck 2001). Recientemente *P. simulans* se encontró en pastizales de Colombia a niveles de población económicamente significativos (Peck 2001).

*P. simulans* tiene una coloración muy variable (Clark et al. 1976). La mayoría de los machos presenta un fondo negro con tres bandas transversas sobresalientes de color blanco o amarillo claro (Fig. 6a). Algunas hembras son similares a estos machos. Otras tienen bandas angostas, débiles (Fig. 6b), interrumpidas o ausentes, por lo que se aproximan bastante a las hembras de *Z. vilior* en su apariencia superficial (Fig. 8b). En poblaciones ubicadas en la costa pacífica, cerca de Panamá, tanto los machos como las hembras son más oscuros (en promedio) que en otras partes de Costa Rica (Fig. 6c). Además, ambos sexos exhiben polimorfismo en la coloración ventral; muchos son

amarillos debajo pero algunos son rojos, con un 30% de los individuos rojos en algunas poblaciones.

El tamaño varía desde 7 hasta 9 mm de largo. La mayoría de los machos y algunas hembras son similares a *A. albofasciata*. Las hembras de *P. simulans* con pocas bandas o sin ellas son similares a las hembras de *Z. vilior* (Fig. 8b), pero *P. simulans* tiene la cara picuda en perfil y carece del área punteada atrás de la cabeza. Los individuos de *P. simulans* con bandas angostas son similares a *A. contigua* (Fig. 3a) o *A. albofasciata* (Fig. 1a), pero con una tercera banda anterior y sin una mancha en forma de V en los "hombros". Algunos pocos *P. simulans* tienen las líneas transversas anaranjadas y son similares a *Prosapia* sp. cercana a *bicincta* (Fig. 7a), pero su ala no tiene el margen anterior anaranjado-rojizo y las características de la cabeza de esta especie.

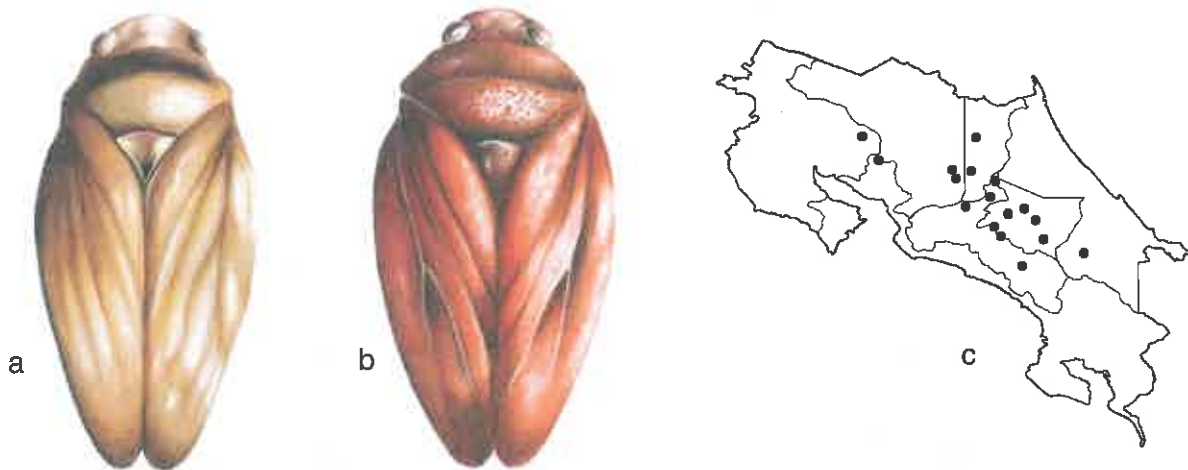


Figura 5. *Prosopia plagiata* macho de forma café (a) y hembra de forma roja (b), y su ubicación en Costa Rica (c).

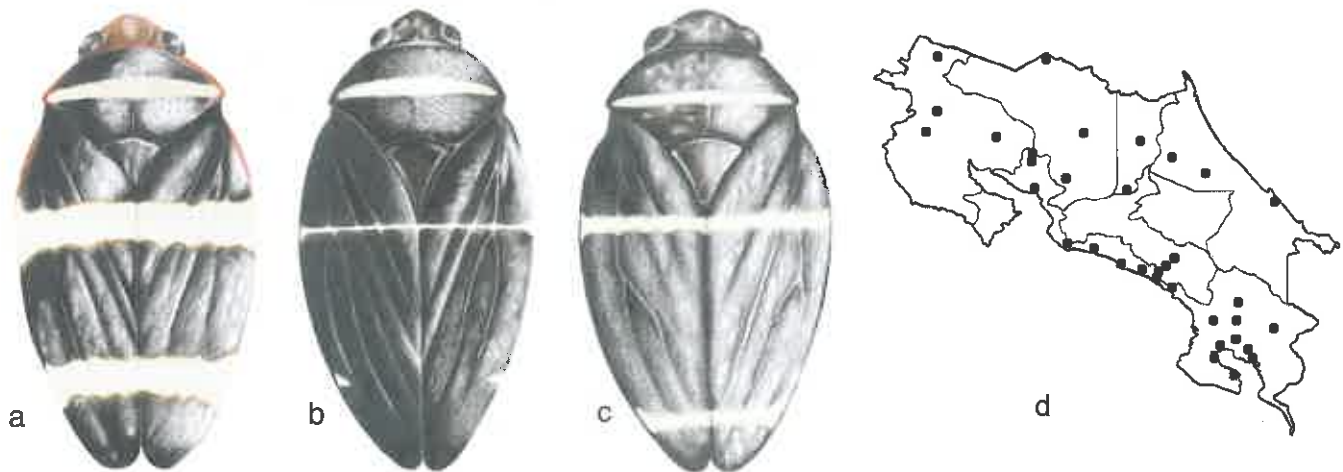
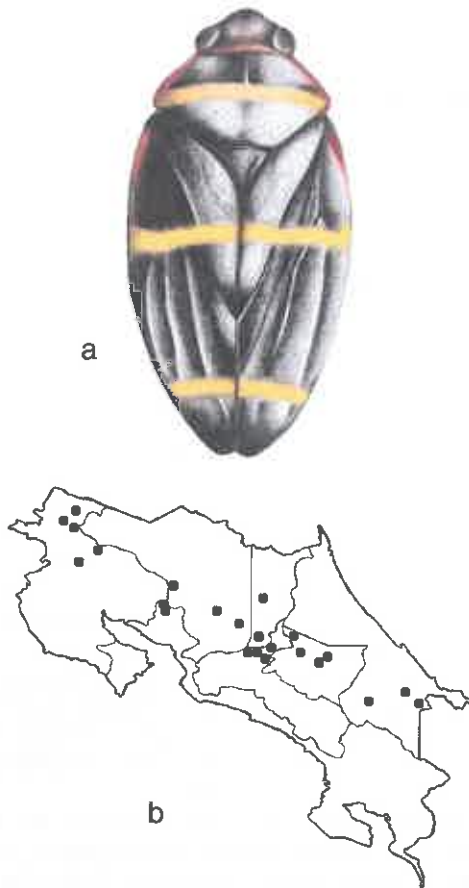


Figura 6. *Prosapia simulans* macho de forma típica (a), hembra de forma oscura (b), macho de forma oscura (c) y su ubicación en Costa Rica (d).

**-*Prosapia* sp., cercana a *bicincta* (Fig. 7a y b)**

Existe un cercópido taxonómicamente muy similar a la especie norteamericana *Prosapia bicincta*, considerada como uno de los mayores problemas en los pastizales del área de Monteverde (provincia de Puntarenas) (Peck 1998, 1999). También ha sido recolectada en otras localidades ubicadas en tierras altas (Fig. 7b). Como no tiene un nombre científico establecido, esta especie se designa temporalmente como *Prosapia* cercana a *bicincta*. Exhibe un dimorfismo sexual ligero pero consistente: las bandas dorsales transversales son un poco más anchas y de un color anaranjado más brillante en los machos que en las hembras. Tiene un fondo negro con tres líneas transversales sobresalientes, anaranjadas brillantes en machos, menos brillantes en hembras; 8-10 mm de largo. Las bandas de las hembras son más angostas que las de los machos. Ambos sexos tienen manchas anaranjadas-rojizas en los márgenes anteriores de las alas y en la cabeza, lo cual es diferente de cualquier otro salvazo de Costa Rica. A veces se puede confundir esta especie con *P. simulans* (Fig. 6a).



**Figura 7.** Especie no descrita, cercana a *P. plagiata* (a) y su ubicación en Costa Rica (b).

**-*Prosapia* sp., cercana a *plagiata* (no hay figura)**

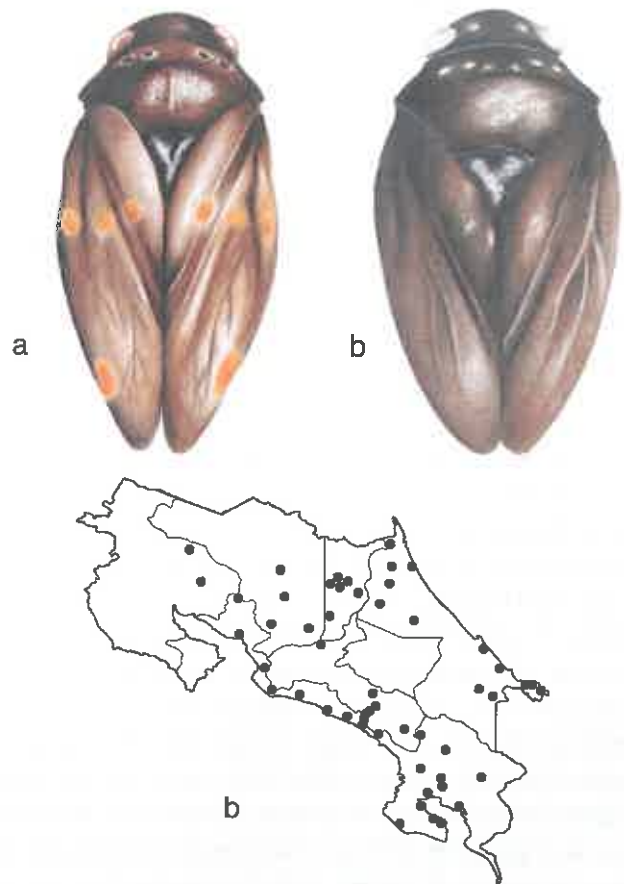
Una especie no descrita muy similar a *P. plagiata* alcanza poblaciones a nivel de plaga en pastos en tierras altas en una área limitada cerca de San Vito de Coto Brus (provincia de Puntarenas).

**El género *Zulia***

Este género se distribuye desde Costa Rica hasta Ecuador e incluye plagas de importancia en pastizales en Colombia (Calderón et al. 1982, Peck 2001). En Costa Rica, solo existe una especie considerada como plaga en caña de azúcar y pastos.

**-*Zulia vilior* (Fowler) (Fig. 8a, b y c)**

Esta especie ha sido recolectada solo en Costa Rica (Fig. 8c); sin embargo, probablemente ocurre también en regiones adyacentes de Panamá y Nicaragua. *Z. vilior* es muy común en pastizales en muchas partes de Costa Rica, pero está ausente en las tierras altas y muy escasa en la provincia de Guanacaste. Tanto las hembras como los machos son sutilmente polimórficos



**Figura 8.** *Zulia vilior* macho con manchas anaranjadas (a) y hembra sin manchas anaranjadas (b) y su distribución en Costa Rica (c).

en coloración dorsal, con mucha variación en las dos bandas transversas de manchas anaranjadas. Muchos individuos son enteramente café o negro-café (Fig. 8b), otros tienen las bandas pronunciadas y algunos son intermedios (Fig. 8a). En unos pocos individuos las manchas anaranjadas se unen para formar líneas transversas completas. También hay dimorfismo sexual en cuanto al tamaño y el color de fondo. Por lo general, las hembras son más grandes y oscuras que los machos. A veces se puede confundir las hembras de esta especie con las hembras oscuras de *P. simulans* (Fig. 6b) o los machos de esta especie (sin manchas anaranjadas) con los machos de color café de *P. plagiata* (Fig. 5a).

### Discusión

Los esfuerzos realizados para controlar los salivazos en Costa Rica han sido obstaculizados por la carencia de información clara sobre la distribución e identificación de las especies involucradas. Los mapas e identificaciones presentados aquí deberían facilitar el trabajo de los entomólogos y agrónomos de la región.

Sin embargo, quedan algunas preguntas sin resolver. Los nombres científicos exactos de dos de las nueve especies incluidas aquí requieren más investigación. Sin duda, los mapas de distribución no son completos. Cuando dos o más especies se encuentran juntas en números apreciables, no se cuenta con información precisa acerca de la intensidad del daño que ocasiona cada una al cultivo. No se sabe tampoco cómo pueden variar los protocolos de control para las diferentes especies en el campo, lo cual requiere más estudio por parte de los agrónomos.

Al final queda una observación intrigante. En muchos de los sitios de recolección de salivazos en la zona atlántica de Costa Rica estos fueron comunes en el césped pero muy escasos o totalmente ausentes en pastizales de los alrededores. Esta situación se presentó en Turrialba, Siquirres, Puerto Viejo (Heredia), Puerto Viejo (Limón) y Westfalia. Los pastizales en la zona atlántica rara vez sufren ataques serios por salivazos (J.L. Saunders, comunicación personal). Aparentemente, esta zona cuenta con un adecuado control natural, o bien, existen diferencias sutiles en las plantas hospedantes y se da una supresión de poblaciones de la plaga en pastizales localizados en estas áreas, pero no así en el césped. Este fenómeno merece ser investigado con más atención, puesto que podría ofrecer ideas útiles para el control de los salivazos.

### Agradecimientos

Este trabajo está basado en una conferencia dada en el Segundo Congreso Centroamericano y del Caribe de Entomología, 17-21 de julio de 1995, San José, Costa Rica. Nos gustaría agradecer a las siguientes organizaciones que facilitaron colecciones o el acceso a sitios de recolección: Museo de Historia Natural (Museo Británico), CATIE, DIECA, Field Museum, Azucarera CATSA, Azucarera El Viejo, Finca Santa Fe La Fama, Finca La Palma, Finca Taboga, INBio, MAG-INTA, Museo de Insectos de la UCR, y la Organización para Estudios Tropicales.

Además, agradecemos el apoyo y la cooperación de las siguientes personas: Daniel Alfaro, Francisco Badilla, Devin Biggs, Lynn Carpenter, Marco Chacón, Daniel Coto, Carolina Godoy, Luis Diego Gómez, Juan Hernández, Gail Hewson, Ruth Moscovitch, Harry Nelson (q.d.g.e.), Rodrigo Oviedo, George Patterson, Daniel Peck, Carlos Sáenz, Joseph Saunders (q.d.g.e.), Fermín Subiroz, Mick Webb, Bruce Young y a todos aquellos productores que generosamente dieron permiso para recolectar en sus propiedades. Se agradece a la Universidad de Roosevelt por el permiso y apoyo de la investigación de campo durante el segundo semestre de 1994. Un agradecimiento especial a Humberto J. Lezama por la diagramación de los salivazos, confección de los mapas y sugerencias realizadas. A Paul Hanson por las sugerencias oportunas y la traducción al español. Finalmente, se agradece a FITTACORI (Fundación para la Investigación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria) por el financiamiento para la confección de los dibujos.

### Literatura citada

- Allard, GB. 1987. Prospects for the biocontrol of the sugarcane frog hopper with particular reference to Trinidad. *Biocontrol News and Information* 8:105-115.
- Badilla F, F. 2002. Un programa exitoso de control biológico de insectos plaga de la caña de azúcar en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 64:77-87.
- \_\_\_\_\_; Toledo, JC, Barreno, C. 1996. Patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* en adultos de la "chinche salivosa" *Aeneolamia albofasciata* y *Prosapia* spp. (Homoptera: Cercopidae) en caña de azúcar en Escuintla, Guatemala. *Manejo Integrado de Plagas* 42:39-44.
- Calderón, M; Arango, G; Varela, FA. 1982. Cercópodos Plagas de los Pastos en América Tropical. *Biología y Control. Guía de Estudio*. Cali, CO, Centro Internacional de Agricultura Tropical. 51 p.
- Clark, WE; Ibarra-Díaz, GE; Van Cleave, H.W. 1976. Taxonomy and biology of spittlebugs of the genera *Aenolamia* Fennah and *Prosapia* Fennah (Cercopidae) in Northeastern Mexico. *Folia Entomológica Mexicana* 34:13-24.
- Coronado, R; Sosa, E. 1966. Campaña contra la mosca pinta y la escama algodonosa de los pastos. *Fitófilo* 50:5-52.
- Fagan, EB; Picado, OV. 1971. The influence of adult *Prosapia distantis* feeding on the forage quality of kikuyugrass in Costa Rica. *Turrialba* 21:181-183.
- Fernández, M; Ramos, A. 1986. Biología de *Prosapia (Monecphora) bicincta fraterna* (Homoptera: Cercopidae) en caña de azúcar y pasto. *Revista de Protección Vegetal (Cuba)* 1:43-50.
- Fewkes, DW. 1969. The control of frog hoppers in sugar cane plantations. In Cane, JR; Williams, JR; Metcalfe, RW; Mathes, R. eds. *Pests of Sugar*. Amsterdam, NL, Elsevier. p. 309-324.

- Grimm, C. 2001. Economic feasibility of a small-scale production plant for entomopathogenic fungi in Nicaragua. *Crop Protection* 20:623-630.
- Guagliumi, P. 1962. Las Plagas de la Caña de Azúcar en Venezuela. Maracay, VE, Ministerio de Agricultura y Cría, Centro de Investigaciones Agronómicas.
- Jiménez, JA. 1978. Estudios tendientes a establecer el control integrado de las salivitas de los pastos. *Revista Colombiana de Entomología* 4:19-33.
- Martin, RM; Cox, JR; Alston, DG; Ibarra F, F. 1995. Spittlebug (Homoptera: Cercopidae) life cycle on buffelgrass in north-western Mexico. *Annals of the Entomological Society of America* 88:471-478.
- Miles, JW; Lapointe, SL; Escandón, ML; Sotelo, G. 1995. Inheritance of resistance to spittlebug (Homoptera: Cercopidae) in interspecific *Brachiaria* spp. hybrids. *Journal of Economic Entomology* 88:1477-1481.
- Monzon, A. 2002. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 63:95-103.
- Peck, DC. 1998. Natural history of the spittlebug *Prosapia* nr. *bicincta* (Homoptera: Cercopidae) in association with dairy pastures of Costa Rica. *Annals of the Entomological Society of America* 91:435-444.
- \_\_\_\_\_. 1999. Seasonal fluctuations and phenology of *Prosapia* spittlebugs (Homoptera: Cercopidae) in upland pastures of Costa Rica. *Environmental Entomology* 28:372-386.
- \_\_\_\_\_. 2001. Diversidad y distribución geográfica del salivazo (Homoptera: Cercopidae) asociado con gramíneas en Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología* 27:129-136.
- \_\_\_\_\_. 2002. Distribución y reconocimiento del salivazo de los pastos (Homoptera: Cercopidae) en la Costa Caribe de Colombia. *Pasturas Tropicales* 24:4-15.
- \_\_\_\_\_; Pérez, AM; Medina, JW. 2002. Biología y hábitos de *Aeneolamia reducta* y *A. lepidior* en la Costa Caribe de Colombia. *Pasturas Tropicales* 24:16-26.
- \_\_\_\_\_. 1998. Natural history of the spittlebug *Prosapia* nr. *bicincta* (Homoptera: Cercopidae) in association with dairy pastures of Costa Rica. *Annals of the Entomological Society of America* 91:435-444.
- Pickles, A. 1942. A discussion of researches on the sugar-cane froghopper (Homop., Cercopidae). *Tropical Agriculture* 19:116-123.
- Salazar B, JD; Badilla F, F. 1997. Evaluación de dos cepas del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* y seis insecticidas granulados en el control de salivazo (*Aeneolamia postica*) (Hom: Cercopidae) en caña de azúcar en la región de San Carlos. *Manejo Integrado de Plagas* 43:9-18.
- Salguero-Navas, VE; Hidalgo, HH; Ortega, J. 2000. Economic injury level for adult froghoppers, *Aeneolamia* spp. (Hemiptera: Cercopidae), in sugarcane in Guatemala. In Allsopp, PG; Suasaard, W. eds. *ISSCT Sugarcane Entomology Workshop* (4, 2000, Khon Kaen, Thailand). Proceedings. Brisbane, AU, International Society of Sugar Cane Technologists. p. 91-95.
- Thomas, D; Lapointe, S. 1989. Testing new accessions of Guinea grass (*Panicum maximum*) for acid soils and resistance to spittlebug (*Aeneolamia reducta*). *Tropical Grasslands* 23:232-239.
- Thompson, V. 1997. Spittlebugs nymphs (Homoptera: Cercopidae) in *Heliconia* flowers (Zingiberales: Heliconiaceae): Preadaptation and evolution of the first aquatic Homoptera. *Revista de Biología Tropical* 45:905-912.
- \_\_\_\_\_. 2004. Associative nitrogen fixation, C4 photosynthesis, and the evolution of spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae) as major pests of Neotropical sugar cane and forage grasses. *Bulletin of Entomological Research* 94: 189-200.
- Tigano-Milani, MS; Gomes, ACMM; Sobral, BWS. 1995. Genetic variability among Brazilian isolates of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 65:206-210.
- Toriello, C; Mier, T. 1985. Panorama general de los hongos entomofitiales en el control biológico de la mosca pinta en México. *Revista Mex. Mic.* 1:37-50.
- Vargas Picado, O. 1970. Estudio sobre la baba de culebra, *Prosapia distantis* (Homoptera: Cercopidae) y un ensayo sobre su combate en el pasto Kikuyo (*P. clandestinum* Hochst.). Tesis. San José, CR, Universidad de Costa Rica.

# Produtos naturais e sintéticos no controle do bicho-mineiro-do-cafeeiro *Leucoptera coffeella* e seus efeitos sobre a vespa predadora *Polybia scutellaris*

José Marcos A. Mendonça<sup>1</sup>  
Geraldo A. Carvalho<sup>2</sup>  
Paulo R. Reis<sup>3</sup>  
Rubens J. Guimarães<sup>1</sup>  
Luiz Carlos D. Rocha<sup>2</sup>

**RESUMO.** A utilização indiscriminada de inseticidas de amplo espectro para o controle do bicho-mineiro-do-cafeeiro (BMC) *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet) (Lepidoptera: Lyonetiidae) é responsável por grandes desequilíbrios ecológicos. Objetivou-se, neste trabalho, avaliar em laboratório os produtos naturais extrato pirolenhoso (Biopiról<sup>®</sup> a 2%, 4%, 8% e 16%) e óleo emulsionável de nim (Nim-I-Go<sup>®</sup> a 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1%) e os inseticidas lambdacyhalothrin (Karatê Zeon 50 CS - 0,01 mg i.a. ml<sup>-1</sup>) e ethion (Ethion RPA - 1,5 mg i.a. ml<sup>-1</sup>), sobre lagartas do BMC e adultos da vespa predadora *Polybia scutellaris* (White) (Hymenoptera: Vespidae). Folhas minadas coletadas em campo foram levadas para laboratório, onde se procedeu à separação de minas intactas do BMC que foram pulverizadas. Vespas foram capturadas em ninhos no campo, levadas ao laboratório e tratadas com os produtos por meio de pulverização direta da calda ou incorporação no alimento. Constatou-se que, em todas as concentrações e formas de contaminação testadas, Biopiról<sup>®</sup> e Nim-I-Go<sup>®</sup> foram pouco tóxicos ao BMC e à vespa predadora. Ethion mostrou-se mais tóxico que lambdacyhalothrin às lagartas do BMC. Quando pulverizados sobre as vespas, os inseticidas ethion e lambdacyhalothrin foram mais tóxicos, comparados aos produtos naturais e a testemunha. Observou-se um efeito de choque maior quando os inseticidas ethion e lambdacyhalothrin foram pulverizados sobre os insetos em comparação à incorporação no alimento.

**Palavras chave:** bicho mineiro, cafeeiro, controle integrado, inseticidas naturais, seletividade.

**RESUMEN.** Productos naturales y sintéticos en el control del minador del café *Leucoptera coffeella* y sus efectos sobre la avispa depredadora *Polybia scutellaris*. La utilización indiscriminada de insecticidas de amplio espectro para el control del minador del café *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet) (Lepidoptera: Lyonetiidae) es responsable de grandes desequilibrios ecológicos. Así, el objetivo de este trabajo fue evaluar en el laboratorio productos naturales como el extracto pirolenhoso (Biopiról<sup>®</sup> a 2%, 4%, 8% y 16%) y aceite emulsionable de nim (Nim-I-Go<sup>®</sup> a 0,25%; 0,5%; 0,75% y 1%) y los insecticidas lambdacihalotrín (Karatê Zeon 50 CS - 0,01 mg i.a. ml<sup>-1</sup>) y etión (Ethion RPA - 1,5 mg i.a. ml<sup>-1</sup>), sobre larvas de *L. coffeella* y adultos de la avispa depredadora *Polybia scutellaris* (White) (Hymenoptera: Vespidae). Biopiról<sup>®</sup> y Nim-I-Go<sup>®</sup> en todas las concentraciones y en las diferentes formas de aplicación (directa y por alimentación) fueron poco tóxicos para *L. coffeella* y la avispa depredadora. Etión fue más tóxico que lambdacihalotrín sobre las larvas de *L. coffeella*. En aplicaciones directas sobre la avispa, etión y lambdacihalotrín fueron más tóxicos que los productos naturales. El “efecto de choque” fue mayor en los insecticidas etión y lambdacihalotrín en aplicación directa en comparación con su incorporación al alimento.

