

ISSN 1659-0082

# Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

Diciembre 2004

No. 73



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

# Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

- En congruencia con el lema institucional del CATIE de *producir conservando, conservar produciendo*, esta revista tiene como objetivo contribuir con el desarrollo de sistemas agrícolas y forestales sostenibles, la conservación de los recursos naturales, y la protección de la salud de los agricultores y los consumidores.
- Constituye un foro de discusión, así como un instrumento para la difusión de los resultados de investigación, experiencias prácticas y transferencia de tecnologías en los campos de la protección vegetal y la agroecología, con énfasis en la región neotropical.
- Cuenta con una sólida trayectoria, pues se publica de manera ininterrumpida y puntual, en forma trimestral (en marzo, junio, setiembre y diciembre) desde setiembre de 1986. Hasta marzo de 2002 se denominó *Manejo Integrado de Plagas*.
- Tiene un contenido versátil, ya que además de artículos científicos incluye textos de formato diverso (hojas técnicas, boletines, secciones especializadas, reseñas bibliográficas y anuncios de eventos), para así estimular la formación de redes de colaboración en el ámbito continental, en investigación, transferencia de tecnología, enseñanza y cooperación técnica, para contribuir así al desarrollo social y económico de los países de América Latina y el Caribe.
- Está indizada en bases de datos prestigiosas, como CAB International, Agrícola, Agris, Latindex y la International Society for Pets Information (ISPI), y además aparece en foros electrónicos especializados.
- Para garantizar su idoneidad, cada trabajo es revisado por al menos dos expertos en el tema de pertinencia, y dicho proceso es complementado con el arbitraje del Comité Editorial. Asimismo, se cuenta con un *Comité Editorial Internacional*, integrado por científicos de renombre mundial, que supervisa la calidad técnica de la revista y hace recomendaciones sobre políticas, contenido, formato, etc.
- Las ideas y opiniones contenidas en los artículos publicados son responsabilidad exclusiva de los autores y no reflejan necesariamente las del CATIE o de los patrocinadores de la revista.
- Sus costos de producción son cubiertos con aportes directos del CATIE, de la *Autoridad Sueca para el Desarrollo Internacional (ASDI)*, del *Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (USDA/FA-S/ICD/RSED)*, de los suscriptores, y de los patrocinadores comerciales o filantrópicos mencionados en la contraportada de la revista.
- Los idiomas exclusivos de publicación son español y portugués; solamente en casos muy calificados se aceptan artículos en inglés. Las *instrucciones para los autores* aparecen en las últimas páginas de la revista. En caso de duda, se puede consultar un número reciente, o contactar a la Editora.
- Los materiales contenidos en la revista pueden ser citados o reproducidos, siempre y cuando se mencione la fuente.
- El valor de la suscripción anual es de US\$ 30 (América Central), \$ 35 (resto de América Latina, el Caribe, Asia y África), \$ 45 (otros países), incluye el costo del correo aéreo. La versión electrónica (internet) cuesta \$ 20.

## Comité Editorial

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

## Comité Internacional

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

**Dirección:** Luko Hilje

**Editora:** Gabriela Gitli

**Secretaria:** Yorlene Pérez

**Versión electrónica:** Yorlene Pérez

**Diseño y diagramación:** Unidad de Comunicación

## Tiraje

1150 ejemplares.

## Correspondencia

Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología  
CATIE

7170 Turrialba, Costa Rica

Tel. (506) 558 2633/556 6431/558 2408

Fax: (506) 556 1576/556 1533

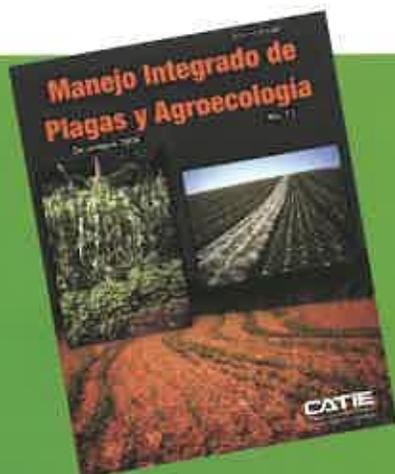
Correo electrónico: ggitli@catie.ac.cr ó ccmip@catie.ac.cr

www.catie.ac.cr

## Fecha de inicio y periodicidad:

No.1, setiembre, 1986.

Cuatrimstral (abril, agosto, diciembre).



Esta vez, nuestro *Foro* discute los elementos agroecológicos necesarios para diseñar sistemas diversificados de cultivo, que utilizan recursos locales y combinaciones complejas de cultivos, son relativamente simples y productivos, y presentan rendimientos altos por unidad de trabajo y energía. La portada de este número muestra (en el sentido de las manecillas del reloj) una milpa de maíz-frijol, policultivo resistente a ataques de *Spodoptera*, cicadélidos y crisomélidos; una intercalación de flores de *Alyssum* en un campo de lechuga, para atraer sírfidos depredadores de áfidos; y franjas de maíz intercaladas con frijol en un sistema de siembra directa sin herbicidas, donde los desechos de la cobertura inhiben la germinación de malezas a través de la alelopatía. (Fotos: Miguel A. Altieri)

# Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

Diciembre 2004

No. 73



## BIOGRAFÍA

**Adelaida Chaverri: ecóloga de tierras altas, conservacionista genuina** .....1-7  
Maarten Kappelle, Antoine M. Cleef

## FORO

**Una base agroecológica para el diseño de sistemas diversificados de cultivo en el Trópico** .....8-20  
Miguel A. Altieri, Clara I. Nicholls

## ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

**Seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de *Bemisia tabaci* biótipo B** .....21-28  
Elizabeth Quisberth Ramos, Sérgio Batista Alves, Clarice G.B. Demétrio, Silvano Cesar da Costa

**Control del saltahojas de la caña de azúcar *Perkinsiella saccharicida* con los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* en el Ingenio San Carlos, en Ecuador** .....29-34  
Francisco Badilla, Walter Jara, Walter Gordillo

**Germinación y reproducción in vitro de la bacteria *Paenibacillus (=Bacillus) lentimorbus*** .....35-41  
Geovanny Fernández Redondo, Eduardo Hidalgo Jaminson, Francisco Badilla Fernández

**Potencial de hormigas como depredadoras de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) en Costa Rica** .....42-50  
Edgar H. Varón, Paul Hanson, Olger Borbón, Manuel Carballo, Luko Hilje

**Seleção e caracterização genética por RAPD de linhagens de *Beauveria bassiana* para o controle de *Homalinotus coriaceus*** .....51-56  
Ricardo P.C. Araujo, Joana M.S. Ferreira, Myrian S. Tigano, Fernanda B. Sarro, Claudio Costa

**Efecto de la infección de PVX y PVY en la producción de *Solanum tuberosum* en invernadero con los cultivares Floresta y Granola** .....57-63  
V. Vásquez, M. Montero-Astúa, C. Rivera

## EXPERIENCIAS

**Manejo da mosca-branca na cultura da uva** .....64-73  
Francisca Nemauro Pedrosa Haji, Andréa Nunes Moreira, Ervino Bleicher, Rodrigo César Flôres Ferreira, José Adalberto de Alencar

## NOTA TÉCNICA

**Caracterización morfológica de larvas de *Anastrepha obliqua* y *Anastrepha suspensa* en Cuba** .....74-78  
Yilianys Rodríguez, Eliazar Blanco, Ángela M. Rodríguez

## HOJA TÉCNICA

**Preparación de lixiviados de compost y lombricompost** .....79-82  
Erick Larco

## BOLETINES

**Plagas Forestales Neotropicales** .....83-84

**Boletín Acceso IICA** .....85-88

**Boletín de Producción Orgánica** .....89-93

## SECCIÓN INFORMATIVA

**Futuros Eventos** .....94

# Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza CATIE

El Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) es un centro regional dedicado a la investigación y la enseñanza de posgrado en agricultura, manejo, conservación y uso sostenible de los recursos naturales. Sus miembros regulares son: el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), Belice, Bolivia, Colombia, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, República Dominicana y Venezuela. El presupuesto básico del CATIE se nutre de generosas aportaciones anuales de estos miembros, los cuales a su vez conforman su Consejo Superior.

## Misión y Visión

### Misión

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

### Visión

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

### Director General

Pedro Ferreira Rossi

### Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación

Glenn Galloway

### Director de Proyección Regional y Servicios Técnicos

#### Regionales y

Alan González

### Administración y Finanzas

Viviana Sánchez

## Representaciones Nacionales del CATIE

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

### COLOMBIA

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

### COSTA RICA

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

### EL SALVADOR

Apartado Postal 1-96  
1a. Calle Poniente y 61 Ave. Norte. Edif. Bukele, Planta baja, San Salvador, El Salvador  
Tel.: (503) 2261-2036/2037  
Fax: (503) 2261-2039  
Correo electrónico: catieelsalvador@integra.com.sv

### GUATEMALA

Apartado postal 76-A, 15 calle 1-04  
Zona 10. Edificio Céntrica Plaza, 4 nivel, Of. 401. Guatemala  
Tels. (502) 366 2648 366 2649  
Fax (502) 366 2643  
Correo electrónico: catiegua@intelnet.net.gt

### HONDURAS

Primera planta, edificio principal Secretaría de Agricultura y Ganadería SAG Bulevar Miraflores avenida La FAO  
Tegucigalpa, Honduras  
tel. 504 235 6609  
fax 504 235 6610  
Apartado postal# 2088  
Tegucigalpa, Honduras  
correo: catiehonduras@multidata.hn

### NICARAGUA

Apartado Postal #4830  
Km 8 1/2 Carretera a Masaya  
Ministerio de Agricultura, Managua, Nicaragua  
Tel.: (505) 276-1026/1109  
Fax: (505) 276-1108  
Correo electrónico: catienicaragua@tmx.com.ni

### PANAMÁ

Apartado Postal 08160-1332  
Zona 5  
Edificio Balboa Plaza  
Avenida Balboa  
Tel. (507) 263-6400  
Fax: (507) 263-2565  
Correo electrónico: catiepanama@cwpanama.net

## Representaciones Nacionales del IICA

### BELICE

Dr. Jaime Mauricio Salazar  
Representante IICA  
Apartado Postal #448, Belmopán, Belice  
Tel.: (00501-8) 20-222  
Fax: (00501-8) 20-286  
Correo electrónico: iica@bt.net

### REPÚBLICA DOMINICANA

Dr. Rafael Marte  
Representante IICA  
Fray Cipriano de Utrera.  
Esquina Avenida República del Líbano.  
Centro de los Héroes, Santo Domingo, República Dominicana  
Apartado Postal #711  
Tel.: (1 809) 533-7522/2797  
Fax: (1 809) 532-5312  
Correo electrónico: rmarte@iicard.org

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

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



**H**ace unos años, cuando el CATIE publicó el libro *Plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central*, la respuesta de profesores, investigadores, extensionistas, expertos en plagas y estudiantes de la región neotropical no se hizo esperar: el libro vino a llenar un sensible vacío de información, y se convirtió en instrumento de uso diario en el manejo de plagas.

Hoy, Daniel Coto y Joseph L. Saunders (q.e.p.d.) publican una nueva guía: *Insectos plagas de cultivos perennes con énfasis en frutales en América Central*. Este libro, verdadera herramienta de trabajo, presenta una gran cantidad de información sistematizada y fácil de acceder, que incluye desde el hospedante y el ámbito de distribución de cada plaga, hasta los distintos tipos de combate eficaces contra ellas, además de ofrecer descripciones minuciosas y fuentes bibliográficas para cada una de las especies.

Uno de los mayores atributos del libro consiste en las más de 400 fotografías a color que apoyan al lector en la identificación de huevos, larvas, ninfas, pupas, hembras y machos de los insectos, y del daño que estos causan en distintos cultivos. Es decir, provee todas las ayudas visuales necesarias para el usuario que se encuentra en el campo y debe tomar decisiones atinadas de diagnóstico.

Para más información, escribanos al correo electrónico [cicmip@catie.ac.cr](mailto:cicmip@catie.ac.cr), o llámenos al teléfono (506) 558 2408.

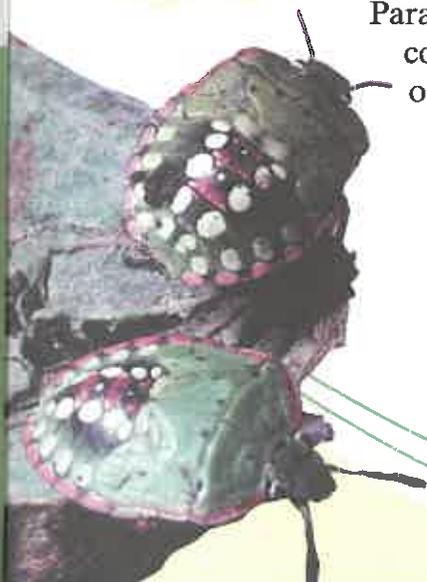
### Insectos plagas de cultivos perennes con énfasis en frutales en América Central



Daniel Coto  
Joseph L. Saunders



2004



## Aprender de los errores

Desconozco si alguien habrá cuantificado alguna vez la gran cantidad de datos que, como parte de proyectos de investigación, nunca llega a publicarse en revistas formales, debido a diversos tipos de problemas ocurridos en el proceso de la generación de información. No obstante, me aventuro a decir —por mi propia experiencia y la de varios colegas con quienes he consultado al respecto— que es abrumadoramente mayoritaria.

¿Podría calificarse como un fracaso, así como un derroche económico, esta información “fallida”? Pienso que no, excepto en aquellos casos en que, por improvisación o falta de asesoría —por ejemplo, en cuanto a la utilización de un diseño estadístico adecuado— se ha malogrado una valiosa oportunidad de generar información original o innovadora. Más bien, en numerosas ocasiones aquellos “fracasos” obedecen a intentos reiterados por afinar una metodología de investigación *per se*, un método de cría o cultivo para un insecto, un patógeno o una maleza, en lo cual es consustancial la experimentación por “prueba y error”.

Pero lo lamentable es que generalmente esa información —incluso escondida con discreción y sonrojo por algunos, como se hace con la basura bajo la alfombra— casi nunca circula, permaneciendo como literatura “gris”, cuando mucho dentro de los informes de investigación archivados en las instituciones donde laboran sus autores. No obstante, ¿cuánto esfuerzo habrían ahorrado los investigadores de otras instituciones y países, si hubieran conocido en detalle esos supuestos fracasos? Por eso, desde hace mucho he pensado que debieran existir revistas exclusivas para publicar información malograda, ya que en las revistas formales se acepta únicamente lo que se considera como hallazgos científicos meritorios.

Sin embargo, pensando en que podría haber opciones intermedias, fue como se nos ocurrió crear la sección de ***Experiencias*** en nuestra revista, pues representa una oportunidad única para sistematizar el trabajo de varios años sobre un mismo tema, incluyendo las dificultades y fracasos antes aludidos. No cabe duda de que el acervo de información compendiada en los artículos de dicha sección normalmente deja valiosas enseñanzas a investigadores, estudiantes, extensionistas y hasta productores, lo cual explica la favorable acogida que ha tenido desde su creación en junio de 2001.

Valgan entonces estas palabras para invitar a nuestros lectores y colegas a colaborar con artículos de esta naturaleza, con la certeza de que aprendiendo de los errores y las experiencias fallidas, se puede avanzar más rápidamente en el desarrollo de los conceptos, tecnologías y sistemas de producción requeridos por los productores de nuestro continente.



Dr. Luko Hilje  
Director

Revista *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*



## Adelaida Chaverri: ecóloga de tierras altas, conservacionista genuina<sup>1</sup>

Maarten Kappelle<sup>2</sup>  
Antoine M. Cleef<sup>3</sup>

### Una pérdida para la ciencia y la conservación

La noticia del fallecimiento de Adelaida Chaverri Polini, nacida el 21 de mayo de 1947, ha conmocionado al mundo científico en América Latina, Norteamérica y Europa. Es una pérdida irremplazable para la ciencia de los bosques montanos y los pastizales del páramo alpino en el Neotrópico, puesto que ella sobresalió por su conocimiento y experiencia en estos frágiles ecosistemas de altura en Costa Rica, como resultado de su incansable entusiasmo por visitar estos sitios remotos, conducir investigación laboriosa en sus hábitats, y dar presentaciones sobre su ecología compleja y su manejo sostenible.

Sus hijos, Andrés y Catalina, fueron una fuente de gozo y motivación para seguir trabajando, en condiciones difíciles, a favor de la conservación de los tesoros en las elevaciones naturales en la Cordillera de Talamanca de Costa Rica, hasta que entró en los últimos y difíciles meses y semanas de su vida que, triste y muy prematuramente, terminó el 20 de setiembre de 2003. Llevaba años luchando contra su enfermedad sin querer rendirse: había tanto por hacer para asegurar la supervivencia de la biodiversidad de las montañas de Costa Rica, tanto en las poblaciones rurales como en las urbanas. Ella fue una naturalista en el sentido tradicional, motivada por su intuición y la voluntad innata de ayudar a salvaguardar la riqueza biológica necesaria para que la humanidad sobreviva en el largo plazo.

### Montañista de las zonas altas

En varias giras, Adelaida, una verdadera montañista y científica, condujo a numerosos científicos a la cumbre

del Cerro Chirripó (3819 msnm) —un pico del cual se enamoró— para conocer los majestuosos ecosistemas de altura, con su mezcla de flora y fauna tropical y templada. Explicó la naturaleza inmensa y la fragilidad extrema de estos hábitats, la alta incidencia del fuego durante las últimas tres décadas y el lento proceso de regeneración luego de las quemadas frecuentes que tanto le preocupaban.



Adelaida Chaverri Polini en la cumbre del Cerro Chirripó, Costa Rica. (Foto: cortesía de Alfonso Mata).

<sup>1</sup> Se agradece a Paulina Chaverri por facilitar la traducción.

<sup>2</sup> The Nature Conservancy, Apartado 230-1225, San José, Costa Rica. mkappelle@tnc.org

<sup>3</sup> Universidad de Ámsterdam, Kruislaan 318, 1098 SM, Ámsterdam, Holanda.

Estudió en la Universidad de Costa Rica, donde conoció a un eminente pionero de la ecología, y uno de sus tutores más importantes, Luis Fournier Origgi. También estudió en el exterior y recibió su bachillerato universitario en matemáticas en 1970, en el Bryn Mawr College de Pensilvania, Estados Unidos. Durante esos años conoció a quien fuera su marido (de quien se divorciaría más adelante), Christopher Vaughan Dickhaut, con quien pasó mucho tiempo estudiando la historia natural de las plantas y los animales en los bosques de bajura, altura y nubosos, así como en los páramos alpinos. Juntos tuvieron dos hijos, a quienes Adelaida, como académica y como madre, contagió su pasión por la vida silvestre, la belleza escénica natural y los deportes. Adelaida era una deportista genuina: practicaba carreras de resistencia, ciclismo de montaña, triatlón y buceo, compitiendo en numerosas ocasiones.

### Conservacionista de corazón

Conforme aumentaron su conocimiento y su experiencia, se dedicó y comprometió cada vez más con la causa de salvaguardar la naturaleza para las generaciones futuras. En los años setenta, contribuyó significativamente al movimiento ambientalista costarricense y ayudó a establecer, como co-fundadora, la Asociación para la Conservación de la Naturaleza (ASCONA), una organización ecologista que creó conciencia sobre una serie de problemas sobre la degradación ambiental y la contaminación, llevando a los tribunales a empresas acusadas de violar la legislación ambiental del país.

### Pionera de Corcovado

Como resultado de su participación en el movimiento ambiental del país, Adelaida y su entonces esposo Chris estuvieron al frente del establecimiento del Parque Nacional Corcovado en 1975, contribuyendo de forma significativa a la consolidación del Servicio Nacional de Parques (SPN). Junto con Karen Wessberg y Álvaro Ugalde, fueron los primeros en realizar visitas de reconocimiento científico al área de Corcovado en la Península de Osa, poco después del asesinato del esposo de Karen en 1974, un conservacionista *avant-la-lettre*, Nicholas Wessberg. El propósito de esta visita fue aprender sobre la singularidad de la biodiversidad del área y proponer un parque nacional para poder preservar el último tracto extenso de bosque lluvioso de bajura a lo largo de la costa pacífica de

Centroamérica. En los años ochenta, el sobresaliente botánico Al Gentry escribió a Larry Gilbert, uno de los líderes más destacados en investigación sobre bosque tropical, indicando que Corcovado era una de las áreas de bosque lluvioso tropical más conspicuas a nivel mundial, con particularidades específicas (árboles enormes, diversidad extrema) que no se encuentran en otros sitios, ni siquiera en la cuenca amazónica. Los esfuerzos de Adelaida y de sus compañeros conservacionistas lograron que, en 1975, The Nature Conservancy (TNC) ayudara a Costa Rica a obtener los 100000 acres necesarios para el Parque Nacional de Corcovado con una de las primeras adquisiciones de tierra apoyadas internacionalmente, de 86485 acres. La visión de Adelaida y, sobre todo, su persistencia para convencer a los políticos, contribuyeron significativamente al establecimiento de este parque, donde los jaguares y chanchos aún merodean en cantidades importantes y grupos de guacamayas circundan los cielos.

### En pro de la conservación de las tierras altas

En 1975, algunos líderes conservacionistas —entre ellos Mario Boza, Álvaro Ugalde y Sergio Salas— y un grupo del Club de Montañismo de la Universidad de Costa Rica —Adelaida, Christopher Vaughan, Roger Bourillon, Alfonso Mata y Jorge Moya— unieron esfuerzos para establecer el Parque Nacional Chirripó y conservar su belleza natural y riqueza biótica. Este grupo visitaba el área desde 1971. Habían visitado asentamientos vecinos con el propósito de concienciar a la población sobre la importancia de conservar este extraordinario lugar. Asimismo, lograron convencer a los diputados de la Asamblea Legislativa, quienes finalmente decretaron la creación del Parque en 1975.

Pero un año después, en 1976, un enorme incendio devastó una porción significativa del páramo de Chirripó. Adelaida, junto con sus colegas universitarios, entre ellos el taxonomista y etnobotánico Luis Poveda Álvarez, visitaron el área utilizando el sendero poco transitado del cerro Cuericí al Chirripó. Inventariaron el enorme daño que había ocurrido y los impactó el desafortunado final de una gran cantidad de plantas y animales. Como lo escribiera Adelaida en su diario, “algunos conejos no tuvieron oportunidad de escapar del fuego arrasador, muriendo y quedando carbonizados casi instantáneamente”. A partir de ahí, Adelaida se interesó por el estudio de la regeneración del páramo durante más de una década, sentando una sólida base para investigaciones futuras sobre incendios en páramos.



