

ISSN 1016-0469

Manejo Integrado de Plagas

Nº 47

Marzo 1998



CATIE

El CATIE es una asociación civil, sin fines de lucro, autónoma, de carácter internacional, cuya misión es mejorar el bienestar de la humanidad, aplicando la investigación científica y la enseñanza de postgrado al desarrollo, conservación y uso sostenible de los recursos naturales. El Centro está integrado por miembros regulares y miembros adherentes. Entre los miembros regulares se encuentran: Belice, Costa Rica, Colombia, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua, República Dominicana, República de Panamá, Venezuela y el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).

**CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE
INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA
CATIE**

DIRECTOR GENERAL

Rubén Guevara Moncada

**PLANIFICACIÓN ESTRATÉGICA Y COOPERACIÓN
EXTERNA**

Pedro Ferreira

**PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN Y
PROGRAMA DE ENSEÑANZA PARA EL DESARROLLO**

Markku Kanninen

PROGRAMA DE PROYECCIÓN EXTERNA

José Arze

COMITE EDITORIAL OPERATIVO

Elkin Bustamante, Presidente
Daniel Coto
Luko Hilje
Arnoldo Merayo
Wilberth Phillips M.
Galileo Rivas Platero
Joseph L. Saunders
Laura Rodríguez, Editora

GRUPO ASESOR DE REVISIÓN:

CATIE

Elkin Bustamante
Manuel Carballo
Daniel Coto
Eduardo Hidalgo
Luko Hilje
Wilberth Phillips
Cornelios Prins
Galileo Rivas
Vera Sánchez
Joseph Saunders
Nelly Vásquez

CATIE/MIP-NICARAGUA

David Monterroso

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Flora Bertsch
Helga Blanco

IICA

Ileana Ramírez
Jorge Hernán Echeverri

Dirección: Elkin Bustamante

Edición: Laura Rodríguez

Diseño Gráfico y Textos: Yorlene Pérez y Guiselle Brenes

Foto: Mujeres preparando sustrato, en semilleros comerciales, para producir plántulas de tomate sin geminivirus transmitidos por la mosca blanca. Comayagua, Honduras. (Tomada por: Luko Hilje).

Manejo Integrado de Plagas

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

No.47

Marzo 1998

CONTENIDO

	Pág.
FORO	
La relevancia del enfoque de género en el Manejo Integrado de Plagas Cecile Fassaert	1-9
INFORMES DE INVESTIGACION	
Producción del baculovirus VPNH en <i>Heliothis armigera</i> y <i>Spodoptera exigua</i> Patricio Borges Maracajá, Enrique Vargas Osuna, Candido Santiago Alvarez	10-17
Resistencia potencial de <i>Spodoptera frugiperda</i> a <i>Bacillus thuringiensis</i> kurstaki Fabiola Borrero Fonseca, Ingeborg Zenner de Polonia	18-23
Selección y evaluación en laboratorio y campo de microorganismos glucanólíticos antagonistas a <i>Mycosphaerella fijiensis</i> Mario E. Talavera S., Elkin Bustamante, Roberto González, Vera Sánchez	24-30
Extracción y cuantificación de Beta-Glucano a partir de sustratos comunes en el trópico Mario E. Talavera S., Franklin López, Elkin Bustamante, Roberto González	31-36
Disminución del rendimiento y calidad del arroz de secano por <i>Oebalus ypsilon-griseus</i> Alberto Pantoja, César A. García, Olga I. Mejía, Luz M. Ramírez, Luis E. Escalona, Miriam C. Duque	37-40
Interacción del hongo vesículo arbuscular <i>Glomus</i> spp. con <i>Meloidogyne arabicida</i> en tomate Gonzalo Galleo Rivas-Platero, Tomás Rojas Miranda, Jalro Cuervo Andrade	41-43
NOTA TECNICA	
Técnicas de preparação de mosca branca para identificação Geraldo Pereira de Arruda, Geraldo Perelra de Arruda Filho	44-46
HOJA TECNICA	
Posibilidades de manejo integrado de la enfermedad "Ojo de Gallo" del café David Monterroso Salvatierra	I-iv
SECCION INFORMATIVA	
Reseñas de Publicaciones	47
Nuevas Publicaciones CATIE	49
Tesis Postgrado CATIE	50
Futuros Eventos	51
Mosca Blanca al Día	52

La ideas y opiniones expresadas o implícitas en esta publicación son responsabilidad de cada autor y no necesariamente de las instituciones auspiciadoras.

CATIE

LA RELEVANCIA DEL ENFOQUE DE GENERO EN EL MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS

Cecile Fassaert *

RESUMEN

En América Latina, en las últimas décadas se ha observado un creciente interés de integrar el enfoque de género en proyectos y actividades tendientes a lograr un desarrollo sostenible más equitativo entre hombres y mujeres. Sin embargo, una de las limitantes de esta integración es su implementación en la práctica. Este foro analiza el enfoque de género en el manejo integrado de plagas, específicamente analizando aspectos como división de trabajo, acceso y control sobre la tierra, ingresos, plaguicidas y toma de decisiones. Se discute como esta relación enriquece ambas áreas logrando mayor eficiencia en la implementación de los proyectos, mejorando la producción y las condiciones de vida de todos y todas las participantes. Se presenta la experiencia del Proyecto CATIE/INTA/MIP(NORAD) de Nicaragua, el cual se ha propuesto como objetivo incorporar el enfoque de género en todas sus actividades técnicas, logrando avances muy notables que pueden ser modelo para otros proyectos similares.

Palabras claves: Género, Manejo Integrado de Plagas.

ABSTRACT

THE IMPORTANCE OF A GENDER FOCUS IN INTEGRATED PEST MANAGEMENT. Increasing interest in integration of the gender focus in projects and activities related to sustainable development have been observed in Latin America during recent decades. Hopefully this will bring about better balance between men and women. One of the limitations of this integration is in the practical application of this implementation. This forum analyzes the gender focus in integrated pest management, especially aspects such as division of labor, access and control of land, earnings, pesticides and decision making. Improved project implementation efficiency, improved production and living conditions of all participants are discussed. The CATIE/INTA/MIP(NORAD) Project in Nicaragua, whose objective is to incorporate the gender focus in all technical activities, is presented as a example on how to implement this focus. This can be a model for similar Projects.

Key words: Gender, Integrated Pest Management.

INTRODUCCION

En América Latina, en las últimas décadas se ha notado un interés creciente por integrar el enfoque de género en los esfuerzos de desarrollo. Esto obedece a que las organizaciones de base, tanto mixtas como de mujeres, han reclamado un papel más protagónico en la definición de las estrategias y en la ejecución de las acciones para mejorar sus condiciones. Otra razón de este cambio, es que muchos entes financieros o donantes, como los gobiernos de Holanda y Suecia, se han preocupado por el desequilibrio de los beneficios de sus programas y proyectos en favor de los hombres.

En la implementación de un enfoque de género en programas y proyectos, uno de los problemas es ¿Cómo llevarlo a la práctica? Esta problemática se origina en la incapacidad de visualizar la relación entre las actividades del proyecto y el tema género. Este foro pretende analizar la relación entre el tema Manejo Integrado de Plagas y Género, para facilitar el inicio de un proceso de ajuste de las estrategias y acciones de los Proyectos MIP con el objetivo que con-

tribuyan a lograr una mejor eficiencia y relaciones más equitativas entre hombres y mujeres.

Género es una variable social que permite analizar la diferencia de los papeles, responsabilidades, limitaciones y oportunidades entre mujeres y hombres, al interior de la unidad familiar, del sistema de producción o de la comunidad (ICA 1993). Esto se refiere a las características que establece una sociedad para normar el comportamiento, el papel y el funcionamiento de hombres y mujeres. Estas características se aprenden desde que se nace por medio de la familia, la escuela, los medios de comunicación, entre otros. Las características de lo que se considera masculino y femenino, cambian de una sociedad a otra y a veces de una comunidad a otra, así como con el tiempo (Fassaert 1997). Es necesario distinguir género de lo que es el sexo. Este último se refiere a las características biológicas, físicas o anatómicas de hombres y mujeres, con las cuales se nace.

Es importante analizar género y su relación con el desarrollo sostenible. Existen al menos dos corrientes de pensamiento que explican este enfoque en el contexto de proyectos de desarrollo: la perspectiva de equidad y la de eficiencia.

La perspectiva de equidad considera que en muchos países las mujeres se encuentran en una posición de desventaja con relación a los

Recibido: Octubre, 1997. Aprobado: 17/04/98.

*Investigadora Científica, Experta en Género. Area de Economía y Sociología de la Producción y la Conservación, CATIE. 7170. Turrialba, Costa Rica. EMail: fassaert@catie.ac.cr

División de Trabajo

Trabajo productivo, reproductivo y comunitario. Un concepto muy importante es la división de trabajo, o sea las diferencias entre hombres y mujeres con relación a la asignación y ejecución de actividades. Generalmente, se distinguen tres tipos de trabajo: productivo, reproductivo y comunitario. El trabajo productivo se refiere a la producción de bienes y servicios para el consumo o la venta, que en la mayoría de los casos es remunerado. El trabajo reproductivo es la reproducción biológica y la reproducción social de la fuerza de trabajo, el mantenimiento de la fuerza de trabajo familiar mediante el mantenimiento del hogar; lo cual incluye la atención y educación de los niños, preparación de los alimentos, compras, cuidado de la salud de la familia, recolección de agua y leña, limpieza y mantenimiento de la casa y el solar (CCIC 1994).

Finalmente, el trabajo comunitario son las actividades sociales, que incluyen la organización de eventos y servicios, como fiestas, trabajos de mejoramiento de la comunidad local, participación en grupos, redes y organizaciones formales e informales, así como en grupos políticos, entre otros.

Categorías de división del trabajo. La división del trabajo productivo se puede presentar en cinco categorías (Sims et al. 1991):

- I. **Campos separados, cultivos diferentes:** Hombres y mujeres, con explotaciones separadas dentro del mismo sistema de producción familiar. Los hombres y las mujeres son responsables de la producción y disposición de diferentes cultivos y actividades ganaderas. Las mujeres pueden especializarse en ciertos cultivos, así como participar con los hombres en la producción de otros. Podría presentarse una división entre los cultivos de subsistencia a cargo de las mujeres y cultivos comerciales a cargo de los hombres, cultivos hortícolas producidos por mujeres y cultivos de cereales producidos por hombres, animales menores al cuidado de las mujeres y ganado vacuno al cuidado de los hombres. En la mayoría de los casos la mujer es responsable del huerto.
- II. **Campos separados, los mismos cultivos:** Las mujeres producen los mismos cultivos que el hombre pero en terrenos diferentes. La

hombres debido a estructuras sociales y políticas dominadas por hombres. Por tanto, las mujeres no tienen igualdad de derecho de acceso a la tierra, tecnología, educación y recursos en general. Como consecuencia de esta situación, los niveles de pobreza, analfabetismo, y desnutrición son significativamente más altos entre mujeres y niñas que entre hombres y niños (Dixon 1980; Horenstein 1989). La perspectiva de equidad considera que cualquier estrategia de desarrollo debe intentar activamente nivelar estas desigualdades y que un desarrollo real y sostenible solamente puede lograrse cuando se eliminan estas diferencias.

Desde la perspectiva de eficiencia, muchos proyectos de desarrollo han fracasado por no haber considerado las diferencias entre hombres y mujeres en relación a sus roles y responsabilidades. Se ha considerado que la no consulta a mujeres durante el desarrollo de un proyecto puede inhibir la adopción de nuevas tecnologías. Un ejemplo clásico que se ha presentado en muchos países, con la introducción de nuevas variedades de cultivos resistentes a plagas, adaptados a las condiciones locales y con mejores rendimientos, los cuales nunca fueron adoptados o fueron abandonadas inexplicablemente después de uno o dos ciclos de cultivo. Solamente, después de un análisis más detallado se determinaron las razones que impidieron la adopción, entre las cuales están sabor, tiempo de cocción y características de almacenamiento de las nuevas variedades. Todas relacionadas con responsabilidades de las mujeres, las cuales no fueron consultadas durante las etapas de desarrollo y validación de las nuevas variedades y por tanto estas características no se consideraron.

En muchas ocasiones extensionistas hombres han transferido a hombres, información y tecnología, que pertenecen a cultivos o actividades realizadas por mujeres, asumiendo que cualquier información recibida por el hombre "jefe de hogar" será transferida a la esposa o compañera. Los resultados del proyecto, "Mujeres en el Desarrollo Agrícola" de la FAO demostró que "la supuesta transferencia de tecnología de esposos a esposas tiende a no pasar de hombres a mujeres." (FAO 1989). Una de las razones de este comportamiento es que las mujeres y los hombres poseen diferentes sistemas de información y redes de comunicación.

Con base en lo anterior y con el objetivo de evitar fracasos y mejorar la eficiencia de los proyectos de desarrollo, es necesario trabajar con una perspectiva de género.

producción obtenida por las mujeres usualmente se destina al consumo interno y mercados locales, mientras que la producción de los hombres puede tener un mercado regional o nacional.

III. Los mismos campos, los mismos cultivos, tareas separadas:

Algunas o todas las tareas dentro de un solo ciclo de cultivo se asignan por género. Por ejemplo, los hombres preparan el terreno, las mujeres siembran, las mujeres deshierban, la cosecha se comparte, las mujeres seleccionan la semilla.

IV. Tareas compartidas:

Los hombres y mujeres comparten tareas en el mismo cultivo. Ambos aceptan realizar una tarea o hay una participación real de responsabilidades. En muchos sistemas, solamente se comparten las tareas de trabajo intensivo, como la recolección de cultivos.

V. Campos explotados por mujeres:

Estos pueden ser de facto y de jure. En el primero las mujeres tienen compañero pero está ausente durante la mayor parte del tiempo, en el otro las familias están legalmente encabezadas por mujeres (viudas, separadas).

¿Quién hace qué? La información sobre la división de trabajo se sintetiza en el Anexo 1 (adaptado de Karremans 1994), el que se desglosa por cultivo o subsistema de producción, con referencias a las situaciones mencionadas. Además, permite establecer quienes realizan los diferentes trabajos y en qué porcentaje, para determinar a quién debe dirigirse la información sobre cada uno de estos aspectos.

Es importante considerar que la división de trabajo puede diferir mucho de un lugar a otro, de una comunidad a otra y cambiar en el tiempo.

Acceso y Control.

La comparación del acceso y control que tienen hombres y mujeres sobre los recursos, servicios y beneficios, es interesante y facilita el análisis de la realidad desde una perspectiva de género.

El acceso se refiere a la posibilidad de hacer uso de un recurso, servicio o beneficio, y el control es la capacidad de decidir sobre el uso de un recurso, servicio o beneficio (CCIC 1994). Estos pueden compararse por categorías referidos a aspectos concretos como tierra, crédito, pla-

guicidas herramientas, fuentes de trabajo, y a aspectos menos tangibles como el tiempo, movilidad o toma de decisiones. El Anexo 2 (adaptado de Karremans 1994) permite realizar un análisis de acceso y control que tienen las mujeres y los hombres sobre los recursos, servicios, movilidad y beneficios.

La aplicación del enfoque de género en programas y proyectos de desarrollo, se inicia con un análisis de la división de trabajo y del acceso y control sobre los recursos, servicios y beneficios; eventualmente, podrían utilizarse otros elementos del análisis de género y definir las acciones del programa o proyecto con base en los resultados de ese análisis.

Sin lugar a dudas, no solamente la división de trabajo puede diferir mucho de un lugar a otro, también el acceso y control que tienen las mujeres sobre los recursos, servicios y beneficios. Además, pueden haber grandes diferencias entre mujeres de diferentes edades, culturas, religiones y clases sociales.

RELACION DE LOS CONCEPTOS DE GENERO CON EL MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS

Diferentes actividades, diferentes conocimientos, diferentes percepciones.

La diferencia en las actividades que se realizan como parte del ciclo de producción de un cultivo, está estrechamente relacionado con la diferencia en conocimientos y percepciones de la realidad que tienen los hombres y las mujeres. Es común, que en muchas zonas rurales los hombres se encargen de la preparación del suelo para un cultivo y la aplicación de fertilizantes y las mujeres sean responsables de la deshierba (Categoría III). Ambos perciben la disminución en el rendimiento del cultivo como un problema, pero lo explican en forma diferente, relacionadas con las labores que realizan. Los hombres lo asocian a la disminución de la fertilidad de los suelos, debido a que ellos preparan la tierra y observan la población de malezas y otras características. Las mujeres lo explican por la incidencia de plagas, porque ellas son las responsables de la deshierba y prestan mayor atención al cultivo y no al suelo. Por ejemplo en actividades realizadas por el Proyecto CATIE-INTA/MIP(NORAD), Nicaragua, se ha observado una diferencia en la deshierba que realizan las mujeres con respecto a la que realizan los hombres. El hombre elimina todas las plantas indiscriminadamente y la mujer observa bien las malezas y conserva las plantas que tienen uso medicinal. Las

mujeres tienen mayor responsabilidad de velar por la salud de su familia y por ende su interés en las plantas medicinales, que finalmente resulta en un mayor conocimiento de las malezas existentes en la plantación. Esta diferencia en la percepción debe considerarse cuando se inicia un programa de Manejo Integrado de Plagas ante la probabilidad de obtener una mejor recepción de las mujeres que de los hombres, debido al conocimiento de la problemática. Esta observación permitiría dirigir los esfuerzos más eficientemente.

Leyes y subsidios. Existe una relación entre la división de trabajo y la promoción vía leyes y subsidios del uso de plaguicidas. Por ejemplo en casos donde los hombres y las mujeres trabajan los mismos cultivos en tareas separadas (Categoría III) los hombres se encargan de la preparación de la tierra, la siembra, aplicación de fertilizantes e insecticidas y las mujeres son responsables de prácticas agronómicas. Si en esta situación se facilita el acceso de los hombres a insumos como fertilizantes y plaguicidas, se incrementa la superficie cultivada, y por tanto la carga de trabajo para todos los miembros de la familia, incluyendo el de las mujeres durante el ciclo de cultivo. Sin embargo, lo más probable es que el incremento en los ingresos quede en manos de los hombres, quienes controlan los ingresos, y las mujeres, a pesar de que dedicaron más horas a la cosecha no se benefician de los ingresos mejorados.

Esta situación se dió en muchos países durante la Revolución Verde, cuando el estado promovía mediante políticas y subsidios el acceso a insumos como fertilizantes, plaguicidas y semillas mejoradas.

Este ejemplo demuestra que en las condiciones descritas la eficiencia en el sector rural aumenta (incrementa el uso de la mano de obra disponible, y la productividad), pero un análisis más detallado de la situación, revela que no siempre contribuye a mejorar la equidad entre hombres y mujeres, porque únicamente el hombre recibe un beneficio de retorno.

La salud. En el trabajo reproductivo, generalmente las mujeres velan por la salud de la familia, actividad relacionada al uso de plaguicidas.

En Costa Rica, de los 1144 casos de intoxicaciones con agroquímicos producidos en 1994, 246 casos (21%) fueron de menores de 5 años (Agne 1996), lo cual es producto del manejo inadecuado de los plaguicidas dentro de la casa. El 30% de las intoxicaciones correspondieron a mujeres, mostrando que no son solamente los

hombres quienes están en contacto con los agroquímicos. Además, a pesar de que menos mujeres manejan plaguicidas, ellas están menos informadas sobre el manejo seguro, porque la información sobre el tema ha estado dirigida a los hombres, y porque existe mayor nivel de analfabetismo en este grupo y por tanto no leen las instrucciones de las etiquetas de los productos.

Las mujeres también están expuestas a los riesgos de intoxicación por plaguicidas cuando lavan la ropa de quienes aplican estos productos. En consecuencia, la incorporación de las mujeres en la capacitación sobre manejo adecuado de plaguicidas es necesaria y aumenta la eficiencia de los programas y proyectos sobre uso racional de plaguicidas.

Otro aspecto relacionado con la salud, es la contaminación con agroquímicos de las fuentes de agua utilizadas para el consumo familiar. La mujer comúnmente es la encargada de buscar el agua, y es la más afectada si se contamina la fuente de agua porque debe buscar esta más lejos. La contaminación suele ocurrir por mal manejo de estos productos, problema que puede resolverse con la inclusión de mujeres en capacitaciones en el tema. En varios estudios se ha determinado que las mujeres demuestran mucho interés en obtener información sobre el uso de plaguicidas, especialmente por su responsabilidad de velar por la salud de la familia.

Visión holística. Un aspecto importante del Manejo Integrado de Plagas es el desarrollo de tecnologías y prácticas ecológicamente sostenibles, que altera al mínimo el ecosistema local. El desarrollo de este tipo de tecnologías requiere un conocimiento íntimo y holístico del ambiente local y una perspectiva de sostenibilidad a largo plazo. Hay opiniones que señalan que las mujeres por la naturaleza de sus tareas y responsabilidades tienden a desarrollar esta perspectiva en mejor grado que los hombres.

Acceso a y control sobre la tierra. El acceso a la tierra es un elemento muy importante y puede ser determinante en la adopción de prácticas de manejo integrado de plagas. Existe una tendencia de que las tierras que poseen las mujeres son más pequeñas y divididas (muchas veces únicamente el solar) que las áreas que poseen los hombres. Por tanto, las tecnologías que son costo-efectivo a gran escala o que requieren inversiones iniciales altas, probablemente van a ser adoptadas por hombres (en sistemas donde los hombres y las mujeres tienen cultivos separados).

Esto no representa ningún problema, si los beneficios que trae consigo estas mejoras tecnológicas impactarán de igual manera a toda la familia, específicamente, en aquellas actividades donde las mujeres tienen igual control sobre los ingresos. En las situaciones en las cuales el hombre controla los ingresos es muy probable que toda la familia no obtenga beneficio igual. Algunas investigaciones demuestran que los campesinos gastan los ingresos adicionales en bienes de inversión, artículos personales y extras como cerveza o cigarrillos; por el contrario, una proporción mucho más alta de los ingresos de las mujeres son dedicados a sufragar necesidades básicas de la familia como alimentos, ropa y educación de los niños (Lele 1991).

Acceso a y control sobre ingresos. Un proyecto de Manejo Integrado de Plagas en maíz, promovió la deshierba para aumentar la producción de maíz. En un análisis del proyecto se determinó que en aquellas familias en las que el jefe de hogar era un hombre, la deshierba produjo un 15% de aumento en los rendimientos del cultivo, mientras en familias con mujeres jefas de hogar los rendimientos se incrementaron en 56%. En ambos casos las mujeres fueron las encargadas de realizar la deshierba. Sin embargo, en aquellas familias en las que el hombre era jefe de hogar, las mujeres no tenían control sobre los ingresos del maíz y por tanto, no tenían una motivación para la deshierba intensiva. El esfuerzo dirigido a estos hogares no tuvo respuesta y se considera un esfuerzo perdido (Collier 1989).

El control sobre los ingresos parece estar estrechamente relacionado con la propiedad de la tierra, porque si el individuo es dueño de la tierra, generalmente también tiene el control sobre los ingresos resultantes de la producción de esta tierra.

Generalmente, las mujeres tienen menos acceso a ingresos y a fuentes de financiamiento; Por tanto, ellas necesitan tecnologías que reemplacen insumos externos costosos por insumos locales disponibles, el MIP es un ejemplo de este tipo de alternativas.

Acceso a tiempo. El trabajo que realiza la mujer rural es productivo, reproductivo y comunitario (triple rol de la mujer). Muchas investigaciones han revelado que generalmente las mujeres trabajan más horas por día que los hombres y por esta razón tienen restricciones de tiempo. Además las tareas que realizan (cocinar, cuidado de los niños, buscar agua, entre otros)

son menos flexibles que las actividades a cargo de los hombres (preparar la tierra, sembrar, etc.), los cuales se pueden postergar un día o más sin tener complicaciones. En consecuencia, la mujer rural necesita tecnologías que le ayuden a reducir su carga de trabajo, y que se ajusten a su rutina diaria y estacional; porque además de las restricciones de tiempo las mujeres enfrentan problemas de acceso a mano de obra de los demás miembros de la familia o de vecinos.

Algunas prácticas en el Manejo Integrado de Plagas como el recuento y remoción de frutos infectados, son intensivas en mano de obra y por tanto menos viables para las condiciones de las mujeres rurales. Otras prácticas, como rotación de cultivos, o cultivos asociados no aumentan los requerimientos de mano de obra y si no interrumpen el calendario de las mujeres, pueden ser aptas para ser asumidas por ellas.

En algunos casos las prácticas de MIP pueden significar una fuente de trabajo o ingresos para mujeres rurales o una opción para elevar su estatus. Por ejemplo en San Ramón, Nicaragua, un grupo de mujeres se ha especializado en el recuento en café, y son muy respetadas por manejar esta actividad. En muchas ocasiones las mujeres son muy apreciadas por su capacidad para ejecutar actividades en MIP, debido a que muestran mejor delicadeza, paciencia, dedicación y destreza manual. Por tanto, se considera que la producción artesanal de hongos entomopatógenos es una actividad muy apropiada para mujeres, debido a la similitud con las actividades tradicionales que éstas desarrollan; además es una actividad potencialmente generadora de ingresos. En Nicaragua, el proyecto CATIE-INTA/MIP(NORAD) confirmó lo anterior con la experiencia de un grupo de mujeres en Estelí, que produce comercialmente el hongo Beauveria. Trabajar con enfoque de género significa apoyar este tipo de iniciativas, que contribuyen a mejorar la eficiencia de los esfuerzos de desarrollo, aprovechando mejor la mano de obra disponible y ayudando a elevar la posición o el estatus de las mujeres, con el objetivo de lograr más equidad entre hombres y mujeres.

Acceso a la toma de decisiones. La toma de decisiones sobre el Manejo Integrado de las Plagas dentro de la familia es un aspecto del cual se conoce muy poco en la actualidad. Sin embargo, los resultados de una investigación realizada por el IICA revelaron que no es completamente cierto la presunción de que los hombres toman solos todas las decisiones con

relación a la producción, en Panamá, Costa Rica y Honduras en menos del 35% de las unidades de producción, la decisión sobre qué producir es únicamente de los hombres, lo que confirma que los hombres no toman solos las decisiones, en la mayoría de los casos (65%) la decisión es compartida o es tomada por la mujer (Chiriboga 1995).

Probablemente la persona que más conoce sobre algún aspecto, tiene más influencia en la toma de decisiones. Asimismo el conocimiento de un individuo sobre los diferentes aspectos del manejo de un cultivo está relacionado con las actividades de manejo de ese cultivo que la persona realiza. Si se fortalece el conocimiento de los hombres, dirigiendo las capacitaciones en MIP solamente a ellos, es posible que se debilite la base de poder en la toma de decisiones de la mujer. La respuesta de una mujer campesina, durante una investigación piloto sobre la toma de decisiones en la producción de tomate en Nicaragua, confirmó esta presunción. A la pregunta, ¿Quién toma las decisiones sobre qué y cómo producir? la mujer respondió que su esposo porque tenía más capacitación (ESECA/CATIE 1996).

Un aspecto importante es dirigir la nueva información MIP a la persona correcta con el objetivo de mejorar el proceso de toma de decisiones. En algunos casos esa persona puede ser la que tiene algún conocimiento o interés y podría ser la mujer y no el hombre mejorando así el proceso de transferencia de tecnología. Además, la entrega de conocimientos nuevos a las mujeres y no únicamente a los hombres puede contribuir a mantener o mejorar el equilibrio de poder, en la toma de decisiones entre hombres y mujeres, dentro de la familia y a lograr relaciones de género más equitativas.

Otro aspecto que debe considerarse es ¿Cómo se relacionan o excluyen las diferentes decisiones que se toman dentro de una familia? Por ejemplo cómo interfiere la decisión de adquirir un plaguicida con la decisión de comprar zapatos para los niños o gastos de la escuela. Si la familia da más importancia a pagar la matrícula de los niños antes de comprar el plaguicida es mejor no recomendar el uso de los plaguicidas (a pesar que sea un uso mínimo y racional) durante el período de ingreso a la escuela de los niños y niñas. Así se puede mejorar la eficiencia del trabajo desarrollado por el MIP.

EL PROYECTO CATIE-INTA/MIP(NORAD) NICARAGUA

En 1989, el CATIE, y el INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agrícola) inició un proyecto de Manejo Integrado de Plagas en Nicaragua con financiamiento de NORAD-ASDI. La filosofía del proyecto es la integración de los agricultores a las actividades de generación y transferencia de tecnología en diferentes condiciones socioeconómicas. El proyecto en su segunda fase, ha hecho contribuciones sustanciales a la capacidad de generar, validar y mejorar el manejo de plagas en café, hortalizas y musáceas, mediante avances técnicos y metodológicos, incluyendo procedimientos innovadores para facilitar la participación de los y las productores(as) en la generación e implementación de técnicas mejoradas de manejo de plagas. Por ejemplo, el proceso de capacitación y generación parte de las propias inquietudes y necesidades de los y las productores(as), identificando los problemas y priorizando las actividades en cada zona de trabajo. Los temas específicos con los que se inician los talleres dependen del interés de los y las productores(as), pero en todos los casos se inicia con el análisis de la productividad de la parcela y el método integral de recuento.

La propuesta para la segunda fase del proyecto CATIE-INTA/MIP(NORAD) contempla la integración del enfoque de género en las actividades del proyecto. Esto ha sido motivado por dos razones: La participación significativa de las mujeres en el manejo de los cultivos en los cuales el proyecto desarrolla actividades (café, hortalizas, musáceas) y en el manejo de las plagas de estos cultivos. Sin embargo, únicamente el 20% de los participantes de los eventos de capacitación han sido mujeres. Esto indica que se puede mejorar la difusión de las metodologías MIP, logrando mayor nivel de eficiencia, si se incorporan las mujeres a las actividades de capacitación.

El personal del proyecto está interesado en el impacto del proyecto sobre las relaciones de género, en las unidades de producción. ¿Qué efecto tiene sobre las mujeres el dirigir las capacitaciones participativas principalmente a los hombres? Se fortalece el conocimiento y la capacidad productiva de los hombres, dejando atrás el desarrollo productivo de las mujeres, ampliando así la brecha y la posición desventajosa de las mujeres. Es importante señalar que de acuerdo a un estudio del IICA (1995) en Nicaragua existe un número muy elevado de hogares encabezados por mujeres, que

representan el 31% del número total de las explotaciones. Es necesario analizar si las prácticas MIP promovidas por el proyecto, y que en muchos casos son intensivas en el uso de mano de obra, demandan más trabajo de las mujeres, sin beneficios concretos para ellas. Además posiblemente ésto debilita el papel de las mujeres en la toma de decisiones relativas a la producción adentro de las familias campesinas.