**Palabras clave:** cafeto, control integrado, insecticidas naturales, minador del cafeto, selectividad.

<sup>1</sup> Depto. de Fitotecnia da UFPA. C.P. 3037, CEP 37.200-000, Lavras, MG, Brasil. jose.marcos@posgrad.ufpa.br; rubensjg@ufpa.br

<sup>2</sup> Depto. de Entomologia da UFPA. C.P. 3037, CEP 37.200-000, Lavras, MG, Brasil. gacarval@ufpa.br; luizufpa@gmail.com

<sup>3</sup> Epamig-CTSM/EcoCentro, Campus da UFPA, Brasil. rebelles@ufpa.br

**ABSTRACT.** Natural and synthetic products in the control of the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* and their effects on the predatory wasp *Polybia scutellaris*. The intensive use of broad spectrum pesticides to control the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet) (Lepidoptera: Lyonetiidae) has been shown to reduce natural biological control of this pest in coffee plantations. The objective of our research was to evaluate the effects of the natural products Biopiról® (2%, 4%, 8%, 16%) and Nim-I-Go® (0.25%, 0.50%, 0.75%, 1%), and of the synthetic insecticides lambdacyhalothrin (Karatê Zeon 50 CS - 0.01 mg a.i. ml<sup>-1</sup>) and ethion (Ethion RPA - 1.5 mg a.i. ml<sup>-1</sup>) on *L. coffeella* larvae and on adults of the predatory wasp *Polybia scutellaris* (White) (Hymenoptera: Vespidae). Biopiról® and Nim-I-Go®, in all concentrations and manners of application (direct and through feeding), were not very toxic to the wasps. Regarding the synthetic insecticides, ethion was more toxic than lambdacyhalothrin. When sprayed over the wasps, the pesticides ethion and lambdacyhalothrin were more toxic in comparison with the natural products. A greater shock effect was verified when ethion and lambdacyhalothrin were sprayed over the wasps in comparison with food application of these insecticides.

**Key words:** coffee plant, integrated control, leaf miner, natural insecticides, selectivity.

## Introdução

O bicho-mineiro-do-cafeeiro (BMC) pode ser responsável por grandes prejuízos na produtividade do cafeeiro, além de causar redução da longevidade das plantas devido à acentuada desfolha (Moraes 1998, Reis et al. 2002). A implementação de métodos para o controle de determinada praga deve ser criteriosa, de modo que um método não interfira negativamente sobre o resultado do outro. Essa situação pode ocorrer em lavouras cafeeiras, quando se realiza o controle do BMC *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet) (Lepidoptera: Lyonetiidae) com inseticidas de largo espectro de ação os quais influenciam a atuação dos inimigos naturais da praga.

O uso indiscriminado de produtos com essa característica, além de ser responsável por desequilíbrios ecológicos em agroecossistemas (Antônio et al. 2000, Bacci et al. 2000, Gontijo et al. 2000), promove a seleção de insetos-praga resistentes a inseticidas (Fragoso et al. 2002a) e a ocorrência danosa de pragas consideradas secundárias (Moraes 1998, Fragoso et al. 2002b).

O controle biológico do BMC é realizado naturalmente por meio da atuação de vespas predadoras, parasitóides e entomopatógenos, sendo que no Brasil, em Minas Gerais, já foram constatados níveis de eficiência em torno de 69% para vespas predadoras, 18% para os parasitóides (Reis & Souza 1986) e, em menor proporção, pelos entomopatógenos das espécies *Erwinia herbicola* (Enterobacteriaceae) e *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula (Pseudomonadaceae) (Reis et al. 2002).

Alguns trabalhos vêm sendo realizados para descobrir produtos naturais que controlem as pragas de culturas importantes como café, eucalipto, mandioca e milho (Dionízio et al. 2000, Galvan et al. 2000a,

Gonçalves et al. 2001, Prates et al. 2003, Silva et al. 2005) e que sejam seletivos aos seus inimigos naturais. Em lavouras cafeeiras, o controle biológico pode apresentar-se muito eficiente (Reis & Souza 1986), quando o manejo do agroecossistema é conduzido adequadamente, permitindo o estabelecimento e a atuação dos inimigos naturais das pragas.

Desta forma, objetivou-se verificar a eficiência dos produtos naturais Biopiról® e Nim-I-Go® e dos inseticidas sintéticos lambdacyhalothrin e ethion sobre o bicho-mineiro-do-cafeeiro e seus efeitos sobre a vespa predadora *Polybia scutellaris* (White) (Hymenoptera: Vespidae), em condições de laboratório.

## Material e métodos

Os bioensaios foram realizados em condições de laboratório e os produtos naturais e sintéticos utilizados nos bioensaios foram: extrato pirolenhoso (Biopiról® - 2, 4, 8 e 16%); óleo emulsionável de nim (Nim-I-Go® - 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0%); lambdacyhalothrin (Karatê Zeon 50 CS® - 0,01 mg de i.a. /ml) e ethion (Ethion RPA® - 1,5 mg de i.a./ml). Utilizou-se somente água no tratamento testemunha.

## Eficiência de produtos naturais e sintéticos no controle do BMC

Para a realização do bioensaio, folhas minadas de cafeeiro foram coletadas em uma lavoura da cultivar Catuaí Vermelho, recapeada há oito anos e isenta de produtos fitossanitários por dois anos, localizada na Fazenda Muquém, Lavras, Minas Gerais e levadas para laboratório, onde se procedeu à separação das minas intactas do BMC, originando fragmentos foliares cada um contendo uma mina intacta.

Os fragmentos de folhas receberam na face superior uma pulverização da calda dos produtos, com o auxílio de um pulverizador manual com capacidade para 0,5 L. Realizou-se a calibragem do pulverizador conforme recomendação da “Internacional Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants (IOBC)” (Hassan 1997), assegurando uma aplicação de  $1,5 \pm 0,5$  mg de calda/cm<sup>2</sup>.

Em seguida, os fragmentos foliares contendo as minas foram colocados sobre uma placa de vidro de aproximadamente 25 cm de diâmetro e mantidos em condições ambientais, para o escorrimento e secagem da calda, por um período de duas horas. Após este intervalo, os fragmentos foliares contendo as minas do BMC foram acondicionados em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, previamente forradas com papel-filtro, e mantidos à temperatura de  $25 \pm 2$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12h. Cada parcela foi constituída de uma placa de Petri com oito fragmentos de folhas de cafeeiro contendo minas do BMC.

O bioensaio foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso, em esquema fatorial (11 x 2), com dez produtos e uma testemunha (primeiro fator) e duas épocas de avaliação, as 24 e 48 horas após a aplicação dos produtos (segundo fator), em quatro repetições, totalizando-se 88 parcelas.

Nas avaliações efetuou-se a contagem do número total de lagartas vivas e mortas por parcela, com o auxílio de um microscópio estereoscópico (40x). Em seguida, foram obtidos os valores da porcentagem de lagartas mortas, com base nos dados de contagem de lagartas.

#### **Efeito de produtos naturais e sintéticos sobre vespas predadoras**

Vespas da espécie *P. scutellaris* foram coletadas em condições naturais na região de Lavras, Minas Gerais, com o auxílio de uma gaiola de cloreto de polivinila (PVC) de 15 cm de diâmetro por 10 cm de altura, fechada em um dos lados com filó e no outro, com uma manga de 50 cm de comprimento, confeccionada em tecido organza. Imediatamente após a captura, os insetos foram levados para laboratório, onde foram anestesiados em CO<sub>2</sub> por 90 segundos, com vazão de 10 L/minuto, acoplado-se a gaiola a um funil de Buckner.

O tratamento dos insetos foi dividido em duas etapas, realizadas com grupos distintos de insetos, sendo que na primeira, os produtos foram pulve-

rizados sobre os predadores e, na segunda, foram incorporados ao seu alimento (pasta “Candy”). A pulverização dos produtos foi realizada utilizando-se um pulverizador manual com a capacidade para 0,5 L, aplicando-se  $1,5 \pm 0,5$  mg de calda/cm<sup>2</sup>, nas dosagens descritas anteriormente. Para a contaminação do alimento (pasta “Candy”), os produtos foram incorporados (por meio de mistura) em 5 ml de mel puro e, posteriormente, adicionados a 25 g de açúcar de confeitiro. As dietas contaminadas com os compostos foram servidas *ad libitum* em recipientes plásticos de 3 cm de diâmetro por 0,5 cm de altura, que foram distribuídos no fundo das gaiolas.

Em seguida, as vespas foram colocadas dentro de gaiolas de PVC de 15 cm de diâmetro por 10 cm de altura, forradas com organza, cobertas com um tecido tipo filó preso por borrachas elásticas e mantidas em laboratório sob temperatura de  $25 \pm 2$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12h.

Ao término da montagem do ensaio, foi posicionado um chumaço de algodão umedecido em água destilada, sobre todas as gaiolas, durante o período de avaliação. Nas gaiolas onde se encontravam os insetos que foram pulverizados, além do algodão, foi colocada uma porção de pasta “Candy” sem a adição de qualquer outro produto além dos ingredientes básicos, sobre a cobertura da gaiola, de maneira que os insetos pudessem ingerir água e alimento quando necessário.

O bioensaio foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso, em esquema fatorial (11 x 2), sendo dez produtos e uma testemunha (primeiro fator) e duas formas de contato com as vespas, em pulverização e incorporação ao alimento (segundo fator), em cinco repetições, totalizando-se 110 parcelas.

Realizaram-se observações 1h, 3h, 6h, 12h, 24h, 36h e 48h após o contato das vespas com os produtos, contabilizando-se o número de insetos mortos.

#### **Análises estatísticas dos dados**

Antes de serem submetidos ao teste de *F*, os dados experimentais foram analisados pelos testes de Bartlett e de Levene com o auxílio do programa estatístico Minitab, para o teste de homogeneidade das variâncias e então, foram analisados pelo programa estatístico Sisvar. As médias dos tratamentos qualitativos submetidos ao teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% de significância (Scott & Knott 1974) e o efeito do intervalo de avaliação, em horas, à análise de regressão, quando necessário.



## Resultados e Discussão

### Influência de produtos naturais e sintéticos na sobrevivência de lagartas do BMC

Foram observadas diferenças na mortalidade das lagartas do BMC em função dos tratamentos avaliados. Ethion proporcionou mortalidade significativamente maior que os demais tratamentos, inclusive quando comparado ao outro inseticida sintético utilizado, lambdacyhalothrin. Contudo, constatou-se que a mortalidade obtida com o referido produto foi relativamente baixa (41,5%)<sup>2</sup> (Tabela 1).

**Tabela 1.** Mortalidade (%) de lagartas de *Leucoptera coffeella* presentes em minas submetidas à pulverização com os produtos, em condições de laboratório

Tratamentos	Mortalidade (%) <sup>(2)</sup>
Extrato pirolenhoso (Biopiro <sup>®</sup> )	
2%	16,7 b
4%	5,6 a
8%	9,2 a
16%	18,1 b
Óleo emulsionável de nim (Nim-I-Go <sup>®</sup> )	
0,25%	13,4 b
0,5%	17,2 b
0,75%	7,7 a
1%	15,7 b
Lambdacyhalothrin (Karatê Zeon 50 CS – 0,01 mg i.a./ml)	16,9 b
Ethion (Ethion RPA – 1,5 mg i.a./ml)	41,5 c
Testemunha	8,4 a

<sup>(2)</sup> Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p > 0,05$ ) (Scott & Knott 1974).

O contato dos organofosforados, dentre eles ethion, com as lagartas do BMC se dá pela movimentação translaminar do composto pelo tecido foliar vivo. Por esse motivo, aliado ao deslocamento da lagarta e conseqüente crescimento da mina, as lagartas entram em contato com o inseticida e morrem. Nesse bioensaio, o período de acompanhamento foi de apenas 48 horas, não sendo constatado aumento no tamanho das minas, podendo ser esse fato, responsável pela menor mortalidade observada no tratamento com ethion.

A aplicação de lambdacyhalothrin sobre as minas do BMC, pode ter contribuído para a baixa mortalidade das lagartas em condições de laboratório (16,9%), uma vez que a maior contaminação das lagartas do BMC pelos piretróides ocorre logo após a eclosão das lagartas, no momento que essas perfuram a epiderme

adaxial das folhas de cafeeiro. Após a pulverização de lambdacyhalothrin sobre as plantas de cafeeiro em campo, ocorre uma distribuição do produto sobre as folhas, permanecendo por um período longo, aproximadamente 50 a 60 dias (Gallina et al. 1990). Assim, as lagartas se contaminam no momento inicial da abertura da mina, tornando seu efeito reduzido sobre lagartas dentro de minas já estabelecidas.

Biopiro<sup>®</sup> a 2% e 16% e todas as concentrações de Nim-I-Go<sup>®</sup> exceto 0,75%, proporcionaram pequenas variações na mortalidade do BMC. Contudo, não apresentaram índices de mortalidade satisfatórios, quando comparados ao inseticida padrão ethion no período de avaliação utilizado (Tabela 1).

A eficiência de soluções aquosas de óleo emulsionável de sementes de nim (ACE-Nim EC) sobre a eclosão de lagartas e oviposição do BMC, foi avaliada por Martinez et al. (2001) e Martinez & Meneguim (2003), que constataram redução de 52% e 61,5% na oviposição do BMC em folhas pulverizadas com soluções aquosas de óleo emulsionável de sementes de nim (0,125% e 2,5%, respectivamente) e que soluções aquosas de folhas de nim (20% e 40%) inibiram, em média, até 60% da oviposição da praga. Foi observada, também, uma ação letal das soluções a 20% e 40% de folhas de Nim sobre os ovos depositados na superfície das folhas do cafeeiro. No entanto, Venzon et al. (2005) não obtiveram diferenças significativas em plantas tratadas com extratos de Nim (Neem Azal<sup>®</sup> –T/S) a 1% quanto ao número de ovos colocados pelo BMC, em plantas dispostas em gaiolas.

### Toxicidade de produtos naturais e sintéticos quando pulverizados sobre vespas ou incorporados à dieta

A interação entre os tratamentos e as formas de contato com as vespas foi significativa, ou seja, para ambas as formas de contaminação às quais as vespas foram submetidas, ocorreram diferentes respostas de mortalidade, evidenciando que a forma de aplicação do produto pode interferir no seu efeito sobre as vespas predadoras. Verificou-se, ainda, que apenas Biopiro<sup>®</sup> a 4% e lambdacyhalothrin comportaram-se de modo diferente nas duas formas de contaminação testadas, causando percentagens de mortalidades superiores quando pulverizados, com valores de 28,0 e 80,0%, respectivamente (Tabela 2).

O organofosforado ethion foi o produto que causou maior mortalidade das vespas, tanto incorporado à dieta das vespas quanto pulverizado sobre elas, ao final do período de 48 horas. Lambdacyhalothrin e

Biopiról® na concentração de 16%, quando incorporados à dieta, foram responsáveis por índices de mortalidade elevados, diferindo significativamente da testemunha. As concentrações de 2, 4 e 8% do Biopiról® e todas as concentrações de Nim-I-Go®, incorporados à dieta, foram inócuas à vespa predadora (Tabela 2).

No presente trabalho, não foram evidenciados quaisquer indícios da ação anti-alimentar sobre os adultos das vespas. A baixa mortalidade observada quando os compostos foram incorporados à dieta das vespas não se repetiu para todos os produtos quando os mesmos foram pulverizados sobre os adultos (Tabela 2). Constatou-se que ethion foi o mais tóxico e provocou 100% de mortalidade. Lambdacyhalothrin proporcionou mortalidade de 80% dos insetos, significativamente superior a todas as concentrações dos produtos naturais testados e superior ainda ao tratamento em que se incorporou o piretróide à dieta das vespas.

**Tabela 2.** Mortalidade (%) de vespas predadoras *Polybia scutellaris* por produtos naturais e sintéticos, sob duas formas de contaminação, após 48 horas

Tratamentos	Mortalidade <sup>(2)</sup>	
	Dieta	Pulverização
Extrato pirolenhoso (Biopiról®)		
2%	2,0 aA	6,0 aA
4%	12,0 aB	28,0 bA
8%	6,0 aA	10,0 aA
16%	22,0 bA	22,0 bA
Óleo emulsionável de nim (Nim-I-Go®)		
0,25%	12,0 aA	8,0 aA
0,5%	8,0 aA	4,0 aA
0,75%	12,0 aA	18,0 bA
1%	12,0 aA	8,0 aA
Labdacyhalothrin (Karatê Zeon 50 CS – 0,01 mg i.a./ml)	30,0 bB	80,0 cA
Ethion (Ethion RPA – 1,5 mg i.a./ml)	100,0 cA	100,0 dA
Testemunha	10,0 aA	10,0 aA

<sup>(2)</sup> Médias seguidas pela mesma letra, minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p > 0,05$ ) (Scott & Knott 1974).

A ação tóxica de ethion observada no presente trabalho à vespa *P. scutellaris* também foi constatada por outros pesquisadores. Bacci et al. (2000) demonstraram que ethion foi altamente tóxico, tanto na dosagem recomendada (1,5625 mg i.a./ml) quanto na meia dosagem para *Protonectarina sylveirae* (Saussure) (Hymenoptera: Vespidae), uma outra espécie de vespa predadora do BMC. Carvalho et al. (2004) tam-

bém verificaram que ethion (750 g i.a./ha) foi prejudicial para vespas predadoras do BMC em condições de campo, com redução na porcentagem de folhas minadas logo após a aplicação desse composto.

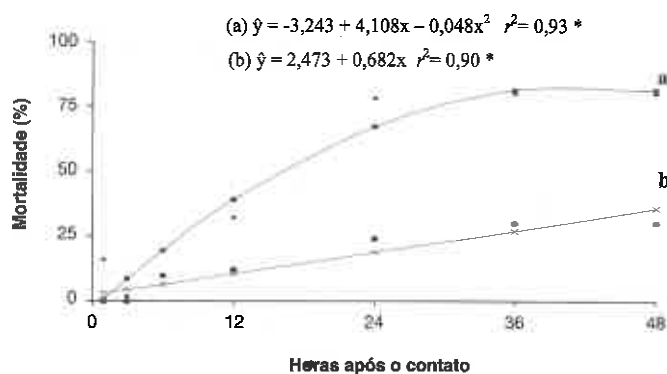
No entanto, avaliando a seletividade de inseticidas à espécie *Brachygastra lecheguana* (Latreille) (Hymenoptera: Vespidae), também predadora do BMC, Antônio et al. (2000) observaram que ethion (2,5 mg i.a./ml) apresentou-se seletivo, promovendo mortalidade de aproximadamente 9%, enquanto chlorpirifos (2,4 mg i.a./ml), dimethoate (2,4 mg i.a./ml), monocrotophos (1,5 mg i.a./ml), deltamethrin (0,0125 mg i.a./ml) e permethrin (0,25 mg i.a./ml) promoveram 100% de mortalidade.

Frágoso et al. (2001) também constataram a seletividade dos inseticidas ethion e disulfoton para vespas *B. lecheguana*, *Polybia paulista* (Ihering) (Hymenoptera: Vespidae) e *P. exigua*. Esses pesquisadores relataram que o inseticida disulfoton (0,08 µg i.a./cm<sup>2</sup>) foi ainda mais seletivo que o ethion (83,95 µg i.a./cm<sup>2</sup>), exceto para a espécie *B. lecheguana*, quando o produto comportou-se como levemente tóxico.

Essas diferenças de respostas de seletividade dos organofosforados para vespas, em relação ao presente trabalho, podem estar relacionadas a causas metodológicas adotadas nos trabalhos e também devido à utilização de espécies de vespas distintas para os estudos, uma vez que os mecanismos de resistência podem ser intrínsecos para cada espécie. Assim, são necessários estudos mais detalhados a fim de elucidar os mecanismos relacionados à seletividade e/ou capacidade tóxica desse grupo de compostos às espécies de vespas predadoras.

A mortalidade das vespas obtida para as duas formas de contaminação pelo labdacyhalothrin apresentou diferenças significativas (Tabela 2). Esse fato pode ter sido ocasionado por uma maior quantidade do inseticida em contato com as vespas quando pulverizado, em comparação à sua incorporação ao alimento. Além disso, pode ter ocorrido um efeito inibitório na alimentação, quando o alimento foi contaminado com o inseticida e, até mesmo, uma capacidade das vespas em degradar o produto, visto que a quantidade ingerida pode ter sido pequena e a contaminação de forma gradativa.

A seletividade dos piretróides a predadores pode estar relacionada com a menor taxa de penetração desses inseticidas na cutícula do inseto (Guedes et al. 1992, Gusmão et al. 2000). Esse fato pode também estar relacionado com a maior mortalidade das vespas



**Figura 1.** Mortalidade (%) de *Polybia scutellaris* pela ação do inseticida lambdacyhalothrin, em duas formas de contaminação em função das horas após contato, onde (a) refere-se à pulverização sobre os insetos e (b) para o produto incorporado à dieta.

no tratamento com ethion, uma vez que o produto pode ter penetrado mais facilmente na cutícula dos insetos, atingindo o sistema nervoso central, levando a uma hiperexcitação nervosa e posteriormente a morte.

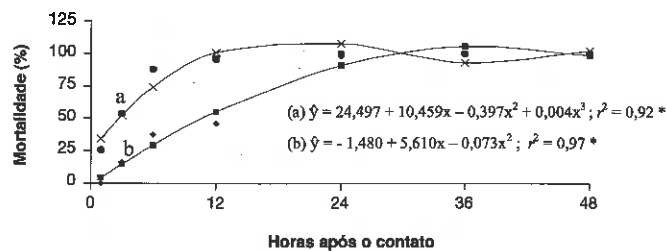
Para os demais compostos quando pulverizados, observou-se que a mortalidade das vespas não ultrapassou 28% (Tabela 2). Mesmo que as concentrações de 4% e 16% de Biopirof® e 0,75% de Nim-I-Go® tenham proporcionado valores de mortalidade significativamente maiores que o da testemunha, pode-se inferir que esses compostos foram pouco tóxicos aos predadores do BMC.

As duas formas de contato dos insetos com lambdacyhalothrin apresentaram diferenças significativas a partir das 12 horas após a contaminação com o produto, sendo que essa diferença foi constante até o final de período de avaliação, conforme evidenciado na Figura 1.

A diferença na mortalidade das vespas conferida pelas formas de contato com lambdacyhalothrin pode estar relacionada à quantidade de princípio ativo que atingiu os insetos, sendo maior quando esses foram pulverizados com as caldas inseticidas e menor quando alimentados com a dieta contaminada, conforme discutido anteriormente.

Para a mortalidade das vespas tratadas com ethion, constatou-se uma ação tóxica mais expressiva nas primeiras horas após a pulverização, quando comparada com sua incorporação na dieta, durante o mesmo período (Fig. 2).

Após 24 horas, em ambas as formas de contaminação, ethion mostrou-se altamente tóxico às vespas.



**Figura 2.** Mortalidade (%) de vespas predadoras *Polybia scutellaris* pela ação de ethion, em duas formas de contaminação em função das horas após contato, onde (a) refere-se à pulverização sobre os insetos e (b) à incorporação do produto na dieta.

A maior quantidade desse composto que atingiu as vespas quando em pulverização pode ser a responsável pela maior mortalidade nas primeiras horas após o contato dos insetos com esse produto (Fig. 2).

Estudando a toxicidade de alguns inseticidas sobre *P. sylveirae*, Bacci et al. (2000) constataram que ethion (1,56 mg i.a./ml) foi altamente tóxico, enquanto os piretróides fenvalerate (0,056 mg i.a./ml), esfenvalerate (0,003 mg i.a./ml) e zetacypermethrin (0,006 mg i.a./ml) mostraram-se seletivos.

A toxicidade de alguns inseticidas à vespa *Protopolybia exigua exigua* Saussure (Hymenoptera: Vespidae) foi estudada por Galvan et al. (2000b), que constataram mortalidade dos insetos nos tratamentos com os organofosforados chlorpirifos (3 mg i.a./ml), ethion (1,56 mg i.a./ml) e paration methyl (0,6 mg i.a./ml), tanto na dosagem recomendada para controle do BMC em campo, quanto para a meia dosagem. Estes trabalhos evidenciam a toxicidade de ethion sobre os predadores do BMC, e os resultados obtidos no presente estudo vêm confirmar tais observações.

A sobrevivência das vespas foi pouco afetada pelas concentrações de 4%, 8% e 16% do Biopirof® e 0,25%; 0,75% e 1% do Nim-I-Go®, não atingindo índices maiores que 25% (Fig. 3 e 4). Assim, pode-se inferir que esses dois produtos naturais, nas concentrações testadas, não provocaram a mortalidade da vespa *P. scutellaris*.

Durante o período de avaliação foi possível verificar que o extrato pirolenhoso (Biopirof®) e o óleo emulsionável de nim (Nim-I-Go®), nas concentrações testadas, foram pouco nocivos a *L. coffeella* e à vespa predadora *P. scutellaris*. Esse resultado possivelmente

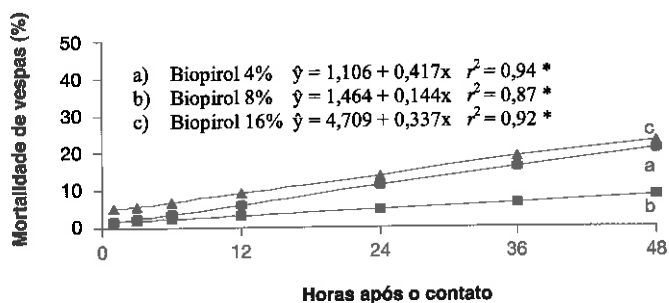


Figura 3. Mortalidade (%) de *Polybia scutellaris* pela ação do Biopiról®, em diferentes concentrações, em função das horas após contato.