Uno de los estudios que Adelaida efectuó en el Parque Nacional Chirripó fue el de la sucesión de la vegetación después del incendio de 1976. Obsérvese el estado de la vegetación medida por Adelaida Chaverri y Rónald Guerrero un año después del incendio. (Foto: Christopher Vaughan, 1977).

En colaboración con Juan Bravo y Grace Solano, desarrolló el primer plan de manejo para el Parque Nacional Chirripó durante los años ochenta. Hasta la fecha, los administradores del parque lo utilizan como una base para el desarrollo de ecoturismo sostenible en el páramo del Chirripó, el sitio más alto, frágil y prístino en el sur de Centroamérica. Junto con otros especialistas, como su profesor y amigo Gerardo Budowski (con quien compartía una pasión por el ecoturismo), contribuyó al desarrollo del concepto de *ecoturismo sostenible*, en la medida en que los territorios de altura se convertían en sitios cada vez más visitados, sin conocimiento de los posibles daños que su visita podía causar a este frágil ambiente. Consciente de la necesidad de un conocimiento exhaustivo sobre la ecología por parte de los estudiantes de la Maestría en Estudios en Ecoturismo, impartió clases sobre esta materia en la Universidad Latinoamericana de Ciencia y Tecnología (ULACIT, en Costa Rica). Como una experta con conocimiento excepcional sobre la Reserva de la Biosfera Amistad, reconocida por la UNESCO como un sitio natural de Patrimonio Mundial, Adelaida fue invitada por el Smithsonian Institution en Washington, DC, para preparar una hoja de datos sobre esta área de conservación binacional para la

edición de un volumen del libro editado por S. Davis *et al.* y publicado en 1997, en Inglaterra, por el World Wide Fund for Nature (WWF) y la World Conservation Union (IUCN). Gracias a esta detallada publicación, el mundo científico empezó a comprender la magnitud de la riqueza biótica de Amistad, y los peligros específicos que amenazan actualmente su supervivencia en el largo plazo.

### Ciencia para la conservación

En 1979, Adelaida presentó su tesis de Maestría en el Centro de Agronomía Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) y la Universidad de Costa Rica. La tesis trataba sobre el desarrollo de un sistema de reservas biológicas privadas en Costa Rica, un tema de conservación extremadamente innovador, que desarrolló de manera minuciosa y exhaustiva. En la actualidad, este trabajo se sigue citando en informes técnicos y artículos científicos. Más tarde, amplió su ya extenso conocimiento en el Oxford Institute of Forestry, en la Universidad de Oregon; el Departamento de Botánica de la Universidad de la Florida en Gainesville; y en el Departamento Forestal de la Universidad de Georg-August, en Alemania. De hecho, nunca dejó de estudiar y considerar la vida como una experiencia

de aprendizaje continuo. También hizo varias visitas académicas a Holanda, donde trabajó en la biogeografía y la ecología de poblaciones de la flora y vegetación del páramo. Incluso había planeado obtener su doctorado en la Universidad de Ámsterdam, pero el curso inesperado que tomó su vida y su abrupto fin no permitieron la conclusión de su proyecto de tesis, ya avanzado.

### **La enseñanza como método de conservación**

Luego de dictar clases de ecología forestal, desde 1975, en la Escuela de Ciencias Ambientales (EDECA) de la Universidad Nacional de Costa Rica, durante los ochenta Adelaida se dedicó a ser profesora de tiempo completo. Era capaz de contagiar su pasión por su campo —no era una profesora de escritorio, sino más bien de estilo montañista, con barro en las botas— y sobre el estudio de la historia natural de nuestros “vecinos”, los organismos vivientes en los ambientes naturales.

Adelaida poseía un increíble conocimiento en materia de historia natural, ecología, y manejo forestal, y le enseñó a sus estudiantes a manejar el ambiente. Como naturalista inteligente, su manera de pensar era espiritual además de práctica: ni tecnocrática ni empresarial. Transmitió su vasto conocimiento en biodiversidad de áreas elevadas, ecología tropical y tierras silvestres protegidas a muchos estudiantes, entre ellos el director de la estación Estación Biológica Palo Verde, administrada por la Organización de Estudios Tropicales (OET), Eugenio González, y el dendrólogo internacionalmente reconocido y miembro de la Asamblea Legislativa de Costa Rica, Quirico Jiménez Madrigal. Otros excelentes discípulos que estudiaron bajo su guía fueron Geoffrey Venegas, Grace Sáenz y Lorena Orozco —actual funcionaria del CATIE—, quienes divulgaron el conocimiento sobre ecología forestal en el CATIE, contribuyendo al desarrollo de los estudios forestales en esta institución a través de su investigación de los robledales en un sitio cercano al pueblo de Villa Mills, en la Cordillera de Talamanca.

### **Investigación para el manejo sostenible**

Entre sus muchos logros, no solo encontramos la expansión significativa de la oferta curricular de la Universidad Nacional, sino también el fomento de las actividades de investigación en la Cordillera de Talamanca. Durante los años ochenta y principios de

los noventa, estableció, consolidó y dirigió el Programa de Ecología y Manejo de Vegetación de Altura (ECOMA), concentrándose en los bosques de robles y páramos en ese lugar. Su trabajo con los investigadores de EDECA, Wilberth Jiménez, Isabel Rojas, Ronald Miranda, Marielos Alfaro y Maarten Kappelle, fue crucial para impulsar las bases del conocimiento de la silvicultura en los ecosistemas de robledales, y convertirlos en planes estratégicos para su conservación. Bajo su guía y en el marco de ECOMA, se estableció una estación biológica y silvicultural de investigación en las montañas de Talamanca.

En este sitio, se inventarió, midió y monitoreó una serie de parcelas de una hectárea de bosque nuboso durante un número de años, para obtener una mejor comprensión de la estructura forestal y composición florística, así como del crecimiento de estos magníficos robles centenarios cargados de epifitas. Adelaida comprendió también la importancia de las micorrizas para la regeneración de los robles de montaña natural y se enfocó en este tema a lo largo de esos años. Su comprensión fue esencial para la restauración ecológica exitosa de estos frágiles bosques en los paisajes agroecológicos. A mediados de los años noventa, se involucró aún más en la investigación aplicada de la regeneración natural y dirigió sus estudios hacia plantaciones experimentales de especies de maderas nativas. Publicó varias ponencias sobre esta materia para fomentar el desarrollo de programas de reforestación sostenible utilizando especies maderables nativas. Como una consecuencia interesante, a fines de los noventa, el Ministerio del Ambiente y Energía (MINAE), representado por el Sistema Nacional de Áreas de Conservación (SINAC), junto con el Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio), decidió desarrollar en profundidad las instalaciones en el Área de Investigación Piloto en La Esperanza. Numerosas publicaciones de los hallazgos de Adelaida fueron el resultado de sus esfuerzos en investigación, a menudo en colaboración con otros expertos y organizaciones colaboradoras.

### **Fortalecer el movimiento conservacionista**

Adelaida se había convertido en una asociada distinguida y había ocupado el puesto de Vicepresidenta en el Centro Científico Tropical, una organización no gubernamental establecida en 1962 bajo la guía del eminente Leslie Renselaer Holdridge y su buen amigo Joseph Tosi. Fue cofundadora de la Reserva del Bosque

Tropical Nuboso Monteverde, hoy probablemente el bosque nuboso más visitado y estudiado del mundo. Más recientemente, Adelaida formuló un programa general de investigación para este prestigioso sitio. En las tierras bajas, en la Estación Biológica La Selva, Adelaida se involucró en las actividades de la OET, donde fungió como profesora invitada en cursos de ecología tropical en varias ocasiones (1978-1985). Durante muchos años, representó a la Universidad Nacional en la Junta Directiva de la OET. De manera similar, colaboró como consejera en la Junta Directiva Internacional de la Asociación de Biología Tropical.

### Una visión global para la acción local

Adelaida Chaverri se involucró en muchas otras organizaciones ambientales y foros, como su contribución científica a los *Informes del Estado de la Nación*, el Grupo de Apoyo Técnico establecido por el Consejo Nacional de Rectores, la Wildlife Conservation Society, y la UICN.

Otro ejemplo del interés de Adelaida en la acción ambiental es su dedicada participación en el Consorcio para Desarrollo Sostenible de la Ecorregión Andina (CONDESAN). En mayo-junio 2000, por ejemplo, este consorcio organizó una conferencia internacional sobre el ecosistema de páramo como una fuente vital de agua. Debido a su firme y rigurosa participación, la importancia y singularidad de los páramos de Costa Rica fueron reconocidos internacionalmente, particularmente en el norte de Sudamérica, donde se localizan las regiones de páramo más vastas del mundo.

Adelaida continuó publicando con rigor científico hasta el último momento. En 1998, en un reporte para la revista de la FAO *Unasylva*, argumenta claramente que la globalización no debe ser impulsada exclusivamente por razones de orden económico. Al mismo tiempo, no dejó de publicar artículos para el público costarricense en revistas de amplia distribución, como *Ciencias Ambientales y Agronomía Costarricense*.

### Los páramos: su amor de siempre

Adelaida aún tiene algunos capítulos en prensa de un libro sobre páramos de Costa Rica (se publicará en el 2005), editado por Maarten Kappelle y Sally P. Horn, y dedicado a Adelaida. El coautor de uno de los capítulos es su compañero de campo Oscar Esquivel Garrrote, también conocido como "Maestro" y uno de los amigos conservacionistas con quienes compartía su

amor por la grandeza de Chirripó. Este capítulo trata de la fragilidad del Parque Nacional Chirripó, sus problemas actuales de manejo causados por el elevado número de visitantes y una diversidad de actividades ilegales, como la quema y la caza. Más aún, presenta una lista de medidas que ella recientemente recomendó para ser desarrolladas por el personal administrativo, para disminuir los impactos negativos en el excepcional ambiente de Chirripó. El líder científico costarricense y director de la Estación Biológica Las Cruces y los Jardines Robert and Catherine Wilson, Luis Diego Gómez Pignatario, recientemente comentó que Adelaida no solo era excelente en sus estudios de la vegetación de páramo, sino que sobre todo ha cimentado una base histórica para investigaciones futuras en este campo, todavía poco estudiado en Costa Rica. Además, se encuentra en prensa su libro póstumo, titulado *El Parque Nacional Chirripó: Una Guía para Ecoturistas*, que se editará y publicará en el IN-Bio en el 2005.

### A la búsqueda de especies nuevas

Adelaida tenía una increíble red de amistades y colegas alrededor del mundo. Trabajó con científicos de numerosos países para revelar los secretos de los ecosistemas de altura de Costa Rica. Por ejemplo, en 1999, colaboró de cerca con James L. Luteyn, un taxónomo de plantas del New York Botanical Garden, para localizar la especie de ericoide *Macleania talamancensis*, extremadamente rara y novedosa para la ciencia, conocida solamente en el límite altitudinal del bosque de roble con el páramo en el Cerro Chirripó, la montaña favorita y adorada de Adelaida.

Diez años antes, describió la especie nueva y rara del hongo *Acaulospora splendida*, junto con su colega alemán Ewald Sieverding. En el boletín *Missouri Botanical Garden's Cutting Edge* (Volumen VII, Número 4, octubre 2000), el taxónomo Barry Hammel mencionó que él "...encontró un nuevo record para la flora mesoamericana que había pasado desapercibido durante 17 años. *Luzula vulcanica* Liebm. fue recolectado a 3775 metros de elevación en el flanco noreste del Cerro Chirripó, el pico más alto de Costa Rica, por Adelaida Chaverri en 1983 (1161, CR), y correctamente identificado el mismo año por Luis Diego Gómez. Ni Flora Mesoamericana (Vol. 6, 1994), ni la reciente monografía de Henrik Balslev (Flora Neotropica Monograph 68: 1-168, 1996) captaron este dato..." En efecto, Adelaida tenía un ojo especial para observar



Adelaida Chaverri y compañeros durante una visita a la casa de los Skutch, en la Finca Los Cusingos en Pérez Zeledón. En el orden usual, segunda fila: Raul Solórzano, Sra. de Skutch, el ornitólogo Alexander Skutch y José Tosi; primera fila: William Aspinal, Adelaida Chaverri y Manuel Ramírez. (Foto: cortesía de Alfonso Mata).

especies poco comunes y fenómenos ecológicos en las zonas de altitudes elevadas, dada la cantidad de veces que se introducía en el campo, alcanzando cada vez áreas más remotas.

### Nos queda su legado para el futuro

Estamos muy agradecidos con Adelaida, con sus logros, que han sido una espina dorsal de la preservación de bosques nubosos y de páramo y del uso sostenible en la Reserva de la Biosfera Amistad, en el corazón de las montañas de Talamanca, Costa Rica, uno de los sitios más biodiversos del país, y de alta prioridad para la conservación.

El en periódico *La Republica* del 7 de octubre de 2003, su amigo y colega universitario Luko Hilje Quiros, actual director de la revista *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, publicada por el CATIE, escribió que Adelaida había estado al borde de la muerte luchando contra el cáncer, en enero del 2002, "...pero que no había tiempo para morir, pues aún tenía muchas tareas pendientes y especialmente terminar su libro sobre la historia natural de Chirripó...".

Hemos perdido una renombrada ecóloga forestal, una profesora excepcional, una naturalista devota, una entusiasta montañista, una fuerte propulsora de la conservación de la naturaleza, y una gran amiga. Ella descansará en paz, y ojalá su legado continúe ins-

pirándonos en el respeto y la protección de las magníficas zonas de altura de la Cordillera de Talamanca, una de las últimas áreas grandiosas en nuestro planeta Tierra.

### Publicaciones de Adelaida Chaverri Polini (1947-2003)

- Alfaro, EA; Alvarado-Hernández, A; Chaverri-Polini, A. 2001. Cambios edáficos asociados a tres etapas sucesionales de bosque tropical seco en Guanacaste, Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 25(1): 7-20.
- Bravo-Chacón, J; Chaverri-Polini A; Solano, G. 1991. Plan de Manejo para el Parque Nacional Chirripó, Costa Rica. San José, CR, Instituto Geográfico Nacional - Universidad Nacional - Servicio de Parques Nacionales. 83 p.
- Chaverri-Polini, A; Vaughan-Dickhaut, C; Budowski, G; Menghi, O. Eds. 1976. Actas de la Reunión Centroamericana sobre el Manejo de Recursos Naturales y Culturales. World Conservation Union (IUCN). San José (Costa Rica) - Morges (Switzerland). 154 p.
- \_\_\_\_\_; Vaughan-Dickhaut, C; Poveda-Álvarez, LJ. 1976. Informe de la gira efectuada al macizo de Chirripó a raíz del fuego ocurrido en marzo de 1976. *Revista de Costa Rica* 11: 243-279.
- \_\_\_\_\_. 1979. Análisis de un Sistema de Reservas Biológicas Privadas en Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, Universidad de Costa Rica (UCR) - Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). 279 p.
- \_\_\_\_\_; Vaughan-Dickhaut, C; Poveda-Álvarez, LJ. 1979. Datos iniciales sobre la fragilidad de un páramo frente a los efectos de un fuego. In Wolda, H. ed. Simposio Internacional de Ecología Tropical (4, marzo 7-11, 1977). Resúmenes. Panamá. p. 7-11.
- \_\_\_\_\_; Jiménez-Marín, W. Eds. 1981. Antología para el Curso Ordenación de Areas Silvestres. Heredia, CR, Universidad Nacional. p. 1-289. (Serie de Ordenación de Areas Silvestres no. 3).
- \_\_\_\_\_. 1983. Herbivorismo de orugas de la familia Lasiocampidae sobre una especie de roble. *Brenesia* 21: 461-463.
- \_\_\_\_\_. 1984. Defoliación de encinos por larvas de *Dirphiopsis flora* (Lepidoptera: Saturniidae) en Loma Larga de Cartago, Costa Rica. *Ciencias Ambientales* 5-6: 85-90.
- \_\_\_\_\_. 1984. Un sistema de reservas biológicas privadas para Costa Rica. *Ciencias Ambientales* 5-6: 139-148.
- \_\_\_\_\_; Jiménez-Marín, W; Miranda-Chavarría, R; Rojas-Rodríguez, I. 1985. Importancia de la investigación forestal en las zonas boscosas de las tierras altas en Costa Rica. In Congreso Forestal Mundial (9, 1985, México, DF). Memoria. México. p. 1-11.
- \_\_\_\_\_. 1987. El papel de la ecología forestal en el manejo de los bosques tropicales. *Biocenosis* 3(3-4): 17-25.
- \_\_\_\_\_. 1991. El manejo de los bosques tropicales: una necesidad real. In Gracia-Bondia, J. ed. Congreso Ambiental de Costa Rica: El Deterioro Ambiental en Costa Rica, Balance y Perspectivas (1, 1991, Costa Rica). San José, CR, Editorial de la Universidad de Costa Rica. p. 45-54.
- \_\_\_\_\_. 1991. Ecology and management of vegetation in the montane forest belt in Costa Rica. *Dinamarca, Aarhus University, AAU Report* 31: 25.

- \_\_\_\_\_; Rojas-Rodríguez, I. 1991. La inoculación ectomicorrícica en plántulas de vivero en Costa Rica. *Uniciencia* 8(1-2): 49-56.
- \_\_\_\_\_. 1993. El manejo de los bosques tropicales: una necesidad real. *Ciencias Ambientales* 9: 69-80.
- \_\_\_\_\_; Hernández, O. 1995. Ecology and management in montane oak forests: an option for conserving biodiversity. In Churchill, SP; Balslev, H; Forero, E; Luteyn, JL. eds. *Biodiversity and Conservation of Neotropical Montane Forests*. New York, US, The New York Botanical Garden Press. p. 609-617.
- \_\_\_\_\_; Zamora-Cervantes, N; Zúñiga, E. 1995. Ensayo de germinación del lloró (*Cornus disciflora* D.C.) en San José de la Montaña, Heredia, Costa Rica. In Simposio sobre Avances en la Producción de Semillas Forestales en América Latina (1995, Managua, NI). Memorias. Turrialba, CR, CATIE. p. 179-186.
- \_\_\_\_\_. 1996. Bases ecológicas para el manejo forestal sostenible. *Uniciencia* 13: 73-79.
- \_\_\_\_\_. 1996. La regeneración natural en el manejo de los robledales de altura en Costa Rica. *Ciencias Ambientales* 12: 54-69.
- \_\_\_\_\_; Cleef, AM. 1996. Las comunidades vegetacionales en los páramos de los macizos del Chirripó y Buena Vista, Cordillera de Talamanca, Costa Rica. *Revista Forestal Centroamericana* 5(17): 44-49.
- \_\_\_\_\_; Herrera, B. 1996. Criterios e Indicadores para el Manejo Forestal Sostenible de los Bosques de Altura en Centroamérica. Technical report for the Comisión Centroamericana de Ambiente y Desarrollo (CCAD) and the Consejo Centroamericano de Bosques y Areas Protegidas (CCAB-AP) requested by FAO. San José, CR. 60 p.
- \_\_\_\_\_; Jiménez-Marín, W. 1996. Las tierras altas de la Cordillera de Talamanca, Costa Rica: Hacia un desarrollo sostenible? *Revista Forestal Centroamericana* 17: 11-17.
- \_\_\_\_\_; Herrera-Fernández, B; Herrera-MacBryde, O. 1997. La Amistad Biosphere Reserve: Costa Rica and Panama. In Davis, SD; Heywood, VH; Herrera-MacBryde, O; Villa-Lobos, J; Hamilton, AC. eds. *Centres of Plant Diversity: A Guide and Strategy for Their Conservation*. Cambridge, UK, World Wide Fund for Nature (WWF) – World Conservation Union (IUCN). v. 3, p. 209-214.
- \_\_\_\_\_; Zúñiga, E; Fuentes, A. 1997. Crecimiento inicial de una plantación mixta de *Quercus*, *Cornus*, *Alnus* y *Cupressus* en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 45(2): 777-782.
- \_\_\_\_\_. 1998. Las montañas, la diversidad biológica y su conservación. *Unasylva* 49(195): 47-54.
- \_\_\_\_\_; Zamora-Cervantes, N; Aguilar, N; Gutiérrez, J. 1998. Regeneración natural de especies nativas latifoliadas y de ciprés (*Cupressus lusitanica*) bajo una plantación de ciprés en San José de la Montaña, Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 22(1): 7-17.
- \_\_\_\_\_; Cerdas, M. 1999. Capacidad de carga, instrumento conceptual para el manejo de áreas protegidas. *Ciencias Ambientales* 16: 52-61.
- \_\_\_\_\_; Martínez, R; Juarrero, C; Castillo, H. 1999. Importancia, estado y perspectiva de la interpretación ambiental: los casos de Costa Rica y Cuba. *Ciencias Ambientales* 17: 25-36.
- \_\_\_\_\_. 2002. Las montañas, la diversidad biológica y su conservación. Santiago, CL, FAO, Boletín Informativo de los Programas Forestales Nacionales 6(13): 34-42.
- \_\_\_\_\_; Esquivel-Garrote, O. *s.f.* Conservación, visitación y manejo del Parque Nacional Chirripó, Costa Rica. In Kappelle, M; Horn, SP. eds. *Páramos de Costa Rica*. Santo Domingo de Heredia, CR, INBio. *En prensa*.
- \_\_\_\_\_. *s.f.* El Parque Nacional Chirripó: Una Guía para Ecoturistas. Heredia, CR, Universidad Nacional – INBio. *En prensa*.
- Cleef, AM; Chaverri-Polini, A. 1992. Phytogeography of the páramo flora of Cordillera de Talamanca, Costa Rica. In Balslev, H; Luteyn, JL. eds. *Paramo: an Andean ecosystem under human influence*. Londres, UK, Academic Press. p. 45-60.
- \_\_\_\_\_; Chaverri-Polini, A. *s.f.* Fitogeografía de la flora del páramo de Costa Rica. In Kappelle, M; Horn, SP. eds. *Páramos de Costa Rica*. Santo Domingo de Heredia, CR, INBio. *En prensa*.
- Jiménez-Marín, W; Chaverri-Polini, A. 1982. Algunas consideraciones taxonómicas, ecológicas y silviculturales de los robles (*Quercus* sp.), con énfasis en Costa Rica: una revisión de literatura. Heredia, CR, Universidad Nacional. p. 1-24. (Serie Ecología y Manejo de Vegetación de Altura no. 1).
- \_\_\_\_\_; Chaverri-Polini, A; Miranda-Chavarría, R; Rojas-Rodríguez, I. 1988. Aproximaciones silviculturales al manejo de un robledal (*Quercus* spp.) en San Gerardo de Dota, Costa Rica. *Turrialba* 38(3): 208-214.
- \_\_\_\_\_; Chaverri-Polini, A. 1991. Consideraciones ecológicas y silviculturales acerca de los robles (*Quercus* sp.). *Ciencias Ambientales* 7: 49-63.
- Kappelle, M; Cleef, AM; Chaverri-Polini, A. 1989. Phytosociology of montane *Chusquea-Quercus* forests, Cordillera de Talamanca, Costa Rica. *Brenesia* 32: 73-105.
- \_\_\_\_\_; Cleef, AM; Chaverri-Polini, A. 1992. Phytogeography of Talamanca montane *Quercus* forests, Costa Rica. *Journal of Biogeography* 19(3): 299-315.
- Miranda-Chavarría, R; Chaverri-Polini, A. 1986. Manejo de rebrotes de encino (*Quercus* cf. *seemannii* L.) en la región de Frailes de Desamparados, Costa Rica. In Simposio sobre Técnicas de Producción de Leña en Fincas Pequeñas y Recuperación de Sitios Degradados por Medio de la Silvicultura Intensiva. Resúmenes. Turrialba, CR, CATIE – IUFRO. p. 219-226.
- Rojas-Rodríguez, I; Chaverri-Polini, A. 1991. Prácticas de inoculación ectomicorrícica en plántulas de pino en viveros en Costa Rica. *Ciencias Ambientales* 8: 3-9.
- Sieverding, E; Chaverri-Polini, A; Rojas-Rodríguez, I. 1988. *Acaulospora splendida*, a new species in the Endogonaceae from Costa Rica. *Mycotaxon* 33(1-2): 251-256.
- Vaughan-Dickhaut, C; Chaverri-Polini, A. 1978. Analysis of root systems of some páramo species. In *Tropical Biology: An Ecological Approach*. Course 78-1. Durham, NC, US, Organization for Tropical Studies (OTS). p. 351-361.