Con base en lo anterior, en 1997 el personal del proyecto CATIE-INTA/MIP(NORAD) formuló los objetivos sobre género para la etapa restante de esa segunda fase. Lo primordial era lograr un mejor entendimiento de las diferencias de género en el manejo de plagas. Como parte de actividades tendientes a lograr este objetivo, el proyecto CATIE-INTA/MIP(NORAD) está realizando un análisis de género (división de trabajo, acceso y control, toma de decisiones) con productores(as), extensionistas y especialistas. Con estos tres grupos se estudia la participación de mujeres, hombres y niños en las actividades MIP en café, hortalizas y musáceas. Por ejemplo, en café se estudia la participación en regulación de sombra, manejo de cultivo, fertilización, control de malezas, control de plagas, conservación de suelos, manejo de semilla y viveros, establecimiento de café, recolección y cosecha, graniteo, pepena, beneficiado húmedo, selección de grano y transporte. Los primeros resultados indican que las mujeres participan en todas estas actividades y los niños y niñas en muchas de ellas. Un resultado preliminar demuestra que las mujeres enfrentan más dificultades en la realización de algunas de estas actividades.

Estos resultados confirman la necesidad de incluir a las mujeres en el proceso participativo de capacitaciones MIP.

Las discusiones y observaciones en condiciones de campo, realizadas por el personal del proyecto han generado algunas hipótesis sobre la participación de las mujeres en el manejo de plagas y sobre el proceso de toma de decisiones de la familia. Algunos ejemplos son:

- La participación de las mujeres en las actividades productivas y de manejo de plagas disminuye conforme aumenta el tamaño y los recursos de las fincas.
- La participación de las mujeres depende del tipo de cultivo: de patio, autoconsumo con venta eventual, comercial. La mayor participación se da en cultivos de patio y la menor en cultivos comerciales.

- En los mismos cultivos debe existir diferentes grados de participación de las mujeres en la toma de decisiones.
- Las mujeres no participan en las actividades "pesadas" de manejo de plagas, como son regulación de sombra en café, transporte de sacos, etc.

Actualmente, con los estudios que se están realizando en los diferentes niveles, se espera obtener resultados más concretos.

El segundo objetivo formulado por el proyecto fue el de sensibilización de género en capacitaciones formales, en los grupos de trabajo y en materiales educativos. Para tal fin se organizan sesiones de reflexión sobre el tema que incluyen todos los niveles donde trabaja el proyecto: productoras(es), extensionistas, especialistas y a lo interno del proyecto. Con ésto se logra la sensibilización y preparación del personal, aspecto fundamental para lograr el tercer objetivo que es la eliminación de sesgos por género, en la participación de agricultores(as) en la generación de tecnologías de manejo de plagas. El proyecto realiza esfuerzos para involucrar más mujeres en el proceso de capacitación y generación de tecnologías MIP. El trabajo se inició con un grupo de mujeres productoras de café y se pretende aumentar el porcentaje de mujeres en los grupos mixtos. Algunas iniciativas, como ajustar los horarios y los lugares de las reuniones de capacitación para adaptarlas a las posibilidades de las mujeres, ayudan a alcanzar este objetivo. Sin embargo, mucho dependerá de los resultados de los análisis de género que se está realizando. Estos resultados van a dar las pautas para determinar qué y cómo ajustar el proceso participativo de generación de tecnología MIP a las necesidades, intereses y percepciones de las mujeres. Esto crearía mayor interés de las mujeres para involucrarse en el proceso de capacitación o generación de tecnología MIP, aumentaría el porcentaje de mujeres participantes y contribuiría a que ellas puedan obtener los beneficios del proyecto.

El proyecto CATIE-INTA/MIP(NORAD) está planificando la tercera fase, en la cual va a desarrollar actividades en cuatro países de Centro América y con base en esta experiencia se espera avanzar en la integración del enfoque de género de este a las actividades técnicas del proyecto. Esto contribuirá a una ejecución más eficiente del proyecto y a crear relaciones más equitativas entre hombres y mujeres en las familias campesinas de la región.

CONCLUSIONES

El análisis de la división de trabajo entre hombres y mujeres y el acceso y control sobre los recursos, servicios, movilidad y beneficios, es la base para aplicar el enfoque de género, en proyectos de desarrollo, como el de generación de tecnología MIP.

La aplicación del enfoque de género puede llevar a mayores niveles de eficiencia en los proyectos y programas MIP.

La aplicación del enfoque de género puede mantener y mejorar la equidad entre hombres y mujeres.

LITERATURA CONSULTADA

AGNE, S. 1995. Economics of Crop Protection Policy in Costa Rica. Publication of the Institute of Horticultural Economics. Pesticide Policy Project Publication, Series No. 2.

CCIC, M.; AOCIQ, U., 1994. Dos mitades forman una unidad. El equilibrio en las relaciones de género en los procesos de desarrollo, San José, Costa Rica. Consejo Canadiense de Cooperación Internacional.

CHIRIBOGA, M. E.A. 1995. Mujeres de Maíz, IICA/BID, Programa de Análisis de la política del sector agropecuario frente a la mujer productora de alimentos en Centroamérica y Panamá, San José, Costa Rica.

COLLIER, P. 1989. Women and structural adjustment. Washington, World Bank. sp.

DIXON, R. 1980. Assessing the Impact of Development Projects on Women. Washington (USAID).

ESECA/CATIE. 1996. Género en la transmisión de conocimientos de manejo integrado de plagas en tomate en tres municipios de Matagalpa, Managua, Nicaragua.

FAO. 1989. Women in Agricultural and Rural Development 1980-1989, Rome, FAO. sp.

FASSAERT, C. 1997. Género y manejo integrado de plagas. // Diálogo Nacional Género y MIP (1997, Nicaragua). Memoria. Zamorano. p. 34-40.

GENDER ISSUES AND CROP PROTECTION. 1995. In XIII International Plant Protection Congress. (8, 1995). The Hague, The Netherlands.

HORENSTEIN, N. 1989. Women and food security in Kenya. WID Working Paper 232. Washington, World Bank.

KARREMANS, J. 1994. Análisis de Género, Concepto y Métodos, CATIE, Turrialba. Costa Rica.

LELE, U. 1991. Women, structural adjustment and transformation. // Structured Adjustment and African Women Farmers. Gainesville, University of Florida. sp.

SIMS, H.; BUTLER, C.; POATS, S. 1991. La Variable de Género en la Investigación Agrícola. Proyecto El Género y la Agricultura. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo. Ottawa, Canadá.

Anexo 1. Formulario para determinar la división de trabajo de acuerdo al subsistema de producción o al cultivo y sus prácticas agronómicas (adaptado de Karremans 1991).

División del trabajo	mujeres	niñas	hombres	niños
Actividades productivas				
Agricultura				
Café				
		Carileo/chapea		
		Vivero		
		Transporte fertilizantes		
		Fertilización		
		Regulación de la sombra		
		Poda		
		Desbejucar		
		Deshijar		
		Aplicación plaguicidas		
		Manejo de broca		
		Establecimiento sombra		
		(Re) siembra		
		Recuento		
		Cosecha		
Cultivo 2				
Ganadería				
Forestería				
Hogar y solar				
Otros				

Anexo 2. Formulación para evaluar el acceso y control que tiene las mujeres y los hombres sobre los recursos, servicios, movilidad y beneficios (adaptado de Karremans 1994).

	Acceso		Control	
	mujer	hombre	mujer	hombre
Recursos	Tierra (titulación/tenencia) Tiempo Agua Capital Animales (incluye tracción) Arboles y productos arbóreos Forraje, pasto, semillas Insumos agroquímicos Herramientas (equipo) Fuerza de trabajo Conocimientos/capacidades			
Servicios	Sistemas de extensión Luz/agua/energía Transporte Salud Educación Sistema legal Sistema crediticio			
Movilidad	Hacia el mercado laboral A centros de compra A centros de acopio A instituciones gubernamentales A instituciones no-gubernamentales A mantener relaciones sociales			
Beneficios	Productos de la finca Ingresos por venta Ahorro en tiempo Alimentos Vivienda Salud Autoestima Poder, prestigio, estatus			

Palabras clave: Bacterias, Control biológico, Zootecnia, avicultura, Control biológico.

En general, las larvas infectadas en las primeras etapas de su vida producen más huevos que las larvas no infectadas. En general, las larvas infectadas en las primeras etapas de su vida producen más huevos que las larvas no infectadas.

INTRODUCCIÓN

El manejo integrado de plagas propone un enfoque holístico y preventivo para el control de plagas. Este enfoque se centra en la prevención de plagas y en el uso de métodos de control biológico y químico de manera responsable.

El Departamento de Fitopatología y Entomología Agrícola y Forestal de la Universidad de Córdoba (España) ha desarrollado un programa de investigación sobre el control biológico de plagas. Este programa tiene como objetivo principal evaluar el impacto ambiental de los insectos y desarrollar estrategias de control biológico que sean sostenibles y respetuosas con el medio ambiente.

El control biológico es una herramienta clave para el manejo integrado de plagas. Consiste en utilizar organismos vivos para controlar a las plagas. Este método es seguro y respetuoso con el medio ambiente. El control biológico puede ser muy efectivo cuando se utiliza de manera adecuada y se combinan diferentes métodos de control.

El control biológico puede ser muy efectivo cuando se utiliza de manera adecuada y se combinan diferentes métodos de control. El control biológico puede ser muy efectivo cuando se utiliza de manera adecuada y se combinan diferentes métodos de control.

PRODUCCION DEL BACULOVIRUS VPNHA EN *Heliothis armigera* Y *Spodoptera exigua*

Patrício Borges Maracajá*
Enrique Vargas Osuna**
Candido Santiago Alvarez**

RESUMEN

Entre las alternativas de manejo integrado, los baculovirus se destacan por sus cualidades de interés práctico: especificidad, seguridad de empleo, facilidad de aplicación y estabilidad. La mayoría de los sistemas de producción de virus entomopatógenos utilizan métodos de multiplicación *in vivo*. Actualmente, éste es el único método que permite la obtención de la cantidad de virus suficiente para su uso como insecticida biológico, especialmente cuando el hospedante primario presenta características indeseables para su cría o para la producción del virus. En estudios anteriores de espectro de hospedante se constató la infectividad del VPNHa en larvas de *Spodoptera exigua*. En medios controlados, se realizaron pruebas de multiplicación, con larvas de varios estadios, y los resultados mostraron que las larvas del hospedante alterno, *S. exigua*, son menos susceptibles a la infección por VPNHa que las larvas de *Heliothis armigera*. El rendimiento de la producción del VPNHa en *S. exigua* fue de $6,29 \times 10^7$ en L₂ y $1,35 \times 10^8$ en L₃, pero el rendimiento de la producción de este baculovirus en larvas de *H. armigera* fue de $3,36 \times 10^8$ en L₃ y $9,95 \times 10^8$ en L₄, alcanzando valores apropiados para la producción a gran escala.

Palabras claves: Baculovirus, *Heliothis armigera*, *Spodoptera exigua*, Control biológico.

ABSTRACT

Baculovirus production in *Heliothis armigera*, and *Spodoptera exigua* hosts. Among the alternatives considered in integrated pests management, some outstanding practical qualities of baculovirus are: specificity, user safety, application facility and stability. Most entomopathogen virus production systems employ *in vivo* multiplication methods these are the only methods that produce a sufficient quantity for use as bio-insecticides, especially when primary hosts present undesirable breeding or virus production properties. Infectiousness of VPNHa in *Spodoptera exigua* larvae was established in previous host spectrum research. Multiplication bio-assays were made in controlled media, using larvae at several instars, with following results: Alternative host *S. exigua* larvae exhibited less infection susceptibility by VPNHa than *Heliothis armigera* larvae. VPNHa production yields in *S. exigua* was $6,29 \times 10^7$ in L₂ and $1,35 \times 10^8$ in L₃, while VPNHa yields in *H. armigera* larvae was $3,36 \times 10^8$ in L₃ and $9,95 \times 10^8$ in L₄, thus reaching values that are suitable for mass production of that baculovirus.

Key words: Baculovirus, *Heliothis armigera*, *Spodoptera exigua*, Biological control.

INTRODUCCION

El manejo integrado de plagas propone armonizar todos los medios de control disponibles para reducir las poblaciones de los fitófagos a niveles inferiores a los que causan pérdidas económicas, aprovechando las ventajas de diferentes alternativas de control y reduciendo el impacto ambiental de las mismas.

Los enemigos naturales de los insectos, depredadores, parasitoides y patógenos, colaboran en la limitación de las poblaciones na-

turales de insectos. Su acción en los ecosistemas alterados (agrícolas o forestales) generalmente, no es suficiente para mantener los niveles poblacionales de los fitófagos por debajo del umbral de acción. Sin embargo, debidamente manejados pueden llegar a solucionar los problemas de plagas de insectos en estas situaciones.

Entre los virus entomopatógenos, los baculovirus destacan por sus cualidades de interés práctico: especificidad, seguridad de empleo, facilidad de aplicación y estabilidad (Podgwaite 1986), aspectos por los cuales pueden ser utilizados como materia activa de insecticidas, compitiendo ventajosamente con los químicos sintéticos en el control selectivo de especies de interés agrícola (Payne 1982).

No obstante, el desarrollo comercial de muchos baculovirus para el control de insectos

Recibido: 05/08/97. Aprobado: 17/04/98.

*Prof. del Departamento de Fitossanidade da ESAM (Escola Superior de Agricultura de Mossor) C.P.59.625.900 Mossor-RN, Brasil.

**Prof. del DCRAF/ETSIAM/Universidad de Córdoba - 14.080 Córdoba, España.

de importancia económica está limitado por su relativa baja virulencia y lenta acción letal, en comparación con los insecticidas químicos (Huber 1986).

Por su carácter de patógenos obligados, los virus sólo pueden multiplicarse en células susceptibles. La mayoría de los sistemas de producción de virus entomopatógenos utilizan métodos de multiplicación *in vivo* por inoculación del virus en una especie hospedante.

Las técnicas de cultivos celulares para la producción en masa (multiplicación *in vitro*) todavía no se han desarrollado a nivel industrial, a pesar de que se ha observado que virus producidos mediante este mecanismo son efectivos en condiciones de campo (Dougherty *et al.* 1982). La producción de virus en cultivos celulares tiene varias ventajas sobre los sistemas *in vivo* (Tinsley 1979, Sherman 1985) como: reducción al mínimo de la contaminación por organismos indeseables, mantenimiento del proceso de crecimiento bajo condiciones estándar, buen control de calidad de los productos virales; la tecnología es más flexible y aunque el costo de producción actualmente es prohibitivo (Tanada y Kaya 1993), podría llegar a ser menor que en la producción *in vivo*. Los sistemas de multiplicación *in vitro* se encuentran en una fase de investigación intensa para desarrollar medios de cultivo más simples y baratos, obtener mayores rendimientos de virus por célula y mantener la actividad del virus, entre otras (Shapiro 1986).

Actualmente, el único método con el cual se puede obtener baculovirus en cantidad suficiente para su uso como insecticida, es la producción *in vivo* sobre larvas de una especie susceptible.

El objetivo de la producción de baculovirus es obtener la cantidad máxima de virus biológicamente activo, que cumpla los requerimientos de calidad exigidos y a bajo costo (Shapiro 1982). Este último factor es importante para la utilización del virus con fines de investigación, pero lo es aún más para la comercialización como materia activa de insecticidas microbianos (Bell 1991).

Cuando el hospedante primario presenta características indeseables para su cría (diapausa, desarrollo lento, canibalismo) o para la producción del virus (larvas pequeñas), es posible utilizar un hospedante alternativo. En la elección del hospedante alternativo más adecuado es necesario considerar el rendimiento y la

actividad biológica del virus producido, así como la facilidad y el costo de cría de la especie hospedante (Martignoni *et al.* 1982).

El estadio de las larvas utilizadas como hospedantes en el momento de la inoculación es decisivo en el rendimiento de la producción. Esto no se puede generalizar porque para cada combinación baculovirus-hospedante existe un estadio larvario en el cual se alcanza la máxima producción.

En general, las larvas infectadas en los últimos estadios producen más virus que las infectadas en los primeros (Shapiro 1986). Si se utilizan larvas de estadios muy avanzados (L_5 y L_6), éstas podrían pupar antes de que la infección les cause la muerte, disminuyendo el rendimiento, mientras que si se emplean larvas de los primeros estadios éstas no alcanzan el peso necesario para conseguir una producción máxima (Smits *et al.* 1984). Por esta razón, en la mayoría de las investigaciones sobre producción de baculovirus se han utilizado larvas de tercer y cuarto estadio (Sherman 1985). En los casos de VG de *Agrotis segetum* y del VPN de *Spodoptera littoralis*, la producción máxima de CI se alcanzan con larvas inoculadas en el 4º ó 5º estadio (Vargas-Osuna *et al.* 1995a, b; Oballe 1993; Martínez 1991).

El objetivo de esta investigación fue evaluar la producción de baculovirus VPNHa en *Spodoptera exigua* su hospedante primario y alternativo.

MATERIALES Y METODOS

Las poblaciones de insectos y los inóculos son mantenidos de forma continuada en la Unidad de Entomología Agrícola y Forestal de la E.T.S.I.A.M.. de Córdoba-España:

- *H. armigera*, larvas recolectadas en cultivos de algodón durante el verano en las provincias de Córdoba y Sevilla, España.
- *S. exigua*, larvas recolectadas en cultivos de alfalfa en la provincia de Córdoba, España.
- VPN de *Heliothis armigera* (VPNHa) aislado de larvas recolectadas en tomate, Badajoz, España, en agosto de 1989. El inóculo original fue una suspensión acuosa de $4,18 \times 10^8$ CI/ml, (CI: cuerpo de inclusión) obtenida el 3 de marzo de 1992 por multiplicación en larvas de *H. armigera*.

La cría de fitófagos se realizó bajo condiciones de insectario (temperatura $26 \pm 2^\circ\text{C}$, humedad relativa $70 \pm 5\%$, fotoperíodo 16 horas luz/8 horas oscuridad).

El método general de cría de las especies de noctuidos utilizados fue desarrollado por la Unidad de Entomología Agrícola y Forestal de la E.T.S.I.A.M. de Córdoba en 1978.

Los adultos ovipositaron en ponederos de papel de filtro de forma cilíndrica. Las oviposiciones se recogieron recortando los trozos de papel de filtro donde las hembras depositaron los huevos. Para asegurar el buen estado sanitario de la descendencia, los huevos se desinfectaron externamente sumergiendo los trozos de papel en formalina (disolución acuosa de aldehído fórmico al 10%) durante 15 minutos. Después de secarlos al aire se colocan en cajas de plástico con tapa para permitir la ventilación.

Durante el desarrollo, las larvas se mantuvieron en ese mismo tipo de cajas de cría. A partir del tercer estadio larvario, para evitar la competencia intraespecífica, se redujo gradualmente la densidad larvaria en cada caja. En el caso de las especies que presentan canibalismo, como *H. armigera*, las larvas de tercer estadio se mantuvieron individualmente hasta la pupación en cajas de plástico de 30 mm de diámetro.

Las larvas fueron alimentadas con dieta artificial, basadas en la de Poitout y Bues (1974), con pequeñas modificaciones (Santiago-Alvarez 1977, Vargas-Osuna 1985).

Cada Baculovirus fue multiplicado en su hospedante primario y en los hospedantes alternos reconocidos en las pruebas de patogeneidad.

Las larvas de cada especie se trataron según el método de Santiago-Alvarez y Vargas-Osuna (1988), donde las suspensiones virales se preparan por dilución del inóculo en agua destilada que contiene (adherente) agrícola al 0,1%. Una cantidad conocida de las suspensiones correspondientes se depositaron mediante un microaplicador sobre discos de alfalfa, cuyo diámetro está en función de la edad de las larvas utilizadas. Después de que la suspensión aplicada se secó a temperatura ambiente, los discos de alfalfa fueron ofrecidos a larvas recién mudadas (no más de diez horas después de mudar) que fueron colocadas individualmente en cajas de plástico transparente con papel de filtro humedecido en el fondo. En larvas testigo, la alfalfa se trató de manera similar, con agua destilada provista de mojanete.

Después de 48 horas las larvas que consumieron completamente el disco fueron

desechadas. De esta manera todas las larvas utilizadas en el bioensayo ingirieron una cantidad conocida y constante de CI. A estas larvas se les suministró dieta artificial sin formaldehído; y las tapas de las cajas fueron sustituidas por otras con rejilla para permitir la aireación.

Diariamente se anotó el número de larvas vivas y muertas, así como su estadio de desarrollo. La causa de la muerte se determinó por observación de la sintomatología externa de los cadáveres y por exámen microscópico de sus tejidos. La infección por baculovirus se reconoce por la presencia de CI en hemolinfa y en diferentes tejidos del hemocele. El estadio y la dosis de inóculo fueron seleccionados para tener un porcentaje de mortalidad de 80% aproximadamente. En general, en cada experimento de producción se inocularon 100 larvas y 20 se usaron como testigo.

Las larvas muertas (infección por baculovirus) se agruparon según el estadio al momento de la muerte y almacenadas en cámara frigorífica, a temperatura de congelación.

La extracción y purificación de los baculovirus se llevó a cabo siguiendo el método de Griffith (1982) con algunas modificaciones. Los cadáveres de las larvas se trituraron en agua destilada mediante un homogeneizador manual, filtrado a través de una tela doble de nailon. El residuo se utilizó en una nueva suspensión en agua destilada, filtrándose de nuevo, para posteriormente mezclarlo con la solución filtrada inicialmente.

La purificación de los baculovirus se realizó por centrifugación del extracto a 14.000 rpm. El sobrenadante se eliminó y el sedimento se utilizó nuevamente para realizar una suspensión en agua y fue ultracentrifugado en gradiente discontinuo de sacarosa (40-60% peso/peso) a 25000 rpm durante una hora. Los CI del virus se recogieron de la interfase con una jeringuilla y se diluyeron en agua. La suspensión obtenida se lavó por centrifugación a 15000 rpm para eliminar la sacarosa y el sedimento se utilizó para otra suspensión en agua destilada, para obtener una suspensión acuosa de CI que se almacenó a 4°C .

La riqueza en poliedros de las suspensiones de los VPN se determinó por conteos en la cámara de Malassez. Esta cámara consiste en un portaobjetos excavado en cuyo fondo hay 25 rectángulos dispuestos en cinco filas y cinco columnas. Cada rectángulo se compone de 20 cuadrados dispuestos en cinco filas y cuatro columnas. El volumen correspondiente a cada rectángulo es de 10^{-5} ml.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los conteos se realizaron con microscopio óptico a 400x en contraste de fase. En la cámara de Malassez se depositó una muestra de la dilución adecuada de la suspensión viral y se contó el número de poliedros que hay en cada rectángulo, siguiendo una fila o una columna, hasta llegar a un total de 400 poliedros. Para cada suspensión viral el conteo se repitió seis veces.

Para determinar la concentración de CI de las suspensiones virales se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{N}^\circ \text{CI/ml.} = \frac{N \times d}{n \times V}$$

donde:

N= número total medio de CI contados.

n= número de rectángulos empleados en los conteos.

V= volumen de la cámara (10^{-5} ml).

d= dilución utilizada.

Una vez medido el volumen (en ml) de cada uno de los productos virales, se determinó la cantidad de CI producidos por larva mediante el siguiente cálculo:

$$\text{CI/larva} = \frac{\text{CI/ml} \times V}{N}$$

donde:

V= volumen total, en ml, de la suspensión viral.

N= número de larvas empleadas en la producción.

CI/ml= concentración del producto viral.

En cada caso se determinó la productividad de CI, expresada como el cociente entre el número medio de CI producidos por larva y el número de CI ingeridos.

En los casos en que el testigo presentó mortalidad larvaria debida a baculovirus, los porcentajes obtenidos en los tratamientos restantes se corrigieron mediante la fórmula de ABBOTT (1925):

$$\% \text{Mort. Corregida} = \frac{\% \text{Mort. observada} - \% \text{Mort. testigo}}{100 - \% \text{Mort. testigo}} \times 100$$

Para la producción del VPNH_a se realizó un primer bioensayo en el que se inocularon larvas de tercer estadio. Debido al bajo rendimiento de CI obtenido, se optó por realizar un nuevo bioensayo tratando las larvas con una dosis menor y en un estado de desarrollo más avanzado (L₄).

Producción del VPNH_a en *H. armigera*. En el primer bioensayo se observó una ligera mortalidad de las larvas del testigo (Cuadro 1). En éste la mortalidad de las larvas tratadas se aproximó al 100% y la mayoría de las larvas murieron en el estadio siguiente (L₄) al del tratamiento, aunque la mortalidad se distribuyó desde el tercer al sexto estadio larvario.

Cuando las larvas se trataron con una dosis más baja y en un estadio larvario más avanzado, la mortalidad total fue menor que en el experimento anterior y se presentó principalmente entre el estadio en el que las larvas fueron inoculadas (L₄) y el siguiente (L₅).

La producción de CI en las larvas tratadas en tercer estadio fue muy similar, y no está claramente relacionada con el estadio en el que murieron. Sin embargo, en las larvas tratadas en cuarto estadio con una dosis menor, se observó una relación directa entre producción en CI/larva y el estadio en el cual murieron las larvas (Cuadro 2).

La producción total en este segundo bioensayo (10^9 CI/larva) fue aproximadamente tres veces mayor que la del primero. Si se consideran las diferentes dosis de inoculación empleadas, la productividad fue de 2380 en el primer bioensayo en contraste con 268 en el segundo bioensayo. Las más productivas fueron las larvas de sexto estadio del primer bioensayo, que alcanzaron una productividad de 9019.

Producción del VPNH_a en *S. exigua*. Para la producción del VPNH_a en su hospedante alterno (*S. exigua*) inicialmente se trataron larvas L₃. Debido a la baja mortalidad obtenida se realizó otro experimento en el cual se inocularon larvas más jóvenes (L₂) con la misma dosis.

Sin embargo, los porcentajes totales de mortalidad en las larvas L₂ y L₃ (experimento 1 y 2), fueron menores a 50%, siendo un poco mayores los observados en las larvas L₂ (Cuadro 3). En este caso las larvas murieron a partir del estadio siguiente al del tratamiento; las larvas L₃ murieron en el mismo estadio del tratamiento. En ambos casos la mayor mortalidad correspondió a las larvas de cuarto estadio.

En general, la producción de VPNH_a se incrementó según la edad en la que murieron las larvas inoculadas (Cuadro 4). De las larvas tratadas en segundo estadio, la única larva que murió en L₃, mostró una producción anormalmente alta.

CUADRO 1. Mortalidad de larvas de *Heliothis armigera* tratadas con el VPNHa. Córdoba, España.

Estadio Tratado	Dosis CI/larva	N	Estadio	Mortalidad larvaria			
				n	%	% Total	% Correg.*
L3	0	17	L4	1	5,88	5,88	-
			L3	9	9,00		
			L4	67	67,00	97,00	96,81
			L5	19	19,00		
L4	418000	95	L6	2	2,00		
			L4	36	37,89		
			L5	26	27,37	74,74	74,74
			L6	9	9,47		

N: número de larvas tratadas
n: número de larvas muertas de poliedrosis
*: Corrección de ABBOTT (1925).

CUADRO 2. Rendimiento de la producción del VPNHa en larvas de *Heliothis armigera*. Córdoba, España.

Estadio Tratado	Dosis CI/larva	Estadio	N	Volumen (ml)	Titulación (CI/ml)	Producción (CI/larva)
L3	1,25x10 ⁶	L3	9	1,40	4,11x10 ⁹	6,39x10 ⁸
		L4	67	3,90	4,01x10 ⁹	2,33x10 ⁸
		L5	19	3,30	3,69x10 ⁹	6,41x10 ⁸
		L6	2	0,30	3,31x10 ⁹	4,97x10 ⁸
		Total	97	8,60		3,36x10 ⁸
		L4	4,18x10 ⁵	L4	36	2,35
L5	26			3,30	6,23x10 ⁹	7,91x10 ⁸
L6	9			6,89	4,93x10 ⁹	3,77x10 ⁹
Total	71			12,54		9,95x10 ⁸

CUADRO 3. Mortalidad de larvas de *Spodoptera exigua* tratadas con el VPNHa, Córdoba, España.

Estadio Tratado	Dosis CI/larva	N	Estadio	Mortalidad Larvaria			
				n	%	% Total	% Correg.*
L ₂	0,0	10	-	0	0,00	0,00	-
			L ₃	1	2,86		
				9	25,71	34,29	34,29
L ₄	1,25x10 ⁶	35	L ₅	2	5,71		
			L ₃	1	3,33	3,33	-
L ₃	0,0	30	L ₃	4	5,80		
			L ₄	13	18,84	31,88	29,53
				L ₅	5	7,25	

N: número de larvas tratadas.
n: número de larvas muertas de poliedrosis.
*: Corrección de ABBOTT (1925).

CUADRO 4. Rendimiento de la producción del VPNHa en larvas de *Spodoptera exigua*. Córdoba, España.

Estadio Tratado	Dosis CI/larva	Estadio	N	Volumen (ml)	Titulación (CI/ml)	Producción (CI/larva)
L ₂	1,25x10 ⁶	L ₃	1	2,98	1,20x10 ⁸	3,58x10 ⁸
		L ₄	9	1,20	1,37x10 ⁸	1,83x10 ⁷
		L ₅	2	2,02	1,15x10 ⁸	1,16x10 ⁸
		Total	12	6,20		6,29x10 ⁷
L ₃	1,25x10 ⁶	L ₃	4	3,72	4,20x10 ⁷	3,90x10 ⁷
		L ₄	13	4,19	3,22x10 ⁸	1,03x10 ⁸
		L ₅	5	5,04	2,92x10 ⁸	2,94x10 ⁸
		Total	22	12,95		1,35x10 ⁸

La producción total de CI fue mayor en las larvas tratadas en tercer estadio que en segundo estadio, con una productividad de 108 y 50 respectivamente, valores considerablemente inferiores a los obtenidos por el mismo inóculo en su hospedante primario.

En los dos experimentos de producción del VPNHa en su hospedante primario, se observó que la mortalidad de las larvas que fueron tratadas en segundo y en tercer estadio siguió la tendencia esperada.

Aún con dosis que causaron una mortalidad elevada, las larvas murieron principalmente en el

estadio siguiente y pocas lo hicieron en el mismo estadio al del tratamiento, aspecto observado en evaluaciones de mortalidad causada por otros VPN. La mayoría de las larvas de *Spodoptera litura* infectadas con VPN en cualquiera de sus estadios, excepto en el primero, mudaron una vez antes de morir (Subrahmanyam y Ramakrishnan 1981).

Por otro lado, el que algunas de las larvas de *H. armigera*, incluso las tratadas en L₃, murieran en el último estadio larvario, revela las diferencias individuales de susceptibilidad al baculovirus, que pueden ser un reflejo de la heterogeneidad de la población larvaria (Briese 1982). En la cría de

esta especie en condiciones de insectario, es necesario mantener una amplia heterogeneidad genética que impida la depresión por consanguinidad (Poitout 1969).

Los rendimientos de CI son comparables a los obtenidos en la producción en sus respectivos hospedantes primarios, de los VPN de *Lymantria dispar* (Shapiro y Bell 1981), *Mamestra brassicae* (Evans *et al.* 1981), *Spodoptera litura* (Im *et al.* 1989) y *Trichoplusia ni* (Ignoffo 1964), entre otros.