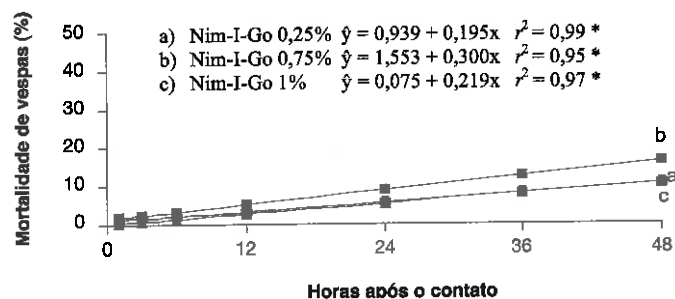


Figura 4. Mortalidade (%) de *Polybia scutellaris* pela ação de Nim-I-Go®, em diferentes concentrações em função das horas após contato.

se deve à não penetração desses compostos na epiderme da folha do cafeeiro, ao contrário do padrão ethion que possui esta característica já comprovada. Assim, os efeitos mais significativos do óleo emulsionável de nim e do extrato pirolenhoso, provavelmente, poderão ser comprovados se aplicados antes da oviposição, assim como ocorre com lambdacyhalothrin. O inseti-

cida organofosforado ethion foi tóxico às lagartas do BMC quando pulverizado sobre minas e também, às vespas predadoras, tanto quando pulverizado quanto incorporado ao seu alimento. Para o inseticida piretróide lambdacyhalothrin, verificou-se que foi tóxico às vespas quando pulverizado sobre essas e foi seletivo quando adicionado ao alimento.

## Literatura citada

- Antônio, AC; Picanço, MC; Picanço, M; Gusmão, MR; Gonring, AHR; Moura, MF. 2000. Seletividade fisiológica de inseticidas a *Brachygastra lecheguana* (Hymenoptera: Vespidae), predador do bicho-mineiro-do-cafeeiro. In Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (1, 2000, Poços de Caldas, MG, BR). Resumos expandidos. Brasília. EMBRAPA CAFE. p. 1235-1238.
- Bacci, L; Picanço, M; Semeão, AA; Silva, EM; Gontijo, LM. 2000. Seletividade de inseticidas a *Protonectarina sylveirae* (Saussure) (Hymenoptera: Vespidae), predador do bicho-mineiro do cafeeiro. In Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (1, 2000, Poços de Caldas, MG, BR). Resumos expandidos. Brasília. EMBRAPA CAFE. p. 1224-1227.
- Carvalho, GA; Miranda, JC; Vilela, FZ; Moura, AP; Moraes, JC. 2004. Impacto de inseticidas sobre vespas predadoras e parasitóides e sua eficiência no controle de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrotet, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae). Arquivos do Instituto Biológico 71:63-70.
- Dionízio, M; Picanço, M; Demuner, AJ; Barbosa, LCA; Semeão, AA; Simão, FR. 2000. Atividade inseticida do mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) ao bicho-mineiro-do-cafeeiro, *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). In Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (1, 2000, Poços de Caldas, MG, BR). Resumos expandidos. Brasília. EMBRAPA CAFE. p. 1260-1262.
- Fragoso, DB; Jusselino-Filho, P; Guedes, RNC; Proque, R. 2001. Seletividade de inseticidas a vespas predadoras de *Leucoptera coffeella* (Guér.-Mènev.) (Lepidoptera: Lyonetiidae). Neotropical Entomology 30:139-144.
- \_\_\_\_\_; Jusselino-Filho, P; Pallini-Filho, A; Badji, CA. 2002a. Ação de inseticidas organofosforados utilizados no controle de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae) sobre o ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). Neotropical Entomology 31:463-467.
- \_\_\_\_\_; Guedes, RNC; Picanço, MC; Zambolim, L. 2002b. Insecticide use and organophosphate resistance in the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). Bulletin of Entomological Research 92:203-212.
- Gallina, F; Cattaneo, SLF; Fabri, CE; Gartiri, J; Siqueira, D. 1990. Controle do bicho-mineiro-do-cafeeiro *Leucoptera coffeella* com lambdacyhalothrin e sua mistura com clorpirifós. In Congresso Brasileiro De Pesquisas Cafeeiras (16, 1990, Espírito Santo do Pinhal, BR). Resumos. Espírito Santo do Pinhal, BR, FAZMCG/IBC. p. 118.
- Galvan, TL; Picanço, M; Pereira, EJJ; Moreira, MD; Bacci, L. 2000a. Efeito inseticida de quatro plantas ao bicho-mineiro-do-cafeeiro *Leucoptera coffeella*. In Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (1, 2000, Poços de Caldas, MG, BR). Resumos expandidos. Brasília. EMBRAPA CAFE. p. 1231-1234.
- \_\_\_\_\_; Picanço, M; Antônio, AC; Gontijo, LM; Semeão, AA. 2000b. Seletividade de inseticidas à *Protonectarina exigua exigua* (Hymenoptera: Vespidae), predador do bicho-mineiro-do-cafeeiro. In Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (1, 2000, Poços de Caldas, MG, BR). Resumos expandidos. Brasília. p. 1239-1242.
- Gonçalves, MEC; Oliveira, JV; Barros, R; Lima, MPL. 2001. Extratos aquosos de plantas e o comportamento do ácaro verde da mandioca. Scientia Agricola 58:475-479.
- Gontijo, LM; Picanço, M; Gusmão, MR; Gonring, AHR; Moura, MF. 2000. Seletividade fisiológica de inseticidas

- a *Apoica pallens* (Hymenoptera:Vespidae), predador do bicho-mineiro do cafeeiro. In Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (1, 2000, Poços de Caldas, MG, BR). Resumos expandidos. Brasília. EMBRAPA CAFE. p. 1228-1230.
- Guedes, RNC; Lima, JOG; Zanuncio, JC. 1992. Seletividade dos inseticidas deltametrina, fenvalerato e fenitroton para *Podisus connexius* (Heteroptera: Pentatomidae). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 21:339-346.
- Gusmão, MR; Picanço, M; Gonring, AHR; Moura, MF. 2000. Seletividade fisiológica de inseticidas a vespidae predadores do bicho-mineiro-do-cafeeiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 35:681-686.
- Hassan, SA. 1997. Métodos padronizados para testes de seletividade, com ênfase em *Trichogramma*. In Parra, E; Zucchi, R. eds. *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Piracicaba, BR, FEALQ. p. 207-233.
- Martinez, SS; Meneguim, AM; Meneguim, JR. 2001. Redução da postura e da sobrevivência de ovos de *Leucoptera coffeella* (Guèr-Menev.) causadas por extratos de Nim. In Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (2, 2001, Vitória, ES, BR). Anais. Brasília. EMBRAPA CAFE. p. 2054-2061.
- \_\_\_\_\_; Meneguim, AM. 2003. Redução da oviposição e da sobrevivência de ovos de *Leucoptera coffeella* causadas pelo óleo emulsionável de nim. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología 67:58-62.
- Moraes, JC. 1998. Pragas do cafeeiro: importância e métodos alternativos de controle. Lavras, BR, UFLA/FAEPE. 45 p.
- Prates, HT; Viana, PA; Waquil, JM. 2003. Atividade de extrato aquoso de nim (*Azadirachta indica*) sobre *Spodoptera frugiperda*. Pesquisa Agropecuária Brasileira 38:437-439.
- Reis, PR; Souza, JC. 1986. Pragas do cafeeiro. In Rena, AB; Malavolta, E; Rocha, M; Yamada, T. eds. Cultura do cafeeiro: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba, BR, Potafos. p. 323-378.
- \_\_\_\_\_; Souza, JC; Venzon, M. 2002. Manejo das principais pragas do cafeeiro. Informe Agropecuário 23:83-99.
- Venzon, M; Rosado, MC; Fadini, MAM; Ciocioloa Jr., AC; Pallini-Filho, A. 2005. The potential of NeemAzal for the control of coffee leaf pests. Crop Protection 24:213-219.
- Scott, AJ; Knott, MA. 1974. A cluster analyses method for grouping means in the analyses of variance. Biometrics 30:507-512.
- Silva, AS; Zanetti, R; Carvalho, GA; Santos, A; Mattos, JOS. 2005. Preferência de formigas cortadeiras por mudas de eucalipto pulverizadas ou imersas em soluções de extrato pirolenhoso em diferentes concentrações. Scientia Florestalis 67:9-13.

# Micobiota epífita y contaminantes fungosos del establecimiento in vitro de *Eucalyptus grandis*

Mayra Acosta<sup>1</sup>  
Yelenys Alvarado<sup>1</sup>  
Mileidy Cruz<sup>1</sup>  
Michel Leiva<sup>1</sup>  
Luis Delgado<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Se evaluó cualitativamente la micobiota epífita presente en plantas de *Eucalyptus grandis* de las cuales se tomarían explantes iniciales para la micropropagación de esta especie forestal. Para ello se utilizaron los métodos de cámara húmeda y observación de preparaciones directas al microscopio óptico. A partir de la determinación de los principales géneros fungosos, se realizaron dos aspersiones semanales a las plantas con los fungicidas mancozeb, oxiclóruo de cobre y benomil. Además, se aislaron e identificaron los hongos filamentosos que aparecieron como contaminantes en la fase de establecimiento in vitro de estos explantes. Se demostró que la micobiota epífita en plantas de eucalipto evaluadas estaba conformada por los hongos *Alternaria*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Gloeosporium*, *Memmoniella*, *Nigrospora*, *Penicillium* y *Rhizopus*. Los fungicidas utilizados lograron eliminar los géneros *Cladosporium*, *Fusarium*, *Memmoniella*, *Nigrospora*, *Penicillium* y *Rhizopus*. Sin embargo, durante la fase de establecimiento in vitro se aisló *Alternaria*, *Curvularia*, *Gloeosporium*, *Aspergillus* y *Cephalosporium* como contaminantes. La coincidencia de géneros de hongos filamentosos presentes en la micobiota epífita de las plantas donadoras y como contaminantes en la fase de establecimiento implicó al explante inicial como la principal fuente de introducción de contaminantes.

**Palabras clave:** contaminación microbiana, fungicidas, hongos filamentosos, cosechas forestales.

**ABSTRACT.** Epiphyte and contaminant fungi present in the in vitro establishment of *Eucalyptus grandis*. Epiphyte fungus and contaminant populations were studied on *Eucalyptus grandis* plants. Both moist chamber and microscopic observations were used for identification of fungus genera. The effect of fungicide sprays twice a week on the epiphyte fungal population was evaluated after three weeks. Fungi population on *E. grandis* plants was formed by the genera *Alternaria*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Gloeosporium*, *Memmoniella*, *Nigrospora*, *Penicillium* and *Rhizopus*. Genera like *Cladosporium*, *Fusarium*, *Memmoniella*, *Nigrospora*, *Penicillium* and *Rhizopus* were controlled using fungicide sprays. However, during the establishment stage, fungi such as *Alternaria*, *Curvularia*, *Gloeosporium*, *Aspergillus* and *Cephalosporium* were isolated. The coincidence of filamentous fungi genera on donor plants and contaminant filamentous fungi on in vitro plant establishment showed that the initial explants were the main source of contaminants.

**Key words:** microbial contamination, fungicides, filamentous fungi, forest crops.

## Introducción

La micropropagación de especies leñosas forestales a partir de individuos élites seleccionados en los programas de mejora genética convencional se considera como la vía más efectiva para establecer poblaciones morfológica y genéticamente estables (Agramonte et al. 2001). Sin embargo, uno de los principales proble-

mas de esta tecnología es la contaminación microbiana durante la fase de establecimiento, porque las características anatómicas propias de estos cultivos dificultan la desinfección de los explantes (Jiménez 1998). Los microorganismos pueden provenir de la superficie o del interior de los tejidos de la planta donadora

<sup>1</sup> Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas. Carretera a Camaguaní, km 51/2. Santa Clara Villa Clara, Cuba. mayra01a@yahoo.es ; yalvarado@ibp.uclv.edu.cu

(Cassells 1991, Leifert et al. 1994, Alvarado 1998). A partir del diagnóstico de los principales microorganismos patógenos o contaminantes se pueden eliminar o colocar en tratamiento las plantas contaminadas (Jiménez 1998). Uno de los procedimientos para disminuir los riesgos de la contaminación en el establecimiento de los explantes es la aplicación de fungicidas, combinados o por separado, durante todo el ciclo de crecimiento de las plantas donadoras (Alvarado 1998, Jiménez 1998).

Los principales microorganismos contaminantes del cultivo *in vitro* son los hongos filamentosos, las levaduras y las bacterias, los cuales habitan comúnmente plantas *in vivo*, pero tienen efectos devastadores *in vitro* (George 1993, Leifert et al. 1994, Leifert y Cassells 2001). Conocer la micobiota epífita de las plantas donadoras de eucalipto *Eucalyptus grandis* (Hill ex Maiden) permite crear un plan de tratamiento de estas y del explante inicial, dirigidos a prevenir o eliminar la contaminación fungosa durante su micropropagación. Los objetivos de este trabajo fueron:

- Identificar la micobiota epífita de las plantas donadoras de *E. grandis*.
- Evaluar la acción de fungicidas sobre la micobiota epífita de esas plantas.
- Aislar e identificar los hongos filamentosos contaminantes de la fase de establecimiento *in vitro* de *E. grandis*.

### Materiales y métodos

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Fitopatología del Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP), Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Cuba, durante el 2002.

Los explantes utilizados provenían de plantas donadoras sembradas en áreas del IBP con un marco de plantación de 1 x 1 m. Dichas plantas conformaban el banco de donantes de explantes que recibió las atenciones agronómicas requeridas, como la revigoriación a través de podas intensas cada 60 días, previo a la toma de los explantes, y fertilización con nitrógeno (N) 110 g L<sup>-1</sup>, fósforo (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) 80 g L<sup>-1</sup> y potasio (K<sub>2</sub>O) 60 g L<sup>-1</sup>.

Para la identificación de la micobiota epífita en plantas donadoras, se colocaron segmentos nodales de los rebrotes tiernos, con una longitud de 5-7 cm y con dos o tres yemas axilares, en placas de Petri con papel de filtro previamente humedecido con agua destilada estéril. Las placas se incubaron a 28 °C y

oscuridad constante durante siete días. Pasado este tiempo, se realizaron preparaciones microscópicas del crecimiento fungoso con lactofenol y se observaron al microscopio óptico con 400 aumentos. De acuerdo con las características morfológicas de las estructuras de reproducción observadas y con el auxilio del *Illustrated genera of imperfect fungi* (Barnett y Hunter 1987), se identificaron los géneros de hongos filamentosos presentes.

Conociendo la micobiota epífita presente en las plantas donadoras, estas fueron sometidas a dos aspersiones semanales de fungicidas comerciales, alternando las siguientes mezclas:

- Fungicida preventivo de contacto mancozeb pH 80 (10 g L<sup>-1</sup>) y fungicida preventivo curativo de acción sistémica benomil pH 50 (2 g L<sup>-1</sup>).
- Fungicida preventivo de contacto oxiclورو de cobre pH (10 g L<sup>-1</sup>) y fungicida preventivo curativo de acción sistémica benomil pH 50 (2 g L<sup>-1</sup>).

Se realizaron seis aplicaciones de fungicidas. Después de la última aplicación se recolectaron nuevos explantes (segmentos nodales), que se colocaron en placas de Petri con papel de filtro previamente humedecido con agua destilada estéril. Las placas se incubaron a 28 °C y oscuridad constante durante siete días. Pasado este tiempo, se realizaron preparaciones microscópicas del crecimiento fungoso con lactofenol y se observaron al microscopio óptico con 400 aumentos.

Los explantes fueron establecidos *in vitro* según el protocolo descrito por Agramonte et al. (2001). La contaminación fungosa se evaluó diariamente por observación visual de los recipientes de cultivo (tubos de ensayo de 14,5 x 25 mm). El aislamiento de los contaminantes fungosos se realizó por siembra directa de fragmentos de micelio en placas de Petri que contenían medio de cultivo agar papa dextrosa a razón de 39 g L<sup>-1</sup> y pH 5,6 ± 0,2. Las placas se incubaron a 28 °C y oscuridad constante durante 14 días. Para la caracterización se tuvieron en cuenta las características morfológicas de las colonias en medio de cultivo sólido. Además, se realizaron preparaciones directas de fragmentos de colonias que se observaron al microscopio óptico con 400 aumentos. En ellas se registraron las características de las hifas, de las estructuras de reproducción y las esporas. Para la identificación se tuvieron en cuenta los criterios contenidos en el *Illustrated genera of imperfect fungi* (Barnett y Hunter 1987).

## Resultados

Se determinó que la micobiota epífita de las plantas donadoras de eucalipto estuvo integrada por géneros de hongos filamentosos que han sido descritos como saprofitos o patógenos de plantas. Se identificaron nueve géneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Gloeosporium*, *Memnoniella*, *Nigrospora*, *Penicillium* y *Rhizopus*. Todos los géneros se ubican en la clase Deuteromycetes (Barnett y Hunter 1987), excepto *Rhizopus*, que pertenece a la clase Zygomycetes.

Se demostró la acción benéfica de los fungicidas, que eliminaron más del 50% de los hongos filamentosos que conformaban la micobiota de las plantas donadoras. Solo los géneros *Alternaria*, *Curvularia* y *Gloeosporium* lograron sobrevivir a la acción de los fungicidas. Durante la fase de establecimiento in vitro, se aislaron e identificaron los géneros de hongos filamentosos *Alternaria*, *Curvularia*, *Gloeosporium*, *Aspergillus* y *Cephalosporium*.

## Discusión

Los resultados de este trabajo concuerdan con los obtenidos por numerosos investigadores. Montilla et al. (1999) evidenciaron la gran diversidad de microorganismos que conviven en forma epífita en las hojas de *E. grandis*; identificaron 11 géneros de hongos, siendo los más frecuentes *Aspergillus* sp. y *Rhizopus* sp., y resaltaron por su importancia fitopatológica a *Alternaria* sp., *Botryodiplodia* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp. y *Trichoderma* sp.

En el cultivo del café, Arizaleta y Pineda (1999) encontraron que los hongos *Penicillium*, *Rhizoctonia*, *Mucor*, *Pythium*, *Phomopsis*, *Rhizopus*, *Colletotrichum*, *Pestalotia* y *Nigrospora* formaban parte de la microflora epifítica de ese cultivo.

La mayor fuente de contaminación primaria en los cultivos in vitro proviene de la planta madre (Cassells 1991); por esta razón, se recomienda diagnosticar y tratar las plantas donantes, donde es mucho más fácil detectar los contaminantes en el tejido maduro, ya que existen altas poblaciones de los mismos (Jiménez 1998). La aplicación de fungicidas es una de las opciones empleadas para disminuir o eliminar la acción de los microorganismos fungosos en las plantas donadoras de explantes durante la fase cero o preparativa de la micropropagación de plantas (Alvarado 1998). Cruz et al. (2002) demostraron que el complejo carbendazim- $\beta$ -ciclodextrina, en concentraciones

que variaron desde 0,125 hasta 512 mg L<sup>-1</sup>, inhibió el crecimiento micelial de los contaminantes del cultivo in vitro de plantas: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Spicaria*, *Fusarium*, *Pestalotia* y *Colletotrichum*. Segmentos nodales sumergidos durante 30 min en 2 g L<sup>-1</sup> de benomil permitieron el establecimiento in vitro de *P. guajava* y *Psidium friedrichsthalianum*, obteniéndose el menor porcentaje de explantes contaminados a los 7 días de la siembra (Ramírez et al. 1999).

La presencia de microorganismos contaminantes en la fase de establecimiento in vitro ocurre sobre todo cuando la planta donante crece directamente en el campo y está expuesta a plagas, enfermedades, polvo y otros agentes, sin ningún tipo de control ambiental (Ramírez y Salazar 1997). Leifert et al. (1994) y Alvarado (1998) refieren a los géneros *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Curvularia* y *Fusarium* como los microorganismos fungosos más comúnmente introducidos al cultivo de tejidos. Ramírez et al. (1999) detectaron la presencia de hongos contaminantes en ápices de plantas adultas de *Annona muricata*. Los hongos detectados correspondieron a los géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Botryodiplodia*, *Curvularia* y *Helmithosporium*. Acosta et al. (2002) identificaron los géneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus* durante el establecimiento in vitro de la guayaba.

Con los resultados obtenidos se comprobó la diversidad de la micobiota epífita en las plantas donadoras de eucalipto y la necesidad de las aplicaciones de fungicidas durante la fase preparativa de la micropropagación. La coincidencia de géneros de hongos filamentosos presentes en la micobiota epífita de las plantas donadoras y como contaminantes en la fase de establecimiento implicó al explante inicial como la principal fuente de introducción de contaminantes.

## Literatura citada

- Acosta, M; Alvarado, Y; Caballero, I. 2002. Micobiota epifítica y contaminantes fungosos del establecimiento *in vitro* de la guayaba (*Psidium guajava* L.). *Biotecnología Vegetal* 2(2):67-71.
- Agramonte, D; Delgado, L; Trocones, A; Pérez, M; Ramírez, D; Gutierrez, O. 2001. Micropropagación del *Eucalyptus grandis* (Hill ex Maiden) a partir de segmentos nodales. *Biotecnología Vegetal* 1(2):109-114.
- Alvarado, Y. 1998. Contaminación microbiana en el cultivo *in vitro* de plantas. In Pérez P, JN. ed. *Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología*. Santa Clara, CU, Instituto de Biotecnología de las Plantas. p. 81-104.



- Arizaleta, M; Pineda, J. 1999. Microflora epifítica en el cultivo del cafeto (en línea). In Congreso de Fitopatología. Barquisimeto, VE, Universidad del Zulia. Disponible en <http://www.redpav-fpolar.info.ve/fitopato/index.html>.
- Barnett, HL; Hunter, BB. 1987. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4 ed. Nueva York, US, MacMillan Publishing Company. p. 118.
- Cassells, AC. 1991. Problem in tissue culture: culture contamination. In Micropropagation, Dordrecht, DE, Kluwer Academic Publishers. p. 31-45.
- Cruz, M; Acosta, M; Leiva, M; Alvarado, Y; Lezcano, M. 2002. Evaluación del efecto del complejo carbendazim- $\beta$ -ciclodextrina para el control de hongos filamentosos contaminantes del cultivo *in vitro* de plantas. Biotecnología Vegetal 2 (2):73-76.
- George, EF. 1993. Plant propagation by tissue culture. 2 ed. p. 130-143.
- Jiménez, E. 1998. Cultivo de ápices y meristemos. In Pérez P, JN. ed. Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología. Santa Clara, CU, Instituto de Biotecnología de las Plantas. p. 45-56.
- Leifert, C; Morris, CE; Waites, WM. 1994. Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field grown plants: reason for contamination problems *in vitro*. Critical Reviews in Plant Sciences 13:139-183.
- \_\_\_\_\_; Cassells, AC. 2001. Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. *In vitro Cell Dev. Biol. Plant* 37(2):133-138.
- Montilla, J; Pineda, J; Rodríguez, D. 1999. Microflora de la filosfera de árboles de *Eucalyptus camaldulensis* (en línea). Fitopatología Venezolana. In Congreso Venezolano de Fitopatología. Barquisimeto, VE, Universidad del Zulia. Disponible en <http://www.redpav-fpolar.info.ve/fitopato/index.html>
- Ramírez, M; Salazar, E. 1997. Establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de guayabo (*Psidium guajava* L.). Revista de la Facultad de Agronomía (Venezuela) 14:497-506.
- \_\_\_\_\_; Isea, F; Santos, R; León de Sierralta, S; Urdaneta, A. 1999. Hongos contaminantes en el cultivo *in vitro* de ápices de plantas adultas de *Annona muricata* tratados con Hipoclorito de Sodio, en el estado Zulia, Venezuela. In Congreso Venezolano de Fitopatología. Barquisimeto, VE, Universidad del Zulia. Disponible en <http://www.redpav-fpolar.info.ve/fitopato/index.html>
- \_\_\_\_\_; León de Sierralta, S; Urdaneta, A. 1999. Evaluación de desinfectantes superficiales en el establecimiento *in vitro* de *Psidium guajava* L. y *Psidium friedrichsthalianum* (Berg) Nierdz. Revista de la Facultad de Agronomía (Venezuela) 16:243-255.

# Nuevos registros de hongos en semillas de *Oryza sativa* en Cuba

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

**RESUMEN.** El cultivo del arroz en Cuba se ha extendido a casi todas las regiones del país y cada día cobra una mayor importancia, ya que constituye una de las principales fuentes de carbohidratos de la población. Existen varios factores que pueden disminuir los rendimientos de este cultivo, como los hongos patógenos que influyen en la calidad del grano. Se realizó un análisis micológico de las semillas de *Oryza sativa* L. con el objetivo de identificar hongos fitopatógenos. Los hongos se aislaron en medio PDA y se usaron las claves taxonómicas para la identificación de géneros y especies. Se determinaron 22 hongos en semillas de arroz en Cuba: *Acremonium* spp., *Arthrimum* spp., *Acremoniella atra*, *Cladosporium oxysporum*, *C. cladosporioides*, *Curvularia penniseti*, *Drechslera cynodontis*, *D. dematioidea*, *D. maydis*, *D. sorghicola*, *Exserohilum monoceras*, *Fusarium arthrosporioides*, *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *Memmoniella levispora*, *Periconia byssioides*, *Verticillium* spp., *Ulocladium* spp., *Stemphylium* spp., *Zygosporium massonii*, *Phaeoisaria clematidis* y *Doratomyces stemonitis*. Este trabajo constituye un aporte al conocimiento de los hongos asociados a las semillas de arroz en Cuba.

**Palabras clave:** hongos, semillas, arroz, *Oryza sativa*, detección, identificación.

**ABSTRACT.** New fungi reports in *Oryza sativa* seeds in Cuba. The rice crop has been widely spread in Cuba and has become a very important economic crop, since it is a major carbohydrate source in the population's diet. Several factors affect the yield of this crop, such as the occurrence of fungal pathogens that lower grain quality. We carried out a mycological analysis of rice seeds (*Oryza sativa* L.) by isolating pathogens in PDA and using taxonomic keys to identify pathogenic fungus. A group of 22 fungi are reported on rice seeds in Cuba: *Acremonium* spp., *Arthrimum* spp., *Acremoniella atra*, *Cladosporium oxysporum*, *C. cladosporioides*, *Curvularia penniseti*, *Drechslera cynodontis*, *D. dematioidea*, *D. maydis*, *D. sorghicola*, *Exserohilum monoceras*, *Fusarium arthrosporioides*, *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *Memmoniella levispora*, *Periconia byssioides*, *Verticillium* spp., *Ulocladium* spp., *Stemphylium* spp., *Zygosporium massonii*, *Phaeoisaria clematidis* and *Doratomyces stemonitis*. This paper constitutes a contribution for a better understanding of fungi associated to rice seeds in Cuba.