## Una base agroecológica para el diseño de sistemas diversificados de cultivo en el Trópico

Miguel A. Altieri<sup>1</sup>  
Clara I. Nicholls<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Los sistemas diversificados de pequeña escala, que utilizan principalmente recursos locales y combinaciones complejas de los cultivos, son relativamente estables y productivos, y presentan rendimientos altos por unidad de trabajo y energía. Los policultivos complejos y los sistemas agroforestales practicados por pequeños productores tropicales imitan varios aspectos de la estructura y el funcionamiento de las comunidades naturales, como el reciclaje de nutrientes, resistencia al ataque de plagas, estructura vertical y altos niveles de biodiversidad.

Un enfoque agroecológico para mejorar los sistemas agrícolas pequeños en el Trópico debe asegurar que los sistemas y tecnologías que promueve sean apropiados para las condiciones ambientales y socioeconómicas específicas de los pequeños productores, sin incrementar su dependencia de insumos externos. Los proyectos de desarrollo agroecológico deberán incorporar elementos del conocimiento agrícola tradicional y la ciencia agrícola moderna, incluyendo sistemas que conserven los recursos y a la vez sean muy productivos, tales como los policultivos, la agroforestería, y los sistemas que integran cultivos y animales.

Resulta ecológicamente útil promover monocultivos mecanizados en áreas con una biota compleja, donde las plagas abundan durante todo el año y la lixiviación de nutrientes es un obstáculo considerable. En estos casos, es más ventajoso imitar los ciclos naturales en lugar de tratar de imponer ecosistemas simplificados en áreas donde son naturalmente complejos. Por esta razón, muchos investigadores creen que los ecosistemas sucesionales son modelos particularmente apropiados para el diseño de agroecosistemas tropicales sostenibles.

**Palabras clave:** agroecosistemas tropicales, biodiversidad, manejo de plagas, mimetismo de ecosistemas.

**ABSTRACT.** An agroecological basis for designing diversified cropping systems in the tropics. Small scale diversified systems, which rely mostly on local resources and complex crop arrangements, are reasonably productive and stable, exhibiting a high return per unit of labor and energy. Complex polycultures and agroforestry systems used by small tropical farmers mimic the structure and function of natural communities in many ways, therefore acquiring many features typical of such communities, such as tight nutrient cycling, resistance to pest invasion, vertical structure, and high levels of biodiversity.

An agroecological approach to improve tropical small farming systems must ensure that promoted systems and technologies are suited to the specific environmental and socio-economic conditions of small farmers, without increasing risk or dependence on external inputs. Rather, agroecological development projects should incorporate elements of traditional agricultural knowledge and modern agricultural science, featuring

resource-conserving yet highly productive systems such as polycultures, agroforestry, and the integration of crops and livestock.

It is ecologically futile to promote mechanized monocultures in areas of overwhelming biotic intricacy where pests flourish year-round and nutrient leaching is a major constraint. Here, it pays to imitate natural cycles rather than struggle to impose simplistic ecosystems on ones that are inherently complex. For this reason, many researchers think that successional ecosystems can be particularly appropriate templates for the design of sustainable tropical agroecosystems.

**Key words:** biodiversity, ecosystem mimicry, pest management, tropical agroecosystems.

<sup>1</sup> Division of Insect Biology, University of California, 201 Wellman Hall, Berkeley, California 94720, EUA. agroeco3@nature.berkeley.edu, nicholls@uclink.berkeley.edu

## Introducción

De todas las regiones donde se practica la agricultura, es en el Trópico donde más urgen los sistemas novedosos de producción. Esta región no se ha beneficiado significativamente de las tecnologías modernas que condujeron a una elevada productividad agrícola en las regiones templadas. La precipitación abundante y las altas temperaturas promueven la competencia de malezas, los brotes de plagas y la lixiviación de nutrientes que enfrentan constantemente las grandes plantaciones y los monocultivos anuales que cubren grandes extensiones de los Trópicos (Beets 1990).

En muchas regiones tropicales, la agricultura está muy mecanizada, lo cual conlleva la simplificación de la estructura ambiental de grandes extensiones, donde se reemplaza la diversidad natural por un número reducido de plantas cultivadas y animales domésticos. Predomina la homogeneidad genética, ya que los monocultivos dependen de unas pocas variedades de cultivos. Algunos investigadores han advertido repetidas veces acerca de la extrema vulnerabilidad asociada con la uniformidad genética, afirmando que la simplificación ecológica en la agricultura está estrechamente relacionada con los ataques de plagas (Adams *et al.* 1971, Robinson 1996). Muchos científicos argumentan que la drástica reducción en la diversidad de plantas cultivadas ha puesto en peligro la producción de alimentos en el Trópico. En vano, los productores han tratado de superar estas barreras bióticas aplicando grandes cantidades de fertilizantes y plaguicidas químicos, pero esta solución se ha visto limitada por el alto precio de los combustibles fósiles, y sobre todo por el contragolpe ecológico manifestado en externalidades ambientales y de salud significativas (Conway 1997).

Por otro lado, los pequeños agricultores —especialmente los que habitan ambientes marginales, ignorados por la modernización agrícola— no han recurrido a los agroquímicos para mantener su producción. Aunque las estimaciones varían considerablemente, aproximadamente 1,9 a 3,3 billones de agricultores rurales del mundo en desarrollo no han sido alcanzados directamente por las tecnologías agrícolas modernas. En su mayoría son campesinos, indígenas y pequeñas familias rurales, que siguen cultivando los valles y laderas de los paisajes rurales con métodos tradicionales o de subsistencia. Cerca de 370 millones de ellos son extremadamente pobres, y sus medios de subsistencia dependen de los ambientes marginales y

propensos al riesgo del Hemisferio Sur (Conway 1997). La mayoría de estas personas cultivan sistemas diversificados de pequeña escala, que dependen de recursos locales y de arreglos complejos de cultivos. Se ha demostrado que dichos sistemas son productivos y estables, y presentan un rendimiento elevado por unidad de trabajo y energía (Netting 1993). En Latinoamérica, por ejemplo, las unidades campesinas de producción alcanzaron los 16 millones a finales de los 80, ocupando cerca de 60,5 millones de hectáreas, o 34,5% del total de la tierra cultivada, aproximadamente 175 millones de hectáreas (De Grandi 1996). La población campesina incluye 75 millones de personas, casi dos tercios de la población rural latinoamericana (Ortega 1986). El tamaño promedio de estas unidades es de 1,8 ha, aunque la contribución de la agricultura campesina a la oferta general de alimentos en la región es considerable. En los 80, alcanzó aproximadamente el 41% de la producción agrícola para el consumo doméstico, y es responsable de la producción del 51% del maíz (*Zea mays*), 77% del frijol (*Phaseolus spp.*) y 61% de la papa (*Solanum tuberosum*) en la región.

En la búsqueda de alternativas para desarrollar agroecosistemas más sostenibles, varios investigadores han planteado que los agroecosistemas tropicales deberían imitar la estructura y el funcionamiento de las comunidades naturales (práctica seguida durante siglos por miles de agricultores indígenas), ya que estos sistemas exhiben un ciclaje de nutrientes bastante cerrado, resistencia a la invasión de plagas, estructura vertical y conservan la biodiversidad (Ewel 1986, Soule y Piper 1992).

Si se adopta este enfoque agroecológico, se debe garantizar que los sistemas y tecnologías que se promueven sean apropiados para las condiciones ambientales y socioeconómicas específicas de los pequeños agricultores, sin incrementar su dependencia de insumos externos. Los proyectos de desarrollo agroecológico deberían incorporar elementos del conocimiento agrícola tradicional y la ciencia agrícola moderna, incluyendo sistemas que conserven los recursos y a la vez sean productivos, tales como los policultivos, la agroforestería, y los sistemas que integran cultivos y ganado (Altieri 1995).

Se ha demostrado de manera contundente la futilidad ecológica de promover monocultivos mecanizados en zonas tropicales con una biología muy intrincada, donde las plagas abundan a lo largo del

año y la lixiviación de nutrientes es un problema serio (Browder 1989). Un enfoque más razonable sería imitar los ciclos naturales, en lugar de luchar por imponer la simplicidad agrícola en sistemas inherentemente complejos. Ewel (1986) afirma que los ecosistemas sucesionales pueden ser modelos particularmente apropiados para el diseño de agroecosistemas tropicales. Partiendo de esta idea y de las contribuciones de la agroecología moderna, este artículo brinda algunos principios para el diseño de agroecosistemas, con énfasis en el desarrollo de sistemas de cultivo que fortalezcan la captura de nutrientes y la resistencia a plagas, con el fin de reducir la vulnerabilidad de los ecosistemas y proveer estabilidad biológica y productividad.

### Comparando entre ecosistemas naturales y ecosistemas agrícolas

Muchos agroecólogos argumentan que mediante el estudio de las diferencias estructurales y funcionales entre sistemas naturales y agroecosistemas, es posible aprender mucho acerca de los procesos subyacentes que tornan los cultivos más vulnerables a insectos plagas, más dependientes de insumos externos, y más ineficientes en el uso de recursos locales (Carroll *et al.* 1990).

Los componentes principales de un agroecosistema son las plantas (y animales) seleccionadas, propagadas, cuidadas y cosechadas por los seres humanos. En comparación con los sistemas sin intervenir, la composición y estructura de los agroecosistemas son relativamente simples. La biomasa de plantas está dominada por un cultivo principal ubicado en un área con límites bien definidos.

El resultado final es un sistema artificial de monocultivo que requiere de una intervención humana permanente. La preparación comercial de camas de semillas y la siembra mecánica reemplazan los métodos naturales de dispersión de semillas; los plaguicidas químicos reemplazan los controles naturales de poblaciones de malezas, insectos y patógenos; y la manipulación genética reemplaza los procesos naturales de evolución y selección. Hasta la descomposición se altera, porque la fertilidad del suelo se mantiene por medio de fertilizantes, y no a través del reciclaje de nutrientes (Cox y Atkins 1974).

La manipulación humana y la alteración de ecosistemas con el propósito de establecer una producción agrícola hace que los agroecosistemas sean estructural y funcionalmente muy diferentes de los ecosistemas naturales (Cuadro 1). Los agroecosistemas son ecosistemas artificiales impulsados por energía solar, al igual que los ecosistemas naturales, de los cuales difieren en que (i) las fuentes auxiliares de energía son los combustibles procesados (junto con el trabajo humano y animal), no las energías naturales; (ii) el manejo humano reduce considerablemente la diversidad, con el fin de maximizar el rendimiento de ciertos productos; (iii) las plantas y los animales principales están bajo una presión de selección artificial, no natural; y (iv) el control es externo y motivado por determinados objetivos, en lugar de un control interno mediante la retroalimentación del subsistema, como en los ecosistemas naturales (Gliessman 1998).

Los siguientes procesos, que alteran la estructura y función de los ecosistemas, son los más significativos en relación con la inestabilidad de los monocultivos tropicales:

**Cuadro 1.** Diferencias estructurales y funcionales entre los agroecosistemas y los ecosistemas naturales.

Características	Agroecosistema	Ecosistema natural
Productividad neta	Alta	Media
Cadenas tróficas	Simple, lineales	Compleja
Diversidad de especies	Baja	Alta
Diversidad genética	Baja	Alta
Ciclos minerales	Abiertos	Cerrados
Estabilidad (resistencia)	Baja	Alta
Entropía	Alta	Baja
Control humano	Definido	Innecesario
Permanencia temporal	Corta	Larga
Heterogeneidad del hábitat	Simple	Compleja
Fenología	Sincronizada	Estacional
Madurez	Inmadura, sucesión temprana	Madura, clímax

Fuente: modificado de Gliessman (1998).

### **Simplificación del campo y el paisaje**

La agricultura reemplaza la flora y fauna original de grandes áreas, disminuyendo así la heterogeneidad del hábitat. Cuando persisten algunos parches de vegetación natural, se localizan en sitios inadecuados para la agricultura y su contribución a la estabilidad ecológica del área es mínima. A medida que se reduce la diversidad biológica, las estructuras tróficas tienden a simplificarse y muchos nichos quedan sin ocupar (Thies y Tscharrntke 1999). El riesgo de mayores invasiones y brotes catastróficos de plagas y enfermedades es considerable, a pesar de la utilización intensiva de insumos en la forma de agroquímicos.

Los monocultivos son ambientes poco favorables para los enemigos naturales de las plagas, debido a los altos niveles de perturbación y a la falta de infraestructura ecológica. La capacidad de los depredadores y parasitoides para controlar los invasores es menor en sistemas simplificados que en agroecosistemas diversificados (Landis *et al.* 2000). Muchos agroecólogos argumentan que debido a la baja diversidad estructural en los agroecosistemas, estos tienen poca resistencia en relación con los ecosistemas naturales.

### **Interrupción de la sucesión**

La agricultura impide la sucesión normal. Cada cultivo que se planta representa la primera etapa de una sucesión que no es persistente ni estable. El objetivo del cultivo es obtener la mayor cosecha posible. La interrupción constante mantiene el agroecosistema en las etapas tempranas de sucesión, donde se logra la mayor proporción de producción neta o biomasa cosechable. Para mantener un sistema de este tipo, los seres humanos deben asumir la responsabilidad de los costos de mantenimiento y regulación de los que normalmente se encargan los procesos naturales.

### **Plantas con menos defensas**

En los ecosistemas naturales, el ensamblaje de organismos es el resultado de la selección natural y la coevolución. Los agroecosistemas consisten de un ensamblaje no natural de especies seleccionadas y domesticadas por los seres humanos, y de una serie de especies oportunistas, nativas o importadas, que logran invadir el sitio. Estos dos grupos no se han integrado en un sistema estable a través del proceso de coevolución, y es frecuente que muchas especies

oportunistas se conviertan en malezas, plagas insectiles y enfermedades que el productor debe combatir.

A lo largo del proceso de domesticación de los cultivos, los humanos han tendido a seleccionar plantas con menos defensas químicas y morfológicas. Esta selección intensiva, para obtener plantas con crecimiento rápido y gran productividad, resultó en plantas que asignan menos recursos a su defensa. Obviamente, muchos cultivos comestibles siguen conteniendo cantidades significativas de compuestos secundarios tóxicos, pero la tendencia general es a la reducción gradual de esos químicos y de las características morfológicas que antes protegían a las plantas de los artrópodos herbívoros. Esto suele tornarlas más vulnerables que sus parientes silvestres, lo cual explica la creencia común de que hay más brotes de insectos en los agroecosistemas que en los ecosistemas (Altieri 1994). Además, el uso excesivo de fertilizantes químicos puede crear desbalances en los nutrientes de los cultivos, lo cual reduce aún más la resistencia a plagas insectiles (Luna 1998).

### **Ciclaje ineficiente de los nutrientes**

El reciclaje de nutrientes es mínimo en la mayoría de los agroecosistemas, donde el sistema pierde cantidades considerables de nutrientes en la cosecha o como resultado de la lixiviación o la erosión, causadas por la reducción en los niveles de biomasa del sistema. Los niveles menores de materia orgánica acumulada en el suelo y la actividad biológica reducida de los monocultivos son factores adicionales que explican la escasa fertilidad de los suelos en suelos tropicales desgastados y lixiviados. La frecuente exposición del suelo en los intervalos entre temporadas de cultivo también genera "fugas" de nutrientes. En lugar de utilizar nutrientes reciclados localmente, los productores dependen de nutrientes a base de petróleo para reemplazar las pérdidas (Magdoff y Van Ess 2000).

### **Construyendo a partir de la agricultura tradicional**

Muchos científicos agrícolas afirman que el punto de partida de la elaboración de nuevas propuestas para el desarrollo agrícola, orientadas hacia los pobres, son los sistemas que los agricultores tradicionales han desarrollado o heredado a lo largo de los siglos. Dichos sistemas agrícolas complejos, adaptados a las

condiciones locales, han ayudado a los pequeños productores a manejar de manera sostenible los ambientes hostiles y satisfacer sus necesidades de subsistencia sin depender de la mecanización, los fertilizantes químicos, los plaguicidas u otras tecnologías de la ciencia agrícola moderna (Denevan 1995).

La permanencia de millones de hectáreas bajo esquemas de agricultura tradicional en forma de terrazas, policultivos y sistemas agroforestales, entre otros, documenta una estrategia agrícola exitosa y constituye un tributo a la creatividad de los pequeños productores del mundo en desarrollo (Wilken 1997). Estos microcosmos de agricultura tradicional ofrecen modelos promisorios para otras áreas, porque promueven la biodiversidad, prosperan sin agroquímicos y producen durante todo el año. Se estima que aproximadamente 50 millones de individuos, pertenecientes a unos 700 grupos indígenas, habitan y utilizan las regiones tropicales húmedas del planeta. Alrededor de dos millones de ellos viven en el Amazonas y el sur de México (Toledo 2000). En ese país, la mitad de los trópicos húmedos son utilizados por comunidades indígenas y ejidos con sistemas integrados de agricultura y silvicultura, con fines de subsistencia y comercio en mercados locales.

Los sistemas agrícolas tradicionales suelen presentar una gran diversidad de plantas en patrones agroforestales o de policultivo (Gliessman 1998). Esta estrategia de minimizar el riesgo plantando varias especies y variedades estabiliza los rendimientos en el largo plazo, promueve la diversidad alimentaria y maximiza el ingreso, aun con niveles tecnológicos bajos y recursos limitados (Harwood 1979).

La mayoría de los sistemas campesinos son productivos, a pesar de que utilizan pocos insumos químicos. En general, el trabajo agrícola presenta un alto rendimiento por unidad de insumo. La tasa de retorno energético del trabajo en una finca campesina típica es lo suficientemente alta como para asegurar la continuidad del sistema. Además, este tipo de sistema presenta tasas de retorno favorables entre insumos y producción en términos energéticos. Por ejemplo, en las laderas mexicanas el rendimiento del maíz cultivado en sistemas manuales de roza y quema es de aproximadamente 1940 kg ha<sup>-1</sup>, con una proporción producción/insumos de 11:1. En Guatemala, sistemas similares producen cerca de 1066 kg ha<sup>-1</sup> de maíz, con una proporción de eficiencia energética de 4,84. Cuando se utiliza la tracción animal, los rendimientos no nece-

sariamente aumentan, pero la eficiencia energética disminuye a 3,11-4,34. Cuando se utilizan fertilizantes y otros agroquímicos, los rendimientos pueden aumentar hasta 5-7 Mg ha<sup>-1</sup>, pero la razón energética comienza a mostrar valores de ineficiencia (menos de 2,0) (Netting 1993).

En la mayoría de los sistemas de policultivos desarrollados por pequeños productores, la productividad en términos de materiales cosechables por unidad de área es mayor que la de un monocultivo sometido al mismo nivel de manejo (Francis 1986). Las ventajas en el rendimiento varían del 20 al 60%; además, estas se acumulan gracias a que aparecen menos plagas y hay un uso más eficiente de los nutrientes, el agua y la radiación solar.

No hay duda de que el conjunto de prácticas de manejo agrícola utilizadas por muchos productores de escasos recursos constituye una buena fuente para quienes buscan crear agroecosistemas novedosos, adaptables a las circunstancias agroecológicas y socioeconómicas de los pobres rurales. Los campesinos utilizan una variedad de técnicas, de las cuales muchas se ajustan bien a las condiciones locales. Dichas técnicas tienden a hacer un uso intensivo de su conocimiento más que de los insumos externos, pero es claro que no todas son eficaces o aplicables, por lo que se harían necesarias las modificaciones y adaptaciones del caso. El desafío en dichas modificaciones es mantener los fundamentos para que estén basadas en la racionalidad y el conocimiento campesino.

Un ejemplo de lo anterior es el esfuerzo por desarrollar alternativas a la roza, tumba y quema. La roza, tumba y quema es quizás uno de los mejores ejemplos de una estrategia ecológica para manejar la agricultura en el Trópico. Al mantener un mosaico de parcelas cultivadas y otras en barbecho, los agricultores capturan la esencia de procesos naturales de regeneración del suelo típicos de la sucesión ecológica. Sin embargo, estos sistemas están alcanzando su límite, por una variedad de razones. El comprender la base lógica de la tala y quema, un descubrimiento contemporáneo —el uso de abonos verdes— ha brindado una vía ecológica para la intensificación de la milpa en áreas donde los barbechos altos ya no son posibles debido al crecimiento poblacional, la escasez de tierra o la conversión de bosque a pastura.