Una productividad de 2380, obtenida para larvas inoculadas en cuarto estadio, se considera apropiada para la producción a gran escala de este baculovirus. No obstante, en la literatura hay referencias de productividades mayores de 4000 en el caso del VPN de *Heliothis* (Ignoffo 1965), de 10000 para los VPN de *T. ni* (Briggs 1963) y de *L. dispar* (Lewis 1970), y hasta de 83500 para el VPN de *M. brassicae* (Evans *et al.* 1981).

Los rendimientos más bajos de CI se obtuvieron con larvas tratadas en tercer estadio utilizando una dosis elevada, con respecto a las tratadas en L₄ con dosis menores, lo que coincide con resultados obtenidos en otros sistemas baculovirus-hospedante. Una relación directa entre el estadio en que son tratadas las larvas y la producción de CI, ha sido señalada para los VPN de *T. ni* (Ignoffo 1964) y de *L. dispar* (Shapiro y Bell 1981). Además, dosis de inoculación excesivamente elevadas generalmente conducen a un descenso en la producción de CI/larva; como ha sido informado para el VPNSe en larvas de *S. exigua* (Smits y Vlak 1988) y para el VPNSI en larvas de *S. littoralis* (Martínez 1991; Pascual-Cabillas 1992). El menor incremento de peso que experimentaron las larvas tratadas con dosis elevadas (Hedlund y Yendol 1974) explica esta disminución de CI producidos, debido a que el rendimiento en la producción de CI por larva depende más del peso ganado por ésta durante el proceso infeccioso, que de su peso en el momento de la inoculación (Shapiro 1986). Esta es también la razón de la relación directa que se observa entre el estadio en que mueren las larvas tratadas en L₄ y la cantidad de CI que producen.

Las larvas del hospedante alterno *S. exigua* mostraron menor susceptibilidad a la infección por VPNSe que las larvas de *H. armigera* resultados que coinciden con los obtenidos para otros VPN que también fueron más activos sobre sus hospedantes primarios que alternos. Las larvas de *Lymantria monacha* y *L. dispar* son más susceptibles a sus respectivos VPN que a la inoculación con el VPN aislado de otra especie (Zethner *et al.* 1979) y la susceptibilidad de las

larvas de *Malacosoma disstria* al VPN propio fue mayor que al VPN de *Malacosoma alpicola* (Stairs 1964).

CONCLUSION

La producción del VPNSe en larvas de *H. armigera* inoculadas en cuarto estadio, alcanza valores apropiados para la producción a gran escala de este baculovirus.

LITERATURA CITADA

- ABBOTT, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economy Entomology* 18:265-267.
- BRIESE, D.T. 1982. Genetic basis for resistance to a granulosis virus in the potato moth *Phthorimaea operculella*. *Journal of Invertebrate Pathology* 18:287-289.
- BRIGGS, J.D. 1963. Commercial production of insect pathogens. *In* *Insect Pathology: An Advanced Treatise* (Steinhaus, E.A., Ed.) Academic Press, New York. 2:519-548.
- BELL, M.R. 1991. In vivo production of a nuclear polyhedrosis virus utilizing tobacco budworm and a multicellular larval rearing container. *Journal of Entomology Science* 26:(1):69-75.
- DOUGHERTY, E.M.; CANTWELL, G.E.; KUCHINSKI, M. 1982. Biological control of the greater wax moth (Lepidoptera: Pyralidae), utilizing *in vivo* and *in vitro*-propagated baculovirus. *Journal of Economy Entomology* 75:675-679.
- EVANS, H.F.; LOMER, C.I.; KELLY, D.C. 1981. Growth of nuclear polyhedrosis virus in larvae of the cabbage moth, *Mamestra brassicae* L. *Archives of Virology* 70:207-214.
- GRIFFITH, I.P. 1982. A new approach to the problem of indentifying Baculoviruses. *In* *Microbial and viral pesticides*. (E. Kurstak, Ed.). New York. Marcel Dekker. p. 507-531.
- HUBER, J. 1986. Use of baculoviruses in pest management programs. *In* *The biology of Baculoviruses*. (R.R. Granados y B.A. Federici, Eds. USA.) CRC Press. v.2 p. 181-202.
- HEDLUND, R.D.; YENDOL, W.G. 1974. Gypsy moth nuclear-polyhedrosis virus production as related to inoculating time, dosage, and larval weight. *Journal of Economy Entomology* 67:61-63.
- IGNOFFO, C.M. 1964. Production y virulence of a nuclear polyhedrosis virus from larvae of *Trichoplusia ni* (Hübner) reared on a semisynthetic diet. *Journal of Insect Pathology* 6:318-326.
- IGNOFFO, C.M. 1965. The nuclear-polyhedrosis virus of *Heliothis zea* (Boddie) and *Heliothis virescens* (Fabricius). IV. Bioassay of virus activity. *Journal of Invertebrate Pathology* 7:315-319.
- IM, D.J.; CHOI, K.M.; LEE, M.H.; JIN, B.R.; KANG, S.K. 1989. In vivo mass production of *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus. *Korean Journal of Applied Entomology* 28:82-87.

- LEWIS, F.B. 1970. Mass propagation of insect viruses with specific reference to forest insects. *In* International Colloquium on Insect Pathology (4, 1970, Maryland). Proceedings p. 320-326.
- MARTIGNONI, M.E.; STELZER, M.J.; IWAI, R.J. 1982. Baculovirus of *Autographa californica*: a candidate biological control agent for Douglas-fir tussock moth (Lepidoptera: Lymantriidae). *Journal of Economic Entomology* 75:1120-1124.
- MARTINEZ C. B. J. 1991. Determinación de la cantidad óptima inicial de inóculo para la producción in vivo del VPN de *Spodoptera littoralis* (VPNSI). Trabajo de investigación fin de carrera. Universidad de Córdoba. 109 p.
- OBALLE, R. 1993. Comparación de la eficiencia del sistema *Agrotis segetum*-baculovirus en la producción "in vivo" del virus de la granulosis y del virus de la poliedrosis nuclear. Trabajo de investigación fin de carrera. Universidad de Córdoba. s.p.
- PODGWAITE, J.D. 1986. Strategies for field use of Baculoviruses. *In* Viral insecticides for Biological Control. Eds. Maramorosch K. Sherman K.E. New York, Academic Press. p. 775-798.
- PAYNE, C.C. 1982. Insect viruses as control agents. *Parasitology* 84:35.
- POITOUT, S. 1969. La consanguinité chez les Lépidoptères Noctuidae. Mise en évidence de son importance dans la conduite d'élevage selon les espèces. *Ann. Ecol. Anim.* 6:431-441.
- POITOUT, S.; BUES, R. 1974. Elevage des chenilles de vingthuit espèces de lépidoptères Noctuidae et de deux espèces d'Arctiidae sur milieu artificiel simple. Particularités de l'élevage selon les espèces. *Ann. Ecol. Anim.* 6:431-441.
- PASCUAL-CABILLAS, A. 1992. Utilización de los tejidos larvarios de *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) por *Baculovirus* sp. (Baculoviridae) y sus repercusiones en la producción "in vivo". Trabajo de investigación fin de carrera. Universidad de Córdoba.
- SANTIAGO-ALVAREZ, C. 1977. Virus de insectos: Multiplicación, aislamiento bioensayo de *Baculovirus*. Fundación Juan March. s.p.
- SANTIAGO-ALVAREZ, C.; VARGAS-OSUNA, E. 1988. Reduction of reproductive capacity of *Spodoptera littoralis* males by a nuclear polyhedrosis virus (VPN). *Journal Inver. Pathol.* 52:142-146.
- SHAPIRO, M.; BELL, R. A. 1981. Biological activity of *Lymantria dispar* nucleopolyhedrosis virus from living and virus-killed larvae. *Annals of the Entomology Society of America* 74:27-28.
- SHAPIRO, M. 1982. "In vivo" mass production of insect viruses for use as pesticides. *In* Microbial and Pesticides. Ed. Kurstak, E. New York, Marcel Dekker, p. 463-492.
- SHAPIRO, M. 1986. *In vivo* production of baculovirus. *In* The Biology of Baculoviruses. Practical application for insect control (Eds. Granados, R.R. and Federici, B.A.). Florida. CRC Press, v. 2:31-61.
- SHERMAN, K.E. 1985. Considerations in the large-scale and commercial production of viral insecticides. *In* Viral Insecticides for Biological Control. Eds. Maramorosch, K. y Sherman, K. E. New York, Academic Press. p. 757-774.
- SMITS, P.H.; VON SHOMBERG, R.; VANDEVRIE, M.; VLAK, J.M. 1984. Production of a nuclear polyhedrosis virus in larvae of beet armyworm, *Spodoptera exigua* Hbn. (Noctuidae). *Med. Fac. Landbouw. Rijsuniv. Gent* 49:867-873.
- SMITS, P.M.; VLAK, J.M. 1988. Qualitative and quantitative aspects of the production of *Spodoptera exigua* nuclear polyhedrosis virus in beet armyworm larvae. *Annals of the Applied Biology* 112:249-257.
- STAIRS, G.R. 1964. Infection of *Malacosoma disstria* (Hbn.) with nuclear polyhedrosis viruses from other species of *Malacosoma* (Lepidoptera: Lasiocampidae). *Journal of Insect Pathology* 6:164-169.
- SUBRAHMANYAM, B.; RAMAKRISHNAN, N. 1981. Influence of a Baculovirus infection on molting and food consumption by *Spodoptera litura*. *Journal of Invertebrate Pathology* 38:161-168.
- TINSLEY, T.W. 1979. The potential of insect pathogenic viruses as pesticidal agents. *Annual Review of Entomology* 24:63-87.
- TANADA, Y.; KAYA, H.K. 1993. *Insect pathology*. San Diego, Academic Press. p. 554-594.
- VARGAS-OSUNA, E. 1985. Evolución de los ovarios de hembras adultas de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). *Boletín da Sociedade Port. da Entomo.* p. 145-151.
- VARGAS-OSUNA, E.; CARRANZA, P.; ALDEBIS, H.K.; SANTIAGO-ALVAREZ, C. 1995a. Production of *Agrotis segetum* granulosis virus in different larval instars of *A. segetum* (Lep., Noctuidae). *Journal of Applied Entomology* 119(10):695-697.
- VARGAS-OSUNA, E.; GONZALES-SANTOS, M.D.; ALDEBIS, H.K.; SANTIAGO-ALVAREZ, C. 1995b. Influencia del sexo de las larvas hospedantes en la producción "in vivo" de baculovirus. *Investigación Agraria, Fuera de Serie no.2*. s.p.
- ZETHNER, O.; BROWN, D.A.; HARRAP, K.A. 1979. Comparative studies on the nuclear polyhedrosis viruses of *Lymantria monacha* and *L. dispar*. *Journal of Invertebrate Pathology* 34:178-183.

RESISTENCIA POTENCIAL DE *Spodoptera frugiperda* A *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*

Fabiola Borrero Fonseca *
Ingeborg Zenner de Polanía **

RESUMEN

La presión de selección con una formulación comercial de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* sobre larvas del segundo instar del cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* mediante tratamientos foliares en campo y laboratorio, causaron una pérdida de susceptibilidad en el insecto plaga. La selección de resistencia bajo condiciones de laboratorio, siguiendo el método de bioensayo dió como resultado un incremento de 4,9 veces en concentración letal media (CL₅₀) con respecto a la línea base de susceptibilidad de la población, después de tratamientos con *B. thuringiensis* durante cuatro generaciones sucesivas del insecto. Dos aplicaciones foliares del producto en condiciones de campo produjeron un incremento de 1,48 veces en la CL₅₀ de la población del cogollero del maíz en relación con la CL₅₀ de la línea base de susceptibilidad. Estos resultados sugieren la existencia del potencial de pérdida de susceptibilidad de *S. frugiperda* a *B. thuringiensis* como consecuencia de aplicaciones sucesivas del insecticida, aspecto muy importante a considerar para el uso de este producto microbiano en programas de manejo integrado de plagas en los diversos cultivos hospedantes del cogollero del maíz.

Palabras claves: *Spodoptera frugiperda*, Susceptibilidad a insecticidas microbiales, Manejo Integrado de Plagas.

ABSTRACT

Resistance potential of *Spodoptera frugiperda* to *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*. Selection pressure with a commercial formulation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* on second instar larvae of the fall army worm, *Spodoptera frugiperda* through foliar treatments under field and laboratory conditions, induced loss of susceptibility in the insect pest. The selection of resistance in the laboratory, using a dip test, resulted in a 4.9 times increase in the medium lethal concentration (LC₅₀) in comparison with the LC₅₀ of the base line of susceptibility of the population, after treatment with *B. thuringiensis* during four consecutive generations of the insect. Two applications of the insecticide in a corn field resulted in a 1.48 times increase of the LC₅₀ of the insect population in relation to the LC₅₀ of the base line of susceptibility. These results suggest the existence of a potential loss of susceptibility of *S. frugiperda* to *B. thuringiensis* as a consequence of successive applications of the insecticide, important aspect to be considered in the use of this microbial product in integrated pest management programs for host crops of the fall army worm.

Key words: *Spodoptera frugiperda*, Susceptibility to microbial insecticides, Integrated pest management.

INTRODUCCION

La habilidad de los insectos para desarrollar resistencia a los productos utilizados para su control tiene un impacto importante en la agricultura moderna.

El interés reciente en la resistencia de *Bacillus thuringiensis* (Bt) es una evidencia de la importancia adquirida y del uso cada vez más frecuente de este insecticida microbiano para la

protección de plantas. La evaluación del riesgo de resistencia a la toxina de Bt es crucial porque el potencial para el desarrollo de resistencia en insectos plagas es en la actualidad la mayor amenaza para el éxito continuado de este insecticida microbiano.

A nivel mundial se han registrado varios casos de resistencia de insectos a formulaciones de Bt, tanto en condiciones de campo como laboratorio. Entre los casos de resistencia se destacan los de *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) (McGaughey y Johnson 1987, 1992; McGaughey y Beeman 1988) y de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) (Tabashnik *et al.* 1990, 1992, Tabashnik 1992).

En América del Sur hay muy pocos registros sobre este tema. En Colombia, en evaluaciones

Recibido: 15/11/96. Aprobado: 17/04/98.

*Bióloga, Entomóloga, MSc. Sanidad Vegetal. ICA Tibaitatá. Apartado Aéreo 151123, El Dorado, Santafé de Bogotá, D.C. Colombia. E-Mail: cduque@hemeroteca.icfes.gov.co

**Entomóloga, I.A., Ph.D. U.D.C.A. Apartado Aéreo 32204. Santafé de Bogotá, Colombia. E-Mail: udca@impsat.net.co

sobre susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* a los insecticidas químicos más utilizados en su control, se encontró tolerancia de la plaga a diferentes grupos químicos (Zenner de Polanía y Borrero 1992a, 1993). En la búsqueda de alternativas eficientes para el manejo de este insecto se evaluaron varias formulaciones y subespecies comerciales de Bt, encontrándose menor susceptibilidad en aquellas poblaciones de *S. frugiperda* expuestas continuamente a aplicaciones del insecticida microbial (Zenner de Polanía y Borrero 1992a).

Por esta razón, antes de recomendar el uso masivo de Bt para el control de cualquier plaga se debe conocer y evaluar el desarrollo de resistencia, para anticipar prácticas de manejo que ayuden a prevenir o minimizar la resistencia. El objetivo de esta investigación fue evaluar la resistencia potencial de *S. frugiperda* a *B. thuringiensis* spp. kurstaki.

MATERIALES Y METODOS

El trabajo experimental incluyó actividades de campo, laboratorio e invernadero. Las actividades de laboratorio e invernadero se realizaron en la Corporación Colombiana de Investigaciones Agropecuarias, Corpoica, con sede en Tibaitatá y el trabajo de campo en una finca de agricultor ubicada en el Municipio de Anolaima (Cundinamarca) a 1540 m.s.n.m. y una temperatura promedio de 18°C.

Obtención de la línea base de susceptibilidad. Con el propósito de establecer la línea base de susceptibilidad de *S. frugiperda* a *B. thuringiensis*, como parámetro de comparación con la población seleccionada para evaluar la resistencia, se recolectaron larvas del insecto en un lote de maíz sembrado con fines experimentales en la zona cafetera de Anolaima, Colombia. Las larvas fueron llevadas al laboratorio donde se criaron hasta la siguiente generación con el fin de obtener la cantidad de larvas de segundo instar requerido para los bioensayos y determinar la concentración letal media (CL_{50}) de la población susceptible.

Cría. La cría de *S. frugiperda* se realizó en un cuarto de cría con una temperatura promedio de 24°C y humedad relativa del 65±5%. Se inició con larvas de tercer instar recolectadas en un lote de maíz de Anolaima y mantenidas en forma individual en vasos plásticos de 15 cc de

capacidad. La fuente de alimentación consistió en follaje de maíz, renovado cada 48 horas.

Las larvas formaron las pupas dentro de los vasos, en celdas construidas con restos de hojas de maíz y excrementos. Las pupas se retiraron, se separaron por sexo de acuerdo a la localización y forma de la abertura genital (López 1981) y se colocaron por parejas en recipientes de vidrio, en los cuales emergieron los adultos y copularon. Los adultos permanecieron en estos mismos recipientes, tapados con una tela de nailon y se alimentaron con una solución azucarada al 5%. Ovipositaron sobre tiras de papel toalla de 4 cm de ancho y 10 cm de largo. Las posturas se incubaron en frascos de vidrio, teniendo siempre a disposición de las larvas de primer instar hojas frescas de maíz. Después de la eclosión, se permitió a las larvas alimentarse en forma gregaria hasta la primera muda para obtener la cantidad necesaria de larvas de la misma edad para los bioensayos.

Bioensayos. Para determinar la línea base de susceptibilidad de *S. frugiperda* a Bt se efectuaron nueve bioensayos. Los resultados de un trabajo previo (Zenner de Polanía y Borrero 1992a) sirvió como base para determinar las dosis de *B. thuringiensis* a utilizar. Se siguió el método de inmersión foliar propuesto por Tabashnik *et al* (1987) con algunas modificaciones (Zenner de Polanía y Borrero 1992b). Las hojas de maíz utilizadas en los bioensayos se obtuvieron de un cultivo bajo invernadero para asegurar la disponibilidad permanente de material vegetal libre de plaguicidas. Posteriormente, las hojas de maíz, de 25±1 cm de largo por 5±0,5 cm de ancho, fueron sumergidas durante 5 seg en solución acuosa de *Bt subsp. kurstaki* (Dipel 2X, 32000 U:l:/mg, Abbott Laboratories) a la concentración a evaluar más Carrier en proporción 1:1. Las hojas tratadas se secaron a temperatura ambiente. Cada hoja fue enrollada y colocada dentro de un vaso de polipropileno de 50 cc de capacidad, al cual se le colocó una tapa; cada vaso constituyó una unidad experimental. En cada vaso se colocaron cinco larvas de segundo instar y se evaluaron 25 larvas por dosis de Bt; 25 larvas más constituyeron el testigo absoluto (libre de tratamiento) y otras 25 se utilizaron como control, alimentándose con follaje tratado con agua + Carrier. Las dosis de Bt evaluadas fueron 250, 500 y 750 ppm de producto comercial.

Las larvas sometidas a este tratamiento se mantuvieron en un cuarto de cría a 24±2°C y 65±5% de humedad relativa. Durante 96 horas

continuas se les permitió alimentarse con follaje tratado, después se registró la mortalidad larval. Una larva fue considerada muerta si no se movía al ser tocada repetidamente con un pincel.

La metodología y condiciones del bioensayo se mantuvieron uniformes para disminuir fuentes de variación indeseables. Con el propósito de asegurar la consistencia y confiabilidad de los datos obtenidos, el bioensayo fue repetido de manera simultánea tres veces, evaluando un total de 375 larvas. Adicionalmente, el experimento se repitió tres veces en el tiempo, a intervalos de cuatro o cinco días, completando nueve bioensayos y 1125 larvas evaluadas para la obtención de la CL_{50} .

Selección por resistencia en laboratorio. Para la selección de *S. frugiperda* por resistencia a Bt en condiciones de laboratorio, se realizaron actividades que ejercieron presión de selección siguiendo el método de bioensayo. Las larvas sobrevivientes a los tratamientos de Bt de los bioensayos anteriores, se criaron hasta la siguiente generación y luego se mezclaron al azar para ser nuevamente sometidas en segundo instar a los mismos tratamientos con el insecticida microbiano. Este procedimiento se repitió durante cuatro generaciones sucesivas del insecto. Las condiciones de la cría y la metodología utilizada fueron las mismas descritas para la obtención de la línea base de susceptibilidad.

Actividades de campo. El trabajo de campo se realizó en una finca de Anolaima, Colombia, donde se sembró un lote de maíz con fines experimentales. En el historial del lote no figuraban aplicaciones de Bt. Un mes después de la siembra se iniciaron muestreos semanales de *S. frugiperda* y observaciones del nivel de daño. Cuando se detectó 50% de plantas con daño fresco en el follaje, se realizó la primera aplicación con Bt subsp. *kurstaki* (Dipel 2x 32.000 U.l/mg) en dosis de 0,2 kg/ha, mezclado con un adherente en proporción 1:1. Las aplicaciones estuvieron dirigidas a larvas de primer y segundo instar.

Debido a un prolongado período de lluvias, la infestación del lote por *S. frugiperda* se redujo drásticamente, haciéndose injustificables nuevas aplicaciones de Bt, razón por la cual se realizó una segunda siembra de maíz a los 45 días de la primera, en un lote contiguo. En este se realizó la aplicación de Bt con el mismo nivel de daño anteriormente mencionado.

Todas las aplicaciones se realizaron con bomba de espalda tipo Calimax, capacidad de

10L y presión constante, tomando la precaución de aplicar en la tarde para evitar las horas de mayor intensidad solar.

Seis o siete días después de cada aplicación, se realizó un muestreo al azar en busca de larvas del cogollero del maíz, haciendo una revisión total de hojas y cogollos de 50 plantas. Se consideró un período mínimo de seis días para la recolección de larvas, debido a que las recomendaciones del productor de Bt indican un tiempo de uno o cinco días para la ocurrencia de la mortalidad de larvas bajo condiciones de campo. En cada muestreo se recolectaron entre 50 y 60 larvas, las cuales fueron trasladadas al laboratorio y se criaron hasta la siguiente generación. Las larvas de segundo instar se utilizaron para los bioensayos, siguiendo la misma metodología descrita anteriormente.

Análisis de datos. Los datos de cada uno de los bioensayos fueron sometidos a análisis Probit, utilizando el programa Sempla. Para cada caso se estimó la concentración letal media (CL_{50}) con los correspondientes límites de confianza, la prueba de chi-cuadrado para bondad de ajuste, las líneas de regresión, los valores de las pendientes y la gráfica dosis-respuesta con los datos transformados.

Mediante la comparación de las pendientes de las líneas de regresión y las concentraciones letales obtenidas con sus respectivos límites de confianza, se estableció la tolerancia de cada generación de *S. frugiperda* a *B. thuringiensis*. Dos concentraciones letales fueron consideradas significativamente diferentes, si los límites de confianza del 95% no se sobreponían (Tabashnik *et al.* 1987).

La diferencia en concentración letal media entre la línea base de susceptibilidad del insecto y la CL_{50} de cada generación se utilizó como un indicador del incremento en la tolerancia de la población del insecto al insecticida microbiano. Con este propósito se calculó la resistencia relativa (RR) para cada generación de *S. frugiperda* seleccionada.

$$RR = \frac{CL_{50} \text{ generación seleccionada}}{CL_{50} \text{ línea base de susceptibilidad}}$$

También se consideró la fórmula de Abbott (1925), aplicable a la corrección del porcentaje de mortalidad larval en los controles de los bioensayos, cuando este superaba el 5%.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados expresados en CL_{50} con sus correspondientes límites de confianza al 95% para cada generación del insecto seleccionada en laboratorio y campo se presentan en los Cuadros 1 y 2. Estos datos incluyen los valores de las pendientes de las líneas de regresión y la resistencia relativa. Las concentraciones letales medias para cada generación se muestran gráficamente en las Figs. 1 y 2.

En ninguna de las generaciones evaluadas, tanto de las provenientes del campo como de laboratorio, se detectaron diferencias significativas entre las repeticiones de cada bioensayo, lo que coincide con Tabashnik *et al.* (1990).

Los límites de confianza más estrechos obtenidos entre las repeticiones de cada bioensayo y el valor más alto de la pendiente de la línea de regresión correspondiente, sirvieron de base para la selección de una CL_{50} única para cada generación del insecto. Estos parámetros de comparación son sugeridos por Tabashnik *et al.* (1990, 1991, 1992) como indicadores de la sensibilidad y confiabilidad de la prueba y de resultados reproducibles.

La prueba de chi-cuadrado indicó que los resultados del experimento no se afectaron por el factor de heterogeneidad, porque en la prueba de bondad de ajuste el χ^2 con un grado de libertad no fue significativo.

CUADRO 1. Respuesta a la concentración - mortalidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* seleccionados en laboratorio para resistencia a *Bacillus thuringiensis*.

Larva		Pendiente	b CL_{50} mg./litro	Límite de Confianza 95%	c RR
Generación	Número				
LBS ^a	1125	3,09	188,94	(294,23 - 85,53)	-
1	1125	1,90	260,95	(431,06 - 96,55)	1,38
2	1125	2,05	396,09	(567,00 - 251,02)	2,09
3	1125	2,35	675,74	(988,52 - 515,27)	3,57
4	1120	2,40	925,93	(2407,56 - 571,46)	4,90

a. Línea base de susceptibilidad

b. Concentración letal media

c. Resistencia relativa (CL_{50} cada generación/ CL_{50} LBS)

CUADRO 2. Respuesta a la concentración - mortalidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* seleccionados en campo para resistencia a *Bacillus thuringiensis*.

Larva		Pendiente	b CL_{50} mg./litro	Límite de Confianza 95%	c RR
Generación	Número				
LBS ^a	1125	3,09	188,94	(294,23 - 85,53)	-
1	1125	2,29	198,44	(342,54 - 67,61)	1,05
2	1125	2,48	280,64	(399,57 - 159,41)	1,48

a. Línea base de susceptibilidad

b. Concentración letal media

c. Resistencia relativa (CL_{50} cada generación/ CL_{50} LBS)

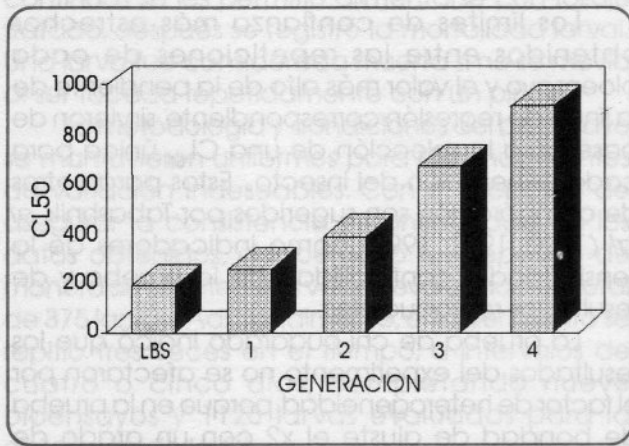


Fig. 1. Concentraciones letales medias en mg Bt/litro, de la línea base de susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* y de cada generación del insecto seleccionada para resistencia en condiciones de laboratorio.

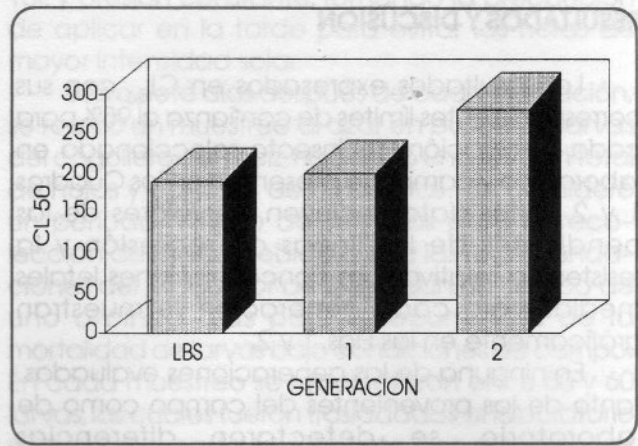


Fig. 2. Concentraciones letales medias en mg Bt/litro, de la línea base de susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* y de cada generación del insecto seleccionada para resistencia en condiciones de campo.

El análisis probit determinó una concentración letal media de Bt de 188,942 mg/L para la población susceptible de *S. frugiperda* a *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*. La selección con Bt llevada a cabo en el laboratorio mostró una pérdida de susceptibilidad del insecto al insecticida microbiano desde la primera generación sometida a presión de selección, con valores de CL₅₀ de Bt de 260, 396, 675 y 924 mg/L para cada generación seleccionada, lo cual corresponde después de cuatro generaciones a un incremento aproximado de cinco veces en la CL₅₀.

Las condiciones climáticas desfavorables y los bajos niveles de infestación de *S. frugiperda* solo permitieron dos aplicaciones en el campo. Los resultados de éstas proporcionaron CL₅₀ de Bt de 198 y 280 mg/L para cada generación del insecto. La CL₅₀ de 280 corresponde a 1,49 veces la CL₅₀ de la línea base de susceptibilidad. Aunque el incremento fue menos significativo en campo que en laboratorio, se demuestra el potencial de pérdida de susceptibilidad de *S. frugiperda* a Bt como consecuencia de tratamientos continuos con el insecticida microbiano.

La diferencia entre la población de campo y laboratorio se puede atribuir a la mayor presión de selección ejercida en el laboratorio, donde todas las larvas fueron expuestas a la bacteria, mientras que la persistencia limitada del producto y la variación espacial en concentración pueden proveer refugio contra la selección de resistencia en campo (Tabashnik *et al.* 1991).

Otra diferencia potencial entre la población de campo y la del laboratorio, es la migración en

campo y los diferentes tipos y cantidades de variación genética, aún entre los individuos de una misma población. Se asumía que la selección para resistencia en campo fue más lenta que en laboratorio. Sin embargo, las aplicaciones en campo causaron pérdidas de susceptibilidad y es probable que una exposición permanente del insecto a Bt mediante aplicaciones repetidas lleguen a producir niveles más altos de tolerancia. Al igual que con otros insecticidas, los intentos por manejar resistencia de Bt incrementando la dosis, sería un factor de riesgo muy alto, mientras que aplicaciones intermitentes de formulaciones de Bt, como por ejemplo una sola aspersión durante un ciclo del cultivo, causarían una selección para resistencia mucho más débil.