**Keywords:** Fungi, rice seeds, detection, identification, *Oryza sativa*.

## Introducción

El manchado del grano de arroz (*Oryza sativa* L.) ocurre en la mayor parte de las regiones productoras de arroz del mundo y es de importancia creciente en muchos países de Asia, África, y América (Castaño 1995, Malavolta y Takada 1997, CAB International 2001). En condiciones de campo, el manchado del

grano es un problema complejo, resultante de la interacción hospedante-patógeno-ambiente, que se manifiesta desde la floración hasta la maduración del arroz. La mayoría de las investigaciones concluyen que la principal causa determinante de la enfermedad es de origen fúngico (Sandoval et al. 1999, CAB International 2001 y 2000).

<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

Los principales agentes causantes varían según las regiones y los años. Por lo común, el problema está asociado con un complejo de hongos, aunque predominen unos pocos. Varios hongos pueden infectar el grano en el campo y mancharlo, aunque algunos infectan prioritariamente otras partes de la planta, como es el caso de *Alternaria padwickii* (CAB International 2000), *Gerlachia oryzae* (CAB International 2001), *Pyricularia grisea* (Cordero et al. 2002) y *Sarocladium oryzae* (Pueyo et al. 2002).

El manchado del grano provoca un alto porcentaje de vaneo, disminución en el poder germinativo, vigor y tamaño de las plántulas, disminución del número de granos por panoja, granos quebradizos, coloraciones anormales, granos yesosos y, lo más importante, transmisión y diseminación de patógenos hacia otras zonas arroceras (CAB International 2001 y 2000, Sandoval et al. 2001 y 1999, Cordero et al. 2002).

Dada la importancia que reviste el conocimiento de la microbiota patógena y saprofita asociada a las semillas de arroz en Cuba como base fundamental para establecer las políticas de manejo integrado y diagnóstico fitosanitario, el presente trabajo se realizó para profundizar en el conocimiento de las patologías fúngicas asociadas a las semillas de este cultivo.

### Materiales y métodos

Se analizaron 473 muestras de semillas de arroz procedentes de las provincias Pinar del Río, La Habana, Ciudad de la Habana, Santiago de Cuba, Camagüey, Granma, Ciego de Ávila, Sancti Spiritus, Cienfuegos y campos del Instituto de Investigaciones del Arroz.

De las muestras se seleccionaron solamente los granos manchados, los cuales fueron desinfectados por 5 minutos en hipoclorito de sodio al 1%, lavados con abundante agua estéril y posteriormente analizados siguiendo la metodología descrita por el ISTA (1976). Se tomaron las 200 semillas desinfectadas previamente y se colocaron en cámara húmeda a razón de 50 semillas por placas Petri de 12 cm de diámetro, las cuales se incubaron en alternancia luz-oscuridad (8h/16h) y a 20–24 °C. Las observaciones se realizaron a los ocho días, mientras que las identificaciones se hicieron con base en las estructuras reproductivas observadas al microscopio estereoscópico y óptico, usando lactofenol como líquido de montaje.

Se siguieron los criterios taxonómicos descritos por Benoit y Marthur (1970), Chidambaram et al. (1973), Nelson et al. (1983) y Ellis (1993a y b).

### Resultados y discusión

En el análisis de las muestras de arroz se identificaron 22 hongos asociados a las semillas de arroz:

#### Saprofitos

*Acremoniella atra* (Corda) Sacc  
*Acremonium* spp.  
*Arthrimum* spp.  
*Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries  
*Cladosporium oxysporum* Berk. & M.A. Curtis  
*Doratomyces stemonitis* (Pers.: Fr.) Morton & Smith  
*Memnoniella levispora* Subram.  
*Periconia byssioides* Persoon  
*Phaeoisaria clematidis* (Fuckel) Shughes  
*Ulocladium* spp.  
*Zygosporium masonnii* Hughes

#### Patógenos

*Bipolaris cynodontis* (Marignoni) Shoemaker  
*Curvularia penniseti* (Mitra) Boedijn  
*Drechslera dematioidea* (B. & M.) Subram. & Jain  
*Drechslera sorghicola* (Lefebvre & Sherwin) Rich & Fr.  
*Drechslera maydis* (Nisikado & Miyake)  
Subramanian & Jain  
*Exserohilum monoceras* (Drechsler) Leonard & Suggs  
*Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg  
*Fusarium arthrosporioides* Sherd.  
*Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg

#### Saprofitos y patógenos

*Stemphylium* spp.  
*Verticillium* spp.

En Cuba la microbiota del cultivo del arroz no ha sido ampliamente estudiada. Existen algunos trabajos sobre esta temática, fundamentalmente en la región oriental, como los realizados por Pupo y Heredia (1996) y Pupo y Milanes (1990), y algunos de los géneros reportados en este trabajo coinciden con los identificados por estos autores en las semillas de arroz, como es el caso de *Bipolaris*, *Curvularia*, *Exserohilum* y *Fusarium*.

Existe evidencia de la transmisión por semillas de las especies del género *Curvularia*, siendo un ejemplo típico *C. lunata*, la cual ha sido encontrada consistentemente en plántulas con quemaduras y es común aislarla en plántulas con marchitamiento (CAB International 2001 y 2000). En los estudios realizados por Benoit y Marthur (1970) para la detección de especies de

*Curvularia* en la semilla de arroz, las especies de mayor incidencia fueron *C. eragrostidis*, *C. geniculata*, *C. pallescens* y *C. lunata*, pero no detectaron a *C. penniseti*. Por su parte, Estrada y López determinaron dos nuevas especies del género *Curvularia*: *C. gudauskasii* y *C. protuberata*, pero no encontraron *C. penniseti* en sus estudios (Estrada y López 2002).

Bonilla et al. (2002) identificaron 40 especies de hongos asociados a diferentes partes de la planta de arroz, entre los cuales se identificó *Periconia byssioides* en las hojas, el cual se encontró atacando las semillas en el presente trabajo. Además, se informa de nuevas especies de *Bipolaris*, *Curvularia* y *Fusarium*, que no coinciden con las identificadas en el presente trabajo.

Arnold (1986) identificó varios patógenos en el cultivo en Cuba, coincidiendo algunos de los géneros reportados por este autor con los identificados en este trabajo. Sandoval et al. (2002, 2001 y 1999) identificaron también varias especies pertenecientes a los géneros *Fusarium*, *Bipolaris*, *Drechslera*, *Curvularia*, *Cladosporium* y *Exserohilum* como patógenos frecuentemente asociados al manchado del grano. Por su parte, Neninger et al. (2002, 2001a) realizaron un estudio de la micobiota saprofítica y patogénica presente en las semillas de arroz nacional e importada, notificando desde el año 2001 hasta la fecha más de 30 especies de hongos asociados al cultivo del arroz en Cuba, ninguna de las cuales coincide con las identificadas en el presente trabajo.

Las especies pertenecientes al complejo *Drechslera-Bipolaris-Exserohilum* son patógenos importantes de varios cultivos y están distribuidos ampliamente en todo el mundo. Los hongos de este complejo generalmente se tratan como un solo grupo, siendo una especie sinonimia de otra, no tanto por las similitudes de los síntomas que producen sino por la semejanza de sus estructuras de fructificación durante la esporulación y la forma general de sus conidios. Como grupo, estos hongos siguen en importancia a las royas como patógenos destructivos de varios cultivos, en especial de las gramíneas, y muchas de sus especies están consideradas como patógenos transmitidos por semillas.

Actualmente, el género está compuesto por más de 60 especies, cada una con características fisiológicas, fitopatológicas, bioquímicas y ecológicas diferentes, por lo que la identificación adecuada de sus especies permitirá a los micólogos y personal relacionado controlar las enfermedades que este complejo grupo produce, así como conocer la micobiota asociada a los síntomas observados en las semillas, plántulas y plantas.

Diferentes especies del género *Bipolaris* han sido registradas en las semillas de arroz, como es el caso de *B. sorokiniana*, *B. sacchari* y *B. oryzae*, causando pudriciones y manchado del grano (CAB International 2001). La presencia de *B. cynodontis* en las semillas de arroz analizadas coincidió con los reportes realizados por Neergaard y Saad. (1973) y con los resultados obtenidos para *Exserohilum monoceras* por Neninger et al. (2002).

## Literatura citada

- Arnold, RW. 1986. Lista de hongos fitopatógenos de Cuba. Habana, CU, Ed. Científico-Técnica. 207 p.
- Benoit, MA; Mathur, SB. 1970. Identification of species of *Curvularia* on rice seed. Vollebakk, NO, The International Seed Testing Association. Series 2B:(2)23.
- Bonilla, T; Sandoval, I; López, MO; Porras, A. 2002. Determinación del medio de cultivo para el crecimiento y esporulación de *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams & Hauge. In Encuentro Internacional de Arroz (2, 2002, Habana, CU). Memorias. La Habana, CU, Instituto de Investigaciones del arroz (IIA). 345 p.
- Castañó, Z. 1995. Microorganismos asociados con el manchado del arroz en Colombia. Arroz 34(336):22-25.
- Chidambaram, P; Mathur, B; Neergaard, P. 1973. Handbook on seed health testing. Identification on seed-borne *Drechslera* species. Vollebakk, NO, The International Seed Testing Association. Series 2B:(3)165-207.
- Cordero, V; Fabre, L; Correa, F; Rivero, L. 2002. Manejo integrado de *Pyricularia grisea* en el cultivo del arroz en Cuba. In Encuentro Internacional de Arroz (2, 2002, Habana, CU). Memorias. La Habana, CU, Instituto de Investigaciones del arroz (IIA). 345 p.
- CAB International. 2000. Compendium of Crop Protection 2 ed. APS Press. CD ROM
- \_\_\_\_\_. 2001. Compendium of Crop Protection 3 ed. APS Press. CD ROM.
- Ellis, MB. 1993a. Dematiaceous Hyphomycetes. 3 ed. Key, Surrey, UK, CMI. 608 p.
- \_\_\_\_\_. 1993b. More Dematiaceous Hyphomycetes. 3 ed. Key, Surrey, UK, CMI. 506 p.
- Estrada, G; López, MO. 2002. Nuevos registros de especies de *Curvularia* en semillas de arroz. Fitosanidad (6):455-56.
- ISTA (International Seed Testing Association). 1976. International rules for seed testing. Seed Science & Technology 4:3-177.
- Malavolta, V; Takada, HM. 1997. Controle químico de fungos causadores de manchas de grãos em arroz. Summa Phytopathologica 23(1):25-28.
- Neergaard, P; Saad, A. 1973. Seed health testing of rice I. A contribution to development of laboratory routine testing methods. Vollebakk, NO, The International Seed Association. Series 2A:(2)29.
- Nelson, PE; Toussoun, TA; Marassas, WF. 1983. *Fusarium* species. An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State, University Park, London. 230 p.

- Nenninger, H; Barrios, LM; Hidalgo, E. 2001a. Contribución al estudio de la microbiota presente en semillas de arroz (*Oryza sativa*, L.) en Cuba. *In* Reunión Anual de la Sociedad Americana de Fitopatología – División Caribe (APS-CD) (41, 2001, Matanzas, CU). Abstracts. Ciudad de la Habana, CU, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV). 329 p.
- \_\_\_\_\_; Barrios, LM; Hidalgo, E. 2001b. Microbiota asociada y patogénica presente en semillas de arroz (*Oryza sativa*, L.) importadas en Cuba. *In* Reunión Anual de la Sociedad Americana de Fitopatología – División Caribe (APS-CD) (41, 2001, Matanzas, CU). Abstracts. 329 p.
- \_\_\_\_\_; Barrios, LM; Hidalgo, E. 2002. Incidencia de patógenos fungosos presentes en semillas de arroz procedentes de diferentes regiones del mundo. *In* Reunión Anual de la Sociedad Americana de Fitopatología – División Caribe (APS-CD) (42, 2001, Guatemala). Abstracts. Sociedad Americana de Fitopatología – División Caribe (APS-CD). 120 p.
- Pueyo, M; Neyra, M; Pupo, A; Rodríguez, G; Alarcón, L. 2002. Influencia de *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams & Hauge en la germinación de las semillas de arroz. *Fitosanidad* 6(4):31-35.
- Pupo, E; Milanés, M. 1990. Uso de parámetros de temperatura, período de incubación y exposición a la luz en el análisis fitopatológico de semillas de arroz, maíz y frijol para la detección de organismos fúngicos. Informe final de etapa 519.01.04.08. La Habana, CU, INISAV. 35 p.
- \_\_\_\_\_; Heredia, I. 1996. Lista de hongos asociados a semillas. Ciudad de la Habana, CU, INISAV. p. 21-22. (Folleto de Resultados de Investigaciones).
- Sandoval, I; López, MO; Bonilla, T; Wong, W. 1999. El manchado del grano por *Sarocladium oryzae* y otras especies fúngicas. Método de diagnóstico. Forum de Ciencia y Técnica. La Habana, CU, INISAV. p. 2-7.
- \_\_\_\_\_; Bonilla, T; López, MO; Estrada, G. 2001. Hongos asociados al manchado del grano del arroz en variedades afectadas por la enfermedad pudrición de la vaina. *In* Reunión Anual de la Sociedad Americana de Fitopatología – División Caribe (APS-CD) (41, 2001, Matanzas, CU). Abstracts. Ciudad de la Habana, CU, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV). 329 p.
- \_\_\_\_\_; Bonilla, T; López, MO; Estrada, G. 2002. *Sarocladium oryzae* y otras especies fúngicas en los granos manchados de variedades afectadas por la pudrición de la vaina. *In* Encuentro Internacional de Arroz (2, 2002, Habana, CU). Memorias. La Habana, CU, Instituto de Investigaciones del arroz (IIA). 345 p.

# Diagnóstico del uso de insecticidas utilizados contra *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate y chile en Costa Rica

Lisbeth Araya R.<sup>1</sup>  
Elizabeth Carazo R.<sup>2</sup>  
Víctor M. Cartín L.<sup>3</sup>

**RESUMEN.** Se entrevistaron 80 agricultores entre marzo de 1996 y febrero de 1998, en las provincias de Alajuela, Cartago, Heredia, Guanacaste y San José, Costa Rica, para determinar las prácticas agrícolas utilizadas para el combate de *Bemisia tabaci* (Gennadius) en chile y tomate. El 100% de los entrevistados recurrió al combate químico; las familias de plaguicidas preferidas fueron piretroides (100%), organofosforados (87,5%), cloronicotinilos (77,5%), nereistoxinas (45,0%), carbamatos (36,2%), ciclodienes (26,2%), biológicos (22,5%) y lactonas macrocíclicas (avermectinas) (21,2%). Cuando la información se analizó por época del año se observó que durante la época seca los agricultores prefirieron utilizar productos de seis de esas familias, mientras que en la época lluviosa aplicaron productos de solamente cuatro de ellas; durante todo el año prevaleció el empleo de los cloronicotinilos, piretroides y organofosforados, en ese orden. Ninguno de los entrevistados utilizó el equipo completo de protección cuando aplicó los productos, aduciendo alto costo e incomodidad. La mayoría de los agricultores utilizó las dosis recomendadas por unidad de volumen en sus aplicaciones, algunos aplicaron dosis más bajas y otros más altas. El 53,1% de los entrevistados preparó mezclas sin aplicar criterios técnicos; además, muchos incurrieron en la sobredosificación, al mezclar productos con el mismo principio activo, pero con diferente nombre comercial, práctica que favorecería la aparición de resistencia.

**Palabras clave:** combate químico, manejo de plaguicidas, mosca blanca.

**ABSTRACT. Pesticides used against whiteflies in tomato and bell pepper in Costa Rica.** A field study on the use and management of insecticides to control whiteflies (*Bemisia tabaci*) (Gennadius) and other pests in tomato and bell peppers was conducted in the provinces of Alajuela, Cartago, Heredia, Guanacaste and San Jose, Costa Rica. A total of 80 farmers were interviewed between March 1996 and February 1998. All farmers used pesticides to control the pest. The preferred pesticides were pyrethroids (100%), organophosphates (87.5%), chloronicotinyls (77.5%), nereistoxins (45.0%), carbamates (36.2%), cyclodienes (26.2%), biological (22.5%), and avermectins (21.2%). During the dry season, the producers preferred a combination of pesticides from six of the families mentioned, while in the rainy season they used products from four of the families. None of the interviewed farmers used the complete protection equipment when applying pesticides, saying it was costly and uncomfortable. Most of the producers used the recommended dose of the product per unit of volume on their applications. Fifty-three percent of the farmers interviewed mixed up products without technical criteria, overdosing when mixing up the products with different commercial names but same active ingredient. This practice may favor the appearance of pest resistance since it submits pests to a higher selection pressure.

**Key words:** Chemical control, pesticide management, whiteflies.

## Introducción

Las enfermedades asociadas a los geminivirus transmitidos por la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) son responsables de enormes pérdidas en numerosos

cultivos de importancia económica en las diferentes regiones geográficas del Trópico y del Subtrópico (Cubillo et al. 1994, Ramírez y Maxwell 1995, Herrera et al. 1999, Polston y Anderson 1999).

<sup>1</sup> Escuela de Estudios Generales y Centro de Investigación en Contaminación Ambiental (CICA), Universidad de Costa Rica, Costa Rica. larojas@cariari.ucr.ac.cr

<sup>2</sup> Centro de Investigación en Contaminación Ambiental (CICA), y Escuela de Agronomía, Universidad de Costa Rica, Costa Rica. ecarazo@cariari.ucr.ac.cr

<sup>3</sup> Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional, Costa Rica. vcartin@una.ac.cr

Se han descrito unas 1200 especies de moscas blancas (Homóptera: Aleyrodidae), 30 de las cuales se encuentran en América Central, el Caribe y Colombia (Hilje 1997). Los daños causados por la plaga pueden ser directos o indirectos; estos últimos son los que ocasionan los mayores problemas, debido a la transmisión de geminivirus por parte de *B. tabaci* (Hilje 1995, Salazar 1996, Herrera et al. 1999). Los virus ejercen un impacto negativo en la producción del cultivo, pues afectan los rendimientos y la calidad del fruto. Es común que al final de la cosecha la totalidad de las plantas esté infectada, aun en la estación lluviosa, cuando las poblaciones del vector son bajas (Rivas et al. 1994, Salazar 1996). Para controlar a *B. tabaci*, se recurre de forma constante a la aplicación de insecticidas, a pesar de los costos ecológicos y para la salud humana que su uso conlleva (Ortega 1998, García 1999).

La aplicación de insecticidas es la práctica más utilizada en Costa Rica para el combate de la mosca blanca; el uso indebido de los insecticidas incrementa los costos de producción y, en la mayoría de los casos, el control no es eficiente y puede fomentar el desarrollo de resistencia.

Es necesario, entonces, promover un uso racional de productos insecticidas como los cloronicotínicos, organofosforados, piretroides y otros. Las prácticas de un uso racional deben incluir aplicaciones correctas, rotación y uso de mezclas adecuadas y deben ser complementadas con otras prácticas agronómicas: época de siembra, rotación de cultivos, disposición de rastrojos, variedades resistentes, etc. (Salguero y Morales 1994).

El propósito de este trabajo fue indagar, mediante el uso de la entrevista y la observación directa en el campo, las prácticas agrícolas y los métodos utilizados para el control de la plaga, el nombre de los productos aplicados, la dosis, la frecuencia, las rotaciones preferidas, las mezclas y el uso de equipo de protección.

### Materiales y métodos

El diagnóstico se realizó durante el período comprendido entre marzo de 1996 y febrero de 1998. Se visitaron las principales zonas productoras de tomate y chile de Costa Rica, en las provincias de Alajuela, Cartago, Guanacaste, Heredia y San José.

Se entrevistaron 80 agricultores, distribuidos en las cinco provincias antes mencionadas. Las principales zonas productoras se localizaron en la provincia de Alajuela, al igual que las mayores extensiones de área

cultivada (Araya et al. 2001). Se realizó una encuesta formal, de manera individual, a 80 productores escogidos al azar. La encuesta incluyó preguntas directas y preguntas abiertas, permitiéndole con ello al productor expresar su opinión sobre la problemática fitosanitaria del o los cultivos que atendía en ese momento.

Las preguntas pretendían determinar el tamaño y la tenencia de la parcela en producción, la importancia de los daños observados, y las prácticas agronómicas usadas durante todo el ciclo productivo, así como los nombres de los productos aplicados, sus dosis, frecuencia y uso de mezclas.

La información se analizó usando estadísticas descriptivas: frecuencias y porcentajes. Los resultados se presentan en conjunto para todas las zonas visitadas y parte de la información se analizó por época del año.

### Resultados y discusión

#### Uso de insecticidas y fungicidas

Los agricultores consideran prácticamente imposible la producción de los cultivos susceptibles a *B. tabaci* sin el empleo de insecticidas, aunque experimentalmente se ha comprobado que este método de control no da resultados satisfactorios, pues aunque un insecticida logre eliminar el 90% de los huevos, ninfas y adultos de esta plaga en tomate por ejemplo, bastarían menos de 3 adultos virulentos por planta para que el cultivo sea irreversiblemente afectado; por lo tanto el uso de estos productos solo reduce el número de adultos en los campos de cultivo, y no impide que los sobrevivientes migren a otros campos aledaños (Hilje 1993, Peralta y Hilje 1993, Quirós et al. 1994, Polston y Anderson 1999, Ruiz y Aquino 1999). El historial de aplicaciones de los insecticidas usados en el control de la plaga indica que se han utilizado productos de las principales familias y sus grupos toxicológicos: carbamatos, organoclorados, organofosforados y piretroides, además de detergentes, aceites y mezclas de esos productos (Hilje 1993, Salazar 1996, Ortega 1998).

El método de combate más utilizado por los agricultores visitados en todas las zonas de estudio es el químico (Cuadro 1). Asimismo, un estudio conducido entre productores de papa y cebolla estableció que un 25% de ellos invierte un 92% del costo total de los insumos en combatir plagas y enfermedades, lo cual es posible porque los ingresos son superiores a los costos de producción (Arias 1998). Sin embargo, se ha comprobado que el uso unilateral y convencional de insecticidas es poco o

nada funcional, debido a la gran plasticidad genética de *B. tabaci*, que le confiere gran capacidad de adaptación y le permite desarrollar rápidamente altísimos niveles de resistencia (Salazar 1996, Polston y Anderson 1999, Ruiz y Aquino 1999). Por otra parte, se sabe también que bastan densidades muy bajas del vector (menores de tres adultos por planta) para que

ocurra el ataque del virus en todas las plantas de una parcela, con lo que las pérdidas pueden ser a menudo totales (Quirós et al. 1994, Salazar 1996).

Los productos utilizados se organizaron en familias y grupos toxicológicos afines (Cuadro 1). Al contabilizar los datos de frecuencia de aplicación de cada familia y grupo toxicológico, se observa que

**Cuadro 1.** Insecticidas y sus respectivos grupos toxicológicos utilizados por los productores de tomate y chile en Costa Rica (1996-1998)

Familia	Grupo toxicológico	Nombre genérico	Nombre comercial	N° de agricultores que lo utilizaron	
<b>Piretroides y piretrinas *</b>	<b>4A**</b>	Deltametrina	Decis®	29	
		Permetrina	Ambush® Pounce®	22	
		Bifentrina	Talstar	24	
		Aletrina	Pynamin	3	
		Cipermetrina	Arrivo	3	
		Lambdacialotrina	Karate®	2	
<b>Organofosforados *</b>	<b>1B**</b>	Alifático, enlace P=O, 1Ba **	Metamidofós	Tamarón	36
			Diclorvós	Atla	2
			Acefato	Orthene®	10
		Alifático, enlace P=S, 1Bd **	Forato	Thimet®	6
			Terbufós	Counter®	2
		Con grupo carboxilo, 1Bm **	Malatión	Malatión	2
		Alifático, enlace P=S, 1 Bc **	Dimetoato	Perfektion o Dantox	3
		Heterocíclico, enlace P=S, 1BI **	Diazinón	Diazinón o Basulin	3
			Clorpirifós	Lorsban®	2
		Cíclicos, enlaces P=S, 1Bh **	Protiofós	Tokutión	2
Alifático, enlace P=S, 1Bb **	Etoprofós	Mocap®	1		
<b>Cloronicotinilos *</b>	<b>6A**</b>	Imidacloprid	Confidor®	62	
<b>Nereistoxinas *</b>	<b>6C**</b>	Cartap	Padan o Daga	21	
		Tiociclán	Evisect®	15	
<b>Carbamatos *</b>	<b>1A**</b>	Alifáticos Monometílicos	Metomil	Lannate®	20
			Oxamil	Vydate®	8
			Aldicarb	Temik®	1
<b>Ciclodienos*</b>	<b>2A**</b>	Endosulfán	Thiodán®	21	
<b>Biológicos *</b>	<b>10A**</b>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Dipel®	8	
			Javelin®	4	
			Thuricide®	3	
			Agrobac®	1	
<b>Lactonas macrocíclicas (Avermectinas) 3A**</b>		Abamectina	Vertimec®	17	

\* y \*\* Clasificación de Lagunes y Villanueva (1994) y AVCARE (AIRAC) (1999) modificada por Carazo y Monge (2003), respectivamente.



**Cuadro 2.** Familias de plaguicidas más utilizadas por los agricultores de las zonas de estudio, durante el período de marzo de 1996 a febrero de 1998

Insecticidas	No. de agricultores que los utilizan		Fungicidas	No. de agricultores que los utilizan	
	No.	%		No.	%
Piretroides	80	100	Carbamatos	33	41,8
Organofosforados	70	87,5	Flatamidas	18	22,8
Cloronicotinilos	62	77,5	Carbamatos en mezclas	11	13,9
Neresistoxinas	36	45,0	Benzimidazoles	8	10,1
Carbamatos	29	36,2	Cúpricos	8	10,1
Ciclodienos	21	26,2	Organoclorados	5	6,3
<i>Bacillus thuringiensis</i>	18	22,5	Acetamidas; urea	5	6,3
Lactonas macrocíclicas	17	21,2			

son los piretroides los más utilizados por los agricultores en ambos cultivos (100% de la muestra), seguidos por los organofosforados (87,5%), los cloronicotinilos (77,5%), las nereistoxinas (45,0%), los carbamatos (33,2%), los ciclodienos (26,2%), *Bacillus thuringiensis* (22,5%) y las lactonas macrocíclicas (21,2%) (Cuadro 2).