En América Central, la experiencia muestra que los sistemas de maíz basados en *Mucuna pruriens* son relativamente estables y ofrecen rendimientos acepta-

bles (2-4 Mg ha<sup>-1</sup>) todos los años. En particular, este sistema parece disminuir significativamente el estrés causado por las sequías, ya que la capa de *mulch* ayuda a conservar la humedad del perfil del suelo. Como hay agua suficiente, hay una buena disponibilidad de nutrientes, sincronizada con las necesidades del cultivo. Además, *M. pruriens* reduce las malezas, ya sea porque evita físicamente su germinación y emergencia o durante el ciclo de *Mucuna*, o porque el enraizamiento poco profundo de las malezas en la interfase *mulch*-suelo facilita su control. Los datos muestran que este sistema, basado en el conocimiento local, que involucra la rotación anual continua de *M. pruriens* y maíz, puede mantenerse durante al menos 15 años con un nivel relativamente alto de productividad, sin deterioro aparente de la base de recursos naturales (Buckles *et al.* 1998).

Como ilustra el ejemplo anterior, se requiere un mayor conocimiento de la agroecología y etnología de los sistemas agrícolas tradicionales para desarrollar sistemas contemporáneos. Esto solo puede surgir de estudios integradores, que determinen la gran cantidad de factores que condicionan la forma en la cual los agricultores perciben su ambiente y, por consiguiente, cómo lo modifican, para luego traducir esa información a términos científicos modernos.

### El diseño de agroecosistemas de sucesión análogos

Como lo han hecho los agricultores tradicionales, las comunidades sucesionales naturales pueden usarse

como modelos para el diseño de agroecosistemas, porque presentan varias características valiosas para la agricultura: (i) elevada resistencia a la invasión y el ataque de plagas; (ii) gran retención de nutrientes del suelo; (iii) agrobiodiversidad abundante; y (i) un nivel razonable de productividad (Ewel 1999).

Como afirma Gliessman (1998), el mayor reto en el Trópico consiste en diseñar agroecosistemas que, por un lado, aprovechen algunos de los atributos beneficiosos de las etapas tempranas de la sucesión y, por el otro, incorporen algunas de las ventajas de un sistema que alcanza etapas más tardías de la sucesión. Solo una de las características ecológicas deseables de los agroecosistemas —una productividad primaria neta elevada— ocurre en las etapas tempranas del desarrollo sucesional (Cuadro 2); todas las demás se manifiestan en etapas posteriores del desarrollo, razón importante para crear agroecosistemas más permanentes, incorporando cultivos perennes.

### Principios ecológicos del diseño

1. *Aumentar la diversidad de especies*, ya que promueve un uso más completo de los recursos (nutrientes, radiación solar, agua, etc.), la protección contra plagas y el crecimiento compensatorio. Muchos investigadores han resaltado la importancia de varias combinaciones espaciales y temporales de plantas para facilitar el uso complementario de los recursos o brindar otras ventajas, como en el caso de las

**Cuadro 2.** Características ecológicas deseables de los ecosistemas en relación con el desarrollo sucesional.

Característica	Etapa sucesional			Beneficio para el ecosistema
	Temprana	Intermedia	Tardía	
Alta diversidad de especies		✓	✓	Menor riesgo de pérdida catastrófica de la cosecha
Alta biomasa total			✓	Una mayor fuente de materia orgánica en el suelo
Alta productividad primaria neta	✓			Mayor potencial para la producción de biomasa cosechable
Complejidad de las interacciones entre especies	✓	✓		Mayor potencial de control biológico
Ciclaje eficiente de nutrientes		✓	✓	Menor necesidad de insumos externos
Interferencia mutualista			✓	Mayor estabilidad; menor necesidad de insumos externos

Fuente: modificado de Gliessman (1998).

leguminosas que facilitan el crecimiento de cereales al suplirlos de una dosis extra de nitrógeno. El crecimiento compensatorio es otra característica importante, porque si una especie fracasa debido a las plagas o el clima, otra aprovechará los recursos disponibles. La combinación de cultivos minimiza el riesgo al crear la textura vegetativa que controla las plagas especialistas.

2. *Aumentar la longevidad* a través de la adición de plantas perennes con follaje abundante que brinde una cubierta permanente para proteger el suelo. La caída constante de las hojas permite la formación de materia orgánica y la circulación ininterrumpida de nutrientes. El establecimiento de plantas leñosas con sistemas radiculares densos y profundos constituye un mecanismo eficiente para la captura de nutrientes, que compensa las pérdidas por lixiviación.
3. *Establecer barbechos* para restituir la fertilidad del suelo a través de la acumulación de biomasa y la activación biológica, y para reducir las poblaciones de plagas agrícolas, interrumpiendo sus ciclos biológicos por la rotación de cultivos y barbechos.
4. *Incorporar más materia orgánica*, a través de la inclusión de leguminosas, plantas productoras de biomasa y la integración de animales. La acumulación de materia orgánica lábil y no lábil es crucial para activar la biología del suelo, mejorar su estructura y microporosidad, y aumentar sus nutrientes.
5. *Aumentar la diversidad del paisaje* estableciendo un mosaico de agroecosistemas, representativos de las distintas etapas sucesionales. El riesgo se diluye entre los distintos sistemas de cultivo. Se aprecia también un mejor control de plagas, ligado a la heterogeneidad espacial del paisaje.

### Opciones de manejo para imitar la sucesión natural

En un esquema de sucesión manejada, se imitan las etapas sucesionales naturales introduciendo plantas, animales, prácticas e insumos agrícolas que promueven el desarrollo de interacciones y conexiones entre los componentes del agroecosistema. Se plantan especies (cultivos y otros) que capturan y retienen nutrientes en el sistema y promueven el buen desarrollo del suelo. Estas plantas incluyen leguminosas, con sus bacterias fijadoras de nitrógeno, y plantas con micorrizas que capturan fósforo. Conforme se desarrolla el sistema, incrementando su diversidad, la complejidad de

sus cadenas tróficas y la cantidad de interacciones mutualistas, se alcanzan mecanismos de retroalimentación más eficaces para el manejo de plagas y enfermedades. Durante el proceso, se enfatiza el establecimiento de un agroecosistema complejo e integrado, con una menor dependencia de insumos externos.

Hay muchas maneras en las cuales un productor puede permitir que el desarrollo sucesional continúe después de las primeras etapas a partir de un campo de tierra recientemente cultivada y con suelo desnudo. Un modelo general consiste en comenzar por un monocultivo anual y progresar hasta un sistema con árboles perennes, como sigue (Gliessman 1998):

—*Año 1-2*: el agricultor comienza por plantar un solo cultivo anual de crecimiento rápido, que capture nutrientes del suelo, se pueda cosechar temprano y actúe como especie pionera en el proceso de desarrollo.

—*Año 3*: el paso siguiente (también puede ser el primero) consiste en plantar un policultivo de anuales representativo de los diferentes componentes de la etapa pionera. Las especies deben diferir en sus necesidades nutricionales, los insectos que atraen, la profundidad de sus raíces, y la proporción de biomasa que devuelven al suelo. Una de ellas podría ser una leguminosa fijadora de nitrógeno. Todas estas especies pioneras contribuirán al inicio del proceso de recuperación y podrían modificar el ambiente para que otras plantas y animales —especialmente los macro y microorganismos necesarios para desarrollar el ecosistema del suelo— puedan empezar la colonización.

—*Año 4*: tras la etapa de desarrollo inicial, pueden introducirse cultivos perennes de ciclo corto. Estos aprovecharán la cubierta del suelo creada por los cultivos pioneros y diversificarán el agroecosistema. Los sistemas radiculares más profundos, la mayor cantidad de materia orgánica almacenada en la biomasa en pie y la diversidad de hábitats y microclimas se combinan para que el desarrollo sucesional del agroecosistema progrese.

—*Año 5*: una vez mejoradas las condiciones del suelo, se le prepara para sembrar perennes de ciclo más largo, especialmente frutales o árboles, intercalados con anuales y perennes de ciclo corto. Mientras los árboles están en una etapa temprana del crecimiento, ejercen un efecto limitado sobre el ambiente que los rodea, a la vez que se benefician de los cultivos

anuales cercanos, porque las etapas tempranas de crecimiento suelen ser más susceptibles a la interferencia de malezas agresivas.

—*Año 6:* conforme crecen los árboles, se puede seguir cultivando anuales y perennes de ciclo corto entre ellos.

—*Año 7 en adelante:* una vez finalizado el desarrollo de los árboles, se alcanza el punto final del proceso. Esta última etapa está dominada por plantas leñosas, fundamentales para las capacidades regenerativas de los barbechos debido a sus sistemas radiculares profundos y permanentes.

Cuando se ha establecido el agroecosistema, la pregunta es cómo manejarlo. El agricultor dispone de tres opciones básicas:

- Retornar el sistema entero a las etapas tempranas de la sucesión introduciendo una perturbación considerable, como talar los árboles del sistema perenne. Muchas de las ventajas ecológicas obtenidas se perderán y el proceso deberá recomenzar desde el principio.
- Mantener el sistema como un agroecosistema de perennes o árboles.
- Reintroducir una perturbación al ecosistema de manera localizada y controlada, aprovechando las ventajas de la dinámica del sistema. Pueden limpiarse algunas áreas pequeñas, devolviéndolas a una etapa sucesional más temprana y permitiendo el cultivo de perennes y plantas de ciclo corto. Si la perturbación se hace con cuidado, el ecosistema del subsuelo se puede mantener en una etapa sucesional más tardía, mientras la superficie se dedica a especies altamente productivas que se pueden cosechar.

Un ejemplo de diseño sucesional de cultivos se encuentra en Costa Rica, donde se hicieron reemplazos temporales y espaciales de especies silvestres por cultivares con una botánica, estructura y ecología similar. Los miembros sucesionales del sistema natural, como *Heliconia* spp., curcubitáceas, *Ipomea* sp., leguminosas, arbustos, pastos y árboles pequeños fueron reemplazados por plátanos (*Musa* sp.), variedades de zapallo (*Curcubita*) y camote (*Dioscorea*). Entre el segundo y tercer año, los árboles de crecimiento rápido (*Bertholletia excelsa*, *Prunus persica*, *Palmae* y *Dalbergia nigra*) formaron un

estrato adicional, manteniendo así una cubierta permanente y evitando la degradación y la lixiviación, con una provisión de nutrientes a lo largo de todo el año (Ewel 1999).

### Estrategias de diversificación

En el proceso de emulación de la diversidad natural, hay varias estrategias posibles para restaurar la diversidad espacial y temporal del agroecosistema (Finch y Sharp 1976, Nair 1982, Francis 1986, Pearson e Ison 1987, Altieri 1994, Gliessman 1998):

1. *Rotación de cultivos:* la diversidad temporal, en forma de abonos verdes de leguminosas, se incorpora a los cultivos para proveer nutrientes y romper el ciclo de varios insectos plaga, enfermedades y malezas.
2. *Mezcla de variedades:* aumentar la diversidad genética en el campo mediante la introducción de mezclas de variedades y/o multilíneas incrementa la heterogeneidad genética, reduciendo la vulnerabilidad a enfermedades propia de los monocultivos.
3. *Policultivos:* los sistemas complejos, donde dos o más especies se siembran con la cercanía suficiente para que haya competencia o complementariedad, permiten que se incrementen los rendimientos y minimicen los riesgos.
4. *Sistemas agroforestales:* sistemas en los cuales los árboles se cultivan junto con cultivos anuales y/o animales; esto ofrece los beneficios de los cultivos perennes y fortalece las relaciones de complementariedad entre los componentes, mientras promueve un uso múltiple de los agroecosistemas.
5. *Cultivos de cobertura:* los rodales puros o mixtos de leguminosas u otras especies de plantas anuales bajo huertas de frutales permiten obtener una cobertura al suelo y mejorar su fertilidad, aumentar el control biológico de plagas y modificar el microclima del huerto.
6. *Incorporación de animales mediante la mezcla de cultivos y ganado:* fomenta una alta producción de biomasa y un reciclaje óptimo.

Todas las estrategias de diversificación mencionadas anteriormente comparten las siguientes características (Altieri 1995):

- a. Mantienen una cobertura vegetal abundante como medida eficaz para conservar suelo y agua, lo cual

se logra mediante las prácticas de labranza mínima, produciendo *mulch* y utilizando cultivos de cobertura y otros métodos apropiados.

- b. Proveen una oferta regular de materia orgánica al suelo mediante la adición de biomasa de plantas, estiércol, o compost, que fungen como fuente de nutrientes y energía para las poblaciones microbianas.
- c. Mejoran los mecanismos de reciclaje de nutrientes, utilizando sistemas basados en leguminosas, árboles y la incorporación de animales.
- d. Promueven la regulación de plagas, gracias a la mayor actividad de los agentes de control biológico que se obtiene al conservar los enemigos naturales y antagonistas de las plagas, mediante el establecimiento de una infraestructura ecológica asociada a los cultivos diversificados.

Los mecanismos que resultan en ecosistemas diversos más productivos están insertos en el proceso de facilitación. La facilitación ocurre cuando un cultivo modifica el ambiente de forma que beneficia un segundo cultivo; por ejemplo, cuando un cultivo baja la población de algún herbívoro, o libera nutrientes que pueden ser aprovechados por el segundo cultivo (Vandermeer 1989). La facilitación puede resultar en rendimientos abundantes aun cuando la competencia entre especies es significativa. Los efectos combinados o las sinergías de los ecosistemas complejos se comprenden mejor cuando examinamos los hallazgos sobre los efectos de la diversidad de plantas y la fertilidad del suelo sobre las poblaciones de insectos plagas.

#### Diversidad vegetal y brotes de plagas

Los experimentos que ponen a prueba la teoría de que una menor diversidad de plantas en los agroecosistemas conduce a una mayor abundancia de insectos herbívoros han demostrado que la combinación de una determinada especie de planta con el hospedante primario de un herbívoro especializado arroja un resultado relativamente consistente: los insectos plaga especialistas son más abundantes en los monocultivos que en los sistemas diversificados (Altieri y Letourneau 1982, Andow 1991).

Existen varios trabajos publicados acerca de los efectos de la diversidad de insectos dentro del hábitat (Altieri 1994). Se han propuesto dos hipótesis ecológi-

cas (la hipótesis del enemigo natural y la hipótesis de la concentración de recursos) para explicar por qué se pueden estabilizar las poblaciones de insectos en los agroecosistemas mediante la construcción de arquitecturas vegetales que promueven los enemigos naturales o inhiben directamente los ataques de plagas. En la literatura abundan los ejemplos de experimentos que documentan que la diversificación de sistemas de cultivos suele conducir a una reducción en las poblaciones de insectos. Andow (1991) examinó 150 artículos publicados que documentan el efecto de la diversificación de agroecosistemas sobre la abundancia de insectos examinando 198 especies en total. Cincuenta y tres por ciento de dichas especies fueron menos abundantes en el sistema más diversificado, 18% en el sistema diversificado, 9% no mostraron diferencia y 20% reportaron una respuesta variable.

Muchos de estos estudios han trascendido la fase de investigación, encontrando aplicaciones para el control de plagas específicas, como el lepidóptero barrenador del tallo (*Chilo partellus*) en África. Científicos investigadores del ICIPE (siglas en inglés del Centro Internacional de Fisiología y Ecología de Insectos) desarrollaron un sistema de manejo de hábitats que utiliza dos tipos de cultivos junto al maíz: uno que repele los barrenadores y otro que atrae sus enemigos naturales (Khan *et al.* 1998). Este sistema de rechazo y atracción se probó en 450 fincas en dos distritos de Kenya, y hoy en día se utiliza en los sistemas nacionales de extensión en África del Este. Los productores que lo adoptaron en Trans Nzoia reportan un aumento del 15 al 20% en el rendimiento del maíz. En el distrito semiárido de Suba —plagado por barrenadores y por la maleza parasítica *Striga* (Scrophulariaceae)—, se obtuvo un incremento sustancial en el rendimiento de leche en los últimos dos años, y los productores pueden mantener vacas lecheras con el forraje que producen. Cuando los productores siembran *Z. mays*, el pasto *Pennisetum purpureum* y *Leguminosae* juntos, obtienen 2,30 dólares por cada dólar invertido, comparados con 1,50 dólares obtenidos del maíz en monocultivo. Dos de los cultivos trampa más útiles para atraer los enemigos naturales del barrenador son los pastos *P. purpureum* y *Sorghum vulgare sudanese*, ambos importantes para forraje, que se plantan alrededor del maíz. Dos cultivos excelentes para repeler el barrenador, que se plantan entre las hileras de maíz, son el pasto *Melinis minutiflora*, que también repele las garrapatas, y la

leguminosa *Desmodium*, capaz de suprimir la maleza *Striga*, fijar nitrógeno y ser un forraje excelente. Como ventaja adicional, la venta de semilla de *Desmodium* está resultando ser una buena oportunidad para que las mujeres de la zona generen ingresos.

Es claro que tanto los datos empíricos como los argumentos teóricos sugieren que las diferencias en la abundancia de plagas entre sistemas simples y diversos puede explicarse por diferencias en el movimiento, colonización y comportamiento reproductivo de los herbívoros y por las actividades de los enemigos naturales. Las investigaciones sugieren, además, que cuanto más diversos sean los agroecosistemas y cuanto más tiempo esta diversidad permanezca ininterrumpida, más vínculos internos se desarrollan y habrá una mayor estabilidad (Altieri y Nicholls 1999). Este tipo de investigación es crucial para la gran mayoría de agricultores que dependen de complejos de depredadores y parásitos asociados a los sistemas mixtos de cultivo para controlar las plagas. Cualquier cambio en los niveles de diversidad de plantas dentro de esos sistemas puede conducir a cambios que originen una mayor dependencia de los pesticidas. Hacen falta más estudios para determinar los elementos que subyacen las combinaciones de plantas que repelen la invasión de plagas y favorecen los enemigos naturales.

### Suelos sanos, plantas sanas

Para los agricultores de escasos recursos, las estrategias de diversificación de cultivos deben complementarse con aplicaciones regulares de enmiendas orgánicas (residuos de cultivos, estiércol y compost) para mantener o mejorar la calidad y productividad del suelo. Aunque se trata de una práctica común de los pequeños agricultores tropicales, se sabe poco acerca de los efectos multifuncionales de las enmiendas orgánicas sobre otros componentes del agroecosistema, más allá de los efectos documentados del mejoramiento de la estructura y contenido de nutrientes de el suelo. Los abonos orgánicos y los compost bien preparados pueden ser fuente de sustancias que estimulan el crecimiento, tales como el ácido indol-3-acético y los ácidos fúlvicos y húmicos (Magdoff y Van Es 2000). Los efectos beneficiosos del ácido húmico en el crecimiento de las plantas son mediados por una serie de mecanismos, muchos de ellos similares a los que resultan de la aplicación directa de reguladores del crecimiento.

La capacidad de un cultivo para resistir o tolerar plagas está ligada a las propiedades químicas, físicas y biológicas del suelo. La humedad adecuada, buena textura del suelo, pH moderado, cantidades apropiadas de materia orgánica y nutrientes, y una comunidad diversa y activa de organismos del suelo contribuyen a la salud de las plantas. Los suelos ricos en materia orgánica suelen presentar una buena fertilidad, así como cadenas tróficas complejas y organismos benéficos que previenen la infección por organismos causantes de enfermedades, como *Pythium* y *Rhizoctonia*. Por otro lado, algunas prácticas agrícolas, como las aplicaciones frecuentes de nitrógeno fertilizante, pueden crear desbalances nutricionales y volver los cultivos más susceptibles a enfermedades causadas por *Pythium* y *Rhizoctonia*, además de estimular los brotes de homópteros, como los áfidos y cicadélidos (Campbell 1989). De hecho, cada vez hay más evidencias de que los cultivos que crecen en suelos orgánicamente ricos y biológicamente activos son menos susceptibles a los ataques de plagas. Muchos estudios sugieren que la susceptibilidad fisiológica de los cultivos a los insectos plaga y patógenos puede verse afectada por el tipo de fertilizante utilizado (orgánico frente a químico).

En la literatura abundan ejemplos de los beneficios de las enmiendas orgánicas que promueven los antagonistas y aumentan el control biológico de las enfermedades. Varias bacterias de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas*, así como el hongo *Trichoderma*, son antagonistas que suprimen patógenos a través de la competencia, lisis, antibiosis e hiperparasitismo (Palti 1981).

Los estudios que reportan la menor abundancia de insectos herbívoros en sistemas de bajos insumos adscriben dicha reducción en parte al bajo contenido de N en los sistemas orgánicos (Luna 1988). En Japón, la densidad del saltahojas *Sogatella furcifera* fue significativamente menor, mientras que las tasas de colonización de hembras adultas y de supervivencia de los estados inmaduros fue menor en el arroz orgánico. Consecuentemente, la densidad de ninfas y adultos en las generaciones siguientes disminuyó en los campos orgánicos (Kajimura 1995). En Inglaterra, los campos convencionales de trigo (*Triticum aestivum*) presentaron una mayor infestación del áfido *Metopolophium dirhodum* que sus contrapartes orgánicas. Este cultivo mostró también mayores niveles de aminoácidos libres en sus hojas en el mes

de junio, que se cree resultaron de una aplicación de nitrógeno en abril. Sin embargo, la diferencia en las poblaciones de áfidos en ambos cultivos se atribuyó a la respuesta del áfido a las proporciones relativas entre ciertos aminoácidos no proteicos y aminoácidos proteicos presentes en las hojas en el momento de la llegada de los áfidos (Kowalski y Visser 1979). En los experimentos de invernadero, las hembras del barrenador del maíz *Ostrinia nubilalis* ovipositaron una cantidad significativamente mayor de huevos en plantas fertilizadas con químicos que con fertilizantes orgánicos (Pelan *et al.* 1995).

Estos hallazgos tienen una importancia fundamental para los agricultores de escasos recursos en las zonas tropicales, como los de Cakchiquel y Patzum (Guatemala), que han sufrido mayores infestaciones de plagas (áfidos y *Helicoverpa* spp.) desde que abandonaron la fertilización orgánica y adoptaron fertilizantes sintéticos (Morales *et al.* 2001). Muchos agricultores que se están modernizando podrían enfrentar problemas similares debido al mayor uso de fertilizantes, que puede ocasionar desbalances en la agroecología de sistemas agrícolas específicos.