El desarrollo de resistencia puede ser afectado, además de la frecuencia de aplicaciones, por una serie de factores, entre los cuales se destacan la variabilidad de la susceptibilidad a Bt dentro y entre las poblaciones de insectos, demostrado experimentalmente para algunas especies de lepidópteros (Mc Gaughey 1985), los aspectos fisiológicos y ecológicos, la dispersión, el número de hospedantes alternos, la migración y el número de generaciones del insecto por año. Así, podrían presentarse resultados diferentes en la CL₅₀ en distintas razas geográficas de *S. frugiperda*, especialmente en zonas donde se rota maíz y sorgo con algodón, como respuesta en este último cultivo a aplicaciones repetidas de Bt contra *Alabama argillacea* (Hübner) y *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) (Zenner de Polanía y Borrero 1992b).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos indican que la pérdida de susceptibilidad de *S. frugiperda*, a formulaciones comerciales de *B. thuringiensis*, como resultado de aplicaciones de la bacteria es posible. Sin embargo, la respuesta de la población a la selección en campo siempre estará sujeta a la variación genética y a la intensidad de la selección.

Como respuesta a la presión de selección con Bt, *S. frugiperda* mostró un rápido desarrollo de tolerancia al insecticida, la cual se observó con tan solo un tratamiento tanto en campo como en laboratorio.

Este potencial para el desarrollo de resistencia al producto microbial, junto con la tolerancia a los insecticidas químicos más utilizados en el control de *S. frugiperda* (Zenner de Polanía y Borrero 1993) perfilan este insecto plaga como problema desde el punto de vista de resistencia a insecticidas, el cual aumenta si se considera la amplia gama de hospedantes, pertenecientes a diferentes familias de plantas (Malvaceae, Solanaceae y Gramineae) que contribuye a proporcionarle la habilidad de tolerar sustancias que serían tóxicas para un insecto monófago.

Para el caso particular de *S. frugiperda* se recomienda el uso racional de Bt dentro del marco de manejo integrado, porque su uso intensivo podría producir una rápida pérdida de susceptibilidad del insecto a la bacteria.

AGRADECIMIENTOS

A los Srs. W. Mondragón y H. Panesso y Al Sr. F. Puerta.

LITERATURA CITADA

- ABBOTT, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18:265-267.
- LOPEZ, A. 1981. Estudios básicos para la cría de *Meteorus laphygmae* Viereck, parásito de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Tesis Mag. PEG. ICA-Universidad Nacional de Colombia. 103 p.
- Mc.GAUGHEY, W.H. 1985. Insect resistance to the biological insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Science* 229:193-195.
- _____, JOHNSON, D.E. 1987. Toxicity to different serotypes and toxins of *Bacillus thuringiensis* to resistant and susceptible Indianmeal moths (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology* 80(6):1122-1126.
- _____, BEEMAN, R.W. 1988. Resistance to *Bacillus thuringiensis* in colonies of Indianmeal moth and almond moth (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal Economic Entomology* 81(1):28-33.
- _____, JOHNSON, D.E. 1992. Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) resistance to different strains and mixtures of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology* 85(5):1594-1600.
- TABASHNIK, B.E., CUSHING, N.L., JOHNSON, M.W. 1987. Diamond back moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to insecticides in Hawaii: Intra-island variation and cross resistance. *Journal of Economic Entomology* 80(6):1091-1099.
- _____, CUSHING, N.L., JOHNSON, M.W. 1990. Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in Diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology* 83(5):1671-1676.
- _____, FINSON, N., JOHNSON, M.W. 1991. Managing resistance to *Bacillus thuringiensis*: Lesson from the Diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology* 84(1):49-55.
- TABASHNIK, W.E., SCHWARTZ, J.H., FINSON, N., JOHNSON, M.W. 1992. Inheritance of resistance to *Bacillus thuringiensis* in Diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology* 85(4):1046-1055.
- TABASHNIK, B.E. 1992. Resistance risk assessment: Realized heritability of resistance to *Bacillus thuringiensis* in Diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae), Tobacco Budworm (Lepidoptera: Noctuidae) and Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology* 85(5):1551-1559.
- ZENNER DE POLANIA, I.; BORRERO, F. 1992a. Susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a distintas formulaciones de *Bacillus thuringiensis*. In Congreso Sociedad Colombiana de Entomología (19, 1992, Manizales, Colombia). Resúmenes. p. 81.
- _____, BORRERO, F. 1992b. Panorama nacional de susceptibilidad de algunas plagas del algodón a insecticidas. *Agricultura Tropical (Colombia)* 29(2):83-95.
- _____; BORRERO, F. 1993. Resistencia del cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) a algunos insecticidas y su manejo. In Seminario Internacional sobre los cultivos de sorgo y maíz, sus principales plagas y enfermedades. Memorias Comité Interinstitucional sobre los cultivos de sorgo y maíz. C.I. ICA. p.35-41.

SELECCION Y EVALUACION EN LABORATORIO Y CAMPO DE MICROORGANISMOS GLUCANOLITICOS ANTAGONISTAS A *Mycosphaerella fijiensis* *

Mario E. Talavera S. **
Elkin Bustamante ***
Roberto González ****
Vera Sánchez ****

RESUMEN

Ciento noventa y seis cepas bacterianas, 37 de las cuales pertenecen al género *Bacillus*, se aislaron de plantas de banano de la variedad Gran Enano. Estos microorganismos fueron purificados y evaluados en medio agar-glucano y agar nutriente-glucano, seleccionando siete cepas, las cuales mostraron la mayor actividad glucanolítica a las 24 horas. En el laboratorio, utilizando discos de hoja de banano, cuatro de estas cepas, identificadas con los códigos GS2, GBC2, GS3 y GC1, mostraron un buen efecto antagonístico sobre ascosporas de *Mycosphaerella fijiensis*, inhibiendo su germinación en 25%, 18%, 14% y 9%, respectivamente; reduciendo la longitud del tubo germinativo en un 47%, 37%, 40% y 38%, respectivamente, con respecto al testigo. Estas cepas también mostraron en el laboratorio, buena compatibilidad con los fungicidas más usados en banano. Todos los tratamientos mostraron diferencias significativas con respecto al testigo (agua), controlando la enfermedad en 58,5% en promedio. De acuerdo a la prueba de contrastes, no se encontraron diferencias entre grupos de tratamientos. La prueba de Tukey al 5% detectó diferencias significativas para los tratamientos GS3 + glucano, GS2 + glucano, la cepa GS2 sola y el Glucano, los cuales redujeron la severidad de la enfermedad en 67,0%, 66,2%, 65,4% y 65,0%, respectivamente.

Palabras claves: *Mycosphaerella fijiensis*, Control Biológico, β-glucano, Microorganismos Antagonistas, Banano.

ABSTRACT

SELECTION AND EVALUATION OF GLUCANOLITIC MICROORGANISMS ANTAGONISTIC TO *Mycosphaerella fijiensis* IN LABORATORY AND FIELD. A hundred and ninety six bacterial isolated, of which 37 belonged to the genus *Bacillus*, were isolates from plants of the Grand Nain variety. These microorganisms were purified and later evaluated in agar-glucan and nutrient agar-glucan medium, resulting in the selection of seven lines, which showed the major glucanolitic activity in 24 hours in the laboratory, using banana leaf discs, four of these lines, identified with the codes GS2, GBC2, GS3 and GC1, showed good antagonistic effects on *M. fijiensis* ascospores, inhibiting its germination by 25%, 18%, 14% and 9% respectively and reducing the length of the germinative tube by 47%, 37%, 40% and 38%, respectively. These lines also exhibited, good compatibility with the most utilized fungicides in bananas. All treatments showed significant differences with respect to the control (water), controlling the disease on an average of 58,5%. In accordance with a contrast analysis, there were no significant differences between groups of treatments. The Tukey test at 5% detected significant differences for the GS3 + glucan, GS2 + glucan, GS2 only and the glucan only treatments, which reduced the severity of the disease on a 67,0%, 66,2%, 65,4% and 65,0%, respectively.

Key words: *Mycosphaerella fijiensis*, Biological Control, β-glucan, Antagonistic Microorganisms, Bananas.

INTRODUCCION

La Sigatoka negra, causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*, es en la actualidad la enfermedad de mayor importancia económica del cultivo del banano. Esta provoca un rápido deterioro del área foliar de la planta, disminuyendo su capacidad fotosintética, afectando

negativamente el crecimiento y productividad de la misma. Además reduce la calidad de la fruta porque favorece la maduración prematura (González *et al.* 1996a). En Costa Rica, esta enfermedad es la causa principal de la disminución en el rendimiento del banano, pasando de 2620 cajas por hectárea por año en 1990 a 1850 cajas en 1994 (Sauma 1995).

El manejo de la enfermedad se ha basado en el uso casi exclusivo de fungicidas. Sin embargo, debido a la agresividad de la enfermedad y al desarrollo gradual de resistencia del patógeno, el número de aplicaciones de estos productos ha venido en aumento en los últimos años, provocando serios problemas de

Recibido: 20/12/96. Aprobado: 17/04/98.

*Parte de la Tesis MSc. del primer autor. Escuela de Posgrado. Turrialba, Costa Rica.

**Barrio El Jazmín, El Paraíso, Depto. El Paraíso, Honduras.

***CATIE. Unidad de Fitoprotección. 7170 Turrialba, Costa Rica.

****Funcionario de CATIE hasta mayo, 1997.

contaminación ambiental e incrementando los costos de producción.

Una alternativa para reducir el uso excesivo de fungicidas es el control biológico, dentro del cual, el uso de microorganismos antagonistas, capaces de habitar y colonizar el nicho ecológico del patógeno, se presenta como una opción con gran potencial.

González *et al.* (1996b) obtuvieron buenos resultados al utilizar microorganismos quitinolíticos antagonistas a *M. fijiensis*, controlando la enfermedad en promedio en 84% en casa de mallas y en 40,1% en condiciones de campo. Según Broglie *et al.* (1994) uno de los principales componentes de la pared celular de los hongos fitopatógenos es el glucano, un polisacárido con enlaces glicosídicos Beta. Esto sugiere la posibilidad de implementar el uso de microorganismos glucanolíticos en el manejo de hongos fitopatógenos tan destructivos como *M. fijiensis*, lo cual puede servir como complemento a la habilidad de los microorganismos quitinolíticos.

El objetivo de este trabajo fue aislar y seleccionar microorganismos glucanolíticos de la filosfera de banano, así como evaluar su capacidad antagónica a *M. fijiensis* en condiciones de laboratorio y campo.

MATERIALES Y METODOS

La investigación se realizó de enero a octubre de 1996. Los trabajos de laboratorio y campo se realizaron en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica, localizado a 602 msnm, con temperatura, precipitación y humedad relativa promedio anual de 21,7°C, 2065 mm y 87%, respectivamente.

Aislamiento y selección de microorganismos.

Para realizar los aislamientos fueron seleccionados tres sitios con características ambientales muy similares: 1) Finca La Esperanza, de la Standard Fruit Company; ubicada en Pacuare, provincia de Limón, Costa Rica; 2) plantación experimental de banano de la Escuela de Agricultura de la Región del Trópico Húmedo (EARTH), ubicada en Guápiles, provincia de Limón, Costa Rica y 3) plantación comercial de la EARTH.

Los sitios bananeros 1 y 3 fueron manejados bajo un sistema de producción comercial, sometidos a un régimen de aplicaciones de productos químicos para controlar la enfermedad. El sitio 2, no estaba sometido a la aplicación de productos químicos y el manejo de

la enfermedad se realizó mediante métodos de control biológico.

Con el objetivo de incrementar las poblaciones de microorganismos glucanolíticos y facilitar su aislamiento, se preparó una solución de glucano, 40 g de glucano coloidal al 0,25% p/v en un litro de agua destilada, la cual se aplicó en la cuarta hoja según escala de Brun (1963), en tres plantas por sitio. Las hojas tratadas fueron marcadas con cinta plástica y siete días después de la aplicación fueron recolectadas. En el laboratorio, con un sacabocados de 10 mm de diámetro se obtuvo 5 g de hoja por cada muestra, seleccionando aquellas áreas de la hoja donde la enfermedad, aparentemente no estaba presente. Estas muestras fueron colocadas en erlenmeyer de 250 ml con 50 ml de agua destilada estéril y agitadas por 45 minutos. De esta solución madre se prepararon diluciones decimales hasta 10^{-4} . Seguidamente, con una micropipeta se tomó una alícuota de 20 microlitros (0,02 ml) de cada dilución y se colocó en plato petri que contenía agar nutriente-glucano. Este procedimiento se repitió para cada una de las muestras, las cuales también fueron colocadas en medio agar-glucano. Los platos petri inoculados fueron incubados a 28°C hasta obtener las cepas de microorganismos glucanolíticos. Para obtener cepas de *Bacillus* glucanolíticos cada dilución se colocó en "baño maría" a 80°C por 10 minutos y posteriormente se sembraron en platos petri con agar nutriente-glucano y se incubaron a 28°C.

Las cepas glucanolíticas aisladas fueron cultivadas en agar nutriente-glucano y agar-glucano. Posteriormente, se seleccionaron aquellas en las cuales se observó mayor producción de glucanasa en ambos medios. Para ello, se midió la longitud (radio) del halo transparente formado alrededor de la colonia, a las 12, 24, 36, 48 y 96 horas después de su siembra. También se consideró el tamaño de la colonia como parámetro importante en la selección.

Prueba de antagonismo en laboratorio. Se seleccionó y recolectó la hoja dos de plantas de banano de la variedad Gran Enano de una zona en la cual no se habían realizado aplicaciones de fungicidas. De estas hojas se cortaron discos de 9 cm de diámetro, los cuales fueron desinfectados sumergiéndolas en alcohol al 70% por un minuto. Para eliminar los residuos de alcohol, los discos fueron sumergidos, en forma sucesiva, en tres recipientes con agua destilada estéril, durante un minuto en cada uno de ellos. Estos discos fueron inoculados con los microorganismos

seleccionados, sumergiéndolos en una solución de 10^8 ufc/ml por un minuto. Siguiendo la metodología de Dupont (1982) se realizaron descargas de ascosporas sobre el envés de los discos de hoja por un período de 3 horas y se marcaron las zonas de descarga. Estos discos inoculados fueron incubados a 28°C por 48 horas.

Los discos de hoja fueron identificados y sumergidos dos veces sucesivamente en barniz transparente; posteriormente, se dejaron 24 horas a temperatura ambiente para su secado. Una vez seco el barniz, las zonas de tejido previamente marcadas fueron cortadas y se retiró la capa de barniz. Esta capa fue inmediatamente colocada sobre un portaobjetos previamente identificado, al que se colocó un cubreobjeto y se tiñó con azul de algodón.

Las variables evaluadas fueron número de ascosporas germinadas y porcentaje de inhibición del tubo germinativo de 150 ascosporas por disco de hoja en cuatro repeticiones. Para cada repetición se utilizaron cinco campos visuales los cuales se compararon con un testigo absoluto. El porcentaje de inhibición del tubo germinativo se determinó midiendo su longitud con un microscopio calibrado a 40 X y con un lente micrométrico dentro de un ocular calibrado previamente con un micrómetro de platina.

Se utilizó un diseño experimental de bloques completamente al azar. La información obtenida se sometió a un análisis de varianza y se aplicó la prueba de Dunnett (Steel y Torrie 1985), para comparar cada uno de los tratamientos con el testigo absoluto (agua), de acuerdo a la categoría de medición.

Compatibilidad de las cepas glucanólíticas a fungicidas. Los microorganismos seleccionados se sembraron en medio agar nutriente-glucano 48 horas antes de iniciar la prueba. Posteriormente, se cortaron discos de papel filtro de 6 mm de diámetro, se esterilizaron y se impregnaron con suspensiones de los fungicidas benomil, propiconazole, tridemorf y mancozeb, en concentraciones de 0, 10, 100 y 1000 ppm. El bactericida agri-mycin fue utilizado como testigo. A cada disco de papel filtro estéril se le colocó en el centro una gota de 0,05 ml del fungicida a evaluar en la concentración requerida, procurando que los discos quedaran bien impregnados de producto, pero siempre evitando los excedentes. Finalmente, los discos fueron colocados sobre los microorganismos y los platos petri fueron sellados e incubados a 28°C por 48 horas.

Se evaluó la zona de inhibición de los microorganismos causada por los fungicidas, la cual se manifestó como un halo transparente que rodea el disco de papel filtro impregnado con el fungicida. Para ello, se midió la distancia (mm) desde el borde del disco hasta el borde de la zona de inhibición.

Prueba de antagonismo en campo. La prueba se realizó en CATIE, en plantas sembradas en macetas. Los datos climatológicos se tomaron de la estación meteorológica del CATIE, ubicada a 200 m del lugar del experimento.

Se utilizaron plantas de banano de la variedad Gran Enano obtenidas mediante cultivo de tejidos. Estas plantas fueron sembradas en macetas plásticas de 5 kg, utilizando suelo esterilizado con basamid (35 g/m^2 de suelo). Las plantas se mantuvieron en casa de mallas durante cuatro meses y medio; posteriormente, se trasladaron al campo donde permanecieron en aclimatación por un período de 15 días, previo al inicio de la prueba.

Se seleccionaron cuatro cepas bacterianas, las cuales se identificaron con los códigos GC1, GBC2, GS2 y GS3, de los cuales el microorganismo GBC2 pertenece al género *Bacillus*. Estos microorganismos se dejaron crecer en medio agar nutriente-glucano 48 horas antes de iniciar la prueba.

Se evaluaron 10 tratamientos: los cuatro microorganismos seleccionados aplicados en agua y en agua más glucano, solución de glucano aplicada sola y agua como testigo absoluto. La solución de glucano se preparó mezclando 10 g de glucano al 0,25% p/v en un litro de agua destilada.

Para la aplicación de los tratamientos se seleccionó la hoja 1 (Brun 1963) de cada planta, la cual fue marcada con cinta plástica y asperjada, tanto por el haz como por el envés con atomizadores manuales. Las cepas glucanólíticas asperjadas se prepararon a una concentración de 10^8 ufc/ml en agua destilada estéril. Se hicieron tres aplicaciones de los tratamientos a intervalos de 48 horas cada una. En los tratamientos que incluían el microorganismo más glucano, este último fue aplicado primero y el microorganismo 10 minutos después para permitir el escurrimiento del exceso del sustrato.

Para lograr la inoculación natural del patógeno, dos horas después de la tercera aplicación de los tratamientos, las plantas fueron trasladadas a una plantación de banano que mostraba un ataque severo de *M. fijiensis*. Después

de 4 días de exposición al inóculo natural, las plantas fueron nuevamente trasladadas al lugar donde se encontraban, permaneciendo expuestas a las condiciones climáticas prevalecientes, en espera del desarrollo de los síntomas de la enfermedad y realizar las evaluaciones respectivas.

La evaluación se llevó a cabo 24 días después de la inoculación con el patógeno. Se evaluó la severidad de la enfermedad mediante la cuantificación del total de estrías en el envés de la hoja a la cual se había aplicado alguno de los tratamientos. La cuantificación se realizó utilizando un marco de 3 cm², el cual se colocó en el área apical y en la parte media del margen derecho de la hoja vista de frente. Para lograr una mayor precisión en la toma y cuantificación de los datos, se registraron los síntomas observados utilizando material plástico transparente, el cual se colocó en el centro del marco de cartón. De esta forma se dispuso de más tiempo para llevar a cabo la cuantificación de los síntomas presentes en la hoja.

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar, con cinco repeticiones por tratamiento. Los datos se analizaron por medio de un análisis de varianza, una prueba de contrastes ortogonales para determinar diferencias significativas entre grupos de tratamientos y una prueba de Tukey para determinar diferencias entre tratamientos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Aislamiento y selección de microorganismos.

A partir de las extracciones realizadas de hoja (4) de banano, se aislaron un total de 196 microorganismos que presentaron actividad glucanolítica. Treinta y nueve de éstos fueron *Bacillus* y 157 de otras bacterias. Aunque no se usaron medios específicos, estos resultados confirman que las bacterias colonizan las primeras hojas casi inmediatamente después de emergidas, gracias a su capacidad para aprovechar los nutrientes provenientes de los exudados de los tejidos foliares (Blakeman 1985).

El sitio 2 (libre de aplicaciones de productos químicos) presentó la mayor población de microorganismos glucanolíticos con 53% del total de aislamientos; los sitios 1 y 3 (sometidos a la aplicación de productos químicos) presentaron poblaciones más bajas, 23% y 24% del total de aislamientos, respectivamente (Cuadro 1). Según Blakeman (1985), las aplicaciones de productos químicos causan disturbio en los patrones naturales de colonización del filoplano, porque

estos reducen las poblaciones de microorganismos epífitos residentes, lo cual explica los resultados obtenidos.

Los 196 microorganismos aislados fueron purificados y evaluados en medio agar-glucano, y agar nutriente-glucano con el objeto de seleccionar cepas con la capacidad de sobrevivir y reproducirse, tanto en medios ricos como en medios pobres. Para cada cepa bacteriana, se evaluó el tamaño del halo transparente formado a partir del borde de la colonia, así como su capacidad y/o rapidez de crecimiento. El tamaño de la transparencia formada es importante porque demuestra la capacidad del microorganismo para metabolizar el glucano, mientras la capacidad de multiplicación es muy importante desde el punto de vista de colonización del filoplano (González *et al.* 1996a), debido a que una alta masa bacterial es indispensable para lograr dicho propósito.

En las evaluaciones se llevaron a cabo a las 16, 24, 32, 48 y 96 horas después de sembrados los microorganismos, siete bacterias, entre ellas dos *Bacillus*, mostraron la mayor actividad glucanolítica en el menor tiempo (Cuadro 2) y el mayor crecimiento a lo largo del período de evaluaciones. Características de la colonia como superficie plana, forma redonda y borde liso fueron comunes para los siete microorganismos. La pigmentación varió de blanco-crema para los *Bacillus*, a amarillo, naranja y rojo-rosado para las demás cepas. Los siete microorganismos fueron identificados con los códigos GC1, GS2, GS3, GS4, GE1, GBC1 y GBC2 (Cuadro 2).

Las siete cepas seleccionadas presentaron actividad glucanolítica después de un período de tiempo bastante corto, lo cual es una característica deseable muy importante en la selección de microorganismos antagonistas, porque asegura la acción rápida de éstos sobre la germinación de las estructuras reproductivas de *M. fijiensis*. Además de interferir en el crecimiento del tubo germinativo, reduce la capacidad del patógeno para penetrar a través de los estomas.

Prueba de antagonismo a *M. fijiensis* en laboratorio. El análisis de varianza detectó diferencias altamente significativas ($P < 0,001$) entre tratamientos para las variables germinación de ascosporas e inhibición del crecimiento del tubo germinativo. La prueba de Dunnett al 5% de significancia, mostró diferencias significativas entre el testigo y los tratamientos GS2, GBC2, GS3, GC1 y GBC1, para la variable germinación de ascosporas. La cepa GS2 inhibió la germinación

en un 25,1%, la cepa GBC2 en 17,6%, la cepa GS3 en 13,9%, la cepa GC1 en 9,0% y la cepa GBC1 en 4,6% (Fig. 1).

CUADRO 1. Número de aislamientos de organismos gluconolíticos de acuerdo al sitio de selección.

Sitio	No. de aislamientos	Porcentaje del total
I	45	23
II	104	53
III	47	24
Total	196	100

CUADRO 2. Procedencia y tiempo en que se presentó la actividad gluconolítica de las cepas seleccionadas.

Microorganismo	Procedencia	Expresión de actividad gluconolítica (Hrs.)				
		16	24	36	48	96
GBC2	Sitio III	+	+	+	+	+
GC1	Sitio III	-	+	+	+	+
GS2	Sitio II	-	+	+	+	+
GS3	Sitio II	-	+	+	+	+
GS4	Sitio II	-	+	+	+	+
GE1	Sitio I	-	-	+	+	+
GBC1	Sitio III	-	-	+	+	+

+ = Reacción positiva

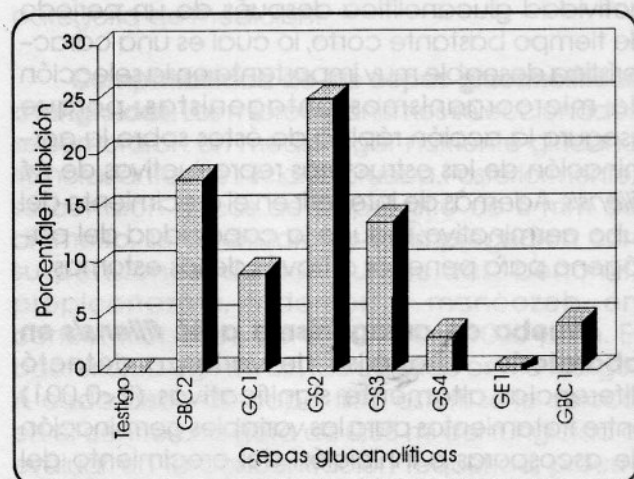


Fig. 1. Efecto de cepas gluconolíticas sobre la germinación de ascosporas de *Mycosphaerella fijiensis*.

Para la variable inhibición del crecimiento del tubo germinativo se encontraron diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Dunnett al 5% entre el testigo y las cepas evaluadas, excepto para la cepa GE1. La evaluación de la longitud del tubo germinativo mostró que los tratamientos GS2, GS3, GC1 y GBC2 lograron porcentajes de inhibición de 47, 40, 38 y 37%, respectivamente, siendo las mejores cepas antagonistas, dentro de las evaluadas (Fig. 2).

De acuerdo al porcentaje de inhibición de la germinación y la inhibición del crecimiento del tubo germinativo, se seleccionaron las cepas GS2, GS3, GBC2 y GC1 para llevar a cabo la siguiente prueba de antagonismo a *M. fijiensis* en condiciones de campo y utilizando plantas en macetas. Es importante señalar que las cepas GBC2 y GC1 fueron aisladas de una plantación sometida a la aplicación de productos fungicidas, lo cual representa una ventaja muy importante porque podrían presentar cierta compatibilidad con estos productos, al tratar de implementar su uso a nivel comercial, como parte de un programa de manejo integrado.

Compatibilidad de cepas gluconolíticas a fungicidas.

En condiciones de laboratorio, las cepas bacterianas GC1, GBC2, GS2 y GS3 mostraron ser totalmente compatibles con los fungicidas benomil 50%, tridemorf 75%, propiconazole 25,3% y mancozeb 80%, en concentraciones de 0, 10, 100 y 1000 ppm; en estos tratamientos no se observó zona de inhibición del crecimiento bacterial.

Estos resultados indican que los microorganismos evaluados podrían ser utilizados en combinación con los fungicidas comúnmente utilizados en el control de este patógeno, lo cual es muy importante, debido a que la introducción de prácticas de control biológico de esta enfermedad, como el uso de microorganismos antagonistas en programas de manejo integrado, es una alternativa para reducir el uso indiscriminado de fungicidas y uno de los principales problemas del uso de estos microorganismos es su incompatibilidad con los productos químicos.

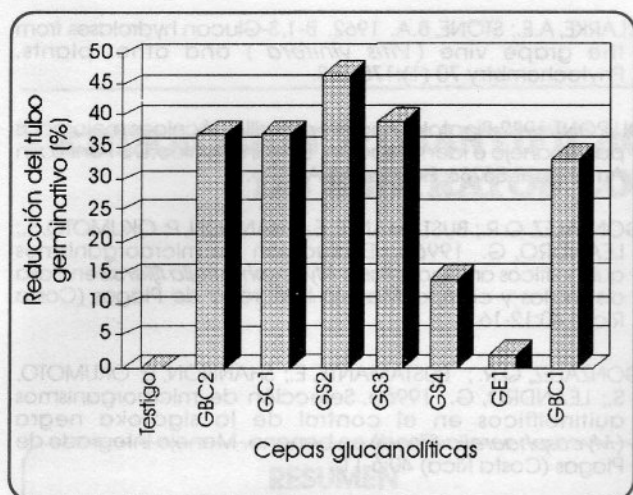


Fig. 2. Efecto de cepas glucanolíticas sobre la longitud del tubo germinativo de ascosporas de *Mycosphaerella fijiensis*.

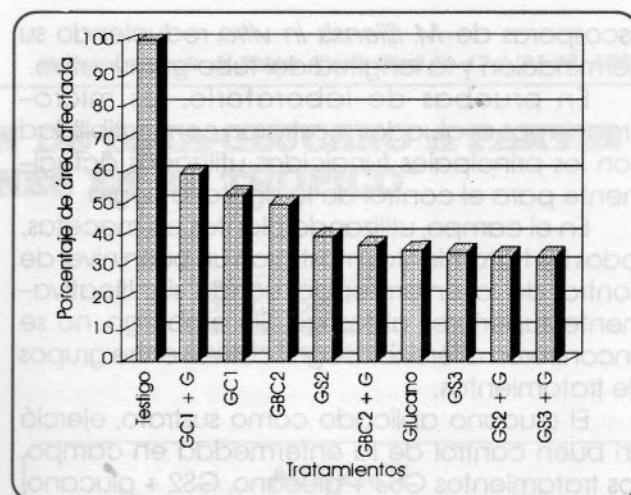


Fig. 3. Efecto promedio de los tratamientos sobre la severidad de la enfermedad en condiciones de campo, utilizando plantas en macetas.

Prueba de antagonismo en campo. La época en que se realizó este experimento se caracterizó por alternancia de tiempo caluroso y lluvioso y una alta humedad relativa. La temperatura promedio semanal en el experimento fue de 22,4°C, con una temperatura máxima promedio de 29,8°C y una mínima de 18,2°C. La precipitación promedio semanal fue de 46 mm, con un rango diario que varió desde 0 hasta 77 mm. La humedad relativa se mantuvo en un promedio semanal de 89,6%. De acuerdo a González y Jaramillo (1979) estas condiciones son favorables para el desarrollo de la Sigatoka negra.

Bajo estas condiciones, los tratamientos controlaron la enfermedad en un 58,5% en promedio. De acuerdo al análisis de los datos mediante la prueba de contrastes, existieron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre el testigo y los tratamientos, entre el testigo y el glucano aplicado solo y entre el testigo y los microorganismos aplicados con y sin glucano. No se encontraron diferencias significativas entre el glucano aplicado solo y los demás tratamientos, ni entre los tratamientos aplicados con glucano y los aplicados sin glucano.

La prueba de Tukey al 5% detectó diferencias para los tratamientos GS3 + glucano, GS2 + glucano, cepa GS3 sola y Glucano solo, los cuales redujeron la severidad de la enfermedad en 67%; 66,2%; 65,4% y 65%, respectivamente, siendo estos los mejores tratamientos (Fig. 3).

El hecho de no haber encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos aplicados con y/o sin glucano y entre el glucano aplicado solo y el resto de los tratamientos puede atribuirse principalmente a dos causas:

El glucano aplicado pudo haber estimulado el crecimiento rápido de la población de los microorganismos presentes en la filosfera, principalmente de aquellos con actividad glucanolítica, provocando una mayor competencia para los microorganismos aplicados, pero a la vez, ejerciendo un buen efecto antagónico sobre el desarrollo de *M. fijiensis*. Por otro lado, el β -glucano es un inductor de fitoalexinas en la planta y se ha comprobado su efecto como inductor de resistencia a varias enfermedades cuando es aplicado exógenamente (Lyon *et al.* 1995). También se ha señalado que la aplicación de β -glucano activa e induce la producción de β -glucanasas (Sirvan y Chet 1989), enzimas que degradan el glucano y que están presentes en un gran número de plantas, tanto monocotiledóneas como dicotiledóneas (Clarke y Stone 1962). Estos hechos sugieren la posibilidad de que el glucano aplicado pudo haber estimulado las defensas de la planta, especialmente la producción de β -glucanasas capaces de metabolizar el glucano presente en las paredes celulares del patógeno y de esa forma haber ejercido un buen control de la enfermedad.