Quirós et al. (1994) reportan que en dos regiones productoras de tomate, Grecia y Valverde Vega, donde se genera el 60% de la producción nacional total, las preferencias aparecen en el siguiente orden: carbamatos, organofosforados, organoclorados y piretroides. Es evidente que en el lapso transcurrido desde la publicación de ese estudio hasta las entrevistas de éste, los productos reportados podrían haber perdido efectividad y los agricultores han debido buscar nuevos productos, como el imidacloprid, que resultó altamente efectivo, de ahí que se ubique en segundo lugar. Los piretroides, que antes estaban en el cuarto sitio y no habían sido tan usados, continúan dando buenos resultados y, ahora, se ubican en el primer lugar, pero los carbamatos descienden al quinto puesto. Los biológicos (*Bt*) son utilizados para controlar plagas de lepidópteros. Otra explicación posible para ese cambio en el empleo de los insecticidas obedece a una mayor preocupación por parte de los agricultores acerca de los daños ambientales y sobre la salud humana que pueden causar esos productos, lo que podría hacerlos más cuidadosos a la hora de elegir. El cambio se relaciona también con la posibilidad de exportar sus hortalizas, en cuyo caso los controles sanitarios de los destinos son más rígidos y ello los obliga a utilizar insecticidas de descomposición rápida, para que no presenten residuos que los hagan perder el embarque.

De cada uno de estos grupos o familias, los productores emplean uno o varios productos (Cuadro 2). El preferido es un cloronicotínilo, el imidacloprid, producto de reciente introducción en el mercado (Cubillo et al. 1994, Polston y Anderson 1999) y distribuido comercialmente como Confidor® y Gaucho®. El 77,5% de los agricultores entrevistados reportan su uso, lo cual es preocupante, ya que la posible sobredosificación y la alta frecuencia con que lo aplican (4 o 5 veces por ciclo productivo) lo pone en riesgo de ineffectividad por resistencia del organismo plaga; recientemente, se informó de la aparición de resistencia a ese producto de mosca blanca en España (Polston y Anderson 1999).

El producto que ocupa el segundo lugar es el metamidofós; pertenece a la familia de los organofosforados y es reportado por un 45% de los productores. Es importante poner atención a este producto, ya que por su naturaleza química se considera peligroso, pues es muy tóxico para vertebrados e invertebrados.

Los siguientes tres productos en orden de preferencia son todos piretroides: la deltametrina (36,2%), la bifentrina (30,0%) y la permetrina (27,5%). Los siguen el ciclodieno, endosulfán y la nereistoxina, cartap (26,2%), el carbamato, metomil (25,0%) y la lactona macrocíclica, abamectina (21,2%). Estos resultados evidencian el uso de una mayor variedad de insecticidas en cada ciclo del cultivo, aparejado al aumento y la frecuencia en el empleo que de ellos hacen los agricultores. El abuso en que incurren a la hora de aplicarlos puede volverlos ineficientes, como indican Quirós et al. (1995) que ha ocurrido con el ciclodieno endosulfán. Los restantes insecticidas utilizados por los productores se muestran en el Cuadro 3.

**Cuadro 3.** Nombres comerciales de los insecticidas y fungicidas más aplicados por los agricultores de chile y tomate en Costa Rica (marzo de 1996 a febrero de 1998)

Insecticidas	No. de agricultores que los utilizan		Fungicidas	No. de agricultores que los utilizan	
	No. de agricultores que los utilizan	%		No. de agricultores que los utilizan	%
Confidor® o Gaucho®	62	77,5	Daconil® o Romyl	16	20,2
Tamarón	36	45,0	Antracol®	13	16,5
Decis®	29	36,5	Dithane® M22	12	15,2
Talstar®	24	30,0	Acrobat®	8	10,1
Ambush® o Pounce®	22	27,5	Dithane® M45	6	7,6
Thiodan®	21	26,2	Cursate	5	6,3
Padan o Daga	21	26,2	Benlate®	5	6,3
Lannate®	20	25,0	Ridomyl	5	6,3
Vertimec®	17	21,2	Cuproxal	4	5,0
Evisect®	15	18,7	Kocide® o Cupravit	4	5,0
Orthene®	10	12,5	Orthocide	4	5,0
Dipel®	8	10,0			
Vydate®	8	10,0			

Los insecticidas pueden reducir sustancialmente la cantidad de adultos presentes en un momento dado. Un ejemplo de esto es el uso del endosulfán, que resulta eficaz como insecticida contra *B. tabaci*, pues causa alta mortalidad hasta por 48 horas. En un estudio de 1994 este producto, junto con la bifentrina y el imidacloprid, obtuvieron entre 80 y 97% de reducción de los adultos respecto del testigo, lo que corrobora su eficacia (Cubillo et al. 1994, 1999), pero no evitan la reinvasión posterior, sea porque los insectos han desarrollado resistencia o porque ocurre una afluencia continua y masiva de adultos desde campos cercanos; tampoco evita la diseminación generalizada de la virosis (Hilje 1993).

Se ha observado que en una plaga como *B. tabaci*, con un alto potencial reproductivo, la evolución de la resistencia es más rápida, ya que puede tolerar una presión de selección intensa. Al evaluar el impacto de algunos insecticidas, como los piretroides, se encontró que incrementan la capacidad del insecto para depositar huevos y reducen el período de incubación y la longevidad de los adultos; por tanto, se altera la relación sexual en favor de las hembras, lo que lleva a un incremento de la población en un corto período de tiempo (Ortega 1998). Por eso, se deben rotar los productos de las diferentes familias para evitar o retardar la resistencia de la plaga a un grupo toxicológico específico (Salazar 1996).

El análisis de los plaguicidas que los agricultores aplican durante todo el ciclo productivo, según sea la época del año en la que establecen sus cultivos, indica que durante ambos períodos, seco y lluvioso, los productores usan el cloronicotinilo (Confidor®), seguido por

los piretroides (Decis®, Ambush® y Tostar®), los cuales alternan con otros insecticidas según la época. Durante la época seca, cuando se incrementan las poblaciones de *B. tabaci*, los agricultores utilizan un mayor número de insecticidas para combatir la plaga. El rango se extiende de 1 a 10 productos diferentes agrupados en seis familias; en la época lluviosa, cuando las poblaciones del insecto se reducen, emplean seis insecticidas distribuidos en cuatro familias (Cuadro 4). Por lo tanto, la posibilidad de realizar rotaciones en forma efectiva y con ello evitar la presión de selección se reduce.

Los daños ocasionados por este insecto promueven el uso intensivo de insecticidas, provocando graves desequilibrios en los agroecosistemas y la aparición de estirpes resistentes (Ortega 1998). Para minimizar estos problemas, se recomienda la rotación de los productos químicos, evitar las mezclas, usar productos de origen biológico, aplicar aceites vegetales (Bonilla 1993) y, por supuesto, intensificar los estudios o investigaciones en control biológico.

De los fungicidas utilizados por los entrevistados, los carbamatos son el grupo preferido por los agricultores (41,8%). Un 13,9% prefiere estos mismos productos pero en mezclas. Las flatamidas ocupan el segundo lugar (22,8%), seguidas por un benzimidazol y los cúpricos (10,1%). El resto de los productos se emplean en porcentajes menores (6,3%) (Cuadro 2).

Cuando se analizan los datos de los productos individualmente, el orden de los fungicidas aplicados cambia. El clorotalonil (Daconil® o Romyl®) es el más empleado por los entrevistados (20,2%), seguido por

**Cuadro 4.** Familias de los insecticidas, con sus respectivos productos, preferidas por los agricultores de chile y tomate de Costa Rica según la estación del año (marzo de 1996 a febrero de 1998)

Familias usadas en época seca	Familias usadas en época lluviosa
Cloronicotinilos	Cloronicotinilos
Confidor® (imidacloprid)	Confidor® (imidacloprid)
Piretroides	Piretroides
Decis® (deltametrina), Ambush® (permetrina) y Talstar® (bifentrina)	Decis® (deltametrina), Talstar® (bifentrina) y Ambush® (permetrina)
Nereistoxinas	Organofosforados
Padan (cartap) y Evisect® (tiociclan)	Tamaron® (metamidofós)
Organofosforados	Ciclodienos
Tamaron® (metamidofós)	Thiodan® (endosulfán)
Carbamatos	
Lannate® (metomil)	
Lactona macrocíclica (avermectinas)	
Vertimec® (abamectina)	

el propineb (Antracol®) (16,5%); el maneb (Dithane® M22) ocupa el tercer lugar (15,2%). El resto de los productos son utilizados en porcentajes menores, en rangos que van de un 7,6% a un 5,0% (Cuadro 3).

#### Uso de equipo de protección

El combate de las plagas en nuestro medio se basa en el uso intensivo de plaguicidas sintéticos (Arias 1998); se observa asimismo un mal manejo de estos productos, lo que entre otras cosas compromete el bienestar y la calidad de vida de los seres humanos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula en 3% la población agrícola de los países en desarrollo susceptible de sufrir intoxicaciones agudas por su causa; otras fuentes estiman que pueden ser de 8 a 50 casos por cada 100000 habitantes, contra los 0,2 casos por cada 100000 habitantes de países desarrollados; estas estimaciones no incluyen los posibles efectos crónicos como el cáncer, defectos de nacimiento, abortos y esterilidad. En las últimas décadas, esto ha obligado a realizar actividades de capacitación sobre manejo seguro de plaguicidas con el fin de reducir esos problemas de salud. En Costa Rica, entre 1977 y 1997 se hicieron más de 2000 capacitaciones que involucraron más de 100000 personas, entre agricultores, técnicos, vendedores, distribuidores, amas de casa, maestros y escolares (García 1999).

Sin embargo, las observaciones realizadas en el campo durante estos dos años de estudio diagnóstico revelan que el empleo del equipo de protección no es una práctica común entre los agricultores. A pesar de que en su mayoría hacen las aplicaciones con equipos de aspersión manual, lo que acarrea un

riesgo de exposición para el usuario, ninguno de los entrevistados usa el equipo completo (mascarilla, anteojos, guantes, capa y botas), aduciendo el alto costo y la incomodidad de las ropas y el equipo protector, especialmente en condiciones de clima cálido y húmedo, donde la temperatura ambiente alcanza los 40 °C (Arias 1998, García 1999). Es frecuente que mezclen plaguicidas con fertilizantes, que aplican sin guantes o con guantes defectuosos. A esto se suman la ignorancia, la imprudencia, el analfabetismo y/o condiciones culturales como el machismo, que llevan a considerar a algunos trabajadores que varios de los productos aplicados son inocuos, por lo que no tienen temor a intoxicarse (García 1999). Estos resultados evidencian la necesidad de reforzar las campañas educativas, para asegurar la comprensión por parte de los agricultores del peligro al que se exponen ellos y sus familias al ignorar la importancia de usar los equipos de protección.

#### Dosificación

Se logró establecer que, en su mayoría, los entrevistados utilizaban las dosis recomendadas al aplicar el producto por unidad de volumen (bomba de espalda o estañón); sin embargo, algunos de ellos dicen usar dosis menores a las recomendadas para controlar la plaga o enfermedad, lo cual los obligó finalmente a aplicar con mayor frecuencia. Se ha observado que hembras de *B. tabaci* expuestas a dosis subletales de ciertos plaguicidas fosforados tienden a incrementar su fecundidad (Ortega 1998). Por otra parte, otro grupo menor dice aplicar dosis mayores a las recomendadas, asumiendo que así aumentan su efectividad, práctica

que más bien provoca sobredosificación, y puede inducir en el mediano plazo resistencia a ese ingrediente activo. Otro problema se presenta con aquellos agricultores que dicen aplicar mezclas, pues aunque algunos usan las dosis recomendadas para cada producto, al combinar dos con igual ingrediente activo también incurrir en sobredosificación. Esta mala práctica es común cuando el insecto alcanza densidades incontroladas por lo que, lejos de solucionar el problema, lo agrava, ya que se ha comprobado que con ello se apresura el desarrollo de resistencia simple y cruzada o múltiple y, a su vez, se inhabilita la efectividad del insecticida.

La resistencia a insecticidas se ha convertido en un problema serio para la agricultura y la salud pública, pues el agricultor se ve en la necesidad de aumentar la dosis y la frecuencia de las aplicaciones, lo cual incrementa la presión de selección y favorece la aparición de mecanismos de resistencia más eficaces y expone a quienes los aplican.

Las malas prácticas agrícolas y la resistencia inducen aumentos en los costos de producción, con consecuencias económicas y sociales negativas (Ramírez 1997, Ortega 1998). La aparición de resistencia múltiple podría ocasionar que en cierto momento ningún insecticida sea efectivo. Existen casos documentados de resistencia de mosca blanca a varios insecticidas, relacionados con el tiempo de exposición de la plaga al producto, entre ellos endosulfán, malatión, diazinón, diclorvos, dimetoato y carbofurán. También se ha observado la aparición de resistencia cruzada cuando se aplican insecticidas que comparten un mismo mecanismo de resistencia; un caso involucra al metamidofós y la permetrina (Ortega 1998). Se requieren entonces campañas educativas más agresivas, para informar a los productores de las consecuencias de las malas prácticas agrícolas.

### Número y frecuencia de las aplicaciones

El tiempo transcurrido entre una y otra aplicación es muy variable entre los agricultores entrevistados, y va desde 2, 3, 4, 8, 10, 15 y 22 días hasta 30, lo que implica que un mismo producto es utilizado dos y hasta tres veces por semana. De igual forma, un producto se aplica entre tres y cuatro veces durante el ciclo de cultivo. La mayoría de los agricultores permiten un intervalo de entre dos, tres y ocho días entre aplicaciones, y los criterios para dicha práctica no obedecen a recomendaciones técnicas; la mayoría de las aplicaciones se hacen por calendario (Arias 1998), sin conocer lo que realmente requiere el cultivo, o como una práctica tradicional, u obedecen a la recomendación de un vecino

o amigo, lo indicado por el dependiente del almacén de insumos donde acostumbra comprar y, en el menor de los casos, la recomendación de un técnico. De igual forma, la decisión de la frecuencia de aplicación está relacionada con el grado de infestación de la plaga: a mayor infestación mayor frecuencia.

De los 80 entrevistados, solo 28 (35,0%) indicaron la frecuencia con que aplican los diferentes plaguicidas, lo cual no permite establecer diferencias por zona.

### Uso de mezclas

Al alcanzar los organismos plaga densidades incontroladas, el agricultor opta por aumentar las dosis y/o hacer mezclas de insecticidas con el propósito de asegurar la cosecha si el precio del cultivo lo paga, para ahorrar tiempo o mano de obra, o por la creencia de que las mezclas son más eficaces, aunque en realidad esta práctica lejos de solucionar el problema lo incrementa, especialmente si para dicho control se cuenta con un número limitado de insecticidas cuyo costo es cada vez mayor (Ortega 1998, García 1999). El uso de mezclas trae aparejado el desarrollo de resistencia simple y múltiple, y con ella la pérdida de efectividad del insecticida (Ortega 1998). La resistencia que tiene una base genética permite al individuo sobrevivir a la exposición de dosis letales, ya sea porque ha desarrollado mecanismos que impiden que el producto entre en contacto con el sitio de acción, o porque este es degradado antes de alcanzarlo (Roush 1996). La aparición de fenotipos resistentes se asocia también con el tiempo de exposición de la plaga al producto. El problema más serio ocurre con las plagas más frecuentes. En Australia se ha reportado resistencia a insecticidas como diazinon y bifentrina, utilizados para combatir la mosca blanca. Algunos otros productos introducidos recientemente y que están bajo amenaza de resistencia son abamectina e imidacloprid, especialmente efectivos contra la misma plaga; la resistencia al primero ha sido reportada en California y para el segundo en España como se mencionó anteriormente (Roush 1996).

Por otra parte, la resistencia no evoluciona a la misma velocidad en todos los organismos sometidos a la misma presión de selección, siendo más rápida en insectos con altas tasas de fecundidad, más generaciones por año, un historial de exposición prolongado y un alto porcentaje de la población expuesta (Ortega 1998).

Al desarrollar la resistencia cruzada, la plaga será resistente incluso a productos a los que nunca ha sido expuesta (Roush 1996). A pesar de estos graves problemas, la experimentación con algunas mezclas evidenció

su eficacia y superioridad frente a los insecticidas solos; algunos investigadores consideran que varios fosforados inhiben la acción de la enzima que degrada los piretroides, restableciéndoles su capacidad de acción (Salguero y Morales 1994). Por lo tanto, cuando sea necesario realizar mezclas, lo recomendable es emplear productos que tengan diferente modo de acción y una vida media corta (Roush 1996).

Las respuestas de los agricultores muestran la existencia de una anarquía en la preparación de las mezclas. Cuarenta y dos entrevistados respondieron que hacían mezclas (52,5%) (Cuadro 5). La razón que dicen tener para efectuarlas es la creencia de que dos productos controlan mejor que uno, o que se pueden ahorrar trabajo a la hora de aplicar si mezclan un insecticida con un fungicida, un fertilizante, un coadyuvante, un herbicida o un bactericida. Lo inconveniente de esta práctica es que no realizan pruebas de compatibilidad química y no se conoce la compatibilidad biológica de la mezcla ni las proporciones adecuadas de cada producto en caso de ocurrir potenciación. No existe un patrón de cómo y por qué deciden cuáles productos unir, porque los 42 entre-

vistados que afirmaron mezclar productos arrojaron 39 respuestas con combinaciones diferentes (Cuadro 5). A grandes rasgos, las mezclas se hacen entre insecticidas con insecticidas, fungicidas, herbicidas y fertilizantes, o entre fungicidas con fungicidas, insecticidas, fertilizantes y enmiendas.

El manejo fitosanitario que los agricultores continúan dando a sus cultivos se fundamenta en el control químico. El 100% de los entrevistados respondió afirmativamente a esta consulta. Hoy en día utilizan más productos de introducción reciente y productos de vida media más corta.

Sin embargo, el cambio hacia algunos plaguicidas menos tóxicos para los sistemas naturales y los seres humanos se ve opacado ante la evidencia de que un número considerable de agricultores incurre en la mala práctica de la sobredosificación, sea por incremento de las dosis respecto de las cantidades recomendadas, porque aplican mezclas de insecticidas con igual ingrediente activo, o porque las aplicaciones son más frecuentes y entre un número reducido de productos.

**Cuadro 5.** Tipos de mezclas que realizan agricultores de chile y tomate en Costa Rica (marzo 1996 a enero de 1998)

Insecticidas (familia + mezcla)		Fungicidas (familia + mezcla)	
Organofosforado	+ Organofosforado Piretroides Herbicidas	Carbamato	+ Antibiótico Organoclorado* Ditocarbamato*
Organofosforado	+ Organofosforado Nereistoxinas	Flatamida	+ Benzimidazol
Organofosforado	+ Diferente grupo Sales de potasio	Ditocarbamato	+ Abono foliar Piretroide
Ciclodieno	+ Piretroides Fungicidas	Organoclorado	+ Abono orgánico
Cloronicotinilo	+ Cloronicotinilo Piretroides Fungicidas Fertilizante	Cobre metálico	+ Enmienda (encalado y otras prácticas)
Piretroide	+ Piretroide Organofosforados Fungicidas		
Nereistoxinas	+ Piretroides Fungicidas Sales de potasio		

\*Fungicida.

Estos resultados demuestran la creciente necesidad de promover una mayor y mejor capacitación de nuestros productores de tomate y chile, así como de nuevas investigaciones que permitan ofrecerles nuevas alternativas de manejo del organismo plaga, haciendo un uso más racional de los plaguicidas, en asocio con otros sistemas de combate, dentro de las prácticas que involucra un sistema de manejo integrado de plagas.

Los productores de tomate y chile enfrentan un sinnúmero de plagas y enfermedades que los obligan a utilizar plaguicidas disponibles en el mercado nacional, y no usan otros sistemas alternativos de manejo de plagas, como el control biológico. Esto hace necesaria la estructuración de módulos, talleres, charlas y conferencias, dirigidas a los técnicos que normalmente asesoran a los productores en el uso y manejo adecuado de los plaguicidas y a los mismos agricultores y cuyo propósito sea lograr que adopten las buenas prácticas agrícolas y mejoren la destrucción de residuos de cosecha, dosificaciones, número y frecuencia de las aplicaciones, uso de mezclas y rotación de cultivos.

Se deben enseñar métodos y técnicas sustitutivas, encaminadas a reemplazar el método químico por un sistema integrado de manejo que permita reducir los volúmenes de productos químicos utilizados. Un primer paso debe ser la capacitación de los involucrados en el conteo de los organismos plaga en el campo, de modo que, usando un criterio técnico para decidir cuál es el umbral económico de daño (empleado especialmente con moscas blancas por ser transmisoras de virus), se efectúen las aplicaciones solo cuando el problema sea real y verdaderamente lo amerite.

### Literatura citada

- Araya, L; Monge, LA; Carazo, E; Cartín, V. 1999. Diagnóstico del uso de insecticidas para el combate de *Plutella xylostella* en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas 52:49-61.
- Arias, F. 1998. Evaluación económica de las diversas dosis y frecuencias de aplicación de plaguicidas en papa y cebolla utilizados por un grupo de agricultores en la zona de Tierra Blanca de Cartago. CR, Escuela de Economía Agrícola. Facultad de Agronomía. Universidad de Costa Rica. 96 p.
- AVCARE (National Production and Animal Health). 1999. Avcare Insecticide Resistance Action Comitee (AIRAC). Mode of Action Classification for Insecticides. 4 p.
- Bonilla, F. 1993. Período de adquisición y transmisión de geminivirus de tomate (*Lycopersicon sculentum* L.), por la mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.) (Homóptera: Aleyrodidae). Universidad de Costa Rica. Turrialba. 58 p.
- Carazo, E; Monge, LA. 2003. Grupos Toxicológicos de Insecticidas. Universidad de Costa Rica, CICA. 6 p.
- Cubillo, D; Larriva, W; Quijije, R; Chacón, A; Hilje, L. 1994. Evaluación de la repelencia de varias sustancias sobre la mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Homóptera: Aleyrodidae). Manejo Integrado de Plagas 33:26-28.
- \_\_\_\_\_; Sanabria, G; Hilje, L. 1999. Evaluación de la repelencia y mortalidad causada por insecticidas comerciales y extractos vegetales sobre *Bemisia tabaci*. Manejo Integrado de Plagas 53:65-71.
- García, J. 1999. El mito del manejo seguro de los plaguicidas en los países en desarrollo. Manejo Integrado de Plagas 52:25-41.
- Herrera, F; Carballo, M; Shannon, P. 1999. Eficacia de cepas nativas de hongos entomopatógenos sobre *Bemisia tabaci*, en el laboratorio. Manejo Integrado de Plagas 54:37-43.
- Hilje, L. 1993. Un esquema conceptual para el manejo integrado de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en el cultivo de tomate. Manejo Integrado de Plagas 29:51-57.
- \_\_\_\_\_. 1995. Aspectos bioecológicos de *Bemisia tabaci* en Mesoamerica. Manejo Integrado de Plagas 35:46-54.
- \_\_\_\_\_. 1997. Posibilidades para el manejo integrado del complejo *Bemisia tabaci*-Geminivirus en Costa Rica. Agronomía Costarricense 21(1):139-142.
- Lagunes, A. y Villanueva, J.A. 1994. Toxicología y Manejo de Insecticidas. México, Colegio de Posgraduados de Chapingo. 264 p.
- Quirós, C; Hilje, L; Ramírez, O. 1994. Participación de los agricultores en adaptar y evaluar tecnologías de semilleros contra la mosca blanca (*Bemisia tabaci*), en tomate. Manejo Integrado de Plagas 34:1-7.
- \_\_\_\_\_; Calvo, G; Ramírez, O. 1995. Diagnóstico de la problemática fitosanitaria del cultivo de tomate, con énfasis en mosca blanca *Bemisia tabaci* (Geminivirus). Manejo Integrado de Plagas 38:8-15.
- Ortega, LD. 1998. Resistencia de *Bemisia argentifolii* a insecticidas: implicaciones y estrategias de manejo en México. Manejo Integrado de Plagas 49:10-25.
- Peralta, L; Hilje, L. 1993. Un intento de control de *Bemisia tabaci* con insecticidas sistémicos incorporados a la vainica como cultivo trampa, más aplicaciones de aceite en el tomate. Manejo Integrado de Plagas 30:21-23.
- Polston, J; Anderson, P. 1999. Surgimiento y distribución de Geminivirus transmitidos por mosca blanca en tomate en el hemisferio occidental. Manejo Integrado de Plagas 53:24-42.
- Ramírez, P. 1997. Los Geminivirus. Manejo Integrado de Plagas 43:40-54.
- \_\_\_\_\_; Maxwell, D. 1995. Geminivirus transmitidos por moscas blancas. Manejo Integrado de Plagas 36:22-27.
- Rivas, G; Lastra, R; Hilje, L. 1994. Retardo de la virosis transmitida por *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate mediante semilleros cubiertos. Manejo Integrado de Plagas. 31:12-16.
- Roush, R. 1996. Chemical resistance: why you should be concerned. Sardi Horticulture: ornamental and flower crops. Australia, South Australian Research and Development Institute. p. 1-3.
- Ruiz, J; Aquino, T. 1999. Manejo de *Bemisia tabaci* mediante barreras vivas y *Paecilomyces* en Oaxaca, México. Manejo Integrado de Plagas 52:68-73.
- Salazar, E. 1996. Efecto de la densidad de adultos virulíferos de la mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Gennadius), sobre la severidad del mosaico amarillo del tomate, y el rendimiento del cultivo. Escuela de Fitotecnia. Sede del Atlántico. Universidad de Costa Rica. Turrialba. Costa Rica. 57 p.
- Salguero, V; Morales, J. 1994. Eficiencia de insecticidas para el control de *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate. Manejo Integrado de Plagas 31:25-28.