### Conclusiones

La innovación tecnológica en los Trópicos se ha caracterizado por la transferencia de sistemas agrícolas de las regiones templadas, sin la consideración debida a su pertinencia ecológica. El monocultivo (cultivos extensivos y grandes plantaciones) es básicamente una herencia de los tiempos coloniales, que sigue teniendo provecho económico en el corto plazo, pero que en el largo constituye una insensatez ecológica. Llegó el momento de utilizar los principios ecológicos como parte de los criterios para el diseño de agroecosistemas, reemplazando lo que se ha convertido en un proceso de toma de decisiones estrictamente económico por uno que tome en cuenta nociones ecológicas y, especialmente, las perspectivas de los agricultores locales (Vandermeer 1995).

Un desafío considerable consiste en aplicar estas nociones al diseño de agroecosistemas nuevos, utilizando la naturaleza como modelo. Estas imitaciones, al igual que el modelo natural, pueden ser productivas, resistentes a las plagas y conservadoras de nutrientes y otros recursos y, consecuentemente, más eficientes y menos riesgosas para los agricultores, especialmente los campesinos más pobres. Como se ha

discutido, una estrategia clave para una agricultura tropical sostenible consiste en reincorporar la diversidad al paisaje agrícola y manejarlo lo más eficazmente posible. Las propiedades ecológicas emergentes se desarrollan en agroecosistemas diversificados que permiten al sistema funcionar de manera que se mantenga la fertilidad del suelo, se promueva la regulación de plagas y permita una productividad sostenible.

Las relaciones entre la diversidad de especies y la estabilidad ecosistémica no son simples. Aparentemente, las características funcionales de las especies componentes son tan importantes como el número de especies. Estudios recientes con pasturas concluyen que los papeles funcionalmente diferentes desempeñados por muchas plantas son tan relevantes como el número total de especies al determinar los procesos y servicios de los ecosistemas (Tilman *et al.* 1996). Es mucho más sencillo imitar procesos específicos del ecosistema que tratar de duplicar la naturaleza en toda su complejidad. Todo lo que se necesita es seleccionar el tipo de diversidad adecuado (agregando una o dos especies de plantas) para alcanzar una resistencia a herbívoros, y una mayor productividad y disponibilidad de nutrientes.

La mayor limitante para promover el uso de agroecosistemas ricos en especies es que estos son difíciles de manejar. El mayor desafío al manejar un sistema sucesional consiste en aprender a introducir perturbaciones de forma que estimulen la productividad del sistema por un lado, y provean resistencia al cambio y la variación por el otro. Esto se puede lograr de varias maneras, dependiendo de las condiciones ambientales locales, la estructura de los ecosistemas naturales maduros normalmente presentes, y la posibilidad de mantener las modificaciones en el largo plazo.

Algunos autores argumentan que hay una relación proporcional entre alta diversidad y poco rendimiento, y que los agricultores siempre deberán escoger entre sistemas con poco riesgo y poca productividad y sistemas de alto riesgo y alta productividad. Según Ewel (1986), los mismos atributos que hacen que los agroecosistemas diversos sean atractivos parecen tener costos biológicos incompatibles con el alto rendimiento.

La literatura está algo dividida en este aspecto, aunque un número considerable de autores señala las ventajas de alto rendimiento de los policultivos y la multifuncionalidad de las fincas pequeñas y diversificadas (Francis 1986, Vandermeer 1989). La misma

práctica de millones de pequeños agricultores tropicales que favorecen los policultivos, la agroforestería y la diversificación le otorga credibilidad a un enfoque más agroecológico. No obstante, la tarea para los agroecologistas del Trópico será diseñar agroecosistemas complejos que puedan sostener productos cosechables y funciones ecológicas.

Dado el rango de circunstancias económicas y ecológicas, es posible que, para agricultores con capital y acceso a insumos, una rotación simple o un intercultivo sea suficiente para solucionar sus problemas puntuales. Para agricultores pobres, donde el fracaso de una cosecha sería intolerable, los agroecosistemas diversificados son la mejor opción. Cualquiera que sea el sistema preferido, la diversidad será valiosa en agroecosistemas de gran escala y para pequeños agricultores, por una serie de razones (Altieri 1994, Gliessman 1998):

- Conforme aumenta la diversidad, aumentan también las oportunidades para la coexistencia y las interacciones benéficas entre especies que pueden incrementar la sostenibilidad del agroecosistema.
- Una mayor diversidad suele permitir una mayor eficiencia en el uso de los recursos del agroecosistema. Hay una mejor adaptación en el nivel de sistema a la heterogeneidad del hábitat, lo cual conduce a una complementariedad de las necesidades de las especies, diversificación de nichos, traslape de especies nicho y asignación de recursos.
- Los ecosistemas donde las plantas están mezcladas poseen una resistencia asociada a los herbívoros. Al igual que en los sistemas diversificados, hay una mayor abundancia y diversidad de enemigos naturales de los insectos plaga, manteniendo las poblaciones de especies individuales de herbívoros bajo control.
- El ensamblaje diversificado de los cultivos puede crear diferentes microclimas entre los sistemas de cultivo, que pueden ser ocupados por una serie de organismos tales como depredadores, parasitoides, polinizadores, fauna del suelo y antagonistas, de gran importancia en el sistema agrícola.
- La diversidad del paisaje agrícola puede contribuir a la conservación de la biodiversidad alrededor de los ecosistemas naturales.
- La diversidad en el suelo puede tener un efecto importante sobre una gran variedad de servicios

ecológicos, tales como el reciclaje de nutrientes, la detoxificación de sustancias químicas nocivas y regulación del crecimiento de las plantas.

- La diversidad de cultivos puede reducir el riesgo de los agricultores, especialmente aquellos en áreas marginales con condiciones ambientales impredecibles. Si un cultivo falla, el rendimiento y la ganancia de los otros compensará la pérdida.

### Literatura citada

- Adams, MW; Ellingbae, AH; Rossineau, EC. 1971. Biological uniformity and disease epidemics. *BioScience* 21:1067-1070.
- Altieri, MA; Letourneau, DK. 1982. Vegetation management and biological control in agroecosystems. *Crop Protection* 1:405-430.
- \_\_\_\_\_. 1991. Ecology of tropical herbivores in polycultural agroecosystems. In Price, PW; Lewinshon, TM; Benson, WW. eds. *Plant-animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions*. New York, NY, US, John Wiley and Sons. p. 607-616.
- \_\_\_\_\_. 1995. *Agroecology: the science of sustainable agriculture*. Boulder, CO, US, Westview Press.
- \_\_\_\_\_. 1994. *Biodiversity and pest management in agroecosystems*. New York, NY, US, Haworth Press.
- \_\_\_\_\_. 1999. Applying agroecology to enhance the productivity of peasant farming systems in Latin America. *Environment, Development and Sustainability* 1:197-217.
- \_\_\_\_\_; Nicholls, CI. 1999. Biodiversity, ecosystem function and insect pest management in agricultural systems. In Collins, WW; Qualset, CO. eds. *Biodiversity in Agroecosystems*. Boca Raton, FL, US, CRC Press.
- \_\_\_\_\_; Letourneau, DK; Davis, JR. 1983. Developing sustainable agroecosystems. *BioScience* 33:45-49.
- Andow, DA. 1991. Vegetational diversity and arthropod population response. *Annual Review of Entomology* 36:561-586.
- Barbosa, P. 1998. *Conservation biological control*, San Diego, CA, US, Academic Press.
- Beets, WC. 1990. *Raising and sustaining productivity of smallholder farming systems in the Tropics*, Alkmaar, NL, AgBé Publishing.
- Browder, JO. 1989. *Fragile lands in Latin America: strategies for sustainable development*. Boulder, CO, US, Westview Press.
- Buckles, D; Triomphe, B; Sain, G. 1998. *Cover crops in hillside agriculture: farmer innovation with Mucuna*. Ottawa, CA, International Development Research Center.
- Campbell, R. 1989. *Biological control of microbial plant pathogens*. Cambridge, UK, Cambridge University Press.
- Carrol, CR; Vandermeer, JH; Rosset, PM. 1990. *Agroecology*. New York, NY, US, McGraw Hill.
- Conway, GR. 1997. *The doubly green revolution*. London, UK, Penguin Books.
- Cox, GW; Atkins, ND. 1974. *Agricultural ecology: an analysis of world food production systems*. San Francisco, CA, US, W.H. Freeman and Company.

- De Grandi, JC. 1996. El desarrollo de los sistemas de agricultura campesina en America Latina. Roma, IT, FAO. p. 83. (Serie Gestion de Sistemas de Explotacion Agricola no. 12).
- Denevan, WM. 1995. Prehistoric agricultural methods as models for sustainability. *Advances in Plant Pathology* 11:21-43.
- Ewel, JJ. 1986. Designing agricultural ecosystems for the humid tropics. *Annual Review of Ecological Systems* 17:245-71.
- \_\_\_\_\_. 1999. Natural systems as models for the design of sustainable systems of land use. *Agroforestry Systems* 45:1-21.
- Finch, CV; Sharp, CW. 1976. *Cover Crops in California Orchards and Vineyards*. Washington, DC, US, USDA Soil Conservation Service.
- Francis, CA. 1986. *Multiple cropping systems*. New York, NY, US, MacMillan Press.
- Gliessman, SR. 1998. *Agroecology: ecological processes in sustainable agriculture*. Ann Arbor, MI, US, Ann Arbor Press.
- Harwood, RR. 1979. *Small Farm Development – understanding and improving farm systems in the humid tropics*. Boulder, CO, US, Westview Press.
- Hendrix, PH; Crossley Junior, DA; Coleman, DC. 1990. Soil biota as components of sustainable agroecosystems. In Edwards, CA; Lal, R; Madden, P; Miller, R; House, G. eds. *Sustainable Agricultural Systems*. Ankeny, IA, US, Soil and Water Conservation Society.
- Kajimura, T. 1995. Effect of organic rice farming on planthoppers. *Population Ecology (Japan)* 37:219-224.
- Khan, ZR; Ampong-Nyarko, K; Hassanali, A; Kimani, S. 1998. Intercropping increases parasitism of pests. *Nature* 388:631-632.
- Kowalski, R; Visser, PE. 1979. Nitrogen in a crop-pest interaction: cereal aphids. In Lee, JA. ed. *Nitrogen as an ecological parameter*. Oxford, UK, Blackwell Scientific Publications. p. 67-74.
- Landis, DA; Wratten, SD; Gurr, GA. 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology* 45:175-201.
- Liebman, M; Ohno, T. 1998. Crop rotation and legume residue effects on weed emergence and growth: implications for weed management. In Hatfield, JL; Stwert, BA. eds. *Integrated weed and soil management* Ann Arbor, MI, US, Ann Arbor Press. p. 181-221.
- Luna, J. 1998. Influence of soil fertility practices on agricultural practices on agricultural pests. Scientific Conference (4). Proceedings. Global perspectives in agroecology and sustainable agricultural systems. Eds. P Allen; DVan Dusen. Santa Cruz, CA, US, International Organic Agriculture Movements (IFOAM). p. 589-600.
- Magdoff, F; Van Es, H. 2000. *Building soils for better crops*. Beltsville, MD, US, Sustainable Agriculture Networks. p. 230.
- Morales, H; Perfecto, I; Ferguson, B. 2001. Traditional soil fertilization and its impact on insect populations in corn. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 84:145-155.
- Nair, PKR. 1982. *Soil Productivity Aspects of Agroforestry*. Nairobi, KE, ICRAF.
- Netting, R. 1993. *Smallholders, householders : farm families and the ecology of intensive, sustainable agriculture*, Stanford, CA, US, Stanford University Press.
- Norman, MJT. 1979. *Annual cropping systems in the tropics*. Gainesville, FL, US, University Presses of Florida.
- Ortega, E. 1986. *Peasant agriculture in Latin America*. Santiago, CL, Joint ECLAC-FAO Agriculture Division.
- Palti, J. 1981. *Cultural practices and infectious plant diseases*. New York, NY, US, Springer.
- Pearson, CJ; Ison, RL. 1987. *Agronomy of grassland systems*. Cambridge, UK, Cambridge University Press.
- Phelan, PL; Maan, JF; Stinner, BR. 1995. Soil fertility management and host preference by European corn borer on maize: a comparison of organic and conventional farming. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 56:1-8.
- Pretty, JN. 1994. *Regenerating Agriculture*. London, UK, Earthscan Publications Ltd.
- Reijntjes, C; Haverkort, B; Waters-Bayer, A. 1992. *Farming for the future: an introduction to low-external-input and sustainable agriculture*. London, UK, MacMillan Press Ltd.
- Richards, P. 1985. *Indigenous agricultural revolution*. Boulder, CO, US, Westview Press.
- Robinson, RA. 1996. Return to resistance: breeding crops to reduce pesticide resistance. Davis, CA, US; AgAccess.
- Soule, JD; Piper, JK. 1992. *Farming in nature: a image*. Washington, DC, US, Island Press.
- Sumner, DR. 1982. Crop rotation and plant productivity. In Rechcigl, M. ed. *Handbook of Agricultural Productivity*. Boca Raton, FL, US, CRC Press. v 1.
- Thies, C; Tscharnitke, T. 1999. Landscape structure, and biological control in agroecosystems. *Science* 285: 893-895.
- Tilman, D; Wedin, D; Knops, J. 1996. Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature* 379:718-720.
- Toledo, VM. 2000. *La Paz en Chiapas: ecología, luchas indígenas y modernidad alternativa*. Distrito Federal, MX, Ediciones Quinto Sol.
- Vandermeer, J. 1989. *The ecology of intercropping*. Cambridge, UK, Cambridge University Press.
- \_\_\_\_\_. 1995. The ecological basis of alternative agriculture. *Annual Review of Ecological Systems* 26:201-224.
- Wilken, GC. 1987. *Good farmers: traditional agricultural resource management in Mexico and Guatemala*. Berkeley, CA, US, University of California Press.

# Seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de *Bemisia tabaci* biótipo B

Elizabeth Quisberth Ramos<sup>1</sup>  
Sérgio Batista Alves<sup>1</sup>  
Clarice G.B. Demétrio<sup>2</sup>  
Silvano Cesar da Costa<sup>2</sup>

**RESUMEN.** Se evaluó la actividad patogénica de cepas de *Beauveria bassiana* (25), *Metarhizium anisopliae* (7), *Paecilomyces* spp. (11) y *Verticillium lecanii* (1) en el control de *Bemisia tabaci* biotipo B. Los experimentos fueron realizados en condiciones controladas (25±0,5 °C, 80±5% HR y 12:12 L:D). Se utilizaron hojas de soya infestadas con ninfas de tercer instar, inoculadas con 2 mL de la suspensión (10<sup>7</sup> conidios/mL), aplicada por medio de una torre de Potter (15 lb pol<sup>2</sup>). Todas las cepas fueron patogénicas para las ninfas, causando entre 10 y 89% de mortalidad. Sin embargo, las cepas 447 y 969 (*B. bassiana*), 1037, 816 y E9 (*M. anisopliae*), y CB144 (*Paecilomyces* spp.) alcanzaron 57, 59, 61, 89 y 48% de mortalidad, respectivamente. Fue posible concluir que los aislamientos E9, 1037 y 816 de *M. anisopliae* y las cepas 447 y 969 de *B. bassiana* constituyen opciones promisorias para el control microbiano de ninfas de mosca blanca biotipo B.

**Palabras clave:** *Metarhizium anisopliae*, control microbiano, mosca blanca, *Verticillium lecanii*, *Beauveria bassiana*.

**ABSTRACT. Selection of entomopathogenic fungi to control *Bemisia tabaci* biotype B.** Isolates of *Beauveria bassiana* (25), *Metarhizium anisopliae* (7), *Paecilomyces* spp. (11), and *Verticillium lecanii* (1) were evaluated for their pathogenicity against third instar nymphs of *Bemisia tabaci* biotype B. The experiment was conducted under controlled conditions (25±0,5 °C, 80±5% RH and 12:12 L:D). Soybean leaves were treated with 2 mL of conidial suspensions (10<sup>7</sup> conidia/mL), applied through a Potter Tower (15 lb/pol<sup>2</sup>). All the isolates were pathogenic to nymphs and caused from 10 to 89% of mortality. The most pathogenic isolates were *B. bassiana* 447 and 969, *M. anisopliae* 1037, 816 and E9, and *Paecilomyces* spp. CB144, causing 57, 59, 61, 68, 89 and 48% of mortality, respectively. Results indicate that *M. anisopliae* isolates E9, 1037 and 816, and *B. bassiana* isolates 447 and 969 are the most promising for the development of bioinsecticides to control silverleaf whitefly nymphs.

**Key words:** *Metarhizium anisopliae*, microbial control, silverleaf whitefly, *Verticillium lecanii*, *Beauveria bassiana*.

## Introdução

*Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B é uma praga que encontra-se amplamente distribuída nas regiões tropicais e subtropicais. Além da alta capacidade reprodutiva, apresenta grande capacidade de dispersão e elevado número de hospedeiros alternativos (Brown *et al.* 1995, Caballero 1996). Essas características, associadas ao desenvolvimento de linhagens resistentes a inseticidas têm favorecido o

aumento acelerado de populações dessa praga em casa-de-vegetação e campo, provocando perdas significativas de produção, tanto pelos danos diretos como indiretos (Byrne & Bellows 1991, Brown & Bird 1992, Brown *et al.* 1995).

A estratégia de utilização de fungos entomopatogênicos num programa de controle microbiano dessa praga envolve, como primeiro

<sup>1</sup> Departamento de Entomologia, Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz"-Universidade de São Paulo (ESALQ-USP), Piracicaba, Brasil. egramos501@hotmail.com

<sup>2</sup> Departamento de Estatística, ESALQ-USP, Piracicaba, Brasil.

procedimento, a fase de seleção de isolados quanto à sua patogenicidade e virulência. Estudos de seleção com os fungos *Aschersonia aleyrodis*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Verticillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, são importantes para viabilizar o uso desses microrganismos no controle do complexo *Bemisia* spp. (Fransen 1990, Landa *et al.* 1994, Vidal *et al.* 1997, Alves *et al.* 1998, Wraight *et al.* 2000, Vicentini *et al.* 2001). Neste estudo verificou-se a patogenicidade de 44 isolados de fungos entomopatogênicos contra ninfas de *B. tabaci* biótipo B.

### Material e métodos

**Ninfas 3<sup>o</sup> ínstar:** Ninfas de *B. tabaci* biótipo B foram usadas nos bioensaios originárias da colônia mantida na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (ESALQ-USP), em Piracicaba-SP, Brasil. Folhas de soja (*Glycine max*) foram infestadas naturalmente, com estes insetos e após 15 dias, foram transferidas para placas de Petri (15 x 2 cm). Para cada tratamento, foram feitas cinco repetições onde foram selecionadas ao acaso, 20 ninfas/folha/repetição. As placas, contendo os insetos, foram transferidas para câmara climatizada tipo (Biological Oxygen Demand) BOD (25±0,5 °C, 80±5% UR e 12 horas de fotofase).

**Fungos:** Foram utilizados 25 isolados de *Beauveria* sp., 11 de *Paecilomyces* spp., 1 de *V. lecanii* e 7 de *M. anisopliae*, isolados de diferentes espécies de insetos. A repicagem e multiplicação de cada isolado foi feita em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata+dextrose+ágar). Após a repicagem dos isolados, as placas foram transferidas para BOD onde foram mantidas por um período de 10 dias. Foram realizadas avaliações de viabilidade e contagem de conídios em câmara de Neubauer, para cada bioensaio.

A seleção dos isolados promissores foi feita em função da patogenicidade do fungo sendo selecionados aqueles que causaram mortalidade superior a 60%. O protocolo utilizado nos

experimentos foi semelhante, aos adotados por Landa *et al.* (1994), Wraight *et al.* (1998) e Ramos *et al.* (2000). As pulverizações foram realizadas com Torre de Potter, (15 libras/pol<sup>2</sup>) de pressão, utilizando-se alíquotas de 2 mL (0,2 µL/cm<sup>2</sup>) da suspensão contendo 10<sup>7</sup> conídios/mL.

As avaliações foram realizadas até o quinto dia após a inoculação, registrando-se a mortalidade diária de ninfas em cada folha. Para a confirmação da morte das ninfas pelo patógeno, os cadáveres foram lavados em álcool 70%, e transferidos para placas de Petri contendo ágar-água (1,5%) e foram mantidas em BOD durante sete dias (Fig. 1b).

**Análises estatística:** Os dados obtidos foram analisados usando-se um modelo de regressão binomial (Nelder & Wedderburn 1972) no programa SAS – Statistical Analysis System ( $P<0,05$ ). O cálculo da correção de mortalidade foi realizado utilizando a fórmula de Abbott (1925).

### Resultados e discussão

Durante a realização dos bioensaios, foi verificada grande quantidade de ninfas aderidas na mesma área da folha, dificultando a individualização das mesmas. Desta forma, optou-se pela utilização de pequenos grupos sobre as folhas de soja. Wraight *et al.* (1998), também verificaram este fato na seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de ninfas de *B. tabaci* biótipo B.

Os isolados utilizados nos ensaios de seleção apresentaram entre 95 a 100% de viabilidade, quando avaliados após 18 horas da inoculação em meio BDA. Os resultados de mortalidade das ninfas causados pelos 44 isolados distribuídos e analisados separadamente em oito bioensaios contam nas Tabela 1 a 3. Na Tabela 1 encontram-se os resultados para o ajuste do modelo binomial padrão. Pode-se observar que existem evidências de superdispersão para todos os bioensaios.

Usando-se os gráficos do tipo meio-normal com envelope simulado (Hinde & Demétrio 1997) foi

**Tabela 1.** “Deviances” residuais do modelo binomial padrão.

	Bioensaios							
	1	2	3	4	5	6	7	8
“Deviances”	89,06	86,67	111,36	143,94	72,12	119,67	70,63	78,55
Graus de liberdade	24	28	44	28	24	28	24	28

possível constatar que o modelo com fator de heterogeneidade ajustou-se bem a todos os ensaios. Com base em contrastes de tratamentos dois a dois foram, então, feitos testes para agrupamentos ( $\alpha = 0,05$ ) e os resultados estão apresentados na Tabela 2. Os grupos formados de tratamentos constam na Tabela 3.

A Tabela 3 apresenta as proporções de mosca-branca mortas observadas e os tratamentos de cada bioensaio. A testemunha dos bioensaios 2 e 3, foram retiradas da análise, pois interferiam no processo de convergência e seu valor observado é nulo.