El sitio libre de la aplicación de productos químicos presentó el doble de la población de microorganismos glucanolíticos, encontrado en los sitios sometidos a la aplicación de fungicidas.

Los microorganismos seleccionados (GC1, GBC2, GS2 y GS3) producen glucanasas antes de las 24 horas, presentando además una rápida multiplicación y en consecuencia un buen crecimiento de la colonia. Estas cuatro cepas bacterianas mostraron un alto antagonismo a

ascosporas de *M. fijiensis*, *in vitro*, reduciendo su germinación y la longitud del tubo germinativo.

En pruebas de laboratorio, los microorganismos evaluados mostraron compatibilidad con los principales fungicidas utilizados actualmente para el control de la sigatoka negra.

En el campo, utilizando plantas en macetas, todos los tratamientos mostraron un buen nivel de control de la enfermedad, siendo significativamente superiores al testigo. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre grupos de tratamientos.

El glucano aplicado como sustrato, ejerció un buen control de la enfermedad en campo. Los tratamientos GS3 + glucano, GS2 + glucano, la cepa GS2 aplicada sola y el glucano aplicado solo fueron los mejores tratamientos a nivel de campo.

LITERATURA CITADA

BLAKEMAN, J.P. 1985. Ecological succession of leaf surface microorganisms in relation to biological control. *In* Windels, C.E.; Lindow, S.E. eds. Biological control on the phylloplane. Minnesota, U.S.A., APS. p. 6-30.

BRUN, J. 1963. La cercosporiose du bananier. Thesis de Doctorado. Universidad de París, Francia. 198 p.

BROGLIE, R.; BROGLIE, K.; BEVAN, N.W.; HARRISON, B.D.; LERVER, C.J. 1994. Chitinase gene expression in transgenic plants: a molecular approach to understanding plant defense responses. *In* The Production and Uses of Genetically Transformed Plants. London, U.K. Chapman and Hall p. 77-82.

CLARKE, A.E.; STONE, B.A. 1962. B-1,3-Glucan hydrolases from the grape vine (*Vitis vinifera*) and other plants. *Phytochemistry* 70 (1):175-188.

DU PONT. 1982. Sigatoka negra y amarilla: técnicas mejoradas para manejo e identificación. Boletín técnico. Du Pont Latin America, E-55786. Florida, U.S.A. 17p.

GONZALEZ, Q.R.; BUSTAMANTE, E.; SHANNON, P.; OKUMOTO, S.; LEANDRO, G. 1996a. Evaluación de microorganismos quitinolíticos antagonistas a *Mycosphaerella fijiensis* en casa de mallas y campo. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 40:12-16.

GONZALEZ, Q.R.; BUSTAMANTE, E.; SHANNON, P.; OKUMOTO, S.; LEANDRO, G. 1996b. Selección de microorganismos quitinolíticos en el control de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en banano. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 40:6-11.

GONZALEZ, M.; JARAMILLO, R. 1979. Enfermedades de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet var. *difformis* Mulder y Stover). ASBANA. (Costa Rica) p. 3-8.

LYON, G.D.; REGLINSKI, T.; NEWTON, A.C. 1995. Novel disease control compounds: the potential to 'immunize' plants against infection. *Plant Pathology* 44:407-427.

SAUMA, J. 1995. CORBANA preocupada por baja productividad bananera del país. La República. San José, C.R. 23 de marzo. p. 5c.

SIRVAN, A.; CHET, I. 1989. Degradation of fungal cell walls by lytic enzymes of *Trichoderma harzianum*. *Journal of General Microbiology* 135:675-682.

STEEL, R.; TORRIE, J. 1985. Bioestadística: principios y procedimientos, 2 ed. México, McGraw Hill. 300 p.

CLARKE, A.E.; STONE, B.A. 1962. B-1,3-Glucan hydrolases from the grape vine (*Vitis vinifera*) and other plants. *Phytochemistry* 70 (1):175-188.

DU PONT. 1982. Sigatoka negra y amarilla: técnicas mejoradas para manejo e identificación. Boletín técnico. Du Pont Latin America, E-55786. Florida, U.S.A. 17p.

GONZALEZ, Q.R.; BUSTAMANTE, E.; SHANNON, P.; OKUMOTO, S.; LEANDRO, G. 1996a. Evaluación de microorganismos quitinolíticos antagonistas a *Mycosphaerella fijiensis* en casa de mallas y campo. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 40:12-16.

GONZALEZ, Q.R.; BUSTAMANTE, E.; SHANNON, P.; OKUMOTO, S.; LEANDRO, G. 1996b. Selección de microorganismos quitinolíticos en el control de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en banano. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 40:6-11.

GONZALEZ, M.; JARAMILLO, R. 1979. Enfermedades de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet var. *difformis* Mulder y Stover). ASBANA. (Costa Rica) p. 3-8.

LYON, G.D.; REGLINSKI, T.; NEWTON, A.C. 1995. Novel disease control compounds: the potential to 'immunize' plants against infection. *Plant Pathology* 44:407-427.

SAUMA, J. 1995. CORBANA preocupada por baja productividad bananera del país. La República. San José, C.R. 23 de marzo. p. 5c.

SIRVAN, A.; CHET, I. 1989. Degradation of fungal cell walls by lytic enzymes of *Trichoderma harzianum*. *Journal of General Microbiology* 135:675-682.

STEEL, R.; TORRIE, J. 1985. Bioestadística: principios y procedimientos, 2 ed. México, McGraw Hill. 300 p.

EXTRACCION Y CUANTIFICACION DE BETA-GLUCANO A PARTIR DE SUSTRATOS COMUNES EN EL TROPICO*

Mario E. Talavera**
Franklin López***
Elkin Bustamante***
Roberto González****

RESUMEN

Con el objetivo de caracterizar algunos productos, sub-productos y productos de desecho por la presencia de β -glucano se realizó la extracción y cuantificación del contenido de β -glucano de los sustratos semolina de arroz, avena comercial, bagazo de caña de azúcar, granza de arroz y desecho de levadura de cerveza. Se observó que la semolina de arroz y la avena comercial rindieron la mayor cantidad de goma de β -glucano, con porcentajes de 15,68 y 11,92 respectivamente, con respecto al total de la muestra analizada. El precipitado obtenido de cada una de las muestras analizadas es en esencia una mezcla coloidal oligosacárida en la cual está contenido el β -glucano. Al llevar a cabo la extracción a partir del desecho de levadura de cerveza por el método modificado (Leva. 2) se obtuvo un rendimiento de 34,96% con respecto a la muestra analizada. Al analizar cada sustrato en su estado original se observó que la avena comercial y la semolina de arroz presentaron el mayor contenido de β -glucano con 1,94% y 0,28% respectivamente. El análisis del precipitado del desecho de levadura de cerveza obtenido por el método modificado (Leva.2) dió como resultado un contenido de β -glucano de 0,25%, es decir, 139% más con relación a lo obtenido a partir de la muestra original. Esto demuestra que con el método modificado, el cual es sencillo y barato, se elimina una cantidad considerable de los almidones y proteínas presentes en el desecho de levadura de cerveza, concentrando el β -glucano libre a través de su precipitación con alcohol 2-propanol.

Palabras claves: Beta-glucano, Extracción, Avena comercial, Semolina de arroz, Bagazo de caña de azúcar, Granza de arroz, Desecho de levadura de cerveza.

ABSTRACT

BETA-GLUCAN EXTRACTION AND QUANTIFICATION FROM COMMON SUBSTRATES IN THE TROPICS.

The Beta-glucan content was determined for rice bran, commercial oats, sugarcane bagasse, rice hull and beer yeast waste substrates. Rice bran and commercial oats yielded the largest quantities of β -glucan gum, with percentages of 15,7 and 11,9% respectively. The precipitate obtained of each analyzed sample, was in essence a colloidal oligosaccharide mixture in which the β -glucan was contained. The extraction of brewery yeast residue by the modified method (Leva. 2) yielded 34,96% with respect to the analyzed sample. Analyzing each substrate in its original state, commercial oats and rice bran presented the largest content of β -glucan with 1,94% and 0,28% respectively. The analysis of the brewery yeast residue precipitate obtained by the modified method (Leva.2) resulted in a β -glucan content of 0,25%, that is, 139% more in comparison to that obtained from the original sample. This shows that the modified method, which is cheap and simple, eliminates a considerable amount of starch and proteins that are present in the brewery yeast residue, concentrating the free β -glucan through its precipitation with 2-propanol alcohol.

Key words: Beta-glucan, Extraction, Commercial oats, Rice bran, Sugarcane bagasse, Rice hull, Beer yeast waste substrates.

INTRODUCCION

El glucano, un polisacárido de cadena larga con enlaces glicosídicos β , es un componente estructural de las plantas de la familia Poaceae (Nevins *et al.* 1978; McNeil *et al.* 1984; Stinard y

Nevins 1980) y uno de los principales componentes de la pared celular de muchos hongos fitopatógenos (Mauch *et al.* 1984; Broglie *et al.* 1994).

Las propiedades nutricionales y promotoras de la buena salud que presenta el glucano (enlaces β -1,3 y β -1,4), han sido bien estudiadas; sin embargo, tiene un efecto dañino en la dieta de animales monogástricos, al decrecer su tasa de crecimiento y la eficiencia de conversión alimenticia (Hesselman 1983; Hesselman y Aman 1986; Pettersson y Aman 1992). El efecto del

Recibido: 20/12/97. Aprobado: 17/04/98.

*Parte de la Tesis M.Sc. del primer autor. Escuela de Posgrado, Turrialba, Costa Rica.

**Barrio El Jazmín, El Paraíso, Depto. El Paraíso, Honduras.

***CATIE. 7170 Turrialba, Costa Rica.

****Funcionario de CATIE hasta mayo, 1997.

glucano en la dieta humana es beneficioso al reducir los niveles de colesterol (Anderson *et al.*, 1984; Klopfenstein 1988) y de glucosa en la sangre (Klopfenstein 1988; Davison *et al.*, 1991).

Además, debido a que el β -glucano es un componente importante de la pared celular de una gran cantidad de hongos fitopatógenos sugiere la posibilidad de implementar el uso de sustratos con base en glucano para incrementar las poblaciones de microorganismos glucanófilos, capaces de habitar y colonizar el nicho ecológico del patógeno y reducir su incidencia y daño. Este aspecto no ha sido aún estudiado y podría representar un importante avance en el control biológico de hongos fitopatógenos.

Una de las principales limitaciones para llevar a cabo este tipo de investigación en Costa Rica es la falta de información relacionada con la disponibilidad de productos o subproductos que provean cantidades apreciables de glucano, así como la falta de métodos adecuados de extracción y cuantificación del mismo.

Se han desarrollado varias técnicas de extracción y cuantificación para la determinación de β -glucanos a partir de cereales como la cebada y la avena (Zygmunt y Paisley 1993; Wood y Weisz 1984; McCleary y Glennie-Holmes 1985; Welch y Lloyd 1989; Carr *et al.* 1990; Dawkins y Nnanna 1993) y de algunas bebidas alcohólicas (McCleary y Nurthen 1986). Sin embargo, la cebada y la avena no son producidos en Costa Rica.

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar ciertos productos, sub-productos y productos de desecho, de ocurrencia común en Costa Rica y de bajo costo, por presencia de β -glucano; adaptando para ello las metodologías de extracción y cuantificación más adecuadas.

MATERIALES Y METODOS

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Producción Animal del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica. Se utilizó un "kit" de β -Glucano (Megazyme^(*)) que contiene liquenasa y β -glucosidasa en su estado puro, solución estándar de glucosa, muestras estándar de glucano de avena y cebada y la metodología propuesta para llevar a cabo la prueba de determinación de β -glucano. Las muestras de semolina y granza de

(*)Sydney, Australia.

arroz, así como el bagazo de caña de azúcar y el desecho de levadura de cerveza se obtuvieron en industrias locales.

Extracción de goma de β -glucano. Se utilizó el método propuesto por Dawkins y Nnanna (1993), con algunas modificaciones debido a la naturaleza de los sustratos evaluados. Un esquema general del procedimiento de extracción se presenta en la Fig. 1. En el experimento se emplearon como sustratos el desecho de levadura de cerveza, bagazo de caña de azúcar, granza de arroz, semolina de arroz y avena comercial. Se realizaron tres repeticiones en total.

El procedimiento básico de extracción consistió de tres etapas: tratamiento alcalino de la muestra en una relación sólido-solvente 1:34; precipitación isoeléctrica del residuo de proteína; y precipitación de la goma de β -glucano con alcohol (2-propanol).

Cada uno de los sustratos, a excepción del desecho de levadura de cerveza el cual fue utilizado en su estado natural, fueron parcialmente deshidratados, colocado en un horno a 60°C por 4 horas y llevados a un diámetro de partícula de 0,5 mm utilizando un molino Willy de cuchillas; posteriormente fueron tamizados a través de un mesh No. 60.

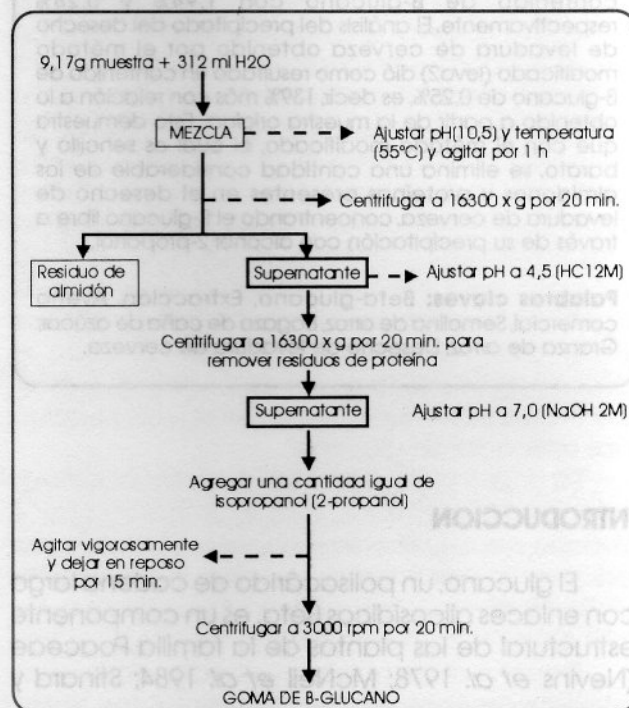


Fig. 1. Procedimiento para la extracción de la goma de β -glucano.

Cada uno de los sustratos fue disuelto en agua destilada (1:34), el pH y temperatura de la mezcla llevados a 10,5 (NaOH 2M) y 55°C, respectivamente. Una vez estabilizado el pH y la temperatura, la solución se mantuvo en agitación constante por 60 minutos. Después la muestra fue centrifugada a 16300 x g durante 20 minutos para precipitar y remover los residuos de almidones. Seguidamente, el pH del sobrenadante obtenido fue llevado a pH 4,5 adicionando HCl 2M, y se centrifugó a 16300 x g por 20 minutos para precipitar y remover las proteínas presentes en el mismo. Este sobrenadante fue llevado a pH 7 adicionando NaOH 2M y agregando alcohol 2-propanol (50% v/v). La mezcla fue agitada vigorosamente y luego se dejó en reposo por 15 minutos, transcurrido este tiempo fue centrifugada a 3000 rpm durante 20 minutos para lograr la precipitación de la goma de β -glucano.

Finalmente, cada una de las gomas de β -glucano extraídas fueron colocadas en viales los cuales fueron tapados y guardados en un cuarto seco hasta su utilización.

Método de extracción modificado para el desecho de levadura de cerveza. La levadura tiene la particularidad de hidrolizarse una vez muerta, liberando luego cantidades apreciables de β -glucano. Esto es fácilmente detectable al llevar a cabo la tinción del desecho de levadura de cerveza utilizando azul de algodón (cotton blue) con el cual las partículas dispersas de los β -glucanos presentes en la misma toman la coloración azul característica.

Con base en lo anterior se utilizó una metodología de extracción más corta, sencilla y menos costosa. El desecho de levadura de cerveza fue diluido en agua destilada en una relación 1:34. La mezcla se agitó vigorosamente durante 3 minutos y el pH ajustado a 7,0 adicionando NaOH 2M. Posteriormente, se adicionó a la solución una cantidad igual de alcohol 2-propanol, se agitó vigorosamente durante 3 minutos y se dejó en reposo por 15 minutos. Finalmente, la solución fue centrifugada a 3000 rpm por 20 minutos. El precipitado que contenía el β -glucano fue colocado en tubos de polipropileno con tapa de rosca, los cuales se guardaron en un cuarto con las condiciones necesarias para su almacenamiento hasta su utilización.

Determinación del contenido de Beta-glucano. Se cuantificó el contenido de β -glucano presente en cada uno de los sustratos evaluados por medio de la metodología propuesta por la

compañía Megazyme (1996), desarrollada por McCleary y Glennie-Holmes (1985) y McCleary y Codd (1991).

El método consistió en un proceso de digestión enzimática, donde el Beta-glucano fue hidrolizado a glucosa en dos etapas mediante tratamiento con dos enzimas: a) Liquefasa; una endoglucanasa específica para glucanos con enlaces Beta, la cual rompió el polímero, convirtiéndolo en una mezcla oligosacárida de grado de polimerización. Después de remover los polisacáridos insolubles (almidón y celulosa), se trató con b) Beta-glucosidasa; la cual convirtió los Beta-gluco-oligosacáridos a glucosa. Esta glucosa fue determinada colorimétricamente utilizando el reactivo glucosa oxidasa/peroxidasa. Finalmente, las absorbancias de la muestra y del estándar de glucosa fueron medidas a 510 nm y el porcentaje de β -glucano calculado (Zygmunt y Paisley 1993).

Las pruebas de determinación se hicieron a partir de muestras de cada sustrato en su estado original, a partir de la goma de β -glucano obtenida del desecho de levadura de cerveza y a partir del precipitado de β -glucano obtenido por el método de extracción modificado para el desecho de levadura de cerveza.

En el caso de las muestras en su estado original, cada sustrato fue molido finamente y tamizado a través de un mesh No.60 para llevarlos a un diámetro de partícula de 0,5 mm; excepto el desecho de levadura de cerveza, que se utilizó en su estado líquido natural. Para determinar el contenido de humedad de cada sustrato, éstos se colocaron en un horno a 105°C durante 6 horas, registrando su peso fresco inicial y su peso final. Posteriormente, se calculó el peso seco (corregido) de cada muestra mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Peso seco} = \text{Peso fresco} \times 100 - \frac{\text{Contenido de humedad (\%)}}{100}$$

En el caso de la goma de β -glucano, obtenida a partir del desecho de levadura de cerveza, y del precipitado de β -glucano, obtenido por el método modificado (simple) de extracción a partir del desecho de levadura de cerveza, únicamente fue necesario calcular su contenido de humedad y peso seco (corregido).

El método consistió de las siguientes etapas:

1. Se pesaron muestras de aproximadamente 0,5 g de cada uno de los sustratos y se colocaron por separado en tubos de polipropileno de 50 ml.
2. A cada tubo se le adicionó una alícuota

(0,1 ml) de etanol acuoso (50% v/v) para ayudar a la subsecuente dispersión de cada muestra. 3. Se adicionó 5,0 ml de buffer de fosfato de sodio (20 mM, pH 6.5) a cada muestra y luego se agitaron en vórtex. 4. El contenido de los tubos se incubó en agua hirviendo por 2 min. y luego se agitaron vigorosamente en un vórtex para evitar la formación de grumos de material gelatinoso. Inmediatamente, los tubos se colocaron nuevamente en agua hirviendo por 3 min. 5. Se dejaron enfriar los tubos hasta 40°C y luego se les adicionó 0,2 ml de liquenasa (10 u), se taparon, agitaron en vórtex y se incubaron a 40°C por 60 min. 6. El volumen de cada tubo se ajustó a 30 ml adicionando agua destilada (se asume un volumen de 6,0 ml, por lo que se adicionaron 24 ml). 7. Se mezcló completamente el contenido de cada tubo y posteriormente se filtró a través de papel filtro No. 41. 8. Se transfirió, cuidadosamente, alícuotas de exactamente 0,1 ml de cada solución filtrada al fondo de tres tubos de prueba. 9. Se adicionó una alícuota de 0,1 ml de buffer de acetato de sodio (50 mM, pH 4,0) a uno de los tubos (blanco), mientras a los otros dos se les adicionó 0,1 ml de Beta-glucosidasa (0,2 u). 10. Se adicionó a cada uno de los tres tubos 3,0 ml del reactivo de glucosa oxidasa/peroxidasa (GOPD) y se incubaron a 40°C por 20 min. 11. Se midió la absorbancia a 510 nm para cada muestra y se calculó el porcentaje de β -glucano.

$$\text{Porcentaje de } \beta\text{-glucano (w/w)} = \frac{\Delta E \times F \times 300 \times 1/1000 \times 100/W \times 162/180}{\Delta E \times F/W \times 27}$$

Donde:

ΔE = absorbancia de la muestra (reacción) - absorbancia del blanco

$$F = \frac{100 \text{ (}\mu\text{g de glucosa)}}{\text{absorbancia de } 100 \text{ }\mu\text{g de glucosa}} \text{ {conversión de absorbancia a } \mu\text{g}}$$

1/1000 = conversión de microgramos a miligramos
 162/180 = ajuste de la glucosa libre a anhidroglucosa (como ocurre en el β -glucano)
 300 = corrección del volumen (0,1 ml tomado de 30 ml)
 100/W = factor para expresar el contenido de β -glucano como porcentaje de la muestra
 W = el peso seco calculado (corregido) de la muestra analizada en miligramos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Extracción de β -glucano. De los sustratos analizados, el extracto de avena comercial y de semolina de arroz presentaron una consistencia de goma, mientras que el obtenido de la granza de arroz, bagazo de caña y desecho de levadura de cerveza (Leva. 1) presentaron una consistencia coloidal normal, poco pegajosa.

La semolina de arroz y la avena comercial rindieron la mayor cantidad de goma de β -glucano (Cuadro 1), con porcentajes de 15,68 y 11,92 respectivamente, con respecto al total de la muestra analizada. Al realizar la extracción a partir del desecho de levadura de cerveza por el método modificado (leva. 2) se obtuvo un rendimiento de 34,96% con respecto a la muestra analizada (Cuadro 1).

El precipitado obtenido de cada una de las muestras analizadas es una mezcla coloidal oligosacárida en la cual está contenido el β -glucano. Sin embargo, de acuerdo con las metodologías de extracción utilizadas, el precipitado obtenido a partir del desecho de levadura de cerveza, por el método modificado, produjo cantidades más altas de almidones y proteínas en solución y no tiene apariencia de goma. Por otro lado, no puede asumirse una relación directa entre la cantidad de goma de β -glucano obtenida y la cantidad de β -glucano puro presente en la muestra.

Determinación del contenido de Beta-glucano. Al analizar cada sustrato en su estado original, se observó que la avena comercial y la semolina de arroz presentaron el mayor contenido de β -glucano con 1,94% y 0,28% respectivamente. El bagazo de caña de azúcar presentó un contenido de β -glucano del 0,11%, el desecho de levadura de cerveza 0,10% y la granza de arroz 0,07% (Fig. 2).

Dawkins y Nnanna (1993) en un análisis similar, reportaron un contenido de β -glucano de 3,79% para la avena. Esa diferencia posiblemente se debe a que en este experimento se utilizó avena comercial, la cual es mezclada con otros compuestos antes de su comercialización, y por tanto su contenido de avena pura es inferior, lo cual se refleja en un menor contenido de β -glucano.

El análisis del precipitado del desecho de levadura de cerveza obtenido por el método modificado (leva2) reveló un contenido de β -glucano de 0,25% (Fig. 2), es decir, 139% más en relación con lo obtenido a partir de la muestra

CUADRO 1. Porcentajes de goma de β -glucano obtenidos a partir de los sustratos evaluados.

Sustrato	Muestra (g)*	pH inicial	Extracto obtenido (mg)	% de goma en la muestra
Avena	9,17	6,1	1438,5	15,68
Semolina arroz	9,17	6,6	1093,4	11,92
Bagazo caña	9,17	6,5	696,2	7,59
Granza arroz	9,17	6,9	396,9	4,33
Leva. 1	9,17	5,9	326,6	3,56
Leva. 2	9,17	5,9	3206,0	34,96

* Disuelta en 312 ml de agua destilada

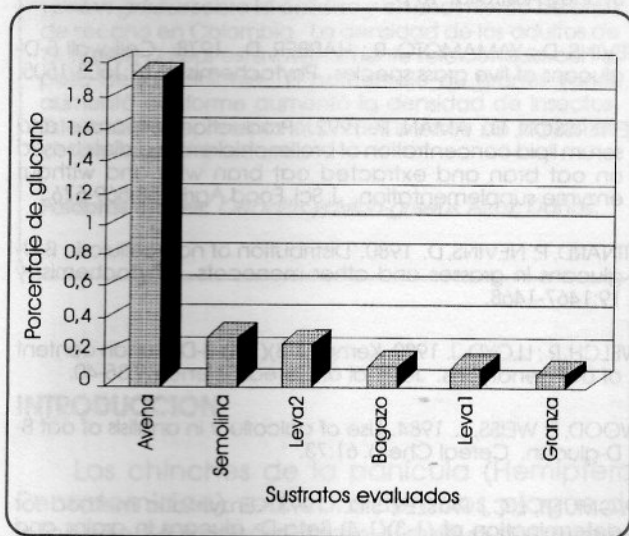


Fig. 2. Porcentaje de β -glucano en los sustratos evaluados en su estado original.

original. Esto demuestra que con el método modificado se elimina una cantidad considerable de los almidones y proteínas presentes en el desecho de levadura de cerveza, concentrando el β -glucano libre mediante la precipitación con alcohol 2-propanol.

También se determinó que el porcentaje de β -glucano presente en la goma de β -glucano extraída a partir del desecho de levadura de cerveza, fue de 2,07%, lo cual es lógico considerando que el método de extracción de la goma de β -glucano elimina la mayor parte de almidones y proteínas presentes en la muestra, concentrando el β -glucano en el precipitado final.

Este contenido puede considerarse bajo si se compara con resultados obtenidos a partir de

fuentes vegetales como la cebada y la avena (Dawkins y Nnanna 1993). Sin embargo, debe considerarse que el desecho de levadura de cerveza utilizado ha pasado por un proceso industrial en el cual un porcentaje considerable del β -glucano, originalmente presente en la levadura, es enzimáticamente degradado o simplemente perdido por causas afines a dicho proceso. Además, es importante considerar que a diferencia de los demás sustratos, este no requiere de equipo especial para lograr la extracción del glucano.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de Costa Rica donde se realizó este experimento se puede concluir al analizar cada sustrato en su estado original, que la avena comercial posee el mayor contenido de β -glucano en relación con el total de la muestra analizada.

El desecho de levadura de cerveza posee un contenido apreciable de β -glucano, lo cual unido a su amplia disponibilidad, facilidad de manejo y bajo costo, lo convierten en una excelente fuente de glucano para cubrir los requerimientos en el desarrollo de investigaciones relacionadas con microorganismos glucanolíticos.

El método de extracción modificado para el desecho de levadura de cerveza, por su simplicidad, bajo costo y eficiencia en la recuperación de β -glucano, es el procedimiento adecuado a utilizar.

LITERATURA CITADA

- ANDERSON, J.; STORY, L.; SIELING, B.; CHEN, W.; PETRO, M.; STORY, J. 1984. Hypocholesterolemic effects of oat-bran or bean intake for hypercholesterolemic men. *Am. J. Clin. Nutr.* 40:1146-1155.
- BROGLIE, R.; BROGLIE, K.; BEUAN, M.W.; HARRISON, B.D.; LERVER, C.J. 1994. Chitinase gene expression in transgenic plants: a molecular approach to understanding plant defense responses. *In* The production and uses of genetically transformed plants. London, U.K., Chapman and Hall. p.77-82.
- CARR, J.; GLATTER, S.; JERACI, J.; LEWIS, B. 1990. Enzymatic determination of β -glucan in cereal based food products. *Cereal Chemistry* 67:226.
- DAVIDSON, M.; DUGAN, L.; BURNS, J.; BOVA, J.; STORY, K.; DRENNAN, K. 1991. The hypocholesterolemic effects of β -glucan in oatmeal and oat bran. *J. Am. Med. Assn* 265:1833-1839.
- DAWKINS, N.; NNANNA, I. 1993. Oat gum and β -glucan extraction from oat bran and rolled oats: temperature and pH effects. *Journal of Food Science* 58:562-566.
- HESELNAN, K. 1983. Effects of β -glucanase supplementation to barley based diets for broiler chickens. Ph.D. Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Animal Husbandry. Report 112, 1-32.
- HESELNAN, K.; AMAN, P. 1986. The effect of β -glucanase on the utilization of starch and nitrogen by broiler chickens fed on barley of low- or high- viscosity. *Anim. Feed Sci. Technol.* 15:83-93.
- KLOPFENSTEIN, C. 1988. The role of cereal β -glucans in nutrition and health. *Cereal Food World*, 33:865-869.
- MAUCH, F.; HADWIBER, J.A.; BOLLER, T. 1984. Ethylene: Symptom, not signal for the induction of chitinase and β -1,3-glucanase in pea pods by pathogens and elicitors. *Plant Physiology (U.S.A.)* 76:607-611.
- MCCLEARY, B.V.; CODD, R. 1991. Measurement of (1-3)(1-4)- β -D-glucan in barley and oats: a streamlined enzymic procedure. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 51:303-312.
- MCCLEARY, B.V.; GLENNIE-HOLMES, M. 1985. Enzymic quantification of (1-3), (1-4)- β -D-glucan in barley and malt. *Journal of the Institute of Brewing* 91:285-295.
- MCCLEARY, B.V.; NURTHEN, E.J. 1986. Measurement of (1-3)(1-4)- β -D-glucan in malt, wort and beer. *Journal of the Institute of Brewing* 92:168-173.
- MCNEIL, M.; DARVILL, A.; FRY, S.; ALBERTSHEIM, P. 1984. Structure and function of the primary cell wall of plants. *Ann. Rev. Biochem.* 53:625-663.
- MEGAZYME. 1996. Mixed-linkage β -glucan: Assay procedure (McCleary method); AACC method 32-23; AOAC method 995.16; EBC methods 3.11.1, 4.16.1 and 8.11.1 Sydney, Australia. 15 p.
- NEVINS, D.; YAMAMOTO, R.; HARBER, D. 1978. Cell wall β -D-glucans of five grass species. *Phytochemistry* 17:1503-1505.
- PETERSSON, D.; AMAN, P. 1992. Production responses and serum lipid concentration of broiler chickens fed diets based on oat bran and extracted oat bran with and without enzyme supplementation. *J. Sci. Food Agric.* 58:569-576.
- STINARD, P.; NEVINS, D. 1980. Distribution of non-cellulosic β -D-glucans in grasses and other monocots. *Phytochemistry* 19:1467-1468.
- WELCH, R.; LLOYD, J. 1989. Kernel (1-3)(1-4)- β -D-glucan content of oat genotypes. *Journal of Cereal Science* 9:35-40.
- WOOD, P.; WEISS, J. 1984. Use of calcofluor in analysis of oat β -D-glucan. *Cereal Chem.* 61:73.
- ZYGMUNT, L.C.; PAISLEY, S.D. 1993. Enzymatic method for determination of (1-3)(1-4)- β -D-glucans in grains and cereals: a collaborative study. *Journal of AOAC International (USA)* 76(5):1069-1081.