## Aportes de productores y científicos al entendimiento de la agregación de *Hypothenemus hampei* en Chiapas, México

Ramón Jarquín Gálvez<sup>1</sup>  
Leobardo Jiménez Sánchez<sup>2</sup>  
Falguni Guharay<sup>3</sup>  
Juan F. Barrera<sup>1</sup>

**RESUMEN.** El presente estudio se llevó a cabo en comunidades del Soconusco y Sierra del Estado de Chiapas, México, con el objetivo conocer la percepción de productores de café en torno a la distribución espacial de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Se aplicaron encuestas y se realizaron recorridos de campo y muestreos, contrastando el conocimiento local con el científico reportado en la literatura. De 171 productores interrogados, 63% mencionaron que la distribución de la broca dentro del cafetal no era uniforme. La mayoría de los productores identificaron la existencia de “focos” o “manchones” de infestación de broca y los atribuyeron a varias causas. La observación y la recolección de frutos fueron las formas más utilizadas por los productores para identificar los focos de infestación. La presencia de sitios de agregación de la broca en los cafetales está aparentemente vinculada a un complejo de factores naturales y no naturales, coincidiendo en este punto productores e investigadores. Este estudio proporciona una aproximación metodológica que puede servir de base a estudios posteriores que traten de seguir eslabonando el conocimiento local con el externo.

**Palabras clave:** café, percepción de productores, conocimiento local, distribución espacial *Hypothenemus hampei*.

**ABSTRACT.** *Contribution of scientists and farmers to understanding the spatial distribution of Hypothenemus hampei in Chiapas, Mexico.* This study was carried out in rural communities of the Soconusco and the Sierra regions of Chiapas State, Mexico, during 2001. The objective was to examine the perception of coffee farmers regarding the spatial distribution of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). Farmer interviews and sampling of coffee plots were performed to compare local knowledge with scientific studies reported in the relevant literature. Of 171 farmers interviewed, 63% mentioned that the coffee berry borer did not follow a uniform distribution within the coffee plots. The majority of farmers identified the existence of “hot spots” or “patches” of coffee berry borer infestation that were attributed to various causes. The observation and collection of coffee berries were the preferred methods used by the farmers to identify patches of coffee berry borer infestation. Farmers and researchers both agreed that the aggregated distribution of the coffee berry borer is related to a complex of natural and anthropogenic factors. This study provides a methodological framework that can be used as a basis for subsequent studies that attempt to improve the flow of information between growers and scientists interested in pests, weeds and plant diseases.

**Key words:** Coffee, farmer's perception, local knowledge, spatial distribution, *Hypothenemus hampei*.

### Introducción

Las plagas y enfermedades de los cultivos siguen siendo una de las limitantes más grandes de la producción agrícola y forestal en América y el resto del mundo (National Research Council 1996). En el caso del café, la broca del grano *Hypothenemus hampei*

(Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) es la plaga más importante en la mayoría de los países que lo producen (Dufour et al. 1999). El manejo integrado de la broca es considerado como la opción más viable para el manejo de poblaciones de broca, evitando con su uso un nivel de daño que afecte de manera importante

<sup>1</sup> El Colegio de la Frontera Sur Carretera Antigua Aeropuerto Km 2.5 Tapachula, Chiapas, 30700, México. rjarquin@tap-ecosur.edu.mx ; jbarrera@tap-ecosur.edu.mx

<sup>2</sup> Colegio de Postgraduados, Instituto de Socioeconomía, Estadística e Informática. Montecillo Estado de México 56180, México. ljs@colpos.mx.

<sup>3</sup> Consultora para la Comunicación en el Campo, Managua, Nicaragua. fguharay@gmail.com

a los productores (Guharay 2001, Jarquín et al. 2002). Sin embargo, cualquier acción de manejo integrado debe ir estrechamente relacionada con la situación del insecto en el cafetal, y su éxito dependerá en gran medida del grado de conocimiento que el productor tenga del comportamiento y manejo de la broca en su propiedad (Bustillo et al. 1998).

Se ha informado que la distribución de la broca dentro del cafetal se da de forma agregada, formando "focos" o "manchones" de infestación (Decazy et al. 1989, Barrera 1994). La existencia de estos focos se ha relacionado con varios factores, como la presencia de sombra (Baker 1984, Baker et al. 1989). Otros autores (Bustillo et al. 1990) consideran que la humedad ejerce un efecto sobre la broca, ya que a bajos niveles de humedad relativa aumenta la mortalidad de este insecto, dándose la fecundidad más alta en ambientes de entre HR 90 y 98,5%, justamente en condiciones de sombra. La presencia de los focos se atribuye también a la heterogeneidad biótica dentro del cafetal, pues estos surgen mayormente en las partes bajas de la plantación y en plantas cercanas a vegetación densa, como guaduales (*Bambusa guadua*), monte y rastrojos (Cárdenas y Posada 2001). En particular, el mantenimiento de la broca dentro de los cafetales de la especie *Coffea arabica* se atribuye a la presencia de la especie *Coffea canephora*, porque fructifican en períodos diferentes (Leach 1998).

Independientemente de las causas que favorecen dichos focos, hasta hoy el método recomendado para identificar esas áreas de mayor presencia de broca dentro del cafetal es el muestreo de frutos (Decazy 1989). El muestreo de la broca en la plantación ha sido considerado clave como herramienta para la implementación eficiente de la estrategia de manejo integrado, ya que permite a los productores valorar el problema y cuantificarlo (Barrera 1994).

Si el productor hace muestreos puede identificar los sitios de mayor infestación y así dirigir hacia estos las acciones de recolección de frutos residuales y perforados, la aplicación de hongos entomopatógenos (como *Beauveria bassiana*), la liberación de parasitoides (por ejemplo, *Cephalonomia stephanoderis*) o el uso de trampas para capturar los adultos de broca que emergen durante la inter cosecha, evitando aplicaciones equivocadas de plaguicidas o acciones mecánicas innecesarias (Barrera et al. 2004, Jarquín 2004).

No obstante las bondades del muestreo, su práctica es poco frecuentada por los caficultores (Guharay 1997, Jarquín et al. 1999 y 2002, Jiménez 1999). Por

otro lado, existen indicios de que algunos productores saben localizar los sitios de agregación de la broca, valiéndose de los conocimientos sobre las características de sus parcelas (Segura et al. 2004). Por lo anterior, se parte de la hipótesis de que los caficultores son capaces de identificar los focos de broca en sus cafetales, con mecanismos propios, distintos al muestreo recomendado por los científicos.

Este trabajo pretende conocer la percepción de los productores en torno a la forma en la cual se concentra la broca del café en determinadas zonas de sus cafetales, denominadas "focos" o "manchones" de infestación, y comparar el conocimiento de los productores con el conocimiento científico en torno a las causas que determinan la presencia de dichos focos.

### Materiales y métodos

La investigación se realizó entre enero y octubre del 2001, con la participación de caficultores de las regiones Soconusco y Sierra del Estado de Chiapas, México. Se trabajó en las comunidades Santa Rosalía y Tiro Seguro del Municipio de Tapachula, Mixcum del Municipio de Cacahoatán y Piedra Partida del Municipio de Motozintla.

Se tomó una muestra de productores de dichas comunidades, considerando un 95% de confiabilidad en el tamaño de muestra ( $n = 171$ ). Los productores fueron encuestados y se hicieron recorridos de campo posteriores para verificar la información obtenida de la encuesta. Dentro de la muestra encuestada se encontraban productores participantes de un proyecto ejecutado entre 1998 y 2001, el cual tuvo el objetivo de promover el uso del manejo integrado de la broca entre productores de bajos ingresos mediante de parcelas de trabajo (FCPB-OIC 2002).

### Primera etapa

Durante el primer trimestre del 2001, los productores muestreados fueron entrevistados con preguntas relacionadas con su capacidad de identificar focos de broca en sus cafetales. Las preguntas del cuestionario fueron: (1) ¿la broca está en todo el cafetal o solo en algunas partes?, y (2) ¿según usted, cuál es la causa?

### Segunda etapa

Entre agosto y octubre de este mismo año, se realizó un trabajo más específico con 25 productores seleccionados al azar del grupo que previamente había señalado que la broca no se distribuía uniformemente en el cafetal. La finalidad de esto fue definir el conocimiento



de los productores sobre la agregación de la broca y las causas con las cuales relacionaban la presencia de la broca en determinadas áreas. Para ello, se aplicó un nuevo cuestionario con el propósito de confirmar las respuestas dadas anteriormente y se realizaron recorridos de campo para verificar la existencia de los focos en cuestión.

El área de trabajo se determinó con base en la presencia de un "foco" o "manchón" de infestación de broca identificado por cada productor. El personal técnico-académico que acompañó la realización del estudio delimitó el área de trabajo, confirmó el diagnóstico de daño por broca y la presencia del "foco" o "manchón" mediante un muestreo convencional, el cual consiste en tomar la proporción de sitios de muestreo correspondiente a 20 sitios ha<sup>-1</sup>, ubicando en cada sitio cinco plantas de café en línea, contando al azar 20 frutos de una rama central de cada planta y clasificando los frutos en perforados y no perforados por la broca, con el fin de calcular el promedio de frutos perforados en la superficie muestreada (Barrera et al. 1993).

Se registraron las características del cafetal circundante (<5,0 m) a cada foco de infestación, y estas se dividieron de manera arbitraria en características *naturales* y *no naturales* de los cafetales. En las primeras se consideró la presencia de *C. arabica* solo o asociado con *C. canephora*. En las segundas se registró la cercanía de un camino; colindancia con un productor vecino que no realizaba acciones de control de la broca; cercanía de una fuente de agua y porcentaje de sombra de árboles asociados a las plantas de café (la cuantificación de sombra se realizó utilizando un densímetro esférico tipo "C", siguiendo la metodología de Lemmon 1956).

## Resultados

### Primera etapa

De los 171 productores interrogados, 108 (63%) mencionaron que la distribución de la broca dentro del cafetal no era uniforme. Acerca de los mecanismos de identificación del foco, el 53,2% de la muestra manifestó hacerlo por medio de la observación al recorrer el campo y el 46,8% mencionó que lo hace en la recolección de frutos durante la cosecha. Al preguntar por las causas con las cuales relacionaban dicha distribución, 85,1% de los entrevistados citó más de un factor. En total se obtuvieron siete respuestas a dicha pregunta: (i) exposición de los cafetales al sol (38,0%); (ii) sombra (19,4%); (iii) cercanía de un camino (11,1%); (iv) presencia de *C. canephora* mezclada con plantas de *C. arabica* (10,1%); (v) falta de manejo

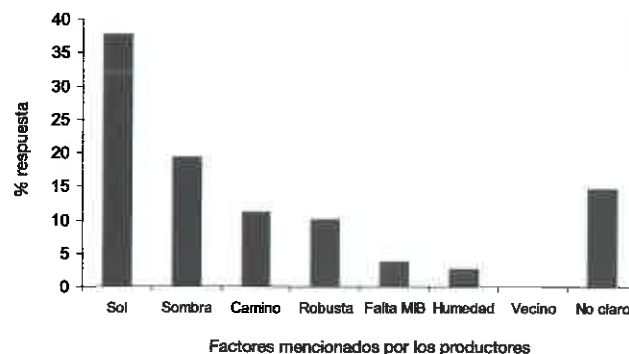


Figura 1. Porcentaje de los factores mencionados en las respuestas de los productores con relación a las causas principales de la agregación de la broca en sus cafetales. Soconusco y Sierra de Chiapas, México. Enero-abril del 2001 ( $n = 171$ ). MIB = manejo integrado de la broca.

integrado de la broca (3,7%); (vi) humedad del lugar (2,7%), y (vii) el 15,0% no tuvo claro por qué la broca presenta esa distribución. La cercanía de un vecino que no combate la plaga no fue mencionada (Fig. 1). La prueba de  $\chi^2$  reportó diferencias altamente significativas en las frecuencias de las respuestas entre la primera respuesta y las seis restantes (tabla de una sola vía  $\chi^2_6 = 64,9$ ,  $p \leq 0,4001$ ).

### Segunda etapa

Según los resultados de los recorridos realizados en las parcelas de los 25 productores que afirmaron reconocer focos de broca para registrar sus características y verificar la existencia de dichos focos, en todos los casos el foco señalado por el productor coincidió con un sitio infestado por broca detectado mediante el muestreo recomendado por los científicos y efectuado por el personal técnico-académico que participó en el estudio (Decazy et al. 1989, Barrera 1994).

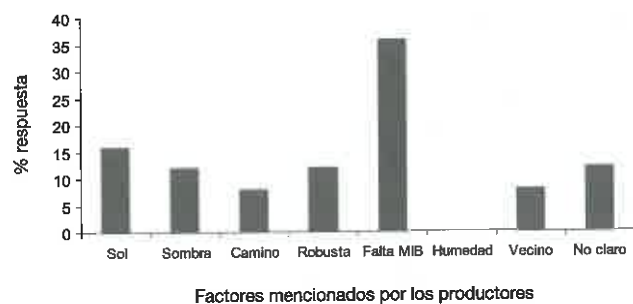
El 100% de los encuestados confirmó que la broca no se distribuía uniformemente en el cafetal. Sobre los mecanismos de identificación del foco, 52% de la muestra manifestó hacerlo por medio de la observación y 48% mencionó a través de la recolección de frutos.

En cuanto a las causas de la distribución agregada de la broca, en el 36,0% de los casos los productores mencionaron la falta de manejo integrado de la broca como la causante principal del foco. La falta de sombra (luz/calor) en el cafetal fue mencionada en el 16,0% de los casos, mientras que la presencia de la especie de café *C. canephora* y el exceso de sombra siguieron en el orden de mención, con el 12% cada una. Otro 12% reconoció no saber la causa de la presencia del foco

de infestación, aunque sí lo identificaran plenamente en el campo. Respuestas como colindar con un vecino que no controla a la plaga y la cercanía de un camino fueron mencionadas en menor medida, con 4% y 8%, respectivamente (Fig. 2). La prueba de  $\chi^2$  no mostró diferencias significativas entre las frecuencias de las respuestas (tabla de una vía,  $\chi^2_6 = 11,12$ ,  $p = 0,0847$ ).

Se encontró la asociación *C. arabica*-*C. canephora* en el 64% de los focos señalados por los productores, y solamente *C. arabica* en el 36% restante, sin diferencias significativas entre las frecuencias de ambas respuestas (tabla de una vía,  $\chi^2_1 = 1,96$ ,  $p = 0,1615$ ).

En el 68% de los manchones señalados por los productores se encontró un camino a menos de 5 m de distancia, mientras que la cercanía de un vecino que no controlaba la broca y la presencia de un cuerpo de agua permanente se encontraron en 17,4% y 8,6% de las veces, respectivamente. En este caso se presentó una diferencia altamente significativa entre las frecuencias de respuestas del camino como causa principal de los últimos dos factores (tabla de una vía,  $\chi^2_2 = 14,16$ ,  $p \leq 0,001$ ).



**Figura 2.** Porcentaje de los factores mencionados por los productores encuestados en la segunda etapa del estudio con relación a las causas principales de la agregación de la broca en sus cafetales. Soconusco y Sierra de Chiapas, México. Agosto-octubre del 2001 ( $n = 25$ ). MIB = manejo integrado de la broca.

El promedio ( $\pm$  error estándar) de la sombra o cobertura arbórea en las 25 parcelas visitadas fue de 63,66% ( $\pm 26,66$ ). El número de focos con sombra mayor a 40% ( $n = 23$ ) fue estadísticamente diferente del número de manchones que no están cubiertos por este nivel de sombra ( $n = 2$ ) (tabla de una vía,  $\chi^2_1 = 20,16$ ,  $p = 0,7001$ ). Al comparar el nivel de sombra de los focos donde los productores identificaron el exceso de sombra ( $n = 3$ ) como la causa principal de la agregación de la broca, con respecto a aquellos que mencionaron el exceso de sol como causa principal ( $n = 4$ ), se encontró

que el promedio de sombra en el primer caso fue de 60,10% ( $\pm 15,45$ ) y en el segundo de 58,9% ( $\pm 30,9$ ), sin diferencias entre ambos según la prueba no paramétrica de Mann-Whitney ( $U = 6$ ,  $p = 1$ ).

## Discusión

Al parecer no hubo acuerdos entre las observaciones de los productores y los reportes de los científicos en cuanto a la función que tiene la sombra en la agregación de los focos o manchones, ya que en ambas etapas la sombra no fue considerada por los productores como la primera causa de formación de focos. Sin embargo, la mayoría de los focos visitados se encontraron en condiciones de sombra excesiva (40-50%), siguiendo los criterios de varios autores (Anónimo 1999, Soto y Anzuetto 2001, Soto et al. 2002).

Barrera y Covarrubias (1984), en un estudio realizado en Chiapas, México, comparando densidad de sombra e infestación, encontraron mayor presencia de broca en cafetales sombreados que en los menos sombreados. Esto coincide con resultados obtenidos por Wegbe et al. (2003); no obstante, en el estudio realizado por Muñoz et al. (1986) no se encontró diferencia en la infestación de broca al comparar tres estratos de sombra cerca del lago de Yojoa en Honduras.

En la primera etapa de la investigación, la mayoría de los productores atribuyó al sol la causa por la cual se agregan las brocas en sus cafetales, coincidiendo con estudios recientes realizados en Colombia (Cárdenas y Posada 2001), que reportan que la luz atrae a la broca. Según este estudio, los focos se forman en aquellos puntos de los cafetales donde contrasta la intensidad luminosa en forma de motas. Por otro lado, Monterrey (1994) en Nicaragua no encontró diferencias significativas entre la infestación de este insecto en plantaciones con sombra y sin ella.

En lo que respecta a la asociación de diferentes especies de café, la presencia de *C. canephora* no mostró un efecto significativo en los focos, por lo que este estudio no corroboró los resultados encontrados a través de modelos de simulación realizados por Leach (1998) a partir de información obtenida en la región del Soconusco. Sin embargo las observaciones de varios productores coinciden en indicar la presencia cercana de *C. canephora* como causa de los focos de infestación de la broca.

La cercanía de un camino se encontró frecuentemente asociada con los focos. Aunque se considera que el traslado del café cosechado con cerezas infesta-

das por los caminos es una fuente potencial de infestación, la mayoría de los productores encuestados no tuvieron esta percepción.

La percepción de los productores sobre la falta de manejo integrado de la broca como causa de la agregación de la broca en la segunda etapa del estudio se podría atribuir a la influencia de las actividades de capacitación y difusión del proyecto para el fomento del manejo integrado de la broca, realizado casi a la par de este estudio (CFC/CABE/ICO 2002).

El conocimiento de los productores sobre la distribución de la broca en sus cafetales abre la posibilidad de identificar los focos de infestación de esta plaga con una eficacia similar al muestreo recomendado por los científicos como única herramienta (Barrera et al. 1993). Esta investigación permitió conocer que los mecanismos de identificación de los manchones de broca utilizados por los productores están más relacionados con la observación y la recolección de frutos que con en el muestreo convencional; no obstante, fue evidente que al trabajar conjuntamente con científicos, los productores tuvieron mayor oportunidad de relacionar la influencia de ciertos factores que originalmente no vinculaban con los focos, como la cercanía de caminos o el exceso de sombra. Esta experiencia puso de manifiesto que los conocimientos de productores y científicos se pueden complementar para dar como resultado una mejor comprensión de los fenómenos que ocurren en el campo.

Promover la participación social constituye un paradigma que implica forzosamente adecuaciones en la concepción de quienes procuran el cambio tecnológico en las comunidades rurales. En este sentido, Bentley (1992) opina que los agentes externos deberían partir del reconocimiento de las capacidades y conocimientos populares, pues considera que solo a través de la experimentación local será posible encontrar soluciones armónicas con las condiciones ecológicas y económicas que imperan en las zonas rurales.

Los focos o manchones de infestación de la broca del café estuvieron aparentemente vinculados a un complejo de relaciones naturales y no naturales presentes en los cafetales. Al respecto coincidieron tanto los productores, a través de los conocimientos y percepciones sobre la infestación de la broca en sus cafetales, como los investigadores a través de las técnicas de muestreo convencional.

## Agradecimientos

Se agradece a los productores por su conocimiento, paciencia y buena voluntad. Por el financiamiento otorgado agradecemos al proyecto MIB-OIC-CABI BioScience-PROMECAFE, al SIBEJ - CONACYT (clave 19980501023) y a ECOSUR, en particular al proyecto Manejo Integrado de Plagas, por las facilidades para realizar este estudio. Muy especialmente a Javier Valle Mora, por la asesoría en los análisis estadísticos y a los colegas Manuel Figueroa y Román Montes por su invaluable apoyo en los trabajos de campo.

## Literatura citada

- Baker, PS. 1984. Some aspects of the behavior of the coffee berry borer in relation to its control in southern México (Coleoptera: Scolytidae). *Folia Entomológica Mexicana* 61:9-24.
- \_\_\_\_\_; Barrera, JF; Valenzuela, JE. 1989. The distribution of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) in Southern México: a survey for a biocontrol project. *Tropical Pest Management* 35:164-168.
- Barrera, JF; Covarrubias, ML. 1984. Efecto de diferentes condiciones de sombra del cafetal sobre la intensidad del ataque de la broca del grano del café, en el Soconusco, Chiapas, México. *In* Congreso Nacional de Manejo Integrado de Plagas (2, 1984, Guatemala). p. 208-218.
- \_\_\_\_\_; Infante, F; Gómez, J; Castillo, A; De la Rosa, W. 1993. Guía práctica umbrales económicos para el control de la broca del café. Tapachula, Chiapas, MX, Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste. 49 p.
- \_\_\_\_\_. 1994. Dynamique des populations du scolyte des fruits du caféier, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), et lutte biologique avec le parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera Bethyilidae) au Chiapas Mexique. Tesis de Doctorado. Toulouse, FR, Université Paul Sabatier. 301 p.
- \_\_\_\_\_; Villacorta, A; Herrera, J. 2004. Fluctuación estacional de las capturas de "la broca del café" (*Hypothenemus hampei*) con trampas de etanol-metanol e implicaciones sobre el número de trampas. *In* Morales, M; Ibarra G, M; Rivera G, AP; Standford C, S. eds. *Entomología Mexicana* 3:540-544.
- Bentley, WJ. 1992. El Rol de los Agricultores en el MIP. *CEIBA* 33(1):357-367.
- Bustillo, A; Castillo, H; Villalba, D; Morales, E; Vélez, P. 1990. Proyecto control biológico de la broca del café. Colombia, CENICAFE. s.p.
- Cárdenas, MR; Posada, FF. 2001. Los Insectos y otros habitantes de cafetales y platanales. Chinchina de Caldas, CO, CENICAFE. p. 126-141.
- Decazy, B; Ochoa, AH; Letode, R. 1989. Indices de distribution spatiale et méthode d'échantillonnage des populations du scolyte des drupes du caféier, *Hypothenemus hampei*. *Café, Cacao, Thé* 33:27-41.
- Dufour, B; Barrera, JF; Decazy, B. 1999. La Broca de los frutos del Cafeto: ¿La lucha biológica como solución? *In* Bertand, B; Rapidel, B. eds. *Desafíos de la Caficultura en Centroamérica*. San José, CR, IICA. PROMECAFE. CIRAD. 293-326.
- El Cultivo de Café con Sombra: Criterios para cultivar un café "Amistoso de las Aves". 1999. SMBC. Washington, DC, US. 5 p.

- CFC/CABE/ICO (Fondo Común de los Productos Básicos/ Organización Internacional del Café). 2002. Informe Final Proyecto Manejo Integrado de la Broca del café CFC/ICO/02. 1998-2002. Ospina F.H (Coordinador editorial) Cali, CO, The Commodities Press. 154 p.
- Guharay, F; Monterrey J. 1997. Manejo Ecológico de la broca del cafeto en América Central. *Manejo Integrado de Plagas* 22:i-viii.
- \_\_\_\_\_; Monterrey, D; Monterroso; Staver, C. 2000. Manejo Integrado de Plagas en el cultivo del café. Managua, NI, CATIE. 263 p. (Serie técnica. Manual Técnico no. 44).
- Jarquín, GR; Barrera, JF; Nelson, K; Martínez, A. 1999. Métodos no químicos contra la broca del café y su transferencia tecnológica en los Altos de Chiapas, México. *Agrociencia* 33:431-438.
- \_\_\_\_\_; Barrera, JF; Guharay, F; Jiménez, L; García, L; Figueroa, M; Montes, R. 2002. Manejo integrado de broca del café bajo dos modelos de transferencia de tecnología. *In* Barrera, JF. ed. *Tres plagas del café en Chiapas*. Chiapas, MX, El Colegio de la Frontera Sur. p. 21-32.
- \_\_\_\_\_. 2004. Agroecosistemas cafetaleros en Los Altos de Chiapas: una revisión. *Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente* 4(7):83-93.
- Jiménez, GL. 1999. Small-scale coffee growers knowledge and activities related to control of the coffee berry borer in Chiapas, México. Tesis de Maestría en Ciencias. Chiapas, MX, El Colegio de la Frontera Sur. p. 31.
- Leach, A. 1998 Un Modelo de simulación para mejorar las recomendaciones ecológicas y económicas para el control de la broca del café en México. *In* Reunión Intercontinental sobre Broca del Café. Eds. JF Barrera; AA Guerra; JJ Menn; PS Baker. Chiapas, MX. p. 71.
- Lemmon, EP. 1957. A New Instrument for Measuring Forest Overstory Density. *Journal of Forestry* 55(9):667-668.
- Monterrey, J. 1994. Avances de los estudios bioecológicos de la broca del café en Nicaragua. *In* Congreso Internacional de Manejo Integrado de Plagas (5, San José, CR). ICAFE. p. 161.
- Muñoz, R; Andino, A; Zelaya, R. 1986. Fluctuación poblacional de la broca del fruto del cafeto en la zona del lago de Yojoa. *In* Seminario Nacional de Investigación Cafetalera (4, 1986, Tegucigalpa, HN). Memorias. Tegucigalpa, HN, IHCAFE. p. 75-99.
- National Research Council. 1996. *Ecologically Based Pest: New Solutions for a New Century*. Washington, DC, US, National Academy. 160 p.
- Segura HR; Barrera, JF; Morales, H; Nazar, A. 2004. Farmer's perceptions, knowledge, and management of coffee pest and diseases and their natural enemies in Chiapas, México. *Journal of Economic Entomology* 97(5) 1491-1499.
- Soto, L; Anzueto, M. 2001. Café con sombra. Resultados de investigación. Chiapas, MX, El Colegio de la Frontera Sur. 10 p.
- Soto-Pinto, L; Perfecto, I; Caballero-Nieto, J. 2002. Shade over coffee: its effects on berry borer, leaf rust and spontaneous herbs in Chiapas, México. *Agroforestry Systems* 55:37-45.
- Wegbe K; Cilas, CH; Decazy, B; Alauzet, C; Dufor, B. 2003. Estimation of production losses caused by the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) and calculation of the economic damage threshold in Togolese coffee plots. *Journal of Economic Entomology* 96(5):1473-1478.