No primeiro bioensaio os isolados 1248 e 1261 de *B. bassiana* e 1200 de *P. fumosoroseus* causaram entre 14 a 31% mortalidade, foram semelhantes ao padrão 447 (52%) diferindo significativamente da testemunha e por sua vez os isolados 1261 (*B. bassiana*) e 1125 de *P. lilacinus* tiveram comportamento igual a testemunha com mortalidades entre 6 e 14%. No segundo bioensaio, o isolado 1249 (*B. bassiana*) que causou 25% de mortalidade foi semelhante ao 447 (*B. bassiana*) com 56% de mortalidade, sendo mais patogênico aos demais. Os isolados 1195, 1246, 1255, 1250 e 1252 de (*B. bassiana*) causaram mortalidades variáveis de 2 a 12% e não diferiram da testemunha. Dados de mortalidade

média obtidos no terceiro bioensaio, mostraram que houve diferença estatística significativa entre o padrão 447 (*B. bassiana*) que provocou 72% de mortalidade em *B. tabaci* e os isolados 1211, 1219, 1213, 1245, 1210, PL61 (*B. bassiana*), 972 (*V. lecanii*), 1233 (*Beauveria* sp.), 1253 e 1232 (*Paecilomyces* sp.) que causaram mortalidades variáveis entre 1 e 16%. Todos os isolados tiveram comportamento semelhante e não diferiram da testemunha, sendo considerados pouco patogênicos para as ninfas. No quarto experimento a porcentagem média de mortalidade do isolado padrão 447 (*B. bassiana*) foi de 50%, enquanto que os demais isolados 1145 (*P. lilacinus*), 1240, PL63, 1202 e 1208 de (*B. bassiana*) apresentaram o mesmo comportamento observado na testemunha com mortalidades variando entre 12 a 31% (Tabela 3).

No quinto experimento não houve diferença significativa entre os isolados 1037 e E9 de *M. anisopliae* (61 e 89% de mortalidade) e o padrão *B. bassiana* (447). Os isolados 1207 e 1197 de *B. bassiana* causaram mortalidades de 25 e 26% diferindo dos isolados de *M. anisopliae*. Todos os tratamentos diferiram da testemunha. No sexto bioensaio, todos os isolados 969 (*B. bassiana*), 908 (*Beauveria* sp.), 623

**Tabela 2.** Teste F para agrupamento de tratamentos e estimativa do fator de heterogeneidade.

	Bioensaios							
	1	2	3	4	6	7	8	
Entre grupos	14,61 <sup>z</sup> (1)	31,31 <sup>z</sup> (1)	69,62 <sup>z</sup> (1)	6,67 <sup>z</sup> (2)	26,03 <sup>z</sup> (1)	31,45 <sup>z</sup> (2)	21,93 <sup>z</sup> (2)	
Desvios	0,16 (4)	0,08 (5)	0,34 (9)	0,22 (4)	0,31 (5)	0,43 (3)	0,58 (4)	
Tratamentos	6,75 <sup>z</sup> (5)	9,26 <sup>z</sup> (6)	9,37 <sup>z</sup> (10)	2,89 <sup>z</sup> (6)	4,82 <sup>z</sup> (6)	11,70 <sup>z</sup> (5)	7,77 <sup>z</sup> (6)	
$\hat{\sigma}$	3,33 (4)	2,67 (28)	2,32 (44)	4,75 (28)	3,86 (28)	2,62 (24)	2,40 (28)	

<sup>z</sup>Indica significância ao nível de 5%.

**Tabela 3.** Valores observados de proporção de mortalidade de ninfas de 3o ínstar de *B. tabaci* biótipo B, cinco dias após a inoculação com fungos entomopatogênicos (25±0,5 °C, 80±5% UR e 12 horas de fotofase).

	Bioensaios															
	1	2	3	4	5	6	7	8								
Test.	0,01	Test.	0,00	Test.	0,00	Test.	0,03	Test.	0,02	Test.	0,02	Test.	0,02	Test.	0,03	
1125	0,06	1195	0,02	1232	0,01	1202	0,12	1207	0,25	PL43	0,36	866	0,34	CB148	0,13	
1261	0,14	1246	0,04	1233	0,04	1240	0,16	1197	0,26	623	0,40	868	0,38	CB130	0,18	
1200	0,25	1255	0,04	1253	0,05	1208	0,23	447	0,59	447	0,42	935	0,44	CB114	0,24	
1248	0,31	1250	0,07	1210	0,08	PL63	0,27	1037	0,61	1104	0,50	816	0,68	CB139	0,36	
447	0,52	1252	0,12	1213	0,12	1145	0,31	E9	0,89	908	0,54	447	0,70	CB144	0,48	
		1249	0,25	1245	0,13	447	0,50			969	0,59			447	0,53	
		447	0,56	972	0,13											
				1219	0,14											
				PL061	0,16											
				1211	0,16											
				447	0,72											

(*P. lilacinus*), 1104 e PL43 (*M. anisopliae*) apresentaram comportamento semelhante ao padrão 447. A mortalidade variou de 36 a 59% entre esses isolados. O fungo *P. lilacinus* causou 40% de mortalidade em ninfas de *B. tabaci* biótipo B. Todos os tratamentos foram diferentes em relação à testemunha. No sétimo bioensaio o isolado 816 de *M. anisopliae* foi semelhante a *B. bassiana* (447), causando 68 e 70% de mortalidade. Verificou-se diferença significativa entre os demais isolados 868 (*Beauveria* sp.), 935 e 866 de *M. anisopliae* e 447 (*B. bassiana*) e 816 (*M. anisopliae*) causaram mortalidades entre 34 e 44% diferindo da testemunha. No oitavo bioensaio, a análise de variância não detectou diferenças estatísticas significativas entre os isolados CB144 (*Paecilomyces* sp.), 447 (*B. bassiana*), CB139 (*Paecilomyces* sp.) e CB114 (*Paecilomyces* sp.) que causaram mortalidades variáveis de 24 a 53%, sendo que todos esses isolados foram mais patogênicos que a testemunha. O mesmo não ocorreu em relação aos isolados CB130, CB148 de *Paecilomyces* os quais não diferiram da testemunha causando 13 e 18% de mortalidade (Tabela 3).

Em geral os dados de porcentagens de mortalidade variou de 2 a 70% para *B. bassiana* sendo o isolado 447 o mais patogênico. Observou-se que as ninfas infectadas por *B. bassiana* apresentaram até 72% de mortalidade, sendo que os demais isolados foram menos eficientes (Tabela 3). A baixa mortalidade causada por esses patógenos podem estar relacionada ao uso de isolados não provenientes de *Bemisia* spp. Porém, é notável a ausência de epizootias naturais em populações da mosca-branca como mencionados por Lacey *et al.* (1996) e Wraight *et al.* (1998). Entretanto, estudos demonstraram o significativo potencial do uso de alguns isolados selecionados a partir desse fungo quando aplicado como micoinseticida contra esse inseto em testes de laboratório, casa-de-vegetação e campo (Fransen 1990, Lacey *et al.* 1996). A menor virulência de alguns isolados de *B. bassiana* observados nos bioensaios também pode estar relacionada com o processo de infecção e colonização do fungo. Foram observados sintomas e sinais típicos de infecção causados por *B. bassiana* nos insetos testados (Fig. 1a). Foi possível observar coloração leitosa no tegumento com o posterior aparecimento de cor rosada ou avermelhada em todo o tegumento das ninfas, causada pela oosporina, pigmento rosa. Wraight *et al.* (1998),

também observaram aparecimento da cor rosada no tegumento das ninfas causados por *B. bassiana*, sendo que esse sintoma foi mais evidente sobre as ninfas de 3º e 4º ínstar de *B. tabaci* biótipo B. Após a morte do inseto (96 horas), observou-se a emergência das hifas através das aberturas naturais (região anal, dorsal e espiráculos), recobrando as ninfas com micélios de cor branco-amarelo ou branco-creme (Fig. 1c).

Para *M. anisopliae* a mortalidade de *B. tabaci* variou de 34 a 90% sendo o isolado E9 o mais patogênico para o inseto. A suscetibilidade das ninfas a isolados *M. anisopliae* foi evidente nos experimentos, sendo essa espécie de fungo promissora para controle de ninfas. Poucos estudos são citados na literatura sobre a ocorrência apizoótica desse patógeno sobre aleirodídeos em campo. O maior valor de porcentagem de mortalidade após cinco dias da inoculação foi de 89%, obtido com o isolado E9 no quinto bioensaio (Tabela 3). A alta virulência do fungo *M. anisopliae* foi confirmada por Herrera (1995) e Lopes (1999) nos testes de seleção sobre ninfas de mosca-branca e tripses (*Frankliniella occidentalis*), respectivamente. Com a seleção dessa espécie de fungo, o controle torna-se interessante uma vez que essas pragas ocorrem simultaneamente atacando diversas culturas de interesse agrícola em casa-de-vegetação e campo. Constatou-se que a partir do terceiro dia após a inoculação obteve-se aproximadamente 30% de mortalidade, sendo o pico da mortalidade ao quinto dia. Porém, seu efeito rápido no controle de altas populações de *Bemisia* sp. num curto período de tempo, apresenta uma característica importante e desejável na estratégia de manejo a ser adotada, para espécies de mosca-branca transmissoras de vírus em algumas culturas, como é o caso do biótipo B, tornando-se necessário o controle imediato da praga.

Após a adesão, germinação, penetração, colonização e reprodução do patógeno na superfície da cutícula das ninfas tratadas com os isolados de *M. anisopliae*, os insetos apresentaram o tegumento flácido e com pigmentação leitosa, provocada provavelmente pelos metabólitos secundários como as destruxinas produzidas por esses fungos. Estes metabólitos diminuem a resposta imunológica das células do hospedeiro, estas características são semelhantes às descritas por Vestergaard *et al.* (1999) em relação a esse patógeno. Após a colonização total das ninfas pelo fungo, os insetos infectados tornaram-se duros e cobertos



Figura 1a. Coloração rosada causada de *B. bassiana* (oosporina) em ninfas de 3º instar de *B. tabaci* biótipo B.



Figura 1b. Confirmação da mortalidade das ninfas em placas de Petri com ágar-água (1,5%).



Figura 1c. Adesão de conídios de *B. bassiana* sobre a cutícula, 12 h após a inoculação (MEV) ( $25\pm 0,5$  °C,  $95\pm 5\%$  UR e 12 horas de fotofase).



Figura 1d. Saída de *B. bassiana* pelo orifício vasiforme após a colonização na hemocele da ninfa, 120 h (MEV) ( $25\pm 0,5$  °C,  $95\pm 5\%$  UR e 12 horas de fotofase).

por uma camada pulverulenta de conídios.

A patogenicidade variável de *B. bassiana* e *M. anisopliae* descritas anteriormente sobre as ninfas podem ser atribuídas a muitos fatores, como a variabilidade genética das linhagens, produção de enzimas, toxinas, aderência, velocidade de germinação dos conídios e conseqüente penetração na cutícula das ninfas e capacidade de colonização dos isolados (Kleespies & Zimmermann 1994). Também, existem estudos que provaram que o armazenamento de blastósporos de *M. anisopliae* afeta sua viabilidade repercutindo na virulência desse patógeno (James & Jaronski 2000).

Uma característica favorável dos isolados E9 e 1037 (*M. anisopliae*) e 447 (*B. bassiana*) é a habilidade de crescimento e esporulação em meio de cultura

artificial e meio sólido (substrato de arroz pré-cozido) possibilitando sua produção e desenvolvimento comercial. Esses isolados são utilizados como inóculo por empresas privadas no Brasil. Dessa maneira existe a possibilidade que essas espécies de fungos possam ser viáveis no controle de aleirodídeos. Na presente pesquisa, os testes realizados não foram específicos ao modo de ação dos fungos contra as ninfas, porém, foram feitos testes preliminares de Microscopia Eletrônica de Varredura de Pressão Variável (MEV), constatando-se a aderência e esporulação dos conídios de *B. Bassiana* (Figura 1c e 1d) e *M. anisopliae* sobre a superfície da cutícula das ninfas.

Para espécies de *Paecilomyces* a mortalidade de *B. tabaci* variou de 1 a 45% sendo que *P. lilacinus* (isolado 623) causou 40% de mortalidade. O isolados

972 de *V. lecanii*, único testado provocou apenas 13% de mortalidade nas ninfas. Os isolados de *P. fumosoroseus* e *P. lilacinus* foram pouco patogênicos para ninfas, apresentando índices baixos de mortalidade, que não ultrapassaram 48%. Observou-se que as ninfas foram rapidamente infectadas e mortas. Landa *et al.* (1994) mencionaram que esses patógenos infectam todos os estágios ninfais de aleirodídeos. No entanto, Lacey *et al.* (1996) consideraram que ambas espécies de fungos foram mais efetivas para adultos que para ninfas e ovos. Testes utilizando *P. fumosoroseus* e *B. bassiana* mostraram a capacidade desses fungos em infectar ninfas de 3º ínstar de *B. argentifolii* quando inoculados com 50 a 150 conídios/mm<sup>2</sup> e incubados a 25% UR, 23±2 °C, 16 horas de fotofase (Wraight *et al.* 1998). Testes de seleção com um número maior de isolados de *P. fumosoroseus*, especialmente *P. farinosus* são importantes, já que são encontrados naturalmente no agroecossistema causando epizootias em populações da mosca-branca (Lacey *et al.* 1996, Vidal *et al.* 1997, Wraight *et al.* 1998).

Foram observados sintomas e sinais de infecção de *Paecilomyces* spp. nas ninfas, as quais caracterizaram-se pela coloração amarelada a laranja, mais intensa por ocasião da conidiogênese total, sobre os cadáveres das mesmas. Wraight *et al.* (1998) observaram os mesmos sintomas e sinais de infecção por esse fungo além de verificar que *P. fumosoroseus* inicialmente emerge pela região anal (orifício vasiforme) do hospedeiro morto e, freqüentemente, o cadáver é coberto com o crescimento rápido das hifas e esporulação dos conídios.

A infecção de *P. fumosoroseus* nos estágios ninfais foi observada 24 horas após a penetração na cutícula. Esta característica foi apresentada pelos isolados CB144 e CB139 de *Paecilomyces* spp., isolados 623, 1145, 1125 de *P. lilacinus*, 1200 de *P. fumosoroseus* e 972 de *V. lecanii*. Estudos de microscopia realizados por Osborne *et al.* (1990) constataram que *Paecilomyces* spp. atacaram a parte dorsal do inseto onde ocorre a formação de tubos germinativos, que penetraram na hemocele em 24 horas. Os micélios emergiram do interior do corpo das ninfas em 48 horas e a esporulação ocorreu em 72 horas.

Assim, os resultados dos bioensaios foram diferentes em relação a patogenicidade contra as ninfas de *B. tabaci* sendo o gênero de *Metarhizium*

mais patogênico seguido de *Beauveria*, *Paecilomyces* e *Verticillium*. Resultados similares sobre o mesmo inseto e com as mesmas espécies de fungos foram também conseguidos por Herrera (1995).

Neste estudo, não foi relacionada patogenicidade com a procedência dos mesmos, sendo que nenhuma das linhagens utilizadas nos testes foram coletadas e isoladas de mosca-branca. De acordo com Vestergaard *et al.* (1995) a patogenicidade independe do hospedeiro ou local de origem do isolado. A baixa porcentagem de mortalidade verificada em cada bioensaio pode estar relacionada a variabilidade genética de cada isolado, sendo que a maioria dos isolados de fungos anteriormente mencionados, foram pouco patogênicos para as ninfas do biótipo B.

As diferenças de patogenicidade dos isolados podem ser devidas a vários fatores sendo que a virulência de um determinado isolado pode estar relacionada com a velocidade de germinação e consequentemente penetração na cutícula do inseto. Alves *et al.* (1996) verificaram que diferentes condições de armazenamento influenciaram a velocidade de germinação dos conídios de *B. bassiana* e consequentemente na virulência do patógeno para *Diatraea saccharalis*. Especula-se que as etapas seguintes após a aderência e germinação do fungo sobre a ninfa, durante a penetração da cutícula o patógeno, poderia ser atingido por condições adversas afetando o crescimento micelial dentro do inseto e a esporulação na superfície do cadáver infectado (Smith & Grula 1981).

O tegumento é importante no processo de infecção do fungo porque consiste em uma barreira física para a penetração do tubo germinativo, complementando-se com as propriedades químicas que provavelmente inibem a germinação do conídio. Por outro lado, possuem também fontes de nutrientes para alguns fungos (Smith & Grula 1981, Alves *et al.* 1986). No caso de ninfas de mosca-branca, a cutícula produz lipídeos e especialmente os de longas cadeias de ésteres de cêra, sendo que essas camadas espessas são uma barreira física para os conídios, prejudicando dessa maneira a adesão, germinação e penetração (Buckner *et al.* 1999). A redução da germinação dos conídios sobre a cutícula das ninfas poderia ser devido a insuficiente quantidade de nutrientes afetando a germinação de *B. bassiana* (James 2001). No 3º ínstar o inseto ainda é capaz de produzir cêra, além de apresentar maior suscetibilidade desse ínstar como



## Literatura citada

- Abbott, WS. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267.
- Alves, SB. 1986. Fungos entomopatogênicos. In Alves, SB. ed. Controle microbiano de insetos. São Paulo, BR, FEALQ. p.73-126.
- \_\_\_\_\_. 1998. Fungos entomopatogênicos. In Alves, SB. ed. Controle microbiano de insetos. 2.ed. São Paulo, BR, FEALQ. p.289-381.
- \_\_\_\_\_; Pereira, RM; Stimac, JL; Vieira, SA. 1996. Delayed germination of *Beauveria bassiana* conidia after prolonged storage at low, above-freezing temperatures. *Biocontrol Science and Technology* 6: 575-581.
- Brown, JK; Grohlich, DR; Rosell, RC. 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: Biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? *Annual Review of Entomology* 40: 511-534.
- \_\_\_\_\_; Bird, J. 1992. Whitefly-transmitted geminivirus and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease* 76(3): 220-225.
- Brownbridge, M; Costa, S; Jaronski, S. 2001. Effects of *in vitro* passage of *Beauveria bassiana* on virulence to *Bemisia argentifolii*. *Journal of Invertebrate Pathology* 77: 280-283.
- Buckner, JS; Hagen, MM; Nelson, DR. 1999. The composition of the cuticular lipids from nymphs and exuviae of the silverleaf whitefly *Bemisia argentifolii*. *Journal of Comparative Biochemistry and Physiology* 124: 201-207.
- Byrne, DN; Bellows Junior, TS. 1991. Whitefly biology. *Annual Review of Entomology* 36: 431-457.
- Caballero, R. 1996. Identificación de moscas blancas. In Hilje, L. ed. Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Turrialba, CR, CATIE. p.1-10.
- Fransen, JJ. 1990b. Natural enemies of whiteflies: fungi. In Gerling, D. ed. Whiteflies: their bionomics, pest status and management. Andover, UK, Intercept. p. 187-210.
- Herrera, FJ. 1995. Evaluación de hongos entomopatogênicos para el control microbiano de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, CATIE. 69 p.
- Hinde, JP; Demétrio, CGB. 1998. Overdispersion: models and estimation. *Computation Statistics and Data Analysis* 27: 151-170.
- James, RR; Jaronski, ST. 2000. Effect of low viability on infectivity of *Beauveria bassiana* conidia toward the silverleaf whitefly. *Journal of Invertebrate Pathology* 76: 227-228.
- Kleespies, RG; Zimmermann, G. 1994. Effect of additives on the production, viability and virulence of blastospores of *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology* 4: 309-319.
- Lacey, LA; Fransen, JJ; Carruthers, RI. 1996. Global distribution of naturally occurring fungi of *Bemisia*, their biology and use as biological control agents. In Gerling, D; Mayer, RT. eds. *Bemisia 1995: taxonomy, biology, damage, control and management*. Andover, UK, Intercept. p. 356-456.
- Landa, Z; Osborne, L; Lopez, F; Eyal, J. 1994. A bioassay for determining pathogenicity of entomogenous fungus on whitefly. *Biological Control* 4: 341-350.
- Lopes, RB. 1999. Seleção de fungos entomopatogênicos e controle de *Frankliniella occidentalis*. (Tysanoptera: Thripidae). Dissertação Mestrado. Piracicaba, BR, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. 72 p.
- Nelder, JA; Wedderburn, RWM. 1972. Generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society* 135: 370-384. (Series A).
- Osborne, LS; Landa, Z. 1992. Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. *Florida Entomology* 75: 456-471.
- Ramos, EQ. 2000. Susceptibilidad de *Bemisia tabaci* a *Beauveria bassiana* em condiciones de laboratorio. *Manejo Integrado de Plagas* 56: 65-69.
- SAS INSTITUTE. 1999. SAS/STAT: User's guide, version 8. Cary, US. 846 p.
- Smith, RJ; Grula, EA. 1981. Nutritional requirements for conidial germination and hyphal growth of *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology* 37: 222-230.
- Vestergaard, S; Butt, TMS; Bresciani, J; Gillespie, AT; Eilenberg, J. 1999. Light and electron microscopy studies on the infection of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 73: 25-33.
- \_\_\_\_\_; Gillespie, AT; Butt, TM; Schreiter, G; Eilenberg, J. 1995. Pathogenicity of the hyphomycete fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Biocontrol Science and Technology* 5: 185-192.
- Vicentini, S; Faria, M; Oliveira De RVM. 2001. Screening of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina:Hyphomycetes) Isolates Against Nymphs of *Bemisia tabaci* (Genn.) Biotype B (Homoptera:Aleyrodidae) with Description of a Bioassay Method. *Neotropical Entomology* 30(1): 97-103.
- Vidal, C; Lacey, AL; Fargues, J. 1997. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) Against *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) with a Description of a Bioassay Method. *Journal of Economic Entomology* 90(3): 765-772.
- Wright, SP; Carruthers, RI; Jaronski, ST; Bradley, CA; Garza, CJ; Galaini-Wright, S. 2000. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biological Control* 17: 203-217.
- \_\_\_\_\_; Carruthers, RI; Bradley, CA; Jaronski, ST; Lacey, LA; Wood, SP; Galaini-Wright, S. 1998. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Journal of Invertebrate Pathology* IN974734, p. 217-226.