DISMINUCION DEL RENDIMIENTO Y CALIDAD DEL ARROZ DE SECANO POR *Oebalus ypsilon-griseus*

Alberto Pantoja*
 César A. García*
 Olga I. Mejía*
 Luz M. Ramírez**
 Luis E. Escalona***
 Miriam Cristina Duque****

RESUMEN

Se estudió la relación de la densidad de *Oebalus ypsilon-griseus* sobre la calidad y el rendimiento de arroz de secano en Colombia. La densidad de los adultos de *O. ypsilon-griseus* está inversamente relacionada con el peso de la panícula. El porcentaje de granos vanos aumentó conforme aumentó la densidad de insectos. Este trabajo representa el primer informe de daños de *O. ypsilon-griseus* en arroz.

Palabras claves: *Oebalus ypsilon-griseus*, Arroz, Daños.

ABSTRACT

***Oebalus ypsilon-griseus* affect upland rice yield and quality.** The relationship between the density of *Oebalus ypsilon-griseus* and rice quality was studied on upland rice in Colombia. There is an inverse relationship between the number of insects and panicle weight. The percentage of empty kernels increased with each increase in pest density. This represents the first report on *O. ypsilon-griseus* damage to rice.

Key Words: *Oebalus ypsilon-griseus*, Rice, Damages.

INTRODUCCION

Los chinches de la panícula (Hemiptera: Pentatomidae) son considerados plagas de importancia económica en el cultivo del arroz en Colombia (Pantoja *et al.* 1983, Weber 1989), Cuba (Gutiérrez *et al.* 1982 1987), Guyana (Thompson y Mohabir 1986) y los Estados Unidos de Norte América (Jones y Cherry 1986). En Colombia, los pentatómidos de la panícula en arroz se controlan químicamente. En ocasiones, los agricultores realizan hasta tres aplicaciones por temporada (A. Pantoja, observación personal) para el control de chinches en arroz. A pesar de las frecuentes aplicaciones de insecticidas existe confusión sobre el umbral de acción para el control de pentatómidos, debido a que varias especies pueden ser recolectadas simultáneamente (Daza 1991, Pantoja *et al.* 1995) y solo existe umbral de

acción para *Oebalus poecilus* (Sailer) (Weber 1989). Sin embargo, *O. poecilus* no ha sido recolectado en arrozales comerciales en Colombia (Daza 1991, Pantoja *et al.* 1995); y el umbral reportado fue calculado con *O. ornatus*, especie más abundante en éste país (Pantoja *et al.* 1995).

La presencia de un complejo de especies y la disponibilidad de umbrales de acción para una sola especie, señalan la necesidad de redefinir los umbrales de acción y funciones de daño para otros pentatómidos del arroz en Colombia. El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de *Oebalus ypsilon-griseus* sobre el rendimiento y calidad del arroz de secano en los llanos orientales de Colombia, para ayudar a técnicos y agricultores en la toma de decisiones en zonas donde la plaga esté presente.

MATERIALES Y METODOS

Este experimento se realizó en los llanos orientales de la sabana de Colombia. La variedad de arroz *Oryzica Sabana 6*, adaptada a suelos ácidos, fue sembrada en la Estación Experimental Carimagua, El Vichada, Colombia.

Recibido: 12/08/97. Aprobado: 17/04/98.

*Dirección actual: Departamento de Protección de Cultivos, PO Box 5000, Mayagüez, Puerto Rico 00681-5000.

**Investigador Visitante, Asociación de Productores de Semilla de los Llanos Orientales, Apartado 140, Acarigua, Venezuela.

***Investigador visitante, Instituto Universitario Eustaquio Guevara, Apartado 108, Acarigua, Venezuela.

****Unidad de Biometría-CIAT.

Cuando el arroz alcanzó 50% de floración, panículas individuales fueron confinadas mediante jaulas en forma de manga construidas de tul blanco. Las jaulas estaban abiertas en ambos extremos lo que permitió colocarlas sobre las panículas e introducir los insectos por el orificio superior.

Se utilizaron infestaciones de 1, 2, 3, 4 y 5 parejas (una hembra y un macho) de *O. ypsilon-griseus* adultos, por cada dos panículas. Los insectos fueron recolectados tres días antes de la infestación y colocados en una jaula. Al seleccionar los insectos para este experimento solo se usaron insectos activos, descartando aquellos que sufrieron daños durante la recolección. La infestación se realizó cuando las panículas alcanzaron la etapa de leche en el desarrollo del grano. Panículas enjauladas sin insectos sirvieron de testigo. Las jaulas fueron amarradas al tallo en la parte baja de la planta. El extremo superior fue cerrado para impedir que los insectos se escaparan.

Los tratamientos fueron dispuestos en un arreglo al azar con cuatro repeticiones, donde cada jaula se consideró una repetición. El experimento se repitió en dos ocasiones. El período de alimentación fue de tres días, después los insectos fueron removidos manualmente. Las jaulas fueron dejadas en el campo hasta la cosecha. Las panículas fueron asperjadas con insecticida tres días después de terminada la infestación para prevenir el daño por otros insectos y la posible emergencia de ninfas del pentatómido. Las panículas fueron cosechadas a mano, cuando tenían 20% de humedad. Posteriormente, éstas se desgranaron manualmente y secaron por 48 horas en un horno a 30°C. Se determinó el peso de los granos secos (rendimiento) y el porcentaje de granos manchados; los resultados fueron sometidos a análisis de regresión para establecer la relación del peso de la panícula y el porcentaje de granos manchados con la densidad de insectos. Los datos de porcentaje de granos manchados fueron transformados al arcoseno de la raíz cuadrada del porcentaje de granos manchados/100, previo al análisis estadístico. Se probaron modelos lineales, cuadráticos y cúbicos para determinar el modelo que mejor representara la relación entre el número de insectos y el daño producido.

El modelo lineal $\Sigma (y) = a + b (x)$, donde "a" representa el intercepto, "b" el coeficiente de regresión, "x" el número de parejas/panícula y $\Sigma (y)$ el rendimiento esperado, describe la relación entre parejas y rendimiento. El modelo es significativo ($P < 0,05$). La adición de componentes cuadráticos y cúbicos no fue significativa indicando que estos componentes no eran necesarios en el modelo.

RESULTADOS Y DISCUSION

El peso de las panículas infestadas con *O. ypsilon-griseus* durante la etapa de leche está inversamente correlacionado con el número de parejas/panícula (Fig. 1, Cuadro 1). Por el contrario, el porcentaje de granos manchados está directamente correlacionado con el número de parejas/panícula (Fig. 2, Cuadro 2).

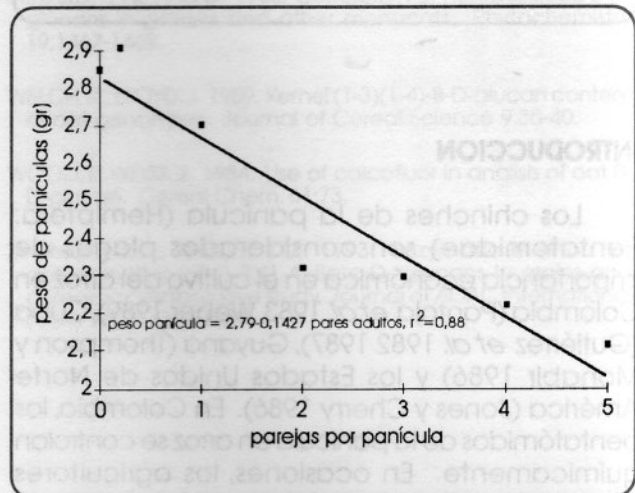


Fig. 1. Efecto de *Oebalus ypsilon-griseus* sobre el peso del arroz. Carimagua, Colombia. 1990-1991.

CUADRO 1. Relación lineal entre la densidad de *Oebalus ypsilon-griseus* y el peso de granos en la etapa lechosa, Colombia.

Parámetro	Error Estándar del Estimado	F	P>T
a 2,79	0,079	35,23	0,0001
b -0,1429	0,026	5,47	0,0055

Modelo: $\Sigma (y) = a + bx = 2,79 - 0,1429 x$;
 $r^2 = 99$, cv 4,5; $x_1 =$ número de parejas/2 panículas

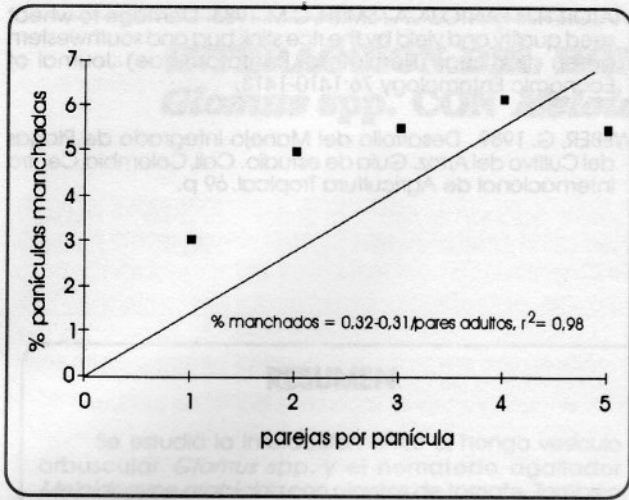


Fig. 2. Efecto de *Oebalus ypsilon-griseus* en el porcentaje de granos manchados de arroz. Carimagua, Colombia.

CUADRO 2. Relación lineal de la densidad de *O. ypsilon-griseus* y el porcentaje de granos manchados. Colombia.

Parámetro	Error Estándar del Estimado	F	P>T
a	0,3171	28,46	0,0001
b	-0,3082	13,79	0,0002

Modelo: $\Sigma \% \text{ manchados} = a + bx = 0,3171 - 0,3082x$; $cv = 8,2$; $r^2 = 0,97$; $x = \text{parejas adultos/panículas}$

El incremento en el número de parejas/panícula produjo un incremento significativo ($P < 0,002$) en el porcentaje de granos manchados. Similar al peso de las panículas, la adición de componentes cuadráticos y lineares no fueron significativos, indicando una relación lineal entre la densidad de insectos y el porcentaje de granos manchados. La presencia de granos manchados en ausencia de insectos (festigo) indica que los chinches no son los únicos organismos responsables en el manchado de granos. Viator *et al.* (1983) informó un efecto similar para *Oebalus pugnax* en trigo donde el festigo presentó granos manchados.

En Puerto Rico, Franqui (1987) informó sobre enemigos naturales, hospedantes alternos y daño de *O. ypsilon-griseus* en arroz, pero no indicó la relación entre la densidad del insecto y su efecto en el peso y calidad del grano. En Cuba, poblaciones bajas (0,3 adultos de *O. insularis*/panícula) causan 27% de pérdidas en rendimiento del arroz (Gutiérrez *et al.* 1982). No se encontró literatura sobre el efecto de *O. ypsilon-griseus* en la calidad

y rendimiento del arroz, por lo que este artículo podría ser el primer reporte del daño causado por este insecto en arroz.

Es necesario realizar estudios adicionales para determinar el umbral de acción de este pentatómido en arroz y correlacionar su daño con el de otros pentatómidos que causan efectos similares (Pantoja *et al.* 1995). Además es importante estudiar la relación entre densidad del insecto y la fenología del llenado de grano.

CONCLUSIONES

- La densidad de adultos de *O. ypsilon-griseus* está inversamente relacionada con el peso de la panícula y directamente relacionado con el número de granos vanos.
- *Oebalus ypsilon-griseus* es capaz de reducir el rendimiento y la calidad del arroz.

RECONOCIMIENTO

Los autores reconocen a R. Murrillas, J. G. Velázquez, M. Hernández, y G. de Tobón y M. Rodríguez por asistencia técnica en el desarrollo y preparación de este manuscrito.

LITERATURA CITADA

- DAZA, E. 1991. Biología, daño y enemigos naturales de hemipteros pentatómidos presentes en el cultivo del arroz con riego. Tesis BS. Palmira, Universidad Nacional de Colombia. 65 p.
- FRANQUI, R.A. 1987. Bionomics of Stink Bugs affecting rice fields in Puerto Rico. Thesis MS. Mayagüez, University of Puerto Rico. 49 p.
- GUTIERREZ, A.; MENESES, R.; CORONA, R. 1982. Pérdidas ocasionadas por la alimentación de *Oebalus insularis* en la fase lechosa del grano de arroz. Ciencia Técnica Agrícola. Arroz 5 (1):71-79
- GUTIERREZ, A.; MENESES, R.; ARIAS, E.; GARCIA, A.; HERNANDEZ, A. 1987. Estimación de las poblaciones de *Oebalus insularis* en el cultivo del arroz. Ciencia Técnica Agrícola. Arroz 10(1):43-53.
- JONES, D.B.; CHERRY, R.H. 1986. Species composition and seasonal Abundance of Stink Bug (Heteroptera: Pentatomidae) in Southern Florida Rice. Journal of Economic Entomology 79:1226-1229.
- PANTOJA, A.; DAZA, E.; DUQUE, M.C. 1993. Efecto de *Oebalus ornatus* (Sailer) of *Oebalus pugnax* Stal (Hemiptera: Pentatomidae) sobre arroz: una comparación entre especies. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 26:31-33.

PANTOJA, A.; DAZA, E.; GARCIA, C.; MEJIA, O.I.; RIDER, D. 1995. Relative Abundance of Stink Bugs (Hemiptera: Pentatomidae) in Southwestern Colombia Rice fields. *Journal of Entomological Science* 30:463-467.

THOMPSON, R.A.F.; MOHABIR, H. 1986. Management of paddy-bug (*Oebalus pœcilus* Dall), National Agricultural Research Institute (NARI) Mon Repos, Guyana. 6:81-96.

VIATOR, H.P.; PANTOJA, A.; SMITH, C.M. 1983. Damage to wheat seed quality and yield by the rice stink bug and southwestern green stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) *Journal of Economic Entomology* 76:1410-1413.

WEBER, G. 1989. Desarrollo del Manejo Integrado de Plagas del Cultivo del Arroz. Guía de estudio. Cali, Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical. 69 p.

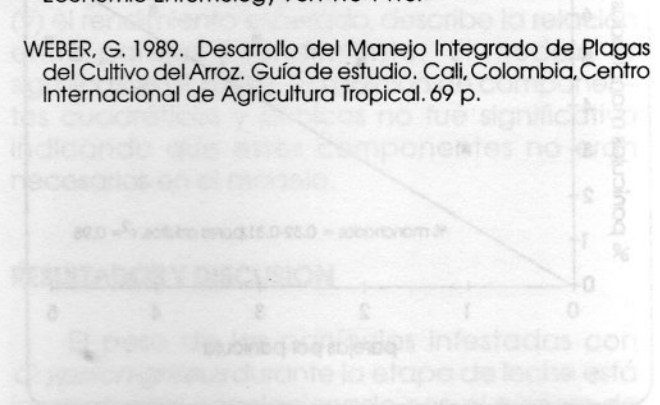


Fig. 2. Relación lineal de la densidad de granos manchados por el porcentaje de panículas manchadas en arroz. *Oebalus pœcilus* y *Leptoglossus phyllinus* en el cultivo de arroz en el departamento de Cauca, Colombia.

Estimado	F	P>F
0.3171	28.46	0.0001
-0.3082	17.79	0.0005

Modelo: \hat{y} granos manchados = a + bx = 0.3171 - 0.3082x
 $r^2 = 0.97$; x = porcentaje de panículas manchadas

El incremento en el número de panículas manchadas produjo un incremento significativo (P<0.001) en el porcentaje de granos manchados. El límite de peso de las panículas manchadas de los panículos manchados y los granos manchados no fueron diferentes. Los resultados indican una relación lineal entre la densidad de insectos y el porcentaje de granos manchados. La presencia de granos manchados en arroz indica un efecto similar para *Oebalus pœcilus* y *Leptoglossus phyllinus* en el cultivo de arroz. Los únicos organismos responsables en el manchado de granos manchados en el cultivo de arroz son *Oebalus pœcilus* y *Leptoglossus phyllinus*. Viator et al. (1983) informó un efecto similar para *Oebalus pœcilus* y *Leptoglossus phyllinus* en el cultivo de arroz. En Puerto Rico, Frond (1987) informó sobre el efecto de *Oebalus pœcilus* y *Leptoglossus phyllinus* en el cultivo de arroz. Los resultados indican que el efecto de *Oebalus pœcilus* y *Leptoglossus phyllinus* en el cultivo de arroz es similar al de *Oebalus pœcilus* y *Leptoglossus phyllinus* en el cultivo de arroz.

En Puerto Rico, Frond (1987) informó sobre el efecto de *Oebalus pœcilus* y *Leptoglossus phyllinus* en el cultivo de arroz. Los resultados indican que el efecto de *Oebalus pœcilus* y *Leptoglossus phyllinus* en el cultivo de arroz es similar al de *Oebalus pœcilus* y *Leptoglossus phyllinus* en el cultivo de arroz. Los resultados indican que el efecto de *Oebalus pœcilus* y *Leptoglossus phyllinus* en el cultivo de arroz es similar al de *Oebalus pœcilus* y *Leptoglossus phyllinus* en el cultivo de arroz.

INTERACCION DEL HONGO VESICULO ARBUSCULAR *Glomus* spp. CON *Meloidogyne arabicida* EN TOMATE

Gonzalo Gallieo Rivas-Platero*
Tomás Rojas Miranda**
Jairo Cuervo Andrade***

RESUMEN

Se estudió la interacción entre el hongo vesículo arbuscular *Glomus* spp. y el nematodo agallador *Meloidogyne arabicida* con plantas de tomate. También se determinó el efecto sobre el crecimiento y el contenido de fósforo en las plantas de prueba. La tasa de multiplicación de *M. arabicida* se redujo en un 50,5% cuando *Glomus* spp. estuvo presente. Asimismo el índice de agallamiento, disminuyó en un 13% en relación al nematodo solo. La esporulación de *Glomus* spp. fue estimulada por *M. arabicida*. El contenido de fósforo (%) fue más alto en el tratamiento *M. arabicida* + *Glomus* y *Glomus* solo. Existieron diferencias estadísticas en todos los tratamientos y variables evaluadas.

Palabras claves: *Glomus*, *Meloidogyne arabicida*, Hongo vesículo arbuscular.

ABSTRACT

Vesiculo arbuscular fungus, *Glomus* sp. Interaction with *Meloidogyne arabicida* in tomato. The interaction between the vesicular arbuscular (VA) mycorrhizal fungus, *Glomus* spp. and the root-knot nematode, *Meloidogyne arabicida* and their effects on the growth and phosphorus nutrition of tomato plants were studied. The multiplication rate's *M. arabicida* was reduced 50,5% by *Glomus* spp. The gall index in tomatoes roots was reduced 13% by *Glomus* spp. *Glomus* spore production was stimulated by *M. arabicida*. The phosphorus (%) content were higher in *M. arabicida*+*Glomus* and *Glomus* alone. The differences were statistically different in all treatments.

Key words: *Glomus*, *Meloidogyne arabicida*, Vesicular arbuscular fungus.

INTRODUCCION

En la rizosfera coexisten numerosos organismos que inciden en el desarrollo y sanidad de las plantas. Los nematodos fitoparásitos y las micorrizas vesículo arbusculares (MVA) están presentes en la rizosfera de una misma planta. Cada uno de estos organismos ejerce, opuestamente, sus atributos. Las MVA pueden estimular el crecimiento de las plantas (Smith *et al.* 1986), mientras que los nematodos lo suprimen. (Hussey y Roncadori 1982). Diferentes investigaciones, establecen que las MVA poseen un gran potencial como agentes de control biológico de los nematodos cuando ambos coexisten simultáneamente. La reacción de las plantas hacia los nematodos, está en función de su capacidad para soportar la reproducción y

daños ocasionados por estos organismos; esta respuesta puede ser modificada por la colonización de MVA en los tejidos infectados por los nematodos (Bagyaraj *et al.* 1979, Hussey y Roncadori 1981). Las micorrizas estimulan el crecimiento de la raíz y aumentan la capacidad de la planta para absorber agua y nutrimentos, compensando el parasitismo del nematodo (Hayman 1983).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de *Glomus* spp. sobre *Meloidogyne arabicida* en plantas de tomate.

MATERIALES Y METODOS

El experimento se desarrolló en el invernadero de micorrizas del Area de Agricultura Tropical del CATIE en Turrialba, Costa Rica. Se utilizaron plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) var. Hayslip. El hongo vesículo arbuscular utilizado fue *Glomus* spp. y el nematodo *Meloidogyne arabicida*.

El suelo se preparó con una mezcla 3:1 (suelo:arena). Se esterilizó en el autoclave durante 30 min a 120 °C y 1 atm de presión. Las semillas de

Recibido: 26/02/97. Aprobado: 17/04/98.

*Area de Agricultura Tropical Sostenible, CATIE 7170, Turrialba, Costa Rica. E-mail: grivas@computo.catie.ac.cr

**Ministerio de Agricultura y Ganadería, San José, Costa Rica

***Fundación para el Desarrollo Rural Comunitario. Cali, Colombia. Tel./Fax: 331-5995.

tomate se sembraron directamente sobre este suelo en macetas con capacidad de 600 g. El inóculo de *Glomus* spp., se obtuvo del banco de Micorrizas del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, Cali, Colombia). Este consistió de una mezcla de suelo+raíces+esporas. Se utilizaron 4 g/maceta, los cuales se aplicaron a los siete días después de la germinación (ddg). Para la inoculación de *M. arabicida* se utilizaron 1000 juveniles J2/maceta, aplicados a los 30 ddg.

Las macetas inoculadas se dispusieron en un diseño completamente al azar con cinco repeticiones. Los tratamientos definidos fueron: 1) testigo; 2) *M. arabicida* (solo); 3) *M. arabicida* + *Glomus* spp. (MA+G) y 4) *Glomus* spp. (G) (solo).

A los 75 ddg, 45 días después de inoculado *M. arabicida*, se evaluó el índice de agallamiento (escala sugerida por Luc *et al.* 1990), la tasa de multiplicación del nematodo (población final/población inicial, se consideraron solo J2 y se utilizó la transformación $\log(x+1)$ para el análisis estadístico); el porcentaje¹⁰ de colonización de MVA en raíces, el número de esporas de *Glomus* spp.; la biomasa de las plantas (peso seco) y el contenido de fósforo en hojas (%).

Los nematodos fueron recuperados del suelo según el método descrito por Niblack y Hussey (1985). Las esporas de *Glomus* spp. se extrajeron y contaron a partir de una muestra de 50 g de suelo, mediante la técnica del tamizado sugerida por Brundrett *et al.* (1994). El porcentaje de infección en raíces se estimó mediante la observación microscópica (40X) de raíces clareadas con KOH al 10% y teñidas con azul de tripano al 0,05%, según la metodología sugerida por Sieverding (1983).

El contenido de fósforo fue determinado colorimétricamente, después de una digestión en ácido nítrico, en el laboratorio de suelos del CATIE.

RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo al agallamiento inducido por el nematodo en las raíces de tomate, los índices fueron estadísticamente diferentes ($P < 0,01$) entre los tratamientos *M. arabicida* y *M. arabicida* + *Glomus* (MA+G) (Cuadro 1). La influencia de *Glomus* spp. redujo en un 13% el índice de agallamiento con respecto al testigo.

Cuando se evaluó la tasa de multiplicación del nematodo, se determinó que existieron diferencias significativas (valor $T < 0,05$). La combinación ME+G redujo en un 50,5% la tasa de multiplicación del nematodo respecto al tratamiento MA (Cuadro 1).

CUADRO 1. Índices de agallamiento y tasa de multiplicación de *M. arabicida* en tomate a los 75 días después de germinar. MA = *M. arabicida*, MA+G = *M. arabicida* + *Glomus* spp. CATIE, Turrialba, Costa Rica, 1997.

Variable/Tratamiento	MA	MA+G	
Índice agallamiento*	2,5a	2,3b	$P < 0,05$
Tasa de multiplicación (Pf/Pi)**	51,0	26,9	$P < 0,05$

*Medias en una misma fila con la misma letra no difieren entre sí, según Prueba de Duncan al 5%.

**Diferencia significativa según prueba "t" de Student.

Los resultados anteriores, sugieren que *Glomus* spp. ejerció un efecto positivo, ya que redujo el daño inducido por el nematodo y además afectó marcadamente la tasa de multiplicación de *M. arabicida* (Hussey y Roncadori 1982). Se presume que los MVA pueden afectar la producción de exudados vegetales, responsables del quimiotropismo entre el nematodo y su hospedante. De esta forma se retarda el desarrollo y reproducción del nematodo en la raíz afectada (Dehne 1982). Este factor deberá ser estudiado en futuros experimentos.

La determinación del desarrollo de *Glomus* spp. en las raíces evaluadas mostró mayor esporulación en el tratamiento ME+G; sin embargo, los porcentajes de infección fueron iguales en ambos tratamientos y alcanzaron un desarrollo de 100% (Fig. 1). Esto evidencia que no existió inhibición de *M. arabicida* hacia *Glomus* sp. Un comportamiento similar fue observado por Bagyaraj *et al.* (1979) y Kellan y Shenck (1980) en donde la presencia del nematodo ocasionó que la MVA aumentara su esporulación.

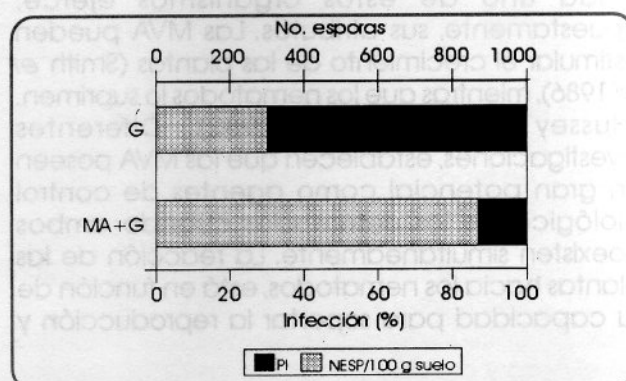


Fig. 1. Número de esporas (NESP) (en 100 g de suelo) de *Glomus* spp. y porcentaje de infección radicular (Pi) en tomate a los 75 días después de germinar. MA+G = *M. arabicida* + *Glomus* spp. y G = *Glomus* spp. CATIE, Turrialba, Costa Rica, 1997.

Se determinó que los tratamientos influenciados por la asociación micorrícica registraron mayor peso seco. En cuanto al contenido de fósforo foliar, existieron diferencias entre tratamientos ($P < 0,05$), *Glomus* (G) y *Meloidogyne* + *Glomus* ME+G obtuvieron porcentajes similares (Fig.2). Se presume que una mejor nutrición de la planta contribuirá a una disminución del daño ocasionado por los nematodos (Bagyaraj *et al.* 1979), coincidiendo con lo observado en este experimento. Además es importante señalar que en el ámbito radicular, los hongos micorrícicos compiten por espacio intracelular o sitios de infección y por productos carbonados, de esta forma se provocó un decrecimiento en la tasa de multiplicación de *M. arabicida* en presencia del hongo vesículo arbuscular (Smith 1988).

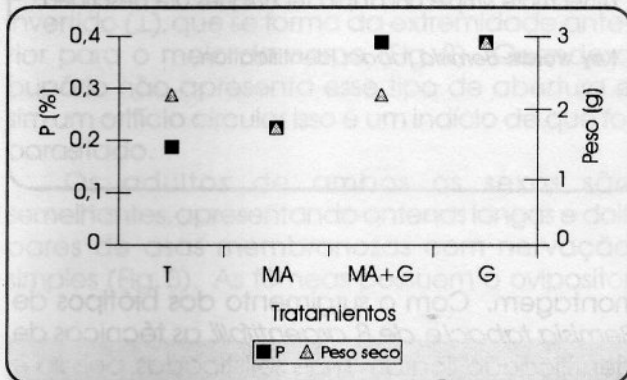


Fig. 2. Peso seco (g) de plantas de tomate y contenido de fósforo foliar P (%) según los tratamientos evaluados a los 75 días después de germinar. T = Testigo; MA = *M. arabicida*; MA+G = *M. arabicida*+*Glomus* spp. y G = *Glomus* spp. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 1997.

Es necesario señalar la importancia de continuar este tipo de trabajos en otros cultivos como café y musáceas, en los cuales los nematodos constituyen una limitación severa. Mediante estos trabajos se podría evaluar el potencial de *Glomus* spp. y de otras MVA como agentes de control biológico de los nematodos fitoparásitos.

LITERATURA CITADA

- BAGYARAJ, D.J.; MANJUNATH, A.; REDDY, D.D.R. 1979. Interaction of vesicular arbuscular mycorrhiza with root knot nematodes in tomato. *Plant and Soil* 51:397-409.
- BRUNDRETT, M.; MELVILLE, L.; PETERSON, L. (eds.) 1994. *Practical methods in mycorrhiza research*. Canada. Mycologue Publications. 161 p.
- DEHNE, H.W. 1982. Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. *Phytopathology* 72 (8):1115-1119.
- HAYMAN, D.S. 1983. The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. *Canadian Journal of Botany* 61:944-963.
- HUSSEY, R.S.; RONCADORI, R.W. 1982. Vesicular-arbuscular mycorrhizae may limit nematode activity and improve plant growth. *Plant Disease* 66(1):9-14.
- KELLAN, M.K.; SCHENCK, N.C. 1980. Interactions between a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and root-knot nematode on soybean. *Phytopathology* 70:293-296.
- LUC, M.; SIKORA, R.A.; BRIDGE, J. 1990. *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. London, UK. CAB International. 629 p.
- NIBLACK, T.L.; HUSSEY, R.S. 1985. Extracción de nematodos del suelo y de tejidos vegetales. In B.H. Zuckerman, W.F. Mai y M.B. Harrison (eds). CATIE, Turrialba, Costa Rica. P.235-246.
- SIEVERDING, E. 1983. *Manual de métodos para las investigaciones de la micorriza vesículo-arbuscular*. Cali, Colombia, CIAT. s.p.
- SMITH, G.S. 1988. The role of phosphorus-nutrition in interactions of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi with soilborne nematodes and fungi. *Phytopathology* 78:371-374.
- SMITH, G.S.; HUSSEY, R.S.; RONCADORI, R.W. 1986. Penetration and postinfection development of *Meloidogyne incognita* on cotton as affected by *Glomus intraradices* and phosphorus. *Journal of Nematology* 18(4):429-435.