## La estadística no paramétrica para el análisis e interpretación de estudios de plagas: alternativas al análisis de varianza

Bielinski M. Santos<sup>1</sup>  
James P. Gilreath<sup>1</sup>  
Ramón Arbona<sup>2</sup>  
Ángel R. Pimentel<sup>2</sup>

**RESUMEN.** El uso del análisis de varianza (ANAVA) clásico en datos con distribución no normal, tales como los obtenidos de poblaciones de hongos, malezas y nematodos, así como variables cualitativas, como índices de severidad, se ha generalizado en la literatura de manejo de plagas agrícolas. Sin embargo, dicha metodología no es la más apropiada para el análisis e interpretación de datos que no cumplen los supuestos distribucionales del ANAVA. El objetivo de este trabajo fue presentar algunas metodologías no paramétricas, tales como las pruebas de chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) y de Friedman, como alternativas al recurrido ANAVA. Se incluyen estudios de casos específicos, así como ejemplos de programas y salidas de análisis estadístico.

**Palabras clave:** análisis estadístico, biometría, chi-cuadrado, diseño experimental, Friedman.

**ABSTRACT. Analysis and interpretation of pest studies with non-parametric statistics: alternatives to the analysis of variance.** The usage of analysis of variance (ANOVA) on non-parametric data, such as disease, weed, and nematode populations, and on qualitative variables, such as severity indexes, is generalized in the pest management literature. However, ANOVA is not the most appropriate method to analyze data that do not meet the basic assumptions for the parametric analysis. Therefore, the objective was to revisit some non-parametric methodologies, such as  $\chi^2$  and the Friedman's test as alternatives to the ANOVA. Specific case studies and statistical software programs and outputs are included.

**Key words:** contingency tables, experimental design, Friedman, statistics.

### Introducción

El manejo estadístico de datos en estudios de plagas agrícolas en condiciones controladas es uno de los mayores desafíos que enfrentan los investigadores de protección vegetal en el momento de diseñar experimentos, analizar datos y presentar conclusiones. El método de análisis más comúnmente utilizado es el análisis de varianza (ANAVA), que permite probar

la hipótesis nula ( $H_0$ ) que establece igualdad de respuesta entre todos los tratamientos considerados en el análisis. La prueba estadística utilizada provee una probabilidad estimada, valor  $p$ , el cual es el resultado de la comparación de un valor  $F$  calculado con relación a un valor  $F$  obtenido a partir de la respectiva curva de distribución de probabilidades, dados unos grados de libertad provenientes del tamaño de muestra

<sup>1</sup> Gulf Coast Research and Education Center, University of Florida, Bradenton, Florida, EUA. bmsantos@yahoo.com

<sup>2</sup> Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Santo Domingo, República Dominicana.

seleccionado. Una vez realizada la prueba de hipótesis para cada variable en estudio, se procede a establecer conclusiones, y si aquella es rechazada se realizan comparaciones de medias o contrastes para determinar los tratamientos que difieren entre sí. Sin embargo, frecuentemente el ANAVA es aplicado sin considerar los supuestos estadísticos que lo sostienen, lo que conduce a conclusiones erróneas sobre las variables consideradas o reduce la potencia del análisis.

Para la aplicación correcta del ANAVA clásico, se requiere el cumplimiento de cuatro supuestos estadísticos que sustentan la validez de las conclusiones de esta prueba: a) errores experimentales normalmente distribuidos; b) homogeneidad de varianzas; c) errores experimentales independientes, y d) un modelo aditivo (Triola 1992, Ott et al. 2000). Desgraciadamente, los experimentos que involucran el comportamiento de poblaciones de plagas, tales como hongos, nemátodos y malezas, normalmente no cumplen con uno o varios de los supuestos para el uso del ANAVA. Más aún, debido al relativo desconocimiento sobre la existencia de otras metodologías para examinar datos, se pueden encontrar publicaciones en las cuales se presentan conclusiones a partir del uso de ANAVA que hubieran sido diferentes si se hubiese utilizado otro método de análisis. Por lo tanto, el presente trabajo pretende ilustrar y comparar análisis de datos experimentales en estudios con plagas, a través del uso de métodos estadísticos alternativos que permitan mejorar su conducción, análisis e interpretación.

### Estudios de casos de pruebas no paramétricas

Existe una amplia diversidad de pruebas no paramétricas, las cuales pueden ser utilizadas dependiendo de los objetivos y el conjunto de hipótesis planteadas en un estudio específico para establecer conclusiones sobre el comportamiento de las variables en estudio. Estas pruebas ofrecen algunas ventajas con respecto a sus contrapartes paramétricas, destacándose la rapidez del análisis y la facilidad de interpretación del mismo (Berenson y Levine 1992).

### Prueba de $\chi^2$

Una de las pruebas no paramétricas más conocidas es la que usa la distribución de  $\chi^2$ , la cual permite: a) hacer comparaciones directas de dos poblaciones o muestras, donde no se conoce la distribución; b) examinar las igualdades de proporciones de más de dos categorías en una población, y c) determinar la bondad de ajuste de frecuencias observadas en relación con frecuencias

esperadas de ocurrencia de un evento (Ott et al. 2002). Una derivación importante del uso de  $\chi^2$  son las llamadas "tablas de contingencia", que permiten probar la hipótesis nula de independencia de ocurrencia de eventos (Berenson y Levine 1992). A continuación se presenta un ejemplo de este último uso aplicado a la investigación agrícola (Ejemplo 1).

### Ejemplo 1

Se estudió la resistencia al tizón tardío (*Phytophthora infestans*) de tres cultivares de papa (*Solanum tuberosum*). Se desea saber si los cultivares responden igual a la presión de la enfermedad o si existe diferencia entre ellos. Para ello, se seleccionan al azar 100 plantas de cada cultivar a los 60 días de la siembra y se tabulan las observaciones (frecuencias absolutas) de incidencia de la enfermedad (Santos y Rodríguez 2002, datos sin publicar).

**Cuadro 1.** Frecuencias observadas de plantas con síntomas de ataque de tizón tardío o sin ellos en tres cultivares de papa

Cultivar	Síntomas de tizón tardío	
	Con	Sin
Floresta	12	88
IDIAFRIT	8	92
Granola	21	79
$\chi^2 = 7,51; p = 0,0233$		

En dicho estudio la hipótesis nula,  $H_0$ , establece que no existe diferencia en la incidencia de la enfermedad en los tres cultivares. En otras palabras, *la aparición del tizón tardío es independiente del cultivar utilizado*. Para probar dicha  $H_0$  se calculó el valor de  $\chi^2$  basado en las desviaciones de las frecuencias observadas de cada valor con respecto a su valor esperado según su fila (C: cultivares) y su columna (S: síntomas). Este estadístico se distribuye como  $\chi^2$  con  $(C - 1)(S - 1)$  grados de libertad (gl) (Ott et al. 2000). Por ejemplo, la frecuencia esperada de plantas de 'Granola' con síntomas es  $(12 + 8 + 21)[(100)/300] = 13,67$ , lo que quiere decir que se debería haber esperado aproximadamente 14 plantas de 'Granola' infectadas si la hipótesis de independencia es verdadera. Este valor se calcula para cada casilla y su sumatoria permite obtener un valor  $\chi^2$  observado, que se compara con el  $\chi^2$  tabular. Considerando un  $\alpha = 0,05$ , el valor p derivado del  $\chi^2$  calculado ( $p = 0,0233$ ) indica que se debe rechazar la  $H_0$ , por lo que *la aparición del tizón tardío depende del cultivar utilizado*, en las condiciones del estudio en cuestión. Todo esto sin la

necesidad de recurrir a un ANAVA para determinar si hay diferencias entre los materiales probados.

La discusión anterior sirve para demostrar cómo con el uso de metodologías simples de análisis estadístico y menos restrictivas que el ANAVA, se puede arribar rápidamente a conclusiones similares respecto a las hipótesis de interés. Sin embargo, algunas limitaciones aplican a esta metodología. Entre éstas, el análisis no nos permite determinar directamente los niveles de diferencias en la resistencia de los cultivos. Para ello, se puede recurrir a otros tipos de análisis, como el descrito más abajo.

### ANAVA no paramétrico de dos vías o prueba de Friedman

Esta es la alternativa no paramétrica al ANAVA más recurrida cuando se trata de datos obtenidos a partir de un diseño de bloques completos al azar. En ella se contrasta la hipótesis de igualdad de medias entre los tratamientos ( $H_0: \mu_1 = \dots = \mu_n$ ), utilizando observaciones tales como el estadístico de orden. Estos estadísticos son seleccionados porque suelen ser menos sensibles a la presencia de variaciones entre las repeticiones de un mismo tratamiento y, por lo tanto, son menos afectados por los cambios en la variabilidad interna del experimento. En el caso de las medianas, la hipótesis por comprobar análoga al ANAVA es  $H_0: m_1 = \dots = m_n$ , donde  $m$  representa la mediana del tratamiento en cuestión. Se deben satisfacer algunas condiciones para poder aplicar la prueba de Friedman a datos experimentales: a) los tratamientos deben ser independientes entre sí, y b) los valores deben seleccionarse aleatoriamente (Berenson y Levine 1992).

Existen innumerables situaciones en las cuales la prueba de Friedman puede ser de utilidad. A lo largo de los años, se ha vuelto costumbre analizar variables recogidas en el campo directamente con ANAVA, sin determinar primero si estas cumplen con los supuestos que le dan validez al análisis. Algunas de esas prácticas comunes son las relacionadas con el examen de valores para abundancia de malezas o para índices de severidad de enfermedades. En el primer caso, las poblaciones de malezas rara vez cumplen con el supuesto de normalidad, debido a la forma en que colonizan un terreno. Por esta razón, el ANAVA clásico no sería la prueba con mayor potencia para detectar las diferencias de medias que tiendan a rechazar la  $H_0$  planteada. En el segundo caso se trata de variables claramente categóricas, como son los índices de severidad, razón por la cual es claro pensar en el incumplimiento de los supuestos distribucionales. En el Ejemplo 2 se compara el uso de métodos paramétricos y no paramétricos.

### Ejemplo 2

Se conduce un estudio en un campo con fresas (*Fragaria x ananassa*) para determinar la eficacia de seis herbicidas en el control de malezas gramíneas. El número de gramíneas por parcela y el número de frutos fueron registrados dentro de cada tratamiento, y se utilizó un ANAVA para probar la hipótesis de igualdad entre medias de tratamiento. Las medias de los tratamientos fueron separadas utilizando la prueba de diferencia mínima significativa (DMS) de Fisher al 5% de significancia (Gilreath et al. 2003).

**Cuadro 2.** Influencia de herbicidas postemergentes sobre las densidades de malezas gramíneas y el número de frutos de fresa

ANAVA		Prueba de Friedman		ANAVA	
Herbicidas	Número de gramíneas	Herbicidas	Número de gramíneas	Herbicidas	Número de frutos
	Medias		Medias ordenadas		Medias ordenadas
1	90,7 a*	1	40 a	4	776,7 a
6	39,5 b	6	17 b	3	763,5 a
5	30,3 b	5	16 b	5	689,0 b
2	28,5 b	2	14 b	6	661,8 b
4	10,5 b	4	4 c	2	651,6 b
3	5,10 b	3	3 c	1	545,5 c

\*Valores seguidos por la misma letra no difieren al 5% de significancia según DMS.

Programa SAS			
Comandos	Explicación		
data tizon;	Comando que identifica los datos por examinar.		
input zona \$ sintomas \$ numero; cards;	Comando que indica el orden en que se van a presentar los datos.		
bradenton con 140 bradenton sin 860 immokalee con 240 immokalee sin 760 gainesville con 100 gainesville sin 900	Datos presentados en el siguiente orden: zona, incidencia, numero de plantas afectadas.		
proc freq; table zona*sintomas/chisq; weight numero; run;	Comandos para el estudio de frecuencias y tablas de contingencia (3 x 2), analizados con chi-cuadrado.		
<b>Salida SAS</b>			
<pre> The FREQ Procedure  Table of zona by sintomas  Frequency, Percent Row Pct Col Pct      , con          , sin Total  Bradenton   140      860      1000               4.67      28.67      33.33               140.00    860.00               29.17      34.13  Gainesville  100      900      1000               3.33      30.00      33.33               100.00    900.00               20.83      35.71  Immokalee   240      760      1000               8.00      25.33      33.33               240.00    760.00               50.00      30.16  Total        480     2520     3000               16.00     84.00    100.00 </pre>		Salida que presenta la tabla de contingencia 3 x 2 requerida en el programa.	
<pre> Statistics for Table of zona by sintomas  Statistic          DF    Value    Prob Chi-Square          2     7.7381   0.0209 Likelihood Ratio Chi-Square 0.0226 Mantel-Haenszel Chi-Square          1     3.7078   0.0542 Phi Coefficient Contingency Coefficient Cramer's V Sample Size = 3000 </pre>		Salida que presenta valores de chi-cuadrado para la prueba de hipótesis.	

**Figura 1.** Programa y salida de SAS para análisis de datos sobre incidencia de tizón tardío en tomate (*Lycopersicon esculentum*) en tres zonas de producción de Florida, EUA.



Programa SAS	
Comandos	Explicación
data fresas;	Comando que identifica los datos por examinar.
input herb bloque coq; cards;	Comando que indica el orden en que se van a presentar los datos.
1 1 102 1 2 125 1 3 108 1 4 95 2 1 2 2 2 4 2 3 3 2 4 0 3 1 10 3 2 8 3 3 5 3 4 7	Datos presentados en el siguiente orden: herbicida, bloques, densidad de coquillo.
proc univariate data=fresas normal plot; var coq; run;	Comandos para el estudio de distribuciones y normalidad.
proc sort; by bloque;	Comandos para ordenar los datos en orden ascendente por bloque.
proc rank data=fresas out=ranked; by bloque; var coq; ranks rcoq; run;	Comandos para el estudio de variables ordinales.
proc glm data=ranked; class herb bloque; model rcoq = herb bloque; means herb/lsd; run;	Comandos para el modelo de bloques completos al azar y separación de medias con DMS.
Salida SAS	
<pre>The UNIVARIATE Procedure           Variable:  coq            Tests for Normality Test          ---Statistic---      ---p Value---  Shapiro-Wilk      W          0.702204  Pr &lt; W          0.0009 Kolmogorov-Smirnov  D          0.382268  Pr &gt; D          &lt;0.0100 Cramer-von Mises   W-Sq         0.331308  Pr &gt; W-Sq       &lt;0.0050 Anderson-Darling   A-Sq         1.747916  Pr &gt; A-Sq       &lt;0.0050</pre>	Salida abreviada que presenta las diferentes pruebas de normalidad de datos. El estadígrafo de Shapiro-Wilk es significativo ( $p = 0,009$ ) al 5% de significancia para la variable coq

Figura 2. Programa y salida de SAS para análisis de datos sobre poblaciones de *Cyperus rotundus* en fresas.

Comandos						Explicación
The GLM Procedure						Salida abreviada que presenta la significancia del modelo y de los herbicidas ( $p < 0,001$ ) al 5% de significancia para la variable rcoq.
Dependent Variable: rcoq Rank for Variable coq						
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F	
Model	5	64.0000	12.8000	Infty	<.0001	
Error	18	0.0000	0.0000			
Total	23	64.0000				
R-Square	Coeff Var	Root MSE	rcoq Mean			
1.0000	0	0	3.5000			
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr>F	
herb	2	64.0000	32.0000	Infty	<.0001	
bloque	3	0.0000	0.0000	.	.	
The GLM Procedure						Salida abreviada que presenta la separación de las medias ordenadas de los tratamientos.
t Tests (LSD) for rcoq						
Alpha				0.05		
Error Degrees of Freedom				18		
Error Mean Square				0		
Critical Value of t				2.10092		
Least Significant Difference				0		
t Grouping	Mean	N	herb			
A	5.500	8	1			
B	3.500	8	3			
C	1.500	8	2			

Figura 2. (Continuación) Programa y salida de SAS para análisis de datos sobre poblaciones de *Cyperus rotundus* en fresas.

Los tratamientos que recibieron los herbicidas 3 y 4 tuvieron los mayores rendimientos, seguidos por los herbicidas 2, 5 y 6. Sin embargo, los resultados del ANAVA para los conteos de malezas gramíneas no ofrecen mucha información que concuerde con los datos de rendimiento. ¿Cómo se puede explicar que 39,5 gramíneas en promedio sean estadísticamente iguales a 5,1? La respuesta yace en la gran variabilidad inicial que existía en la distribución de las gramíneas en el campo estudiado, que violaba los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, como lo expresan las pruebas de Shapiro-Wilk para normalidad ( $p < 0,0001$ ) y de Bartlett para homogeneidad de varianzas ( $p = 0,0023$ ). Cuando los mismos datos de enmalezamiento fueron sometidos a la prueba de Friedman, los resultados indicaron que los tratamien-

tos con menos malezas gramíneas (tratamientos 3 y 4) fueron los de mayor rendimiento.

### Análisis de datos en las pruebas no paramétricas

El análisis de datos con distribución libre puede realizarse con la mayoría de los paquetes estadísticos que contengan rutinas no paramétricas. En los Ejemplos 3 y 4 se presentan programas y sus respectivas salidas para análisis de tablas de contingencia ( $\chi^2$ ) y para la prueba de Friedman. Ambos fueron ejecutados con el programa Statistical Analysis System (SAS Institute 1999).

#### Ejemplo 3

Se realizaron muestreos de incidencia del tizón tardío del tomate (*Phytophthora infestans*) en tres zonas de producción de Florida (Bradenton, Immokalee y

Gainesville), donde se siembra la misma variedad del cultivo. En cada zona se eligieron 1000 plantas al azar y se determinó la presencia o ausencia de síntomas. Se desea determinar si existe una dependencia entre la presencia de la enfermedad y la zona de siembra.

En este caso, el valor  $p$  de  $\chi^2$  fue 0,0209, lo que indica que se debe rechazar la hipótesis nula al 5% de significancia. Esto indica que la incidencia de tizón tardío no es independiente de la zona de siembra, por lo tanto la incidencia de la enfermedad depende de la localidad en que se siembre tomate.

#### *Ejemplo 4*

En un estudio de campo se probaron tres herbicidas preemergentes para el control de coquillo (*Cyperus rotundus*) en fresas. El estudio se condujo en bloques completos al azar con cuatro repeticiones. A las seis semanas de la aplicación, se contaron las densidades de la maleza en cada una de las unidades experimentales. Se desea saber cuál herbicida fue más efectivo controlando la maleza.

Los datos analizados conducen al rechazo de la  $H_0$  ( $p < 0,001$ ). Por consiguiente, existen diferencias

en la eficacia de los herbicidas para el control de coquillo. La prueba de separación de medias indica que las mayores densidades de coquillo ocurrieron con el herbicida 1, seguido por el 3 y luego el 2.

Los procedimientos estadísticos no paramétricos descritos buscan ayudar en la planificación, conducción e interpretación de experimentos. En todo caso, se debe tener precaución en cuanto al uso apropiado de éstos y consultar a un especialista en estadística si existen dudas sobre el uso de éstos análisis.

#### **Literatura citada**

- Berenson, ML; Levene, DM. 1992. Basic business statistics: Concepts and applications. 5 ed. Estados Unidos, Prentice-Hall. 953 p.
- Gilreath, JP; Santos, BM; Motis, TN. 2003. Herbicide and mulch evaluations for weed management in west central Florida strawberries. Proc. Fla. State Hort. Soc. 116:159-160.
- Ott, L; Longnecker, MT; Ott, RL. 2000. An introduction to statistical methods and data analysis. 5 ed. Estados Unidos, Brooks-Cole Publ. 1184 p.
- SAS Institute. 1999. SAS/STAT user's guide. Software release 8. Estados Unidos, SAS Institute. 668 p.
- Triola, MF. 1992. Elementary statistics. 5 ed. Estados Unidos, Addison-Wesley Publ. 730 p.



# Plagas Forestales Neotropicales

Jorge Macías (jmacias@tap-ecosur.edu.mx)  
Marcela Arguedas (marguedas@itcr.ac.cr)  
Luko Hilje (lhilje@catie.ac.cr)  
José Cola Zanuncio (zanuncio@mail.ufv.br)  
EDITORES

No. 17

Agosto, 2005

## Monitoramento de formigas cortadeiras em florestas cultivadas no Brasil

As formigas cortadeiras dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) são as principais pragas dos cultivos florestais brasileiros e, por isso, tem-se desenvolvido estudos sobre a biologia, métodos de amostragem, distribuição espacial, controle químico e biológico, custos de combate, efeitos de fatores ambientais sobre a densidade populacional, efeitos dos seus danos sobre a produção de madeira, nível de dano econômico, dentre outros. Isto tem contribuído para o aprimoramento e a intensificação de programas manejo integrado de formigas cortadeiras em florestas cultivadas, o que representa uma exigência dos processos de certificação florestal de empresas de diversos países.

Os programas de manejo integrado de formigas cortadeiras são fundamentados por planos de amostragem das populações desses insetos nos plantios. Esses planos têm sido desenvolvidos para diferentes regiões do Brasil, principalmente pelas Universidades Federais de Lavras e de Viçosa, com dados obtidos em censo populacional de formigueiros em áreas reflorestadas e simulações em computador, utilizando parcelas aleatórias, transectos, quadrantes e seqüencial. O erro amostral operacional campo varia entre 10 e 30%, com 95% de confiabilidade. As empresas florestais usam esses planos em seus programas de manejo, buscando

racionalizar a quantidade de inseticidas e de mão-de-obra utilizadas no controle de formigas cortadeiras. No entanto é, ainda, necessário reduzir-se o erro amostral e aumentar o rendimento operacional desses métodos.

Os programas de monitoramento de formigas cortadeiras no Brasil têm sido utilizados desde 1990 e abrangem atualmente uma área de, aproximadamente, 1,2 milhões de hectares, com um custo médio de US\$1,00/ha monitorado. Eles têm contribuído para a redução da área cultivada combatida nas empresas em torno de 30 a 40% ao ano e reduzido a infestação e aplicação de formicidas em torno de 15% ao ano. Um desses programas é o MIPFor (Programa de Manejo Integrado de Formigas Cortadeiras) desenvolvido pela Universidade Federal de Lavras em 2001 e utilizado atualmente em, aproximadamente, 400 mil hectares de florestas cultivadas no Brasil.

A tomada de decisão dos planos de monitoramento é feita quase, exclusivamente, para o uso do combate químico com iscas formicidas, sendo de 9m<sup>2</sup> de área de formigueiros por hectare, conforme estudo desenvolvido pelo professores Ronald Zanetti (zanetti@ufla.br) e José Cola Zanuncio (zanuncio@ufv.br).

No entanto, novas táticas de controle como a substituição de espécies/clones suscetíveis, manutenção de faixas de vegetação nativa ao redor do eucaliptal, manutenção de sub-bosque diversificado e manejo de paisagem, têm sido utilizadas, baseadas nas informações geradas pelo monitoramento

das populações de formigas cortadeiras. Além disso, o monitoramento de formigas cortadeiras tem sido utilizado para: dinamizar os níveis de tomada de decisão, com base nas correlações entre produção e infestação; avaliar a qualidade das operações através da estimativa do consumo mensal de produtos e tempo de operação por unidade de manejo por ano; selecionar os procedimentos de combate químico, com base na distribuição da infestação por classe de tamanho de ninhos e posição em relação às bordas da unidade de manejo; estimar as perdas de produção e prognosticar os riscos para cada intensidade de controle, com base nas equações de dano econômico, entre outros.

Os resultados mais importantes comprovam que os planos de amostragem de programas de monitoramento de formigas cortadeiras em florestas cultivadas no Brasil diferem entre locais. Isso ocorre devido às características ambientais e de manejo específicas de cada local, que influenciam a forma como as populações de formigas cortadeiras se distribuem no tempo e no espaço. Isso demonstra que um plano elaborado para um determinado local não pode ser utilizado em outro com a mesma precisão. Portanto, cada local necessita de um plano específico de amostragem, ou seja, eles não podem ser generalizados, e sim regionalizados.

## Contacto:

Ronald Zanetti (zanetti@ufla.br)  
José Cola Zanuncio (zanuncio@ufv.br)

## Monitoramento de Lepidoptera desfolhadores de Eucalypto no Brasil

A importância do setor madeireiro pode ser avaliada por movimentar cerca de 5 bilhões de dólares anuais e constituir importante item na pauta de exportação. Por outro lado, modelos silviculturais, baseados em alta tecnologia para alcançar maiores produtividades e qualidade, levam à simplificação ambiental e aumentam a possibilidade de ocorrência de pragas. Isto se deve às condições ambientais das monoculturas, com empobrecimento geral da fauna e menor competição interespecífica, o que afeta a dinâmica populacional e favorece a proliferação de insetos-praga, pela maior disponibilidade de alimento e menor diversidade e número de inimigos naturais.