# Control del saltahojas de la caña de azúcar *Perkinsiella saccharicida* con los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* en el Ingenio San Carlos, en Ecuador

Francisco Badilla<sup>1</sup>  
Walter Jara<sup>2</sup>  
Walter Gordillo<sup>2</sup>

**RESUMEN.** La cigarrita *Perkinsiella saccharicida* es una de las plagas más importantes en el cultivo de la caña de azúcar en el Ecuador. El adulto y las ninfas se alimentan de las hojas succionando líquidos, lo cual provoca retardo en el crecimiento. El objetivo de este trabajo fue evaluar la patogenicidad en laboratorio y campo de cinco aislamientos de *Metarhizium anisopliae* y uno de *Beauveria bassiana* en adultos y ninfas. Se sembraron plantas de caña en baldes plásticos y se protegieron con una jaula recubierta con tul. Se utilizó una dosis de  $8,33 \times 10^9$  conidios/jaula para cada uno de los aislamientos. Se realizaron recuentos de mortalidad diaria hasta los 30 días, colocando los insectos muertos en cajas individuales, provistas de papel filtro húmedo. Los aislamientos más patogénicos de *M. anisopliae* (ECUSC-0192 y DIECA-0391) y el 447 de *B. bassiana* fueron seleccionados para el bioensayo de campo. En esta condición, el porcentaje de mortalidad para adultos y ninfas fue: ECUSC-0192 (73,8 y 52,5), 447 (62,8 y 63,6), DIECA-0391 (36,9 y 11,3) y el testigo (0,18 y 0,6). Los mejores tratamientos fueron el ECUSC-0192 y el 447. En el verano, el aislamiento VALDEZ 01-94 fue la más eficiente cuando se realizaron aplicaciones nocturnas. Se concluye que los aislamiento ECUSC-0192 y Valdez-0194 de *M. anisopliae*, y el 447 de *B. bassiana*, son efectivos para el control de *P. saccharicida* en el campo cuando se presentan condiciones favorables de humedad.

**Palabras clave:** *Beauveria bassiana*, caña de azúcar, control biológico, *Metarhizium anisopliae*, *Perkinsiella saccharicida*.

**ABSTRACT.** Control of the leaf hopper *Perkinsiella saccharicida* with the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. The leaf hopper *P. saccharicida* is one of the most important sugar cane pests. Both adults and nymphs feed on young leaves by siphoning the liquids, provoking a retarded growth in the plants. The objective of this study was to evaluate the pathogenicity of five isolates of *M. anisopliae* and one of *B. bassiana* on the adult and nymph stages, in greenhouse and field conditions. Sugar cane plants were planted in plastic buckets and covered with a cage wrapped in a fine net. Doses of  $8.33 \times 10^9$  conidia/cage were used for each of the isolations. Mortality counts were carried out daily, for 30 days, placing the dead insects in individual cages with moist filter paper. The isolates ECUSC-0192 and DIECA-0391 of *M. anisopliae* and 447 of *B. bassiana* were used for the field trial. In the field experiment, the mortality percentage for adults and nymphs with each isolate was: ECUS 0192 (73.8 and 52.5), 447 (62.8 and 63.6), DIECA 0391 (36.9 and 11.3), and the control (0.18 and 0.6). There were significant differences between the isolates and the control. With these results, it was concluded that the isolates ECUSC-0192 and 447 are promising for the control of *P. saccharicida* in the field, under conditions of high humidity.

**Key words:** *Beauveria bassiana*, biological control, *Metarhizium anisopliae*, *Perkinsiella saccharicida*, sugar cane.

## Introducción

La cigarrita *Perkinsiella saccharicida* Kirkaldy (Hom.: Delphacidae) es considerada como el delfácido más importante en el cultivo de la caña de azúcar a nivel

mundial (Wilson 1987). Según Fennah (1969), esta plaga es nativa de Papúa Nueva Guinea, y fue desplazada a otras islas del Pacífico a medida que se iba in-

<sup>1</sup> Bioasesoría Internacional, Apartado 737-4005, Belén Heredia, Costa Rica. franbad@racsa.co.cr

<sup>2</sup> Sociedad Agrícola Industrial, San Carlos. Marcelino Madridueña, Guayaquil, Ecuador.

roduciendo el cultivo de caña a ellos. En el continente americano, fue reportada por primera vez en el Ecuador por Risco (1966), siendo posteriormente encontrada por este mismo autor en el Perú (1966) y por Posada *et al.* (1970) en Colombia. En Estados Unidos se informó la presencia de esta plaga por primera vez en West Palm Beach, Florida (Sosa 1985). En Centroamérica ya fue reportada su presencia en Costa Rica y Guatemala en el año 1993 (observación del primer autor).

La oviposición de *P. saccharicida* causa daños directos en el tejido foliar, provocando manchas y pudriciones en la nervadura central. La secreción azucarada de la alimentación de las ninfas y adultos puede cubrir las hojas, permitiendo el desarrollo de una capa negra de fumagina, causada por el hongo *Capnodium* spp., la cual inhibe la fotosíntesis. En ataques severos ocurre un amarillamiento, senescencia prematura de hojas, reducción y paralización del crecimiento de los internudos, y la muerte de las cepas jóvenes en casos extremos (Swezey 1936, Chaves 1981, Sosa 1982).

Uno de los mayores problemas de esta plaga es el hecho de ser el vector del mal de Fiji, una de las enfermedades virales más importantes en el cultivo de la caña de azúcar. Esta enfermedad se encuentra limitada actualmente al Pacífico Sur, Sudeste Asiático y Madagascar (Antoine 1967). Aunque no ha sido encontrada en el Hemisferio Occidental, la presencia del vector torna su introducción y establecimiento más probables (Sosa 1985), de ahí la necesidad de desarrollar una estrategia de control efectiva y sostenible de esta plaga. En el Ingenio San Carlos, en Ecuador, se encuentra presente en cerca de 5000 ha, ocasionando daños severos.

Para el control de este delfácido se han utilizado enemigos naturales, como el depredador *Tytthus mundulus* Bredd o el parasitoide de huevos *Anagrus optabilis* Perkins, los cuales han resultado exitosos en países como Australia y Hawaii (Carnegie y Harris 1969, Bull 1981). En Ecuador, el parasitoide *A. optabilis* fue evaluado para el control de huevos de esta especie; sin embargo, los resultados no fueron suficientemente consistentes (Chaves 1981). Se hicieron liberaciones de *T. mundulus* en 1980, pero aparentemente no se adaptó bien (Chaves 1981).

En el Ingenio San Carlos se constató una epizootia natural, tanto en adultos como en ninfas de esta

plaga, por el hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*, así como por otros hongos, identificados como *Fusarium* spp. e *Hirsutella* spp. Estos ejercen un excelente control en la época lluviosa, sin embargo, no son eficaces en los meses de verano. Badilla *et al.* (1994) encontraron que algunos aislamientos de *M. anisopliae* y *B. bassiana* son patógenas tanto de la fase ninfal como de los adultos de *P. saccharicida*, en condiciones de invernadero y campo. El control microbiano de plagas en el cultivo de la caña de azúcar, según Badilla y Alves (1991), es una estrategia viable, ya que este cultivo presenta un ambiente adecuado, temperaturas de suelo favorables para el desarrollo de hongos entomopatógenos, y suelos con contenidos medios de materia orgánica, que favorecen la colonización y el desarrollo de epizootias.

El objetivo del presente trabajo fue seleccionar las dosis y aislamientos de *B. bassiana* y *M. anisopliae* más eficaces para el control de *P. saccharicida*, así como desarrollar una metodología para el control de esta plaga en el campo.

### Materiales y métodos

El trabajo fue llevado a cabo en los laboratorios de control de madurez de la caña de azúcar y de producción de parasitoides, así como en campos comerciales de caña de azúcar de la Sociedad Agrícola Industrial San Carlos, en Madridueña, Guayaquil, Ecuador.

Para los diferentes experimentos se utilizaron adultos y ninfas de *P. saccharicida* de cuarto y quinto estadio, procedentes de lotes comerciales de caña de azúcar. Los aislamientos utilizados de ambas especies de hongos fueron obtenidos del banco de entomopatógenos del Laboratorio de Patología de Insectos, de la Dirección de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA), localizado en Santa Gertrudis Sur de Grecia, en Costa Rica, y del banco de hongos entomopatógenos del Departamento de Entomología de La Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz de La Universidad de São Paulo, en Brasil (ESALQ-USP), y de un laboratorio de producción comercial de Venezuela (Probioagro). Además, fueron utilizados dos aislamientos de *M. anisopliae* aislado de adultos de *P. saccharicida*, originario de una epizootia natural de un campo de caña del Ingenio San Carlos y del Ingenio Valdez, localizado en el Municipio de Milagro, Guayaquil, Ecuador (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Relación de los aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, con sus respectivas procedencias y hospedantes originales.

Especie y aislamiento	Procedencia de los hongos	Hospedante original
<i>B. bassiana</i> 447	Cuiabá, Brasil	<i>Solenopsis invicta</i>
<i>M. anisopliae</i> ECUSC-0192	Guayaquil, Ecuador	<i>Perkinsiella saccharicida</i>
VALDES-0194	Guayaquil, Ecuador	<i>P. saccharicida</i>
DIECA-0391	Costa Rica	<i>Aeneolamia postica</i>
PL-43	Alagoas, Brasil	<i>Mahanarva posticata</i>
COBICAN	Venezuela	<i>Aeneolamia varia</i>

### Experimento 1. Evaluación de cinco aislamientos de *M. anisopliae* y uno *B. bassiana* para el control de adultos de *P. saccharicida* en condiciones de invernadero

El ensayo se realizó en un invernadero utilizado en la producción del parasitoide *Paratheresia claripalpis* para el control de *Diatraea saccharalis*. El invernadero consta de 8 m de largo x 5 m de ancho, con 3,20 m de altura, piso y paredes laterales de cemento, techo de eternit, ventanas con tela metálica y marco de madera. En su interior está protegido por cortinas de tela y provisto de lámparas fluorescentes de 40 V. La temperatura promedio durante el experimento fue de 26 °C. Se utilizaron baldes plásticos de 5 galones, en los cuales se sembraron tres yemas de caña de la variedad NCO-310. Una vez que las plantas tuvieron 40 cm de altura, se colocó sobre las macetas una jaula de estructura de varilla redonda de 1/4 de pulgada, con una altura de 55 cm y 40 cm de radio, cubierta con tela organdí y en la parte superior con lienzo. Se dejó una pequeña abertura en el centro para hacer las aplicaciones del hongo. También contaba con una manga de lienzo, para poder introducir las manos y hacer el muestreo de los insectos. En la base de las plantas se colocó un papel filtro, el cual se humedecía diariamente para mantener la humedad de la jaula. En cada una de estas estructuras se colocaron 150 adultos de *P. saccharicida*, los cuales fueron capturados manualmente con un frasco de vidrio en los lotes comerciales del Ingenio.

Una vez que los insectos estaban en las jaulas, se les aplicaron 83 mL de una suspensión de los aislamientos de *M. anisopliae* y *B. bassiana* (Cuadro 1). La concentración utilizada fue de  $1 \times 10^8$  conidios/mL, correspondientes a  $8,33 \times 10^9$  conidios/jaula. El diseño estadístico utilizado fue el irrestricto al azar (seis tratamientos y seis repeticiones). Se evaluaron cuatro

aislamientos de *M. anisopliae*, uno de *B. bassiana* y un testigo, el cual consistió en agua más tres gotas de Tween®/L.

Se realizaron recuentos de mortalidad diaria en cada uno de los tratamientos. Los insectos muertos se colocaron en cajas individuales provistas de papel filtro húmedo, con el objeto de favorecer la humedad y estimular la esporulación de los hongos. Este muestreo se llevó a cabo hasta los 30 días. Para el análisis de los datos se realizó un análisis de ANDEVA, así como la prueba de Tukey al 1% de probabilidad.

### Experimento 2. Evaluación de la patogenicidad de dos aislamientos de *M. anisopliae* y uno *B. bassiana* en adultos de *P. saccharicida* en el campo

Se seleccionaron los tres aislamientos que presentaron los porcentajes de mortalidad más altos en el experimento de invernadero. El experimento se llevó a cabo en el lote 189302 de la variedad L-723, de dos meses de edad, en condición de caña soca, sembrada en la modalidad de lomillo. La distancia de siembra era de 1,5 m entre surcos. El lote utilizado forma parte del banco de variedades del Ingenio San Carlos y posee un área de 5850 m<sup>2</sup>. Se colocaron 20 baldes (macetas) con un armazón metálico como el descrito para el Experimento 1. Para este fin, se eliminó el fondo de los baldes plásticos y estos se colocaron en los surcos, con el objeto de ubicarlos dentro de una cepa, la cual contenía en promedio ocho tallos. En cada una de estas estructuras se colocaron 300 adultos por tratamiento. Cada una de las jaulas fue distanciada a 20 m a lo largo y dos surcos (de surco por medio); la distancia entre surcos fue de 1,5 m. El área útil del experimento fue de 2940 m<sup>2</sup>.

La dosis utilizada en cada uno de los tratamientos fue de  $2,0 \times 10^{13}$  conidios/ha en un volumen de 500 L/ha. Se colocaron 60 mL de suspensión de cada uno

de los hongos por maceta ( $2,4 \times 10^9$  conidios). Para ello, se utilizó una bomba con presión constante (50 libras/p<sup>2</sup>) marca Cultivo Químico®. Los insectos muertos se recolectaron todos los días, durante 25 días. Los insectos fueron acondicionados en cajas de poliestireno cristal, en las cuales se colocó papel filtro húmedo para observar la esporulación de los hongos, y así poder determinar el porcentaje de parasitismo. Se evaluaron los aislamientos de *M. anisopliae* ECUSC-0192 y DIECA-0391, así como el 447 de *B. bassiana*. Como testigo se utilizó agua más tres gotas de Tween®/L. Para el análisis estadístico de los datos fue utilizado el modelo irrestricto al azar con cinco repeticiones. El análisis de separación de medias se hizo empleando la prueba de Tukey al 5% de probabilidad.

### Experimento 3. Evaluación de la patogenicidad de dos aislamientos de *M. anisopliae* y uno de *B. bassiana* sobre ninfas de *P. saccharicida*

Fue llevado a cabo en forma simultánea con el Experimento 2, con los tres mejores aislamientos seleccionados en el Experimento 1. Se utilizó el mismo lote (189302) y la misma variedad. La metodología de aplicación del hongo, evaluación de mortalidad y análisis de los datos fue igual a la descrita en el Experimento 2. Se utilizaron 300 ninfas de tercer y cuarto instar por balde, para un total de 1200 ninfas por tratamiento. Estas fueron capturadas manualmente, con la ayuda de un frasco de vidrio; luego, se colocaron en una jaula de transporte y distribuyeron en cada una de las jaulas de los diferentes tratamientos. Las aplicaciones de los diferentes aislamientos se hicieron dos horas después de colocadas las ninfas en las jaulas. En la base de cada una de estas se untó grasa para lubricación de tractor, con el objeto de evitar que subieran hormigas, las cuales acarrear los insectos muertos.

### Experimento 4. Prueba de patogenicidad de dos aislamientos de *M. anisopliae* sobre *P. saccharicida* en condiciones de verano

Este experimento se llevó a cabo con el objetivo de estudiar la posibilidad de utilizar los hongos en la época seca, en aplicaciones nocturnas. Para ello, se utilizó un equipo asperjador marca Thompson, de boquillas cónicas, acoplado a un tractor (Vanguard de 150 HP). La velocidad utilizada fue de 2,15 km/h a 2500 rpm, con una presión de salida de 120 lb/p<sup>2</sup>. El experimento tuvo lugar en el lote 049111, variedad B-7316, con

2,1 meses de edad. Los aislamientos de hongo utilizados fueron ECUSC-0193 y un aislamiento proveniente del Ingenio Valdez (Valdez 01-04), el cual se había aislado de un adulto de *P. saccharicida* en el verano. La dosis utilizada fue de  $1,44 \times 10^{13}$  conidios/ha. La aplicación se realizó entre las 6 pm y las 1:30 am. La metodología de evaluación del parasitismo fue semejante a la discutida para el Experimento 3. En este caso, se colocaron 10 baldes en cada una de las parcelas (3 ha) tratadas con hongo y cinco en el testigo.

## Resultados y discusión

### Experimento 1

Se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos ( $F=30,32$   $gl=19$ ,  $P<0,01$ ). El aislamiento 447 de *B. bassiana* causó la mayor mortalidad (72,2%), seguido por los aislamientos de *M. anisopliae* ECUSC-0192 (25,9%) y DIECA-0391 (19,1%; Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Porcentajes de mortalidad de adultos de *Perkinsiella saccharicida* causados por aislamientos de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio. Ingenio San Carlos, Ecuador.

Aislamiento	Mortalidad (%)
447	72,2 a
ECUSC-0192	25,9 b
DIECA-0391	19,1 c
PL-43	14,5 d
COBICAN	13,6 d
Testigo	2,0 e

Medias seguidas de la misma letra en una misma columna no difieren entre sí, según la prueba de Tukey a un 1% de probabilidad.

Es importante mencionar que el aislamiento 447 ha mostrado ser altamente patogénico para el control de otras plagas de caña de azúcar (Badilla y Alves 1991, y Badilla *et al.* 1994). Este aislamiento puede producir muchos conidios y ser muy virulento, además de presentar una buena estabilidad en el campo (Badilla y Alves 1991). Los aislamientos de *M. anisopliae* mostraron una menor patogenicidad que el de *B. bassiana*, y estos, a su vez, diferentes porcentajes de mortalidad entre sí, lo cual confirma la selectividad de un determinado aislamiento por una especie de insecto en particular. En el caso de *P. saccharicida*, Risco (1966) informó la presencia de hongos en el campo parasitándola, sin embargo, esta es la primera vez que se evalúan diferentes aislamientos de hongos entomopatógenos para el control de dicha plaga.

### Experimento 2

No se presentó diferencia significativa entre el aislamiento ECUSC-0192 de *M. anisopliae* y el 447 de *B. bassiana*, pero sí con el aislamiento DIECA-0391 de *M. anisopliae* ( $F = 22,74$ ,  $gl = 19$ ,  $P < 0,01$ ; Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Porcentajes de mortalidad en adultos de *Perkinsiella saccharicida* tratados con dos aislamientos de *Metarhizium anisopliae* y uno de *Beauveria bassiana* en condiciones de campo. Ingenio San Carlos, Ecuador.

Aislamiento	Mortalidad (%)
ECUSC-0192	73,8 a
447	62,8 a
DIECA-0391	36,9 b
Testigo	0,3 c

Valores seguidos de una misma letra en una misma columna no difieren entre sí, según la prueba de Tukey al 5% de probabilidad.

Los dos primeros aislamientos presentaron altos porcentajes de mortalidad (73,8% y 62,8%, respectivamente), que muestran su potencial para controlar esta plaga en su estadio adulto. Al igual que en el experimento de laboratorio, el aislamiento DIECA-0391 muestra una eficacia intermedia en el control de esta plaga, por lo cual no se considera con potencial para este propósito.

### Experimento 3

No se encontró diferencia entre el aislamiento 447 de *B. bassiana* y el nativo ECUSC-0192 de *M. anisopliae*, pero sí entre estos y el aislamiento DIECA-0391 ( $F = 23,72$ ,  $gl = 19$ ,  $P < 0,01$ ; Cuadro 4).

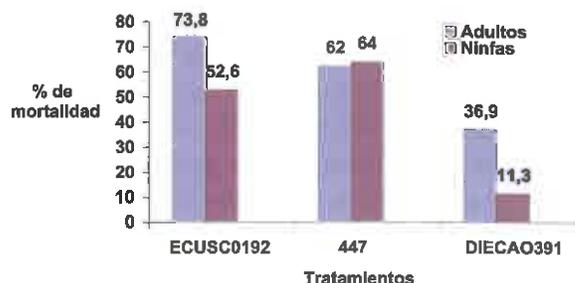
**Cuadro 4.** Porcentaje de mortalidad en ninfas de *Perkinsiella saccharicida* tratadas con dos aislamientos de *Metarhizium anisopliae* y uno de *Beauveria bassiana* en condiciones de campo.

Aislamiento	Mortalidad (%)
447	63,6 a
ECUSC-0192	52,5 a
DIECA-0391	11,3 b
Testigo	0,3 c

Valores seguidos de una misma letra en una misma columna no difieren entre sí, según la prueba de Tukey al 5% de probabilidad.

El aislamiento ECUSC-0192 de *M. anisopliae* fue más patógeno a la fase adulta de la plaga, mientras que el aislamiento 447 de *B. bassiana* presentó una patogenicidad similar en ambas fases (Fig. 1). La patogenicidad y virulencia de los agentes entomopatógenos están influenciadas por la fase larval y por el instar

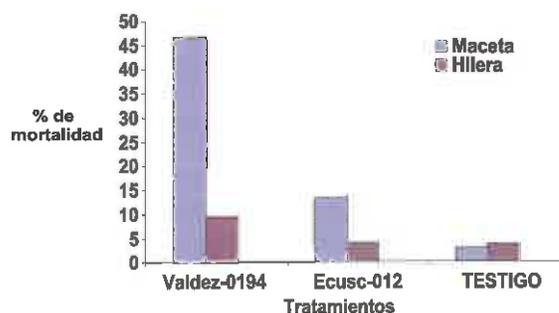
ninfal o larval, como ya han reportado diferentes autores (Moscardi y Corso 1981, Alves 1998), debido a las diferentes concentraciones de ácidos grasos insaturados presentes en la cutícula, así como a los mecanismos de defensa humoral de los insectos.



**Figura 1.** Porcentaje de mortalidad de adultos y ninfas de *Perkinsiella saccharicida* por un aislamiento de *Beauveria bassiana* y dos de *Metarhizium anisopliae*.

### Experimento 4

El aislamiento VALDEZ-0194 fue más patógeno que el ECUSC-0192, y en ambos aislamientos la mortalidad en las macetas fue superior a la de los surcos de la caña (Fig. 2), porque en las macetas no se presentan migraciones, debido a que los insectos se mantienen confinados y, por lo tanto, la acción de los hongos se puede medir en una forma más eficiente y precisa.



**Figura 2.** Porcentaje de mortalidad de adultos de *Perkinsiella saccharicida* con dos aislamientos de *Metarhizium anisopliae* tras aplicaciones nocturnas en la época de verano.

El aislamiento VALDEZ-0194 es promisorio para el control de *P. saccharicida* en la época seca, siempre y cuando las aplicaciones se realicen de noche, ya que es entonces cuando la humedad es suficiente para que el hongo pueda penetrar en el insecto, causando su muerte y la posterior esporulación.