TÉCNICAS DE PREPARAÇÃO DE MOSCA BRANCA PARA IDENTIFICAÇÃO

Geraldo Pereira de Arruda*
Geraldo Pereira de Arruda Filho**

RESUMEN

La importancia económica que han tomado los Aleyrodidae en los últimos años en especial *Bemisia tabaci*, biotipo B y *Bemisia argentifolii* precisa de una identificación correcta. Se detallan las características morfológicas externas de los huevos, formas juveniles y adultos de los Aleyrodidae. Se presentan diferentes técnicas de preparación de puparios para su observación en microscopio e identificación a nivel de especie. Entre los métodos de montaje descritos están el propuesto por Russell y otras técnicas más simples y rápidas

Palabras claves: *Bemisia tabaci*, Identificación.

ABSTRACT

White fly preparation techniques for identification.

The economic importance of the Aleyrodidae, especially *Bemisia tabaci*, biotype B, and *B. argentifolii* necessitates correct identification. External morphological characteristics of eggs, juvenile forms and adults are described. Preparation techniques are presented for microscopic observation and species identification of puparia. Mounting methods proposed by Russell and other more simple and rapid techniques are described.

Key words: *Bemisia tabaci*, Identification.

INTRODUÇÃO

A taxonomia de insetos da família Aleyrodidae, ordem Homoptera, conhecidos em todo o mundo por "mosca branca", é feita baseada no estudo do pupário (tegumento ou invólucro) do último estágio de ninfa. Os adultos, por serem muito semelhantes, não apresentam caracteres morfológicos suficientes para separação das espécies. Os pupários, por sua vez, apresentam estes caracteres, que permitem esta separação, mesmo sendo um estágio intermediário entre forma jovem e adulta.

Louise Russell, considerada como uma das maiores autoridades no estudo desse grupo de insetos, que desenvolveu os trabalhos detalhados da morfologia dos pupários, deu uma grande contribuição para a sistemática dos aleirodídeos (Arruda 1972). Caballero (1996) comenta as dificuldades na preparação dos pupários de "mosca branca" para identificação, citando que as ninfas são muito pequenas e que se requer muita prática na manipulação durante a

montagem. Com o surgimento dos biótipos de *Bemisia tabaci* e de *B. argentifolii*, as técnicas de identificação ficaram mais sofisticadas, pois só é possível separar essas duas espécies da biologia molecular.

Este trabalho foi elaborado com o objetivo de difundir técnicas de preparação de pupários para observação em microscópio e identificação de espécies, considerando a importância econômica dos Aleyrodidae nos últimos anos, em especial *B. tabaci*, biótipo "B", e *B. argentifolii*, citada como a maior praga do final do século em todo o mundo.

IDENTIFICAÇÃO

Os ovos dos Aleirodídeos são de forma ovóide, providos de um pedicelo pequeno originado na extremidade, que tem a função de fixá-lo à folha da planta onde foi depositado (Fig. 1).

As formas jovens apresentam antenas, rostró, três pares de patas, corpo achatado de contorno ovalado, e um orifício anal situado no dorso, próximo à borda posterior que é chamado de orifício vasiforme. Esta estrutura é de grande importância para a sistemática desse grupo. Os aleirodídeos jovens são muito semelhantes aos

Recibido: 23/10/97. **Aprobado:** 17/04/98.

*Professor de Entomologia da UFRPE, Pesquisador da Empresa IPA

**Estagiário bolsista no Projeto Mosca Branca IPA/FACEPE

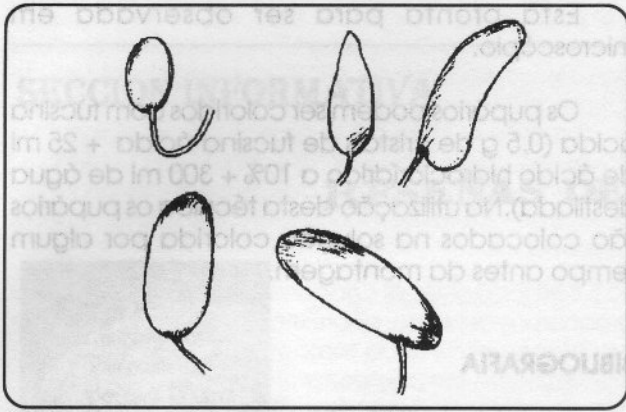


Fig. 1. Tipos de ovos de Aleyrodidae (Arruda 1972).

coccídeos.

Os adultos de "mosca branca" emergem do pupário por uma abertura em forma de "T" invertido (\perp), que se forma da extremidade anterior para o meio do corpo (Fig. 2). Quando o pupário não apresenta esse tipo de abertura e sim um orifício circular isso é um indício de que foi parasitado.

Os adultos de ambos os sexos são semelhantes, apresentando antenas longas e dois pares de asas membranosas com nervação simples (Fig. 3). As fêmeas possuem o ovipositor



Fig. 2. Pupário de Aleyrodidae mostrando a abertura em "T" invertido (\perp) (Arruda 1972).

na parte apical do abdômem. Nos machos na parte apical localiza-se a pinça genital.

MONTAGEM DE PUPÁRIOS

Para a montagem de pupários em lâminas, a primeira providência é a coleta e conservação do material. O material coletado pode ser conservado em álcool 70%, ou herborizando-se

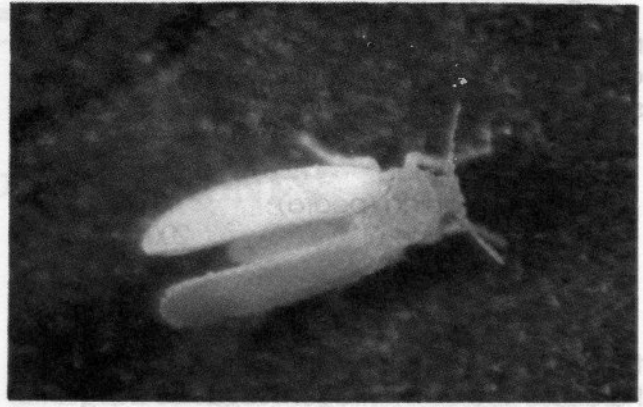


Fig. 3. Aleyrodidae adulto (Arruda 1972).

as partes das folhas da planta hospedeira onde estão localizados os pupários. Para preparação das lâminas, o material deve ser lavado em álcool 70% quando for retirado das folhas herborizadas.

Na literatura são citados vários métodos de montagem. Um bom método é o indicado por Russell, citado por Arruda (1972) que consiste em:

1. A - Colocar os aleirodídeos (pupários) numa solução de hidróxido de potássio (KOH) a 10%, num recipiente de pirex ou porcelana;
 - B - Perfurar o pupário na superfície ventral do abdômem com um estilete bem fino, de tal forma que o KOH possa penetrar na cavidade do corpo. Se o adulto já emergiu, é desnecessário a perfuração (tais pupas fazem melhores montagens);
 - C - Aquecer até que o conteúdo do corpo amoleça o suficiente para ser removido;
2. Transferir para água destilada ou para ácido acético-álcool (50ml álcool 95% + 45 ml água destilada + 20 ml ácido acético). Deixar em água ou A.A.A. por 10 minutos ou mais, dependendo do tamanho do inseto;
3. Transferir para álcool 70%, 95% e 100%, deixando em cada um por aproximadamente 10 minutos;
4. Transferir para óleo de cravo e deixar por 10 minutos ou mais;
5. Montar os pupários em bálsamo do Canadá ou qualquer outro meio para montagem permanente.

Outra técnica de montagem, simples e

Outra técnica de montagem, simples e rápida, consiste em fazer a preparação diretamente em líquido de Hoyer's, que tem a seguinte composição:

Água destilada	50 g
Goma arábica (pedra)	40 g
Hidrato de cloral	200 g
Glicerina	20 g

Os ingredientes devem ser misturados à temperatura ambiente na seqüência citada. Para esse tipo de montagem segue-se a seguinte ordem:

1. Coloca-se 1 gota de líquido de Hoyer's no centro da lâmina;
2. Com o estilete, colocam-se de 2 a 4 pupários no meio de montagem;
3. Colocase a lamínula e flamba-se a lâmina em bico de álcool, para expulsar as bolhas de ar;

Está pronta para ser observada em microscópio.

Para serem guardadas, as lâminas preparadas com líquido de Hoyer's devem ser pintadas com esmalte de unha incolor após 24 de estufa, à temperatura de 50°C.

Outro tipo de montagem rápida também pode ser feita utilizando-se lâmina, fita durex e corante para fungo (azul de Amann), con o seguinte procedimento:

1. Retiram-se os pupários da folha com fita durex;
2. Coloca-se uma gota de azul de Amann na lâmina;
3. Coloca-se o pedaço de fita contendo os pupários sobre a lâmina;

Está pronta para ser observada em microscópio.

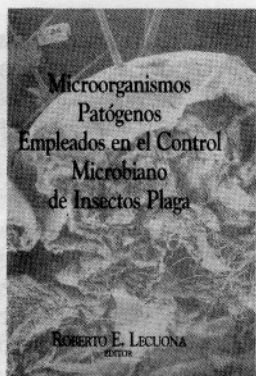
Os pupários podem ser coloridos com fucsina ácida (0,5 g de cristais de fucsina ácida + 25 ml de ácido hidroclorídrico a 10% + 300 ml de água destilada). Na utilização desta técnica os pupários são colocados na solução colorida por algum tempo antes da montagem.

BIBLIOGRAFIA

- ARRUDA, E.C. de. 1972. Contribuição ao estudo dos Aleirodídeos (Homoptera, Aleyrodidae) Que ocorrem em Pernambuco e seus inimigos naturais. Tese Prof. Recife, apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco. 68 p.
- BONDAR, G. 1923. Aleirodídeos do Brasil. Salvador. Secretaria da Agricultura Indústria Obras Públicas da Bahia. Imprensa Oficial do Estado. 183 p.
- BONDAR, G. 1928. Aleirodídeos do Brasil (2ª-contribuição). Boletim do Laboratorio de Patologia Vegetal. Salvador, 5:37 p.
- CABALLERO, R. 1996. Identificación de Moscas Blancas. // Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Hilje, L. (ed). CATIE. Turrialba, Costa Rica. p. 1-10.
- HEMPEL, A. 1922. Algumas espécies novas de Hemiptera da família Aleyrodidae: Notas preliminares. Revista do Museu Paulista do São Paulo 2(1:10).
- HEMPEL, A. 1923. Hemípteros novos ou pouco conhecidos da família Aleyrodidae. Revista do Museu Paulista do São Paulo. Separata do tomo 13. 73 p.
- LIMA, A.C. 1928. Contribuição ao estudo dos Aleyrodidae da sub-família Aleyrodicinae. Instituto Oswaldo Cruz. Suplemento das Memórias. Rio de Janeiro. No.4.p. 129-140.
- LIMA, A.C. 1936. Terceiro catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil. Ministério da Agricultura. Escola Nacional de Agronomia. Rio de Janeiro. 460 p.

SECCION INFORMATIVA

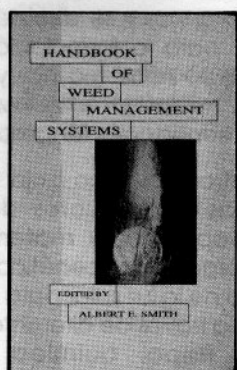
RESEÑAS DE PUBLICACIONES



Lecuona, R.E. 1996. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Buenos Aires, Arg. 338 p.

Este libro, reúne en 29 capítulos las experiencias de connotados investigadores del control microbiano de insectos a nivel mundial. Incluyen hongos, bacterias, virus y protistas entomopatógenos, nematodos entomófagos, las técnicas más modernas en el estudio de estos organismos y las estrategias para su producción y utilización. También registra ejemplos prácticos de utilización exitosa del control microbiano en todo el mundo. Cada capítulo está apoyado en una extensa bibliografía. Este libro es de gran utilidad en la enseñanza del tema y la aplicación práctica en el campo y por tanto, una gran contribución para los técnicos realizan actividades de control biológico de la región centroamericana.

(Reseñado por: Manuel Carballo V., MSc. Unidad de Fitoprotección, CATIE.)



Smith, A. Handbook of weed management systems. ed. 1995. New York, Marcel Dekker. 741 p.

Esta obra reúne el aporte de especialistas muy destacados en sus respectivas disciplinas y por tanto la información contenida en cada capítulo es muy valiosa. El mérito del editor radica en la amplitud y

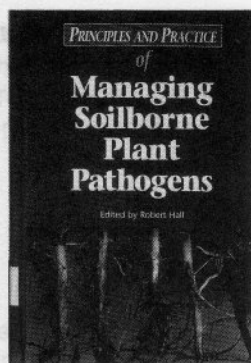
calidad de la información reunida, estructurada de manera que el documento constituye un aporte al conocimiento básico, a partir de la cual se puedan desarrollar estrategias para el manejo de malezas en diversos cultivos y sistemas de uso del suelo.

El libro puede dividirse en dos partes. La primera incluye nueve capítulos sobre ecología de las malezas, prácticas recomendadas para evitar el ingreso de nuevas malezas, control mecánico y químico. Cuatro de estos capítulos ofrecen información sobre el uso de los herbicidas. Incluye clasificación y modo de acción de los herbicidas, formulación, equipos de aplicación e implicaciones inherentes al uso de herbicidas. En el noveno capítulo se enfatiza el concepto de manejo integrado de malezas, mediante la combinación de diversas tácticas de control, inclusive aquellas consideradas poco exitosas por sí solas, pero que en combinación con otras tácticas ayudan a alcanzar un nivel aceptable de control.

El segundo grupo lo conforman siete capítulos, cada uno presenta información sobre sistemas de manejo de malezas en cultivos de granos, hortalizas y pastos, entre otros. Presenta las experiencias con diferentes tácticas y combinación de cultivos, además contiene la información conceptual necesaria para desarrollar sistemas de manejo de malezas apropiados para cada cultivo.

Esta obra está dirigida a investigadores, extensionistas y todas aquellas personas relacionados con la implementación de sistemas de manejo de malezas.

(Reseñado por: José Francisco Fonseca R., Ing. Agr. Unidad de Fitoprotección, CATIE).



Hall, R. 1996. **Principles and practice of managing soilborne plant pathogens.** St. Paul, Minnesota, USA, APS Press. 330 p.

El conocimiento de la rizosfera es un valioso recurso para la comprensión de una serie de fenómenos biológicos que ocurren a nivel del suelo. Dentro de este contexto, este libro reúne las actas del VI Congreso Internacional de Fitopatología celebrado en Montreal, Canadá (del 28 de julio al 6 de agosto, 1993); enfatiza los simposios relacionados con el manejo de fitopatógenos del suelo mediante prácticas culturales y el estudio de las interacciones entre fitopatógenos y la biota del suelo organizado por la Sociedad Internacional de Fitopatología (ISPP).

Robert Hall realizó un excelente trabajo de edición, destacando las contribuciones de cada uno de los expositores. El libro está estructurado en 14 capítulos donde se comenta ampliamente la necesidad de realizar investigación sobre microbiología del suelo en los ámbitos del Manejo Integrado de Plagas y las diferentes líneas de investigación a nivel del suelo. Desde un punto de vista epidemiológico se sugieren investigaciones que vayan dirigidas al modelaje de enfermedades radiculares, al conocimiento de las interacciones ecológicas del suelo con los patógenos que afectan la raíz, la comparación y clasificación de epidemias y el marco de estrategias para el manejo de estas enfermedades. Para incursionar en este tipo de acciones se hace énfasis en el desarrollo de sistemas prácticos de análisis de epidemias.

Por otro lado, se presentan algunas estrategias, como el tratamiento de semillas con agentes de control biológico, uso de micoparásitos, adición de materias orgánicas de antagonistas, que pueden mermar el efecto de los agentes patógenos sobre sus hospedantes a nivel de la raíz. También aporta importantes ideas sobre los principios moleculares de la supresión patogénica por antibiosis de la rizosfera para optimizar y potencializar el control biológico de los patógenos como una opción sostenible para la agricultura actual.

En cuanto a la metodología para cuantificar y detectar *in situ* bajos niveles de propágulos de hongos o bacterias en el suelo se describen una serie de ejemplos y técnicas que permiten medir el potencial patogénico de un suelo. Se incluyen criterios de selección para el método más viable. Se describe la

detección de *Pseudomonas* sp. Por inmunofluorescencia de Colonias (IFC); por la reacción de la polimerasa en cadena (PCR) y mediante el uso de sondas ARN marcadas colorimétricamente. También se comenta el caso de la obtención de *Fusarium* a través de la técnica de fusión de genes GUS (*Escherichia coli* gen β -oglucuronidasa) que permite visualizar sitios activos de las hifas del hongo marcado sobre la raíz del hospedante.

Relacionando el conocimiento ecológico de los organismos del suelo, se presentan algunas ideas que establecen el rol de la temperatura como un factor determinante del comportamiento y desarrollo de los microorganismos del suelo.

En los capítulos siguientes se describen experiencias y nuevas estrategias para el manejo de nematodos fitoparásitos; los autores presentan los casos de *Globodera pallida* y *G. rostochiensis*. Además comentan nuevas técnicas de diagnóstico para la identificación de nematodos, aspecto importante para el manejo adecuado de estos patógenos. Destacan la importancia de las técnicas de biología molecular para el desarrollo de plantas con factores de resistencia a nematodos; sin omitir algunas opciones de control biológico como el uso de parásitos obligados y facultativos, hongos endofíticos, bacterias de la rizosfera y hongos del suelo.

Otro capítulo importante es el que atañe a la biología de *Agrobacterium* spp.; el cual enfatiza la importancia del entendimiento de la diversidad de este organismo, su taxonomía, detección, caracterización, clasificación patogenicidad y ámbito de hospedantes. También se describen algunas técnicas basadas en la fisiología, patogenicidad, serología y biología molecular. Algunas estrategias de manejo son analizadas.

En cuanto al control biológico, se comenta ampliamente sobre el manejo de marchitez inducidas por *Fusarium* spp. con especies de *Fusarium* no patogénicas y el grupo *Pseudomonas* y se discuten algunos aspectos a considerar para la formulación comercial de productos biológicos. Asimismo incluye un capítulo sobre el uso de *Trichoderma harzianum* para el control biológico de enfermedades fungosas.

Además se explica el control biológico bajo la óptica del uso de enmiendas o productos del compostaje, enfocando el papel de la materia orgánica como una fuente de organismos benéficos. Por otro lado se analiza el efecto de la luz solar para el manejo de patógenos del suelo a través de diferentes estrategias que modifican física, química y biológicamente al suelo.

Finalmente, presenta una serie de consideraciones orientadas al manejo de fitopatógenos del suelo; discute aspectos teóricos y analiza el diseño y

aplicabilidad de estrategias de manejo para la investigación agrícola.

(Reseñado por: Gonzalo Galileo Rivas-Platero, MSc. CATIE. Area de Agricultura Tropical Sostenible).

NUEVAS PUBLICACIONES CATIE



Coto, D. 1997. Lepidoptera en cultivos anuales y perennes: Manual de Reconocimiento. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 64 p.

La carencia de manuales en español, sobre taxonomía de insectos inmaduros, ha sido una limitante para el reconocimiento correcto de plagas de interés agrícola en

la región Centroamericana y el Caribe. La presente obra incluye la descripción taxonómica de 84 especies de insectos lepidópteros de importancia agrícola en cultivos anuales y perennes. También presenta una clave dicotómica para algunas especies de importancia agrícola.

Se describen y se ilustran las características taxonómicas más relevantes de cada especie.

Este libro será un complemento al manual sobre "Estados inmaduros de insectos de los órdenes Díptera, Coleoptera y Lepidoptera", así como a la segunda edición de libro "Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central" a publicarse en 1998.

El libro está orientado a extensionistas, profesores y estudiantes del área de producción agrícola, especialmente de Centroamérica.

Precio: US\$ 8

GUIAS MIP PARA AGRICULTORES

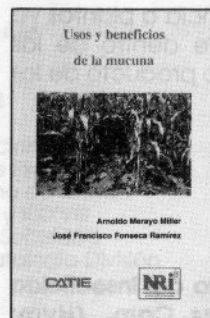
El Area de Fitoprotección del CATIE con el auspicio de NRI publicó dos guías para agricultores las cuales constituyen guías de campo en el tema:



Merayo, A.; Fonseca, J.F. 1998. Control de la Rottboellia cochinchinensis en el maíz. Turrialba, Costa Rica, CATIE/NRI. 9 p.

Incluye información sobre la biología de *R.cochinchinensis* y del problema que representa en cultivos como maíz y frijol. Presenta algunos métodos

de control como el uso de herbicidas preemergentes y de la mucuna, especificando el control de la maleza después de la siembra.



Merayo, A.; Fonseca, J.F. 1997. Usos y beneficios de la mucuna. Turrialba, Costa Rica, CATIE/NRI. 13 p.

Describe los usos y beneficios de esta leguminosa para el control de malezas, así como su capacidad de mejorar el suelo, debido a su capacidad de producción

de materia orgánica, fijación de nitrógeno y cobertura. Incluye información sobre la utilización de esta planta y su manejo en los cultivos de maíz y frijol, así como en terrenos que están en descanso. Finalmente, indica el procedimiento para la producción de semillas de mucuna.

TESIS DE POSTGRADO

Jovel Castillo, J.A. 1997. Movimiento diario de *Bemisia tabaci* en parcelas de tomate, diseminación local del mosaico amarillo y fuentes de inóculo del ToYMV-CR en Guayabo, Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 93 p.

Se estudiaron varios aspectos bioecológicos del complejo *B. tabaci*-ToYMV-CR, importantes en la epidemiología de la enfermedad del mosaico amarillo del tomate, en campos de agricultores. Se determinaron los movimientos del insecto hacia la parcela y dentro de ésta, así como la distribución espacial de la enfermedad. Mediante un programa para microcomputadoras (EPIDEMIC) se determinó la influencia de la distancia y el número de plantas infectadas alrededor de una planta sana, sobre la probabilidad de una futura infección, así como el efecto del ángulo en que una planta sana se ubica con respecto a otra infectada. Además, se realizó una recolección de malezas asociadas con plantaciones de tomate y plantas cultivadas hospedantes de *B. tabaci*, para determinar si el ToYMV-CR tiene hospedantes alternos en la zona de Guayabo de Turrialba; dicha recolección abarcó 21 campos y se realizó durante 10 meses, con una frecuencia quincenal. Los resultados indican que los movimientos de *B. tabaci* son continuos durante el día, y son de corta distancia dentro de la parcela. No se encontraron hospedantes alternos (silvestres o cultivados) para el ToYMV-CR. La diseminación de la enfermedad dentro de la parcela dependió de la distancia a plantas ya infectadas y ocurrió principalmente dentro de las hileras, en ambas direcciones, como producto de los movimientos cortos del vector.

Vargas Villalobos, E. 1997. Impacto del insecticida terbufos sobre *Cotesia flavipes* Cam. (Hym: Braconidae), parasitoide de *Diatraea saccharalis* F. (Lep: Pyralidae). Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica. 78 p.

Se determinó el efecto de dosis subletales de terbufos en la reducción del peso vivo de larvas de *D. saccharalis*. A partir de estas dosis se evaluó su efecto sobre el parasitoide *C. flavipes*, para lo cual se inoculó

dieta artificial con 0; 1,32; 9,01; 18,77; 32,08; 53,17 y 108,03 ppm de terbufos y se colocaron larvas del hospedante previamente parasitadas. Hubo un aumento en la mortalidad de las larvas del parasitoide, un incremento en los periodos larval y pupal, y resultaron adultos de menor peso y cambios en la proporción de sexos. Las larvas del hospedante mostraron una mayor frecuencia de anomalías, así como un aumento en sus periodos larval y pupal. Al utilizar ¹⁴C-terbufos para determinar la presencia de residuos del insecticida en los tejidos vegetales, del hospedante, solamente se detectaron trazas de radioactividad. A pesar de lo anterior, en las pruebas de cromatografía se detectan que estas trazas corresponden a los metabolitos: todos de alta toxicidad, de esta forma, el uso del terbufos en dosis subletales para la plaga afectan el comportamiento del enemigo natural, favoreciendo el desarrollo de la plaga.

Hernández Garboza, L.R. 1997. Control biológico de la marchitez bacterial en tomate con el uso de enmiendas orgánicas. Tesis M.Sc. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 77 p.

Se estudió la marchitez bacterial causada por *Pseudomonas solanacearum*, una de las enfermedades más importantes a nivel mundial. Las enmiendas orgánicas fueron evaluadas por su efecto sobre la severidad de la enfermedad, la producción de antagonistas en la rizosfera de tomate y la fluctuación poblacional de *P. solanacearum* en el suelo. La broza de café, cachaza y tres tipos de composts se utilizaron como enmiendas orgánicas mezcladas con suelo. En condiciones de casa de mallas, fueron sembradas plantas de tomate en las mezclas de suelo. La severidad de la enfermedad se redujo con el uso de compost. Las rizobacterias provenientes de abono fermentado presentaron propiedades antagonistas bajo condiciones de laboratorio. La población de *P. solanacearum* fue reducida en ausencia del hospedante con el uso de broza de café y dos tipos de compost. El mejor efecto en el control de la enfermedad se observó al usar materia orgánica en forma de abonos orgánicos fermentados en comparación al uso de sustratos como broza de café y cachaza.

FUTUROS EVENTOS

5 Mayo, 1998

International Symposium on Crop Protection

Información:

S. Drieghe
Fac. of Agric. and Applied Biol.
Sciences
University of Gent
Coupure Links 653, B-9000
Gent, Belgium
Tel.: 32-9-264-6012
Fax: 32-9-264-6249

18 - 22 Mayo, 1998

II Seminario Taller Internacional de Control Biológico, «Aportes del Control Biológico para una Agricultura Sostenible»

Información:

A. Lizarraga, o U. Barreto
Red de Acción en Alternativas al Uso de Agroquímicos (RAAA)
Mariscal Miller 2622, Lince
Lima, Perú
Tel.: 51-14-210826
Fax: 51-14-404359
Email:
rapalpe@mail.cosapidata.com.pe

24 - 28 Mayo, 1998

6º Simpósio de Controle Biológico

Información:

Secretaría Executiva
PJ Eventos, Feiras e Congressos
Rua José Risseto, 1023 Santa
Felicidade
82015-010 Curitiba - Paraná, Brasil
Email: pj@compuserv.com.br

5 - 10 Junio, 1998

3rd. International Symposium on Molecular Insect Science, Snowbird

Información:

Center for Insect Science
225 Life Sciences South
Univ. of Arizona, Tucson
AZ 85721, USA
Fax: 1-520-621-2590

Email: insects@ccit.arizona.edu

7 - 12 Junio, 1998

2nd International Workshop on Bemisia and Geminiviral Diseases.

Información:

D. Guy, USDA-ARS
2120 Camden Road
Orlando, FL 32803-1419 USA
Tel.: 1-407-897-7304
Fax: 1-407-897-7337
Email: rmayer@ix.netcom.com

5 - 24 July, 1998

Short Course in Integrated Pest Management (IPM)

Información:

K.M. Mareida
Institute of International Agriculture
416 Plant and Soil Sciences Building
Michigan State Univ.
East Lansing, MI 48824, USA
Tel.: 1-517-353-5262
Fax: 1-517-432-1982
Email: kmareida@msu.edu

6 - 28 Julio, 1998

International Integrated Pest Management (IPM) Training Course in Rice

Información:

Director, National Crop Protection Center, U.P. at Los Baños, College Laguna 4031, Philippines
Tel.: 63-536-0967
Fax: 63-536-2409
Email: ncpc@laguna.net

26 - 30 Octubre, 1998

VII Congreso Internacional de Manejo Integrado de Plagas, VII Taller Latinoamericano de Mosca Blanca y Geminivirus y XXXVIII Reunión Anual de la Sociedad Americana de Fitopatología División Caribe APS-CD.

Información:

Ing. Julio A. Monterrey Mercado
Proyecto CATIE/INTA-MIP(NORAD)
Tel.: (505) 2657268 - 2657353
Fax: (505) 2657114

Email: catienic@ibw.com.ni

8 - 12 Noviembre, 1998

APS Annual Meeting

Información:

The American Phytopathological Society
3340 Pilot Knob Road
St Paul, Minnesota 55121-2097
Tel.: 612/454-7250
Fax: 612/454-0766
Email: aps@scisoc.org

9 - 12 Noviembre, 1998

Brighton Crop Protection Conference 1998, Pests and Diseases.

Información:

Event Organization
8 Cotswold News, Battersea Square
London SW11 3RA, UK
Tel.: 44-0-171-228-8034
Fax: 44-0-171-924-1790
Email: eventorg@event.org.com

Mayo, 1999

5th International Conference on Plant Protection in the Tropics

Información:

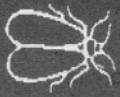
Malaysian Plant Protection Society (MAPPS)
N.Z. Radziah
Email: sivagam@marchi.my
Fax 60-3-656-5251

20 - 26 Agosto, 2000

21st International Congress of Entomology
Iguassu Falls, Brazil.

Información:

D.L. Gazzoni
Email: francovi@sercomtel.com.br
Web site: www.embrapa.br/ice



MOSCA BLANCA AL DIA

Coordinador: Luko Hilje
(lhilje@catie.ac.cr)



No. 22

Marzo, 1998

NOTA EDITORIAL



Este número materializa una iniciativa de gran importancia dentro del **Plan de Acción**. Se trata de la unión de esfuerzos con REDCAHOR, nuevo programa sobre el cual aparece información posteriormente. Según se ha pactado, REDCAHOR nos dará apoyo económico tanto para que este boletín logre mayor cobertura, como para la realización del **VII Taller**, dentro de un amplio marco de colaboración, orientado a la capacitación de técnicos que trabajan con hortalizas. Confiamos en que todo ello nos lleve a superar la crisis de tantos agricultores de nuestro continente, hoy afectados por los daños del complejo mosca blanca-geminivirus en tomate.

VII TALLER



Como se informó en **MBDía 21**, el **VII Taller Latinoamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas y Geminivirus** se realizará en Managua, Nicaragua, junto con el **VII Congreso Latinoamericano de Manejo Integrado de Plagas**, del 19 al 23 de octubre de 1998. Este Taller enfatizará **la capacitación para la transferencia de tecnología de MIP, mediante métodos participativos**, aprovechando la rica experiencia generada por el proyecto CATIE-MIP/NORAD Nicaragua al respecto. Ya se envió la primera circular. Contactos: **Martha Zamora, M.Sc.** (Escuela de Sanidad Vegetal, Universidad Nacional Agraria, Tel. 2-632609, Fax 233-33501, epivirus@nicarao.apc.org.ni) y **Julio Monterrey, M.Sc.** (CATIE, Tel. 2-657268, Fax 2-657114, catfenic@nicarao.apc.org.ni, catfenic@lbw.com.ni).