Os lepidópteros desfolhadores de eucalypto vêm assumindo maior importância pela gravidade e persistência de seus danos e facilidade de multiplicação em plantios homogêneos de eucalypto. Esses insetos podem ocorrer durante todo o ano, com explosões populacionais em determinadas épocas, quando podem ser responsáveis pela desfolha de centenas de hectares de florestas. Essa desfolha pode ser parcial ou total e interferir na taxa e no equilíbrio de processos fisiológicos internos de plantas de eucalypto, com impacto no crescimento, formação da biomassa da copa, do tronco e da CAP (circunferência à altura do peito).

Lepidoptera associados às espécies florestais têm sido monitorados para se verificar a ocorrência de pragas e as possibilidades de permanência das mesmas no ecossistema. Isto pode auxiliar na previsão de danos (tipos e intensidade) e na definição e estabelecimento de métodos de controle, principalmente o biológico, com predadores, parasitoides e patógenos.

No Brasil, os surtos de lepidópteros desfolhadores de eucalypto ocorrem desde longa data tais como *Sarsina violascens* (Lepidoptera: Lymantriidae) em Teresópolis e em Caetanópolis, MG, em 1973; *Eupseudosoma involuta* (Lepidoptera: Arctiidae) em Mogi-Guaçu, SP, em 1970; *Euselasia*

*eucerus* (Lepidoptera: Riodinidae) em *Eucalyptus grandis* em Salto, SP, em 1975; *Sabulodes caberata* (Lepidoptera: Geometridae) em Coronel Fabriciano, MG, em 1976; *Psorocampa denticulata* (Lepidoptera: Notodontidae) em Lassance, MG, em 1979 e Curvelo, MG, em 1982; *Apatelodes sericea* (Lepidoptera: Eupterotidae) em Bocaiúva, MG, em 1983; *Oxydiavesulia* (Lepidoptera: Geometridae) em Alagoinhas, BA, em 1985; *Thyrintina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae), considerada o principal lepidóptero desfolhador de eucalypto no Brasil é citado desde 1948 em dezenas de surtos em várias regiões do País.

Estudos sobre o levantamento, flutuação populacional, densidade e distribuição anual são essenciais para o estabelecimento de programas de manejo integrado de insetos pragas de eucalypto. Esses programas devem considerar as necessidades da sociedade e os aspectos ecológicos com a utilização de vários métodos de controle.

A diversidade e os danos por lagartas desfolhadoras levaram ao desenvolvimento de um programa de monitoramento e identificação das espécies desse grupo nas diferentes regiões brasileiras com plantios de eucalypto, desde a região amazônica até o sul do Brasil. Este programa permitiu a catalogação de grande número de espécies de Lepidoptera desfolhadores de eucalypto e da importância de cada uma por área. De modo geral, a fauna de Lepidoptera, associada aos plantios de eucalypto, é muito rica, mas o grupo de espécies pragas apresenta pouca variação em todo o Brasil. Outros resultados importantes deste programa incluem a definição da necessidade e época de controle, a racionalização dos métodos de controle, liberação de inimigos naturais na época apropriada e a redução dos riscos ambientais e das perdas por esses insetos.

### Contacto:

José Cola Zanuncio (zanuncio@ufv.br)  
José Milton Milagres Pereira (jmmperai@ufv.br)  
Teresinha Vinha Zanuncio (tvzanuncio@ufv.br)

## A microvespa *Epichrysocharis burwellei* Schauff (Hym.: Eulophidae): novíssima praga florestal no Brasil

Este é o mais novo inseto daninho a culturas florestais no Brasil e foi constatado em março de 2003, no estado de Minas Gerais, atacando plantações de *Corymbia citriodora* (Hook) Hill e Jonhson destinadas à produção de óleos essenciais. O inseto já foi encontrado também em vários outros Estados da Região Sudeste e Sul do país. Com base na deposição de folhas caídas no solo de uma região no Estado Espírito Santo, estimou-se que o inseto tenha sido introduzido no Brasil no ano de 2002. Esta microvespa é mais uma espécie-praga oriunda da Austrália, embora já tenha sido constatada nos Estados Unidos desde 1999.



Microvespa de *Epichrysocharis burwellei* Schauff (foto: Francisco Santana)

Dos eucalyptos usados para a produção de óleos essenciais, *C. citriodora* é a espécie mais cultivada no Brasil. Ela é muito atacada por lagartas e besouros desfolhadores. Entretanto, das espécies de insetos que causam cecídios em eucalyptos já conhecidas no mundo, apenas a

de *Epichrysocharis burwelli* Schauff In: Schauff & Garrison, 2000 foi noticiada no Brasil. A infestação desta microvespa nas folhas de *C. citriodora* promove o necrosamento e a queda prematura das folhas (Fig 01), reduzindo a quantidade e a qualidade da produção de óleo essencial. Como os estudos relacionados com a microvespa *E. burwelli* ainda são incipientes, este trabalho visa alertar outros países que cultivam eucaliptos, sobre mais esta praga florestal.

Estudos foram desenvolvidos pelo Eng. Florestal Alexandre Custódio Jorge, sob nossa orientação, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, Minas Gerais, Brasil, no período de novembro de 2004 a julho de 2005, onde se coletaram as amostras de *Corymbia citriodora* e de *E. burwelli*. Como resultados, constatou-se que o adulto é de coloração geral marrom-escuro tendendo para marrom-amarelada com antenas amarelas-palha. Os adultos (Fig. 02) apresentam envergadura variando de 0,9 a 1,4mm, com média de  $1,2 \pm 0,01$ mm. Antenas geniculado-clavadas com o primeiro e o terceiro flagelômeros pouco distintos e clava distintamente com três segmentos. Abdome não-peciulado, amplamente anexado ao tórax, oval e mais longo do que largo. Olhos salientes e ocupando a maior parte da cabeça; três ocelos localizados entre os olhos compostos. Asas anteriores translúcidas, franjadas, de comprimento duas vezes o da largura. Asas posteriores translúcidas, claramente estreitas, com o comprimento quatro vezes a largura. Ovipositor conspicuamente saliente. Propódeo ligeiramente liso com dois pequenos espinhos dispostos lateralmente ao espiráculo. Todos os adultos coletados no campo ou produzidos em laboratório apresentaram ovários, com sete ou oito ovariolos. O ovo possui córion não espesso e sem ornamentação aparente, formato de clava e coloração esbranquiçada. Maior comprimento e maior largura iguais a  $80,2 \pm 0,06$   $\mu$ m e  $28,0 \pm 0,75$   $\mu$ m, respectivamente. Larva arredondada, de coloração amarela-clara, desenvolvendo-se internamente na folha e formando o



Cecídeos em folha de *Corymbia citriodora* (Hook) Hill e Jonhson (foto: Norivaldo dos Anjos)

cecídeo. As microvespas realizam posturas das 9:00 horas às 17:00 horas. A oviposição é sob a epiderme da folha nova, tenra e de cor avermelhada. Cecídios têm a mesma coloração da folha, com ápice amarelo-claro e circundado por anel arroxeado. A longevidade de adultos alimentados com mel foi igual a  $10,6 \pm 0,3$  dias. Adultos aprisionados sobre folhas novas e avermelhadas, nas condições de campo, realizaram posturas que resultaram em novos adultos, 96 dias depois.

Houve variação significativa ( $F = 25,50$  e  $P \geq 0,01$ ) no rendimento bruto de óleo de folhas livres de cecídios e com cecídeos o que resultou em perdas de até 50,01% na produção de óleo essencial para árvores infestadas. Existe uma forte correlação negativa entre as quantidades de óleo e a intensidade de infestação de *E. burwelli* nas folhas ( $R^2 = 0,88$ ;  $P \geq 0,05$ ). O rendimento de citronelal no óleo extraído das folhas atacadas e não-atacadas não diferiram estatisticamente entre si ( $F = 0,41$  e  $P \geq 0,05$ ), indicando que o ataque não interfere na qualidade do óleo essencial produzido, mas apenas na quantidade.

Até o momento nenhum inimigo natural foi constatado e isto pode ser a explicação de como se dispersou tão rapidamente pelo país. Das árvores analisadas no campo, 2,76% não apresentavam folhas infestadas por *E. burwelli* e 13,12% apresentavam cecídeos não desenvolvidos indicando a possibilidade de usar clones resistentes na prevenção ao ataque desta praga. Nos Estados Unidos, a indústria de arranjos florais já pratica o combate químico localizado para conseguir produzir folhas limpas.

Por causar uma redução na quantidade de óleo extraído das folhas infestadas, a microvespa-do-eucalipto *Epichrysocharis burwelli* Schauff In: Schauff & Garrison 2000 (Hymenoptera: Eulophidae) já está incluída no grupo das pragas importantes da cultura de *C. citriodora* devendo, portanto, ser considerada no Manejo Integrado de Pragas Florestais de eucalipto no Brasil.

### Contacto:

Norivaldo dos Anjos (nanjos@ufv.br)  
Adilson Ariza Zacaro (aazacaro@ufv.br)

**Conociendo los miembros del PITTA de Producción Orgánica: ACAPRO**

Eliás Ortega, Christian Thommen y Philippe Descamps

El PITTA es un esfuerzo conjunto de organizaciones estatales (MAG, INTA), universidades (UCR, UNA), centros de capacitación e investigación internacionales (EARTH, CATIE) y Asociaciones de Productores que buscan promover en forma coordinada la investigación, capacitación y extensión en producción orgánica en Costa Rica.

La Asociación de Campesinos Productores Orgánicos (ACAPRO), ubicada en Hone Creek, Talamanca, Costa Rica, agrupa a 70 campesinos y campesinas, con la diversidad étnica y cultural que caracteriza al Caribe costarricense. La meta de ACAPRO es "Producir, procesar y comercializar alimentos sanos y de calidad con equidad social y de género, respetando el ambiente y la diversidad cultural de nuestros productores y productoras".

Las principales labores de la Asociación son la producción de banano (12 años de certificación orgánica), arazá, cacao y noni orgánico, el procesamiento y comercialización de noni y arazá, la producción de vinagre de banano y la producción de abonos orgánicos. Todos los productos están debidamente certificados tanto orgánicos como comercio justo y se comercializan en el mercado local e internacional.

ACAPRO participa activamente en la búsqueda del crecimiento de la producción orgánica como una estrategia de desarrollo rural, tanto a nivel local como nacional, participando activamente en el PITTA, como en el MAOCO y otras redes nacionales e internacionales. Para mayor información, contactar a ACAPRO al teléfono 840-7158, o al correo ranchot@racsa.co.cr



Mujeres socias de ACAPRO en el procesamiento de vinagre de banano orgánico (foto Christian Thommen).

## Aprobada Ley de Fomento de la Producción Orgánica en Costa Rica

El pasado 8 de setiembre del presente año, la Asamblea Legislativa en votación unánime aprobó la Ley de Fomento de la Producción Orgánica Costarricense. Este es el resultado de un proceso de más de 5 años de trabajo del Movimiento Orgánico Costarricense (MAOCO), desde la realización de talleres con productores en cada región del país para concensuar las necesidades de los productores de todas las regiones, hasta las gestiones políticas para su aprobación con dos gobiernos diferentes.

La Ley abarca cuatro grandes áreas:

- **Reconocimiento del importante papel de la agricultura orgánica a nivel nacional:** se declara la agricultura orgánica como una actividad de interés público, y al Ministerio de Agricultura como responsable de promocionar, desarrollar y fomentar la producción orgánica, así como a todas las instituciones públicas para que apoyen procesos productivos e industriales en la producción orgánica.
- **Apoyo a la agricultura orgánica desde la educación, la investigación y la extensión:** se acuerda la formación de programas de capacitación y formación integral durante las distintas etapas del proceso educativo; se insta a las universidades a incluir la agricultura orgánica dentro de sus currículos. Se apoya a los agricultores investigadores y experimentadores. Se fomenta la investigación aplicada y planificada regionalmente, y la formación de personas técnicas en agricultura orgánica, facilitadoras y acompañantes del proceso.
- **Fomento de la agricultura orgánica por medio de incentivos:** apoyo para el período de transición a través de su inclusión como beneficiario de

reconversión productiva, así como el apoyo financiero y no financiero de la banca estatal y el Banco Popular. Acceso al seguro de cosechas, exoneraciones de impuestos a productores tanto de la renta como en la compra de equipo, maquinaria, insumos y vehículos de trabajo, así como exoneración de impuesto sobre las ventas para productos agropecuarios y agroindustriales orgánicos. Otra área importante de fomento plasmada en la legislación es el apoyo en la comercialización de productos orgánicos con la promoción de mercados locales y la aceptación de la certificación participativa, como una nueva estrategia de certificación que no estaba incluida anteriormente en la legislación nacional.

- **Protección de la agricultura orgánica frente a amenazas:** promoción del acceso y uso de semillas criollas para intercambio y multiplicación, prohibición de la siembra de transgénicos en áreas de producción orgánica, y resguardo y sanción a la venta o promoción de productos convencionales como si fuesen orgánicos.

La aprobación de esta legislación es un gran logro, pero la implementación de la misma es un tal vez un reto aun mayor. Para mayor información, contactar directamente al Movimiento de Agricultura Orgánica Costarricense MAOCO, Tel/Fax 226-6305, 831-0282, maoco1@racsa.co.cr, evacarazov@yahoo.com, www.agriculturaorganica.org

## V Encuentro Nacional de Experimentadores e Investigadores en Producción Orgánica en la EARTH fue todo un éxito

Del 21 al 23 de agosto del presente año se realizó el V Encuentro Nacional de Producción Orgánica en la EARTH, Costa Rica. Este encuentro reunió un total de 140 participantes de diferentes sectores de la producción orgánica del país. El 75% de las presentaciones fueron de productores orgánicos que compartieron sus experiencias

en la investigación en finca, mientras que el restante 25% fueron presentaciones de técnicos e investigadores. Se visitó la finca integral orgánica de la EARTH. Las memorias del evento se encuentran disponibles en la página [www.catie.ac.cr](http://www.catie.ac.cr)





## Programa de Carne Orgánica Certificada de Nicaragua

Carlos Sánchez y Reynaldo Díaz, CLUSA, Nicaragua

Tomado de las Memorias del V Encuentro Nacional de Agricultores Experimentadores e Investigadores en Producción Orgánica, realizado en la EARTH, Costa Rica, del 21 al 23 de Agosto, 2006

El programa de producción, certificación y mercadeo de carne orgánica se ha estado implementando desde finales del 2002 por CLUSA, IICA, CONAGAN y el matadero NUEVO CARNIC en Nicaragua. Se han realizado tres fases del programa con buenos resultados, lográndose certificar fincas y ganado y vender carne orgánica en el exterior y en el mercado local.

Objetivo general: ofrecer a los consumidores un producto orgánico certificado de alta calidad a precios justos, que permita mejorar el nivel de vida de los productores nicaragüenses al obtener mejores precios en los mercados locales e internacionales.

Los resultados del proyecto hasta el presente son un área certificada de alrededor de 60,000 m<sup>2</sup> y un hato ganadero de aproximadamente 30000 cabezas.

En la actividad de mercadeo se realizó una exportación a un comprador en Estados Unidos de 2400 lb. Con fines de promoción, este embarque es la primera exportación de carne kosher orgánica certificada en la historia de las exportaciones de carne en Nicaragua; está pendiente la construcción de la caja de matanza kosher en el matadero para darle continuidad a las exportaciones de este tipo de carne.

Se ha desarrollado un mercado local con nuevos conceptos de calidad y de una imagen de alimento sano, orgánico y amigable con nuestro ambiente, comercializando más de

3000 lb de carne de pasto orgánico en supermercados y restaurantes de alto nivel, obteniéndose una excelente aceptación de parte de los consumidores. Se están realizando ajustes en el precio al productor con el procesador para reiniciar esta actividad y seguir abasteciendo nuestro mercado local.



Se han sentado las bases para un sistema de investigación, validación y producción de fármacos alternativos para el tratamiento de los animales orgánicos, creando alianzas con laboratorios nacionales e internacionales, así como con universidades dedicadas al fomento de la ganadería ecológica.

Para establecer un modelo de producción orgánica certificada, en las etapas iniciales se requiere de un acompañamiento técnico a los productores para capacitarlos y facilitar la adopción de esta nueva tecnología, asesorarlos para que califiquen para la certificación y además diseñar e implementar una estrategia de mercadeo que permita posicionar el producto en nuevos mercados, llevándolos a mejorar sus ingresos y aumentar la generación de empleos en sus fincas.



Producción de carne orgánica certificada en Nicaragua

## *Futuros eventos de producción orgánica*

**BioFach América, Baltimore, Maryland, EUA**

4 al 7 de octubre 2006

**Para mayor información,**  
visite la página [www.ifoam.org](http://www.ifoam.org)

**BioFach America Latina, Sao Paulo, Brasil**

25 al 27 de octubre, 2006

**Para mayor información,**  
visite la página [www.ifoam.org](http://www.ifoam.org)

**Primera Conferencia en Certificación Orgánica de IFOMA. Roma, Italia**

15 al 17 de noviembre, 2006

**Para mayor información,**  
visite la página [www.ifoam.org](http://www.ifoam.org)



## Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

- Resultados y experiencias de investigación
- Transferencia de tecnología
- Faro de discusión
- Boletines informativos de redes de investigación

Visítenos en:

<http://www.catie.ac.cr/revistas>

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

Tel. (506) 558 2408

Publicada por el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE)

# INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

## NATURALEZA

*Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* es una revista que reúne y difunde aportes científicos y técnicos (planteamientos teóricos, resultados de investigación, experiencias prácticas y de transferencia de tecnologías) en los campos de la protección vegetal y la agroecología, con énfasis en la región neotropical.

La versatilidad de su contenido permite incluir, artículos científicos formales; foros; biografías sobre científicos notables; revisiones bibliográficas; recuentos sistematizados de experiencias prácticas y de transferencia de tecnología; diagnósticos fitosanitarios o agroecológicos; ponencias presentadas en eventos científicos; notas o comunicaciones breves; hojas técnicas; resúmenes de tesis; aportes metodológicos; y materiales de apoyo a la enseñanza. Asimismo, contiene boletines, secciones especializadas, reseñas bibliográficas y anuncios de eventos, en los cuales se puede participar.

## ARBITRAJE

Cada artículo será revisado en su formato y presentación por la Editora, inicialmente, y luego remitido al menos a dos expertos en el tema tratado. Sus evaluaciones serán consideradas por la Editora y por Comité Editorial, para decidir sobre su aceptación. La Editora mantendrá informado al autor principal del artículo sobre la evaluación, para que aporte las aclaraciones o ajustes del caso, si las hubiere.

## Instrucciones generales para la presentación de los escritos.

- Los artículos se publicarán en forma gratuita.
- Se aceptarán artículos escritos en español o portugués, solamente. En casos muy calificados (en los cuales sí habrá un costo por publicación, a convenir con el autor) se aceptarán artículos en inglés, pero deberá adjuntarse también una versión en español o portugués, consultándolo previamente con la Editora.
- El límite máximo de extensión es de 25 páginas impresas, a doble espacio, en letra tamaño 12, tipo Times New Roman, incluyendo las ilustraciones. Las páginas deben estar numeradas. Cualquier artículo que no satisfaga este requisito será rechazado *ad portas*, excepto en casos muy calificados, a juicio del Comité Editorial. El estilo debe ser directo y conciso, con párrafos cortos, y con criterio de exactitud y brevedad.
- Los artículos pueden enviarse a la Editora, a la dirección anotada abajo. Puede hacerse en cualquier procesador de textos, acompañado de la versión impresa, en dos copias. Deben incluirse también los archivos de las figuras. Si hay fotos, pueden enviarse en papel o en diapositiva, o bien escaneadas a 225 dpi, como mínimo.

- Las abreviaturas se explican la primera vez que son utilizadas (por ejemplo: *Estados Unidos de América, EUA*), y a partir de allí se utiliza solamente la abreviatura. Los géneros de los binomios se escriben completos solo la primera vez que se mencionan; después, se anotarán de la siguiente manera: *B. tabaci*, *P. solanacearum*, etc.
- Se recomienda a los autores revisar la ortografía del manuscrito antes de enviarlo a revisión.

## ESTRUCTURA DE LOS ARTÍCULOS

Dada la versatilidad en el contenido de la Revista, el formato para los textos que no corresponden a artículos científicos formales es bastante flexible. Al respecto, se sugiere basarse en artículos publicados en números recientes de la Revista o consultar con la Editora. Sin embargo, para los artículos científicos deben respetarse las siguientes normas.

## TÍTULO

- Debe ser claro y conciso, reflejando en un máximo de 15 palabras, el contenido del artículo.
- No deben usarse nombres comunes, sino nombres científicos, y éstos no deben acompañarse de la ubicación taxonómica de la especie indicada, ni del nombre de la autoridad taxonómica.

## AUTORES

- Debe haber congruencia en el uso de sus nombres y apellidos. Se recomienda utilizar solamente el primer nombre, la inicial del segundo y el primer apellido, lo cual facilitará las búsquedas en las bases de datos; además, es aconsejable evitar nombres compuestos (p.ej., Rodríguez-Maldonado), pues cuando hay varios coautores las citas bibliográficas se recargan demasiado.
- En una nota al pie se describen la filiación institucional y la dirección completa, incluyendo el código de correo electrónico de cada uno de los autores.

## RESUMEN

- El cuerpo de todo artículo científico debe ser precedido por un **Resumen** no mayor de 250 palabras, acompañado de una versión en inglés (**Abstract**). Al pie de cada uno de ellos debe haber cinco **Palabras clave**, también traducidas al inglés (**Keywords**) descriptivas del contenido del artículo. Ambos requisitos facilitan la difusión del artículo en los servicios bibliográficos internacionales. El resumen debe ser una versión sintética de los aspectos más relevantes de las secciones de *Métodos y materiales* y *Resultados*.

## EL CUERPO DEL ARTÍCULO

- Se subdivide en las siguientes secciones: *Introducción*, *Métodos y materiales*, *Resultados y Discusión*, *Agradecimientos* y *Literatura citada*. No debe haber una sección de *Conclusiones*, pues éstas deben incorporarse en la *Discusión*.
- La *Introducción* presenta, en forma breve, los antecedentes e importancia del tema estudiado, e indica el objetivo de la investigación.
- *Métodos y materiales* contiene una descripción concisa de la metodología y materiales empleados, con un nivel de detalle suficiente como para que cualquier otro investigador pueda repetir los experimentos y verificar su validez. Para su organización, se recomienda subdividirlo en secciones tales como: *localización, tratamientos y diseño experimental, variables de respuesta y análisis estadístico*.
- *Resultados* presenta una descripción, en prosa, de las tendencias más sobresalientes detectadas en los experimentos, respaldadas por los resultados de los análisis estadísticos y compendiados en cuadros y gráficos. Es recomendable incluir también hechos negativos, lo cual podrían evitar a otros investigadores incurrir en errores metodológicos innecesariamente.
- *Discusión* analiza de manera crítica, a partir de la hipótesis que originó la investigación, los resultados obtenidos, comparándolos con los de otros autores. Además, resalta los principales hallazgos y conclusiones, así como su valor científico o técnico. Puede incluir recomendaciones de tipo metodológico o aplicado.
- Los *agradecimientos* recogen los nombres, sin títulos académicos, de las personas o instituciones que contribuyeron en aspectos claves de la investigación.
- *Literatura citada* enumera únicamente las fuentes bibliográficas consultadas mencionadas en el texto, incluyendo citas de internet.
- Puesto que el formato de una cita bibliográfica varía según el tipo de fuente, y también según las revistas, se recomienda revisar un número reciente para observar las modalidades empleadas en la Revista.
- Aunque la lista de citas debe hacerse en orden alfabético, nótese que en el texto del artículo los autores deben mencionarse primero en orden cronológico y luego alfabético (p.ej., Trejos 1998, Alvarez *et al.* 1999, Salazar y Ruiz 1999, Cárdenas 2002).
- Cuando haya más de dos autores, se citarán completos en *Literatura citada*, pero se utilizará solo el nombre del primero en el texto, seguido de *et al.* (en cursiva).
- Los trabajos que aún no han sido aceptados para publicación aparecen en el texto, pero no en la sección de *Literatura citada*.

## ILUSTRACIONES

- Las figuras (gráficos, dibujos o fotografías) se ubican en el texto con numeración consecutiva, precedida de la palabra *Figura*; al citarla en el texto, se debe utilizar la abreviatura *Fig.*
- Tanto las figuras como los cuadros deben aparecer lo más cerca posible de su mención en el texto; es decir, no deben aparecer figuras ni cuadros aislados.
- La leyenda debe estar al pie de cada figura y estar redactada de manera tal que el usuario no tenga que recurrir al texto para su interpretación. Se recomienda no sobrecargar las figuras, para facilitar su entendimiento. En tal sentido, se deben omitir las figuras en tres dimensiones, excepto que sea imprescindible hacerlo, así como la inclusión de líneas horizontales en el cuerpo de la figura o de símbolos decorativos excesivos.
- Los cuadros no deben repetir el contenido de los gráficos. Se debe evitar que sean recargados, con demasiadas columnas y exceso de información. Deben evitarse las líneas verticales y horizontales en el cuerpo del cuadro.
- Las fórmulas que aparecen separadas del texto deberán citarse con números o letras entre paréntesis, de manera que no queden aisladas.

El cumplimiento de todas las indicaciones anteriores facilitará la revisión y la edición de los artículos, lo cual evitará atrasos y agilizará el proceso de selección y publicación.

## Dirección

Gabriela Gitli  
Editora  
Revista *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*  
CATIE, 7170 Turrialba, Costa Rica  
Tel.: (506) 558 2408 ó 558 2633  
Fax. (506) 558 2045 ó 558 2060  
cicmip@catie.ac.cr  
ggitli@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 17 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).



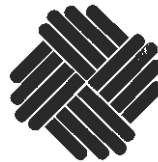


# *Patrocinadores*

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)