REDCAHOR



A partir de setiembre de 1997 se iniciaron acciones del Proyecto REDCAHOR (Red Colaborativa de Investigación y Desarrollo en Hortalizas), para América Central y República Dominicana. Dicho proyecto es una respuesta a las limitantes de expandir la producción de hortalizas en América Central y el Caribe, y da gran énfasis a tecnologías compatibles con la agricultura sostenible. Por ello, su filosofía es fortalecer la cooperación a través de instituciones nacionales, integrar los recursos disponibles, y priorizar la investigación y el desarrollo de agendas comunes. La meta es desarrollar una red regional de instituciones nacionales que libremente discutan ideas, prioricen agendas y cooperen para maximizar el impacto de los recursos disponibles.

Este proyecto es posible mediante un acuerdo de cooperación entre el IICA (Instituto Interamericano para la Cooperación en Agricultura), el AVRDC (Asian Vegetable Research and Development Center), el BCIE (Banco Centroamericano de Integración Económica), el BID (Banco Interamericano de Desarrollo) y el ICDF (International Cooperation and Development Fund).

Se han definido las siguientes áreas de impacto a corto plazo: **a)** ensayos de variedades mejoradas al nivel regional, **b)** evaluación, manejo y caracterización del germoplasma, **c)** evaluación de tecnologías de manejo integrado de plagas (MIP), y **d)** mercadeo y comercialización. Las actividades de cada área de definieron en talleres de consulta con los técnicos especializados en cada disciplina, provenientes de los países miembros de la Red.

Aunque las actividades de MIP involucrarán varios cultivos (tomate, chile, cebolla y algunas cucurbitáceas) y plagas, se priorizó como problema el complejo mosca blanca-geminivirus, por lo que se

enfatará la seleccin de cultivares con tolerancia a resistencia a geminivirus. Para esta actividad, REDCAHOR estrechará su cooperacin con el Proyecto Mundial sobre Mosca Blanca coordinado por el CIAT (ver MBDía 21), y con el CATIE, como organismo regional.

Contactos: Dr. James Nienhuis y M.Sc. Jorge Hernán Echeverri. IICA. San José, Costa Rica. Tel. (506) 229-0222, Fax (506) 229-4689, nienhuis@calshp.cals.wisc.edu y jechever@iica.ac.cr.



TALLER MUNDIAL

Pronto (7-12 de junio) se efectuará el **2nd International Workshop on Bemisia and Geminiviral Diseases**, en San Juan, Puerto Rico. Se ha confirmado la gran asistencia de investigadores de todo el mundo, pues en realidad se trata del primer congreso mundial sobre el tema, al integrarse los entomólogos y fitopatólogos. Contacto: **Dr. Richard T. Mayer**, USDA, ARS. Tel. (407) 897-7337, Fax (407) 897-7309, rmayer@x.netcom.com

El programa incluirá charlas magistrales introductorias, de connotados especialistas, como los doctores Julio Bird (*History of emergence of Bemisia as a pest in Puerto Rico*), Robert M. Goodman (*Geminiviruses: From discovery to a World class pathogen*), Dan Gerling (*Longterm dynamics of whitefly populations: A lesson for Bemisia control*) y Claude Fauquet (*A case study: Crisis in Uganda*).

Además, habrá numerosas sesiones especializadas, cada una de las cuales constará de una charla magistral y varias charlas cortas, así como reuniones de grupos especiales, y afiches

Las sesiones especializadas serán: *Replication in geminiviruses; Whitefly biology and systematics; Population ecology of Bemisia in managed systems; Virus-vector relationships; Geminivirus gene expression; Geminiviruses as constraints to crop production; Bemisia-geminivirus-plant interactions; Plant resistance; Virus movement and host determinants; Pesticides, biological control and their interaction; Emerging ssDNA viruses; Cultural and physical methods for controlling whiteflies; International and regional collaboration in studying and managing whiteflies and geminiviruses.*



MOSCA BLANCA EN MARAÑÓN

Aunque, por su importancia, comúnmente se enfatiza la informacin acerca de *B. tabaci* y *B. argentifolii*, no debe omitirse el hecho de que otros Aleyrodidae pueden alcanzar importancia econmica. Muestra de ello son los daos causados por *Aieurodicus dispersus* y *Tetraleurodes mori* en banano (ver MBDía Nos. 10-12 y 17), así como cuatro especies en yuca (ver MBDía Nos. 11, 16).

Recientemente nos enteramos de que *Aleurodicus cocois anacardii*, alcanzó densidades explosivas, muy altas, en Pernambuco (Brasil) desde 1960, al punto de matar arbustos de marañón (*Anacardium occidentale*). Sin embargo, un decenio después el problema desapareció, gracias al efecto de sus parasitoides nativos. Para informacin adicional, contactar al Dr. Geraldo Arruda (g.amuda@ipa.br).



PUBLICACIONES

Bemisia Newsletter. En diciembre se publicó el No. 10 de este boletín. Contiene los siguientes temas: Whitefly trap survey results, New type of trap, *Bemisia* in Brazil, *Bemisia* in Australia, así como informacin sobre reuniones, oportunidades y sitios electrónicos. Usted puede enviar informacin a sus editores, Dr. Walker A. Jones (USDA, Texas, w-jones@pop.tamu.edu) y Dan Gerling (Israel, dangr@ccsg.tau.ac.il).



ESTE BOLETIN ESTA DISPONIBLE POR CORREO ELECTRONICO, EN LA SIGUIENTE DIRECCION: <http://www.catie.ac.cr/80/~clcmpl/>

POR FAVOR, FOTOCOPIE ESTE BOLETIN Y ENVILO RAPIDAMENTE A TODOS LOS INTERESADOS QUE CONOZCA

Este boletín es copatrocinado por:

CATIE

REDCAHOR

**POSIBILIDADES DE MANEJO INTEGRADO DE LA ENFERMEDAD
"OJO DE GALLO" DEL CAFE**

David Monterroso Salvatierra *

A su llegada al continente Americano el cultivo del café encontró un nuevo problema, el patógeno que causa la enfermedad conocida como: "Ojo de gallo", "gotera" o "mancha suramericana de la hoja". Este patógeno tiene a su vez un ámbito amplio de hospedantes, entre las que se encuentran plantas silvestres y perennes.

¿Como reconocer la enfermedad?

Los síntomas son bastante típicos en la planta de café, las lesiones o manchas en las hojas son circulares o ligeramente ovaladas, de color pardo-grisáceo que se torna pardo oscuro al madurar la lesión, los bordes son bien definidos y pueden ser vistos tanto en el haz como en el envés de la hoja (Fig. 1). En los frutos la lesión tiene las mismas características que en las hojas, pero además, se muestra claramente hundida (Figs. 2 y 3). En el tejido de las ramas se puede presentar como un cáncer ligeramente hundido (Fig. 4). La humedad alta favorece la enfermedad, y por tanto la mayor cantidad de infecciones se presentan en el estrato bajo de la planta.



Fig. 2. Lesiones en los frutos mostrando estructuras de reproducción.

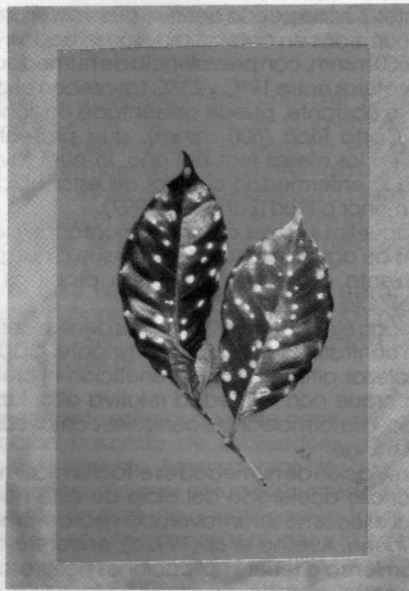


Fig. 1. Lesiones típicas de la enfermedad "Ojo de gallo" del café.

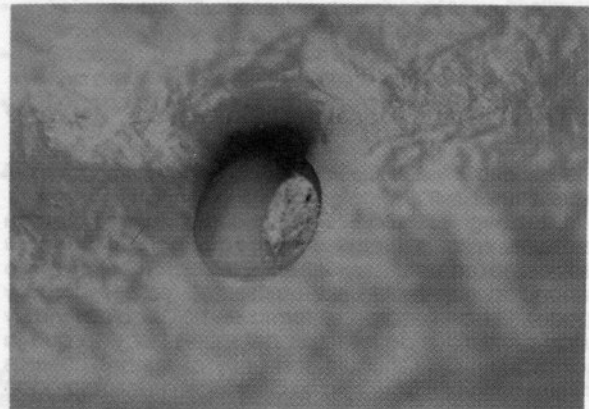


Fig. 3. Fruto infectado, mostrando los cuerpos fructíferos con tallo alargado y el ápice (cabecita o gema) ensanchado.

La lesión presenta unas estructuras que asemejan alfileres muy pequeños, de color crema o amarillo pálido, (Fig. 5) que no están presentes en otras enfermedades que producen manchas parecidas.

* Proyecto CATIE/INTA-MIP(NORAD). Apartado P-116. Managua, Nicaragua. EMail: catienic@ibw.com.ni



Fig. 4. Rama infectada, con "Ojo de gallo", mostrando el crecimiento de cuerpos fructíferos en la rama.



Fig. 5. Lesión en hoja mostrando la estructura de los cuerpos fructíferos. (tallito alargado y el ápice ensanchado formando la cabezuela o gema que sirve para diseminar la enfermedad).

¿Cuál es el agente causal del "Ojo de gallo" del café?

El hongo *Mycena citricolor* (= *Omphalia flavida*) es el agente causal del "Ojo de gallo".

Este hongo es un Basidiomiceto que pertenece al orden Agaricales, familia Tricholomataceae, porque tiene su basidiocarpio (estructura sexual) en forma de sombrerito (pileo campanulado) sostenido por un "tallito" (estípite largo y delgado). El basidiocarpio se forma en hojas caídas y muy ocultas, protegidas de los rayos del sol; es por esto que la principal fuente de inóculo son unos pequeños cuerpos fructíferos asexuales (en forma de alfilerillos) de tallo alargado y un ápice ensanchado que se le han llamado gema o cabezuela. En condiciones de alta humedad hay más posibilidad que se condense una gotita de agua en la base de la gema y fácilmente se desprende para formar un aerosol que va a infectar nuevo tejido del café.

Estas gemas o cabezuelas requieren de 18 a 25 horas de alta humedad bajo luz difusa, para incubación; pero el período de infección tarda aproximadamente 8 días (Fig. 1).

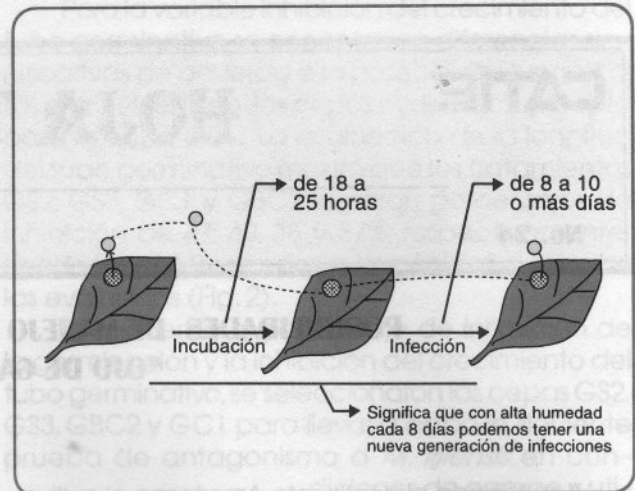


Fig. 6. Esquema teórico del ciclo de vida del ojo de gallo del café.

¿Dónde sobrevive el hongo?

En períodos secos el hongo puede permanecer activo en las hojas más bajas del café, en las cuales exista reserva de humedad.

También puede permanecer en otras plantas susceptibles. Además del café, el hongo ataca varias monocotiledóneas, dicotiledóneas y teridofitas, algunas de estas son malezas comunes o árboles de sombra en cafetales. La presencia del estado sexual bajo condiciones naturales ha sido informada pocas veces, y el papel de los basidiocarpos no se ha logrado explicar (Salas y Hancock 1972); sin embargo, su implicación en reservar el inóculo entre ciclos productivos del café, parece ser lógico.

¿Dónde se presenta la enfermedad?

Esta enfermedad puede ocurrir y afectar seriamente en áreas frías y húmedas en cafetos muy sombreados. Altitudes mayores de 650 msnm, con prevalencia de humedad relativa alta y temperaturas entre 19°C y 23°C favorecen el desarrollo del hongo. No obstante, puede presentarse en zonas como San Carlos, Costa Rica (600 msnm), que presenta lluvias abundantes en los meses fríos del año, lo cual favorece el desarrollo de la enfermedad a pesar de estar ubicadas en regiones de menor altitud (Echeverri 1997).

Todos aquellos lugares cerca de montañas, de fuentes permanentes de agua o condiciones de suelo que permitan el mantenimiento de la humedad son propicias para el desarrollo del "Ojo de gallo".

Plantas con ejes verticales, siembras densas, sembrados en dirección contraria al viento predominante, abundante sombra o malezas altas, también benefician el crecimiento del hongo; porque con humedad relativa alta, luz difusa y viento favorecen la formación de aerosoles con las cabezuelas o gemas del hongo.

La acumulación de humedad es el factor más importante para el desarrollo acelerado del ciclo de este hongo, por tanto, los meses secos no serán favorables para el crecimiento de este patógeno. Avelino *et al.* (1992a), encontraron que la epidemia comienza a tener implicaciones peligrosas a partir del mes de agosto, cuando el período lluvioso se aproxima y las temperaturas inician su descenso.

¿Qué daño puede causar el "Ojo de gallo"?

Las enfermedades foliares reducen la capacidad fotosintética de las plantas y eventualmente su potencial productivo; pero las que provocan grandes áreas de daño foliar y consecuentemente causan fuerte defoliación, tienen un mayor efecto detrimental sobre la planta, este es el caso del "Ojo de gallo" del café en algunas regiones de Centroamérica (Waller 1987).

Avelino *et al.* (1992a), demostraron que la variable infección del hongo está asociada a la defoliación y a la caída de frutos en la época de mayor crecimiento en las hojas (octubre), concluyendo que el "Ojo de gallo" puede provocar pérdidas de producción el mismo año de la epidemia. El modelo de predicción propuesto por estos investigadores, indica que una planta con un potencial de producción de 6 kg, y con un 10% de infección acumulada puede perder el 6% de su producción, lo cual representa 0,36 kg/planta.

En la comunidad de Agua María en Matagalpa, Nicaragua; durante un proceso de diagnóstico participativo (*), los productores(as) basados en su experiencia, expusieron sus principales problemas, señalando en segundo lugar el "Ojo de gallo". Al realizar la priorización, esta enfermedad ocupó el tercer lugar, después de la roya y la broca. Los dos productores que habían sido más afectados, estimaron que una tercera parte de las hojas (33%) había sido afectada y estimaron que su producción había disminuido entre 15% y 20% a causa de este patógeno. Esta estimación de los agricultores coincide con las estimaciones teóricas establecidas por Avelino *et al.* (1992a) en Guatemala.

Manejo del "Ojo de gallo"

En general, el manejo de las enfermedades del café, se hace calendarizadamente. No se realiza una cuantificación para tomar la decisión de aplicar un producto químico, sino para evaluar la efectividad de los productos aplicados. Además, debido a que, el problema más conocido por los productores es la roya (*Hemileia vastatrix*) todo el manejo sanitario del café se hace en función de este patógeno.

En el caso de café de alta producción (café al sol o con sombra mínima), Avelino *et al.* (1992b), recomiendan la aplicación del caldo bordelés alcalino y la recepa cíclica por las siguientes razones:

- El caldo bordelés es eficiente contra el "Ojo de gallo" en las condiciones del norte de Guatemala. La época oportuna para hacer la primera de tres aplicaciones, podría ser el mes de agosto. El intervalo adecuado entre dos aplicaciones es de dos meses. La permanencia del producto en el campo fue muy buena, lo que permite pensar que se puede bajar el número actual de tres aplicaciones.
- La recepa cíclica por surco permite reducir considerablemente la incidencia de la enfermedad en los surcos, que quedan más expuestos al sol y a la circulación del aire.

Es importante señalar que si se cambia la cultura de la cuantificación pasando de evaluadora de productos a constituir un elemento fundamental de decisión, será la realidad de las condiciones actuales (humedad, temperatura y cantidad de sombra) y la cuantificación, las que indicarán cuando se deben iniciar las aspersiones y la cantidad.

(*)Memorias del proceso de implementación participativa de MIP-Café en Nicaragua. Proyecto CATIE-INTA/MIP(NORAD) 1995. EMail: catienic@lbw.com.ni

En años recientes, con la idea de encontrar sustitutos para el arseniato de plomo y los cobres, se han evaluado otros productos para el control del "Ojo de gallo" entre los que sobresalen los triazoles; estos productos deben ser aplicados cuando el inóculo no ha alcanzado niveles de infección elevados y asegurar que el fungicida llegue a todas las partes de la planta que se desean proteger (Echeverri 1997).

La Asociación Nacional del Café -ANACAFE- de Guatemala (1991), recomienda dos aplicaciones de ciproconazol (Alto, Atemi) (210-280 cc/mz) o Hexaconazol (Anvil) (700 cc/mz), con un intervalo de 45 días. Sin embargo, en Costa Rica, cuando se evaluaron estos dos productos y el caldo bordelés casero y comercial, en condiciones de alta presión de inóculo (31% al inicio) en un área muy favorable para el crecimiento del "Ojo de gallo" (3280 mm de precipitación); el caldo bordelés mostró el menor porcentaje de hojas enfermas y consecuentemente el mayor número de hojas totales (ICAFE-MAG 1993). Sin embargo, bajo condiciones muy favorables al hongo y la presencia de una alta cantidad de inóculo los productos no trabajan eficientemente.

Otro argumento a favor del uso del caldo bordelés, son evaluaciones de la aplicación de calcio al follaje o al suelo; las cuales han demostrado ser tan efectivas como el mejor tratamiento de control químico (Jimenez y Vargas 1990).

La experiencia con la comunidad de Agua María, Nicaragua en el marco del proceso de implementación participativa de MIP en café, es muy interesante, en cuanto al manejo del problema del "Ojo de gallo". Por tanto, se presenta un detalle de este proceso:

Después del Diagnóstico participativo, la primera tarea de capacitación tecnológica fue compartir con los agricultores el recuento integral de plagas del café, que tiene la siguiente metodología:

- Ordenar y categorizar los lotes o plantíos de café (con el fin de establecer las condiciones prevalecientes en cada uno y relacionarlos con los diferentes problemas diagnosticados y priorizados).
- Seleccionar aproximadamente 1 manzana del lote o plantío.
- Seleccionar 5 puntos \pm equidistantes y fácilmente reconocibles.
- En cada punto ubicar dos estaciones de 5 plantas cada una (una a la izquierda y otra a la derecha del punto).
- En cada planta leer una bandola. Las bandolas se ubican alternadamente arriba y abajo en cada planta seleccionada.
- En cada bandola se registra el número total de hojas; hojas con ojo de gallo, hojas con roya, hojas con mancha de hierro, antracnosis, minador, otros; número de frutos totales, frutos con broca, chasparría, otros; nudos totales, nudos con cochinillas, y la proporción de muerte regresiva de la rama provocada por la antracnosis.

Esta metodología de recuento se practicó y fijó en una parcela de uno de los productores participantes, llamada por ellos parcela escuela, porque en ella realizarían todas las prácticas durante el proceso de capacitación participativa. Posteriormente, algunos productores(as) desarrollaron este recuento en sus fincas, incluyendo a los dos productores que habían informado sobre los problemas severos con "Ojo de gallo".

El análisis participativo de los datos (sesión para evaluar y discutir los datos obtenidos de los recuentos, así como analizar la toma de decisiones de manera participativa), mostró que en los lotes de las fincas en referencia había un 10% de incidencia de "Ojo de gallo", sombra un poco densa y focos de malezas altas. El análisis grupal permitió preparar un plan de manejo de la siguiente manera:

- Continuar con el recuento de plagas (entre ellas el "Ojo de gallo").
- Realizar manejo selectivo de las malezas (corta manual a una altura relativamente alta)
- Mejorar la sombra: regularla en algunos sitios en los cuales estaba muy densa.
- Dada la fecha, 7-julio-1995, (período lluvioso y con humedad acumulada), y de acuerdo al nivel de incidencia de "Ojo de gallo" (10,7%), se planificó una aplicación de caldo bordelés 4:4:50 (4 libras (1,8 kg) de sulfato de cobre, 4 libras (1,8 kg) de cal en 50 galones (189/L) de agua). Para capacitar en esto se preparó una guía trifoliar llamada "**El caldo bordelés y el Ojo de Gallo del café**" (Proyecto CATIE-INTA/MIP(NORAD) 1995).

La evaluación realizada el 7-octubre-1995, permitió determinar en grupo, que el manejo propuesto había funcionado adecuadamente, porque el "Ojo de gallo" fue de 13%. Si se compara la tasa práctica de incremento inicial, estimada en $\pm 5\%$ mensual (2 meses), con la tasa después del manejo estimada en 1% mensual (3 meses); la eficiencia del programa de manejo de esta enfermedad resultó ser satisfactoria para el grupo.

Este manejo de "Ojo de gallo" está enfocado al café sostenible con uso de pocos insumos, en el cual el aspecto clave debe ser la cuantificación de la enfermedad. El número de aplicaciones estará en función de la observación de las condiciones circundantes y prevalentes e indudablemente del incremento de la epidemia de "Ojo de gallo".

El caldo bordelés puede ser una buena alternativa para el manejo del "Ojo de gallo" del café en condiciones de baja cantidad de inóculo. Además este producto puede considerarse natural.

¿Qué es el caldo bordelés?

El caldo bordelés es una mezcla de sulfato de cobre y cal que se usa como fungicida desde 1882. Se le conoce como caldo bordelés porque un investigador de apellido Millardet, lo descubrió en Bordeos, Francia.

La primera fórmula que se usó fue: 33 libras (15,2 kg) de sulfato de cobre mezclado con 15 libras (6,9 kg) de cal en 10 galones (37L) de agua, pero su aplicación era difícil. Actualmente, las fórmulas más usadas son: 4-4-50 (4 libras (1,8 kg) de sulfato de cobre - 4 libras (1,8 kg) de hidróxido de calcio (cal) 50 galones (189L) de agua y 2-2-50 (2 libras (0,9 kg) de sulfato de cobre - 2 libras (0,9 kg) de hidróxido de calcio (cal) 50 galones (189L) de agua).

En plantas tiernas o con tejido en crecimiento se recomienda utilizar la fórmula 1-1-50 (1 libra (0,46 kg) de sulfato de cobre - 1 libra (0,46 kg) de hidróxido de calcio (cal) - 50 galones (189 L) de agua); para plantas más sensibles al cobre se debe aumentar el contenido de cal, la fórmula puede ser 4-12-50 (4 libras (1,8 kg) de hidróxido de cobre - 12 libras (5,5 kg) de hidróxido de calcio - 50 galones (189L) de agua).

La preparación correcta del caldo bordelés es muy importante para asegurar la efectividad del producto final. Si se mezcla simultáneamente, el sulfato de cobre con la cal, se forman grumos grandes que se precipitan. Lo mismo sucede si el sulfato de cobre se agrega después de la cal.

¿Cómo asegurar un buen caldo bordelés?

Para producir una buena mezcla, deben seguirse las siguientes indicaciones:

- Coloque 4 libras de sulfato de cobre en una bolsa de tela (manta) sumérgala en un balde plástico con 5 galones

(18,5L) de agua, déjela durante toda la noche para que se disuelva lentamente.

- Al día siguiente, disuelva directamente 4 libras (1,8 kg) de cal, en otro balde de plástico que contenga 5 galones (18,5 L) de agua.
- En un barril o tonel de plástico, ponga 40 galones (148 L) de agua. Agregue, removiendo, los 5 galones (18,5 L) de la mezcla del sulfato de cobre.
- Finalmente, agregue lentamente los 5 galones (18,5 L) de agua con cal, colándola en un cedazo muy fino, y removiendo fuerte, para que los gránulos que se forman sean muy finos y no tapen la boquilla de la bomba.

¡Aplique la mezcla lo más pronto posible, para evitar que se pierda el poder fungicida!

LITERATURA CITADA

ANACAFE. 1991. Manual de caficultura. Guatemala, Asociación Nacional del Café. Subgerencia de Asuntos Agrícolas. 169 p.

AVELINO J.; RIVEIRO, R.; TOLEDO, J.C. 1992a. Epidemiología del ojo de gallo (*Mycena citricolor*) y evaluación de las pérdidas en la producción de café: avances del año. *In* Memoria Técnica de Investigación en Café 90-91. Guatemala, ANACAFE, Subgerencia de Asuntos Agrícolas. p. 116-122.

AVELINO, J.; TOLEDO, J.T.; MEDINA, B. 1992b. El caldo bordelés y la recepa en el control del ojo de gallo. *In* Memoria Técnica de Investigación en Café 90-91. Guatemala, ANACAFE. Subgerencia de Asuntos Agrícolas. p. 116-122.

ICAFFE-MAG. 1993. Programa de Fitoprotección: Experimento No.1. *In* Convenio Instituto del Café de Costa Rica, Ministerio de Agricultura y Ganadería. Informe de Labores año 1993. p. 249-250.

JIMENEZ, R.A.; VARGAS, E. 1990. Estrategias de combate de ojo de gallo (*Mycena citricolor*) con calcio y fungicida químico (Sam 619 F) en el cafeto. *In* Taller Regional sobre Roya, Ojo de Gallo y otras Enfermedades del Cafeto. (1990, San José, Costa Rica). Resúmenes. PROMECAFE-UCR-CIID-AID. p. 1.

MOLINA LLARDEN, M. 1957. Microbiología de suelos y técnicas fitopatológicas. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. 287 p.

MONTERROSO S., D. 1995. El caldo bordelés y el ojo de gallo. Trifoliar informativo. *In* Proyecto CATIE-INTA/MIP(NORAD). Nicaragua. 1995. Memorias del Proceso de Implementación Participativa de MIP en Café. 1995. Managua, Nicaragua.

SALAS, A. C.; HANCOCK, J.G. 1972. Production of the perfect stage of *Mycena citricolor* (Berk and Curt) Sacc. Hilgardia 41(9):213-234.

WALLER, J.M. 1987. Coffee diseases current status and recent developments. Revista Trop. Pl. Path. (India) 4:1-33.

CATIE

REVISTA MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS

PATROCINADORES

La Revista Manejo Integrado de Plagas se complace en anunciar que como parte de las actividades para generar ingresos que aseguren su sostenibilidad, ha iniciado la vinculación de "Patrocinadores" los cuales serán anunciados en este espacio. (Mayor información para interesados en el patrocinio de la Revista MIP en p. 54).



**Autoridad Sueca
para el Desarrollo
Internacional (ASDI)**

(Contribución vía Presupuesto
Básico de CATIE)



EMPRESA LIDER EN EL
CONTROL DE
MICROORGANISMOS
FITOPATOGENOS

**Buckman
LABORATORIES**

Costa Rica (506) 278-1818 - 573-7041

Nicaragua (505)311-6003

Panamá (507)269-0944

El Salvador (503)260-6152

Honduras (504)552-2508

México (73)21-31-31 al 37

Venezuela (031)948707



Standard Fruit Company de Costa Rica S.A.
Apartado 4595-1000 San José, Costa Rica
Tel: (506)287-3000 - Fax: (506)256-2466

CATIE

Escuela de Postgrado

Producir conservando, conservar produciendo®

50

 años fomentando la excelencia académica

Estudios de Doctorado (Ph.D) en:

I. CIENCIAS FORESTALES TROPICALES

CATIE - Universidad Estatal de Colorado (Fort Collins, EUA)
CATIE - Universidad de Freiburg (Alemania)
CATIE - Universidad Estatal de Louisiana (EUA)
CATIE - Universidad Texas A & M (EUA)

II. SISTEMAS AGROFORESTALES TROPICALES

CATIE - Universidad de Florida (Gainesville, Florida, EUA)
CATIE - Universidad de Gottingen (Alemania)

III. AGRICULTURA TROPICAL

CATIE - Universidad de Gottingen (Alemania)
CATIE - Universidad de Hohenheim (Alemania)
CATIE - Universidad Estatal de Louisiana (EUA)
CATIE - Universidad Texas A & M (EUA)

Estudios de Maestría (M.Sc.) en:

I. Agricultura Ecológica, con énfasis en:

- Recursos Fitogenéticos y Biotecnología
- Agricultura Tropical Sostenible

II. Sistemas Agroforestales Tropicales, con énfasis en:

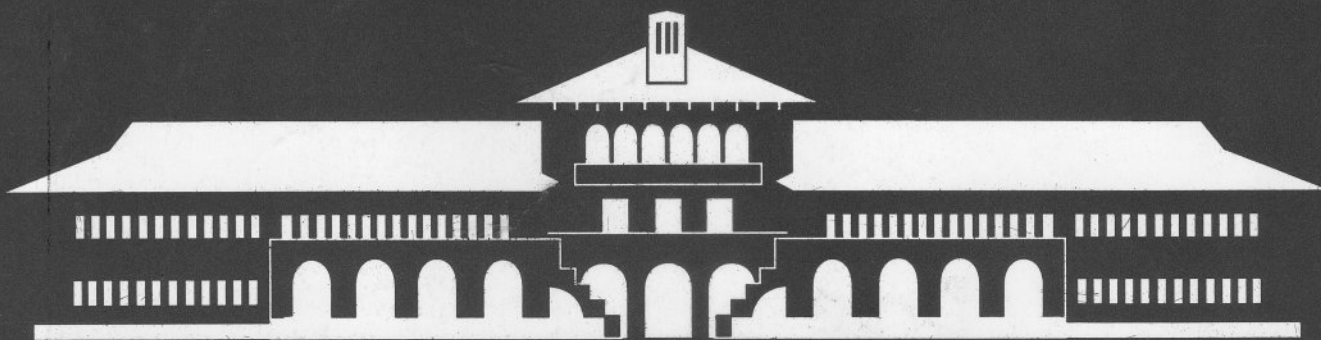
III. Manejo y Conservación de Bosques Tropicales y Biodiversidad

- Manejo de Sistemas de Producción Forestal Diversificado
- Conservación de la Biodiversidad

IV. Economía Ambiental, con énfasis en:

- Administración y Gerencia Ambiental
- Socioeconomía Ambiental

Para la Universidad de Alemania es deseable el dominio del idioma alemán.



Solicite información a:

Escuela de Postgrado. CATIE, 7170 Turrialba, Costa Rica. Tel.: (506) 556-1016/556-6431. Fax: (506) 556-0914/556-1533.
Email: posgrado@catie.ac.cr Web-page: <http://www.catie.ac.cr>