## Conclusiones

1. La metodología utilizada en los bioensayos con *M. anisopliae* y *B. bassiana* es viable para la selección de los aislamientos más patogénicos para el control de adultos y ninfas de *P. saccharicida*.
2. Los diferentes aislamientos de *M. anisopliae* y el de *B. bassiana* fueron patogénicos tanto a adultos como a ninfas de *P. saccharicida*, habiendo diferencias en la patogenicidad, virulencia y la capacidad de esporulación de cada uno de estos.
3. La especie *B. bassiana* es más patogénica que *M. anisopliae* para el control de ninfas de *P. saccharicida*, mientras que *M. anisopliae* mostró ser más eficiente para el control de adultos.
4. El aislamiento 447 de *B. bassiana* y el ECUSC-0192 de *M. anisopliae* pueden ser utilizados comercialmente con éxito en el control biológico de esta plaga, en el campo, en condiciones de mucha humedad.
5. En la época de verano el aislamiento VALDEZ-01945 mostró ser eficaz para el control de *P. saccharicida*.
6. El empleo de aislamientos de *M. anisopliae* y *B. bassiana* previamente seleccionados y en dosis adecuadas son una alternativa viable para el manejo sostenible de esta plaga en el Ingenio San Carlos.

## Literatura citada

Alves, SB; Leucona, RE. 1998. Epizootiología aplicada ao controle microbiano de insetos. In Alves, SB. ed. Controle microbiano de insetos. 2 ed. Piracicaba, BR, FEALQ. 1163 p.

Antoine, R. 1967. Sugar cane diseases and their world distribution. Proceedings of the International Society for Sugar Cane Technology 12:1245-1269.

Badilla, F; Alves, SB. 1991. Controle do gorgulho da cana-de-açúcar *Sphenophorus levis* VAURIE, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) com *Beauveria* spp. em condições de laboratorio e campo. Anais Sociedade Entomologica do Brasil 20(2):84.

\_\_\_\_\_; Gordillo, W; Jara, W. 1994. Control de *Perkinsiella saccharicida* (Hom.: Delphacidae) con *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en condiciones de invernadero y campo. In Congreso Internacional de Manejo Integrado de Plagas (5, 1994, San José, CR). Resúmenes. San José, CR. p. 84.

Bull, RM. 1981. Population studies on the sugar cane leafhopper (*Perkinsiella saccharicida* Kirk) in the Bundaberg district. Proceedings of the Australian Society for Sugar Cane Technology p. 293-303.

Carnegie, AJM; Harris, RHG. 1969. The introduction of the mirid egg predators (*Tytthus* spp.) into South Africa. Proceedings of the South African Sugar Technology Association 43:113-116.

Chaves, RM. 1981. Evaluación de la influencia de *Anagrus optabilis* Perkins sobre las poblaciones de *Perkinsiella saccharicida* Kirkaldy en el Ingenio San Carlos. Informe Anual de Labores. Ecuador. p. 1-5.

Fennah, R. 1969. Damage to sugar cane by Fulgoroidea and related insects in relation to the metabolic state of the host plant. In Williams, JR; Metralfe, JR; Mungomer, RW; Mathes, R. eds. Pests of Sugar Cane. London, UK, Elsevier. p. 367-389.

Moscardi, F; Corso, CE. 1981. Influencia do estado larval de *Anticarsia Gemmatilis* Hubner na susceptibilidade ao seu virus de poliedrosis nuclear. In Resultados de pesquisa de Soja 1989/81. Brasil, EMBRAPA. p. 458-465.

Posada, L; Polania, I; Arévalo, I; Saldarriaga, A; García, F; Cárdenas, R. 1970. Lista de insectos dañinos y otras plagas en Colombia. Bogotá, CO, Instituto Colombiano Agropecuario. p. 50. (Publicación Miscelánea no. 17).

Risco, SH. 1966. Primeros resultados y observaciones en relación al "saltahojas" *Perkinsiella saccharicida* Kirkaldy (Fulgoroidea: Delphacidae), un insecto nuevo para la caña de azúcar. Revista Peruana de Entomología 9(1):185-187.

Sosa Jr, O. 1982. Status of *Perkinsiella saccharicida* Kirkaldy, the sugarcane planthopper in Florida, and same background information on this pest. Estados Unidos, Belle Glade AREC. Research Report 5:1-7.

\_\_\_\_\_. 1985. The Sugarcane Delphacid, *Perkinsiella saccharicida* (Homoptera: Delphacidae), a sugarcane pest new to North America detected in Florida. Florida Entomologist 68(2):357-360.

Swezey, OH. 1936. Biological control of the sugarcane leafhopper in Hawaii. The Hawaiian Planter's Record 40(1):57-101.

Wilson, MR. 1987. A faunistic review of Auchenorrhyncha on sugar cane. Iv Auchenorrhyncha Meeting (6, 1987, Turfn, IT). Proceedings. Turfn, IT. p. 485-492.

# Germinación y reproducción in vitro de la bacteria *Paenibacillus (=Bacillus) lentimorbus*

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

**RESUMEN.** Con el objetivo de desarrollar una metodología de producción in vitro de la bacteria *Paenibacillus (=Bacillus) lentimorbus*, causante de la enfermedad lechosa en las larvas de los escarabajos, se analizó la germinación de las esporas en medios de cultivo artificiales. Suspensiones acuosas de esporas de *P. lentimorbus* fueron tratadas con cuatro, cinco y seis choques de 80 °C por 20 minutos, y luego se cultivaron sobre tres medios de cultivo sólidos (J, MYPGP y un nuevo medio, Y) preparados a tres niveles de pH. Los choques de temperatura mostraron ser un factor importante para inducir la germinación de las esporas y eliminar los contaminantes de los medios de cultivo. La mayor germinación se observó en el medio MYPGP preparado a un pH de 8,0 e inoculado con esporas tratadas con seis choques de temperatura. Esta combinación de tratamientos mostró los más bajos niveles de contaminación. Se estudió además la reproducción de las células vegetativas de la bacteria usando los medios J, MYPGP y Y preparados en forma líquida y a tres niveles de pH. La máxima concentración de células vegetativas ( $2,6 \times 10^8$  vegetativos/mL) fue obtenida en el medio MYPGP a un pH de 8,0. Al realizar pruebas de patogenicidad con las células vegetativas germinadas sobre los medios sólidos y con las reproducidas en los medios líquidos, se observó una baja mortalidad de larvas de *Phyllophaga elenans* en un avanzado tercer estadio de desarrollo.

**Palabras clave:** enfermedad lechosa, germinación in vitro, *Paenibacillus lentimorbus*, *Phyllophaga elenans*.

**ABSTRACT.** *In vitro* germination and reproduction of *Paenibacillus (=Bacillus) lentimorbus*. Spore germination in artificial media was analyzed in order to develop an *in vitro* production methodology for *Paenibacillus (=Bacillus) lentimorbus*, a bacteria causing the milky disease on scarab larvae. Temperature shocks (up to six exposures of twenty minutes at 80 °C) showed to be an important factor for inducing spore germination and eliminating contamination bacteria in artificial media. Samples of aqueous suspensions of *P. lentimorbus* were treated with four, five, and six temperature shocks of 80 °C, of twenty minutes each, then cultured on three different solid media (J, MYPGP, and a new Y medium) prepared at three pH levels. The highest germination was observed with MYPGP prepared at pH 8.0 and cultivated with spores treated with six temperatures shocks. This treatment combination also showed the lowest contamination rate. The reproduction of vegetative cells was further studied using J, MYPGP, and Y prepared as liquid media at three pH levels. The maximum vegetative cell concentration ( $2,6 \times 10^8$  vegetative/mL media) was again obtained on MYPGP media prepared at pH 8.0. Pathogenicity tests with vegetative cells from spores germinated on solid artificial media and reproduced on liquid media produced a low mortality rate on late third instar larvae of *Phyllophaga elenans*.

**Key words:** *In vitro* germination, milky disease, *Paenibacillus lentimorbus*, *Phyllophaga elenans*.

## Introducción

Las bacterias patógenicas de insectos más importantes se encuentran dentro de las familias Pseudomonadaceae, Enterobacteriaceae, Lactobacillaceae, Micrococcaceae y Bacillaceae. Entre ellas, solamente la última contiene géneros formadores de esporas, como *Bacillus* y

*Clostridium*, algunos de los cuales incluyen especies que han sido utilizadas en el control de insectos por poseer toxinas o estructuras con alta resistencia a condiciones adversas, que facilitan su formulación como biocontroladores (St. Julian *et al.* 1973).

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

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

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

La primera descripción de un patógeno bacterial que ataca las larvas de un escarabajo fue hecha por Dutky (1940), quien describió la enfermedad lechosa del tipo A causada por *Bacillus popilliae* y la enfermedad lechosa del tipo B causada por *Bacillus lentimorbus*, las cuales atacan el escarabajo japonés (*Popillia japonica* Newman). El nombre de “enfermedad lechosa” se origina en la apariencia lechosa de las larvas infectadas por estas bacterias, las cuales al crecer y esporular se acumulan por billones en la hemolinfa de las larvas.

Desde su descripción en 1940 se han realizado numerosos trabajos de investigación, entre los cuales es importante resaltar el estudio de Pattersson *et al.* (1999), donde se reclasifica la bacteria dentro del género *Paenibacillus*. El estudio de la secuencia del ARNr de *B. popilliae* y *B. lentimorbus* reveló su similitud con el género *Paenibacillus*, por lo que actualmente ambas se han reclasificado como *Paenibacillus popilliae* y *Paenibacillus lentimorbus*. El aislamiento 0292 utilizado en el presente trabajo se clasificó anteriormente dentro de la especie *popilliae* del género *Paenibacillus*, por la presencia de un cuerpo parasporal, pero estudios realizados por Harrison *et al.* (2000) demostraron que dicho aislado era miembro de la especie *P. lentimorbus*.

Según Klein y Kaya (1995), *P. lentimorbus* es un patógeno obligado con alta especificidad, por lo que no es posible encontrar infección cruzada entre las familias, subfamilias o géneros de las larvas de los escarabajos. Sin embargo, en un estudio de selección de cepas de *P. popilliae* y *P. lentimorbus* para el control de *Phyllophaga* sp. (Hidalgo *et al.* 1998), se observó que algunos aislamientos provenientes de especies e incluso géneros diferentes resultaron ser virulentos hacia otras especies de larvas de escarabajos. Según los resultados de estos autores, el aislamiento 0292 fue aislado de una larva de *Phyllophaga vicina* criada en el laboratorio y causó la mayor infección en larvas del tercer estadio de *Phyllophaga elenans*. Otro ejemplo es el aislamiento 510, originario de una larva de *Anomala flavipennis*, que causó los mayores porcentajes de infección en larvas de *Phyllophaga menetriesi* cuando se inoculó por inyección.

Dado que *Paenibacillus* spp es un patógeno obligado, crece muy mal en medios de cultivo artificial; por lo tanto, la reproducción *in vivo* es actualmente la

única forma confiable de producción comercial (Benintende y Marquez 1996). Por su alto potencial como insecticida biológico para el control de larvas de escarabajos, se considera necesario desarrollar un método de producción masiva que garantice una alta calidad de esporas infectivas y que además resulte económicamente rentable (Klein y Jackson 1992).

Según Stahly *et al.* (1992), las esporas o células vegetativas libres de hemolinfa provenientes de larvas infectadas pueden ser directamente colocadas sobre un medio con agar, pero su crecimiento es bajo. En 1963, St. Julian *et al.* desarrollaron un medio estándar para obtener crecimiento de *P. popilliae*, conocido como “medio J” (Klein y Jackson 1992).

El primer paso importante para lograr el crecimiento de *Paenibacillus* spp. sobre medios artificiales es romper el estado de dormancia de las esporas; para lograrlo, se han propuesto tratamientos como envejecer las esporas en una suspensión de agua a temperatura ambiente por varios meses, obteniendo un crecimiento lento de la bacteria en el medio J, alcanzando los máximos diámetros de colonias después de siete días a 25-28 °C (Milner 1981).

Autores como Krieger *et al.* (1996) exponen que la bacteria puede germinar en una proporción de 9% en un medio MYPGP<sup>4</sup> modificado, y el crecimiento vegetativo puede ser mantenido a una temperatura óptima de 30 °C, pero no ocurre la esporulación.

## Materiales y métodos

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

### Experimento 1. Germinación de esporas de *P. lentimorbus* en medios artificiales

Se evaluó la germinación de las esporas de *P. lentimorbus* sobre medios sólidos de cultivo. Para la preparación de los tratamientos se utilizaron tres suspensiones de esporas de la bacteria, preparadas a una concentración de  $5,5 \times 10^5$  esporas por mililitro de agua destilada estéril (esp/mL ADE), cuantificadas con la ayuda de un hemocitómetro. Se prepararon

<sup>4</sup> Siglas en inglés de maltosa, extracto de levadura, potasio, glucosa y piruvato.

además los medios J, MYPGP y el medio Y, preparados según las determinaciones reportadas en el análisis químico de micro y macronutrientes realizado de la hemolinfa de larvas de *P. elenans* sanas e infectadas con *P. lentimorbus*, más el contenido de trealosa reportado en el análisis cuantitativo realizado en la hemolinfa de larvas sanas de *P. elenans*. Todos los medios se prepararon en forma sólida, según su composición, y se ajustó su pH a tres niveles: un nivel bajo (pH= 7,0), un nivel medio (pH= 7,5) y uno alto (pH= 8,0), utilizando NaOH 0,1 molar para aumentar el pH y HCl 0,1 molar para disminuirlo; posteriormente, se esterilizaron a 121 °C por 25 minutos.

Una vez preparadas las suspensiones de esporas a una concentración de  $5,5 \times 10^5$  esp/mL ADE, se realizaron los tratamientos de temperatura a 80 °C por 20 minutos en un horno (Fisher Scientific-IsoTemp® 500 series) en cuatro, cinco y seis ocasiones, dejando un intermedio de 12 horas entre cada choque de temperatura, período durante el cual las suspensiones se colocaron en una incubadora a 30 °C de temperatura y un fotoperíodo de 12 horas luz.

Al cuarto día, aproximadamente 12 horas después de realizado el último tratamiento de temperatura, se extrajeron las suspensiones de la incubadora y se inocularon los medios de cultivo sólidos con 10 µL de cada suspensión de esporas, para un conteo aproximado de 5500 esporas por plato; posteriormente, se esparcieron las esporas sobre la superficie del plato con la ayuda de un asa plana y se incubaron a 30 °C.

La identificación de las células vegetativas de la bacteria *P. lentimorbus* en los medios de cultivo se basó en características microscópicas —forma y diámetro del bacilo— y físicas —color y olor de las colonias obtenidas en los medios de cultivo—. Adicionalmente, se prepararon suspensiones de bacilos de la bacteria de las colonias de células vegetativas obtenidas en los medios de cultivo para ser inyectadas en larvas sanas de *P. elenans* de tercer instar de desarrollo, con el fin de confirmar la identidad y patogenicidad de la bacteria reproducida. Además, se prepararon suspensiones a partir de estas colonias para utilizarlas en el siguiente experimento de reproducción de células vegetativas en medios líquidos.

Se utilizó un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 3 x 3 x 3, donde los factores fueron tres medios de cultivo, tres niveles de pH y tres tratamientos de temperatura, con tres repeticiones, para un total de 81 unidades experimentales. Se utilizaron los

medios MYPGP, J y Y, preparados a tres niveles de pH (7,0; 7,5 y 8,0), y los tratamientos térmicos fueron esporas con cuatro, cinco y seis choques de 80 °C por 20 minutos.

La variable evaluada fue el número de unidades formadoras de colonias (ufc) de células vegetativas de *P. lentimorbus* en cada plato y la presencia o ausencia de contaminantes, cuya identificación se basó en todos aquellos crecimientos que no cumplieran con las características de morfología de *P. lentimorbus* y apariencia de las colonias. Esta se reportó como una variable dicotómica, donde el número "0" corresponde a la ausencia de contaminantes y el número "1" indica presencia de contaminantes.

### Experimento 2. Reproducción de células vegetativas en medios artificiales

Se analizaron tres medios líquidos de cultivo y se evaluó el efecto del pH como factor determinante en la reproducción de los bacilos. Se evaluaron los medios J líquido, MYPGP líquido y Y líquido. Todos los medios se prepararon en forma líquida, eliminando el agar de la receta, y se llevaron a tres diferentes niveles de pH utilizando NaOH 0,1 molar para aumentar el pH y HCl 0,1 molar para disminuirlo. Luego de esterilizar los medios a 121 °C por 25 minutos, se colocaron volúmenes de 100 mL de cada medio en erlenmeyers de 200 mL de capacidad.

Cada erlenmeyer fue inoculado con 1 mL de una suspensión de células vegetativas, preparada a una concentración de  $5,5 \times 10^8$  células vegetativas por mililitro de agua destilada estéril (vegetativos/mL ADE), cuantificadas con la ayuda de un hemocitómetro, a partir de las esporas germinadas en el ensayo inicial, para obtener una concentración final de bacilos en cada medio de aproximadamente  $5,5 \times 10^6$  vegetativos/mL ADE.

Al final del ensayo se preparó una suspensión de células vegetativas, reproducidas en el mejor medio líquido a una concentración de  $1,0 \times 10^8$  vegetativos/mL ADE, y se inyectaron en 20 larvas sanas de tercer instar de *P. elenans* como método de verificación final de la patogenicidad de la bacteria reproducida.

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial, donde el factor A correspondió al medio de cultivo y el factor B correspondió al pH del medio. El diseño estuvo conformado por nueve tratamientos con tres repeticiones, para un total de 27 unidades experimentales. Los medios fueron incuba-

dos a 30 °C y un fotoperíodo de 12 horas luz, por cinco días.

La variable evaluada fue la concentración de células vegetativas por mililitro en cada medio, determinada con la ayuda de un hemocitómetro en una sola medición, realizada a los cinco días de iniciado el ensayo.

**Resultados y discusión**

**Experimento 1. Germinación de esporas de *P. lentimorbus* en medios artificiales**

El análisis del contenido de trealosa presente en la hemolinfa de larvas de *P. elenans* sanas e infectadas mostró que las larvas sanas tienen un contenido de 1,46 mg/mL de trealosa en su hemolinfa, observándose una reducción del 37,7% en el contenido de este disacárido en la hemolinfa de larvas infectadas con la bacteria *P. lentimorbus*, alcanzando una concentración de 0,91 mg/mL de trealosa en la hemolinfa de las larvas infectadas. Estos resultados demuestran que la bacteria *P. lentimorbus* está utilizando la trealosa como fuente de energía y carbono para su reproducción.

El análisis químico de macro y microelementos de la hemolinfa de larvas sanas e infectadas con la enfermedad lechosa (Cuadro 1), realizado en los Laboratorios de Unidad de Servicio a la Industria de la Universidad de Costa Rica, reveló la presencia de elementos como magnesio, azufre, fósforo, zinc, calcio, potasio, hierro, cobalto, nitrógeno y manganeso, de los cuales solamente el azufre, hierro, cobalto y manganeso disminuyen significativamente su concentración con el desarrollo de la enfermedad lechosa. Con base en esta información, se concluye que estos elementos

son esenciales para el desarrollo *in vivo* de la bacteria, y deben ser incluidos en el medio artificial para evaluar su efecto sobre el desarrollo *in vitro* de *P. lentimorbus*.

**Cuadro 1.** Análisis químico de hemolinfa de larvas de tercer estadio de *Phyllophaga elenans* sanas e infectadas con la enfermedad lechosa (*Paenibacillus lentimorbus*, cepa 0292).

Elemento	Hemolinfa sana	Hemolinfa infectada	Unidades
Mg <sup>+2</sup>	770,5	1127,7	ppm
S <sup>-2</sup>	0,8	0,3	ppm
P <sup>+4</sup>	0,03	0,13	%m/m
Zn <sup>+2</sup>	18,2	359,7	ppm
Ca <sup>+2</sup>	152,0	521,8	ppm
K <sup>+</sup>	0,188	0,189	%m/m
Fe <sup>+3</sup>	191,9	140,2	ppm
Co <sup>+2</sup>	4,2	1,9	ppm
N	0,4	0,8	%m/m
Mn <sup>+2</sup>	5,9	1,6	ppm

El medio Y estuvo compuesto por macro y microelementos en concentraciones muy similares a los contenidos reportados en el análisis químico de la hemolinfa de larvas sanas (Cuadro 2). Todos los elementos, excepto el cobalto, se agregaron en forma líquida provenientes de formulaciones foliares orgánicas o bionutrientes (Cytosyme®), por lo que el contenido de los elementos se basó en la composición de cada formulación foliar, tomando como base el contenido de los elementos más concentrados.

Adicional a los macro y micronutrientes, se agregó una concentración de trealosa similar a la reporta-

**Cuadro 2.** Composición del medio Y, formulado con base en el contenido de elementos en la hemolinfa de larvas sanas de tercer estadio de *Phyllophaga elenans*.

Elemento	Concentración en hemolinfa sana	Concentración en el medio	Fuente <sup>(2)</sup>
Mg <sup>+2</sup> (ppm)	770,5	770,5	Mg <sup>TM</sup> 7%
S <sup>-2</sup> (ppm)	0,8	0,508	CROP <sup>TM</sup> 4,5%
P <sup>+4</sup> (%m/m)	0,03	300,5	NPK <sup>TM</sup> 25,5 %P <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Zn <sup>+2</sup> (ppm)	18,2	18,2	Zinc <sup>TM</sup> 10,9%
Ca <sup>+2</sup> (ppm)	152,0	152,0	Ca <sup>TM</sup> 11%
K <sup>+</sup> (%m/m)	0,188	571,6	NPK <sup>TM</sup> 25,5 %K <sub>2</sub> O
Fe <sup>+3</sup> (ppm)	191,9	191,9	CROP <sup>TM</sup> 1,7%
Co <sup>+2</sup> (ppm)	4,2	4,2	Co(C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> *4H <sub>2</sub> O
N (%m/m)	0,4	724,5	Todos <sup>(3)</sup>
Mn <sup>+2</sup> (ppm)	5,9	5,9	Mn <sup>TM</sup> 8,8%

<sup>(2)</sup> Corresponde a fertilizantes foliares de origen orgánico.

<sup>(3)</sup> Todos los fertilizantes son nitrogenados, por lo que la cantidad de nitrógeno total en el medio es la suma del total agregado por cada fertilizante más el contenido de nitrógeno en la triptona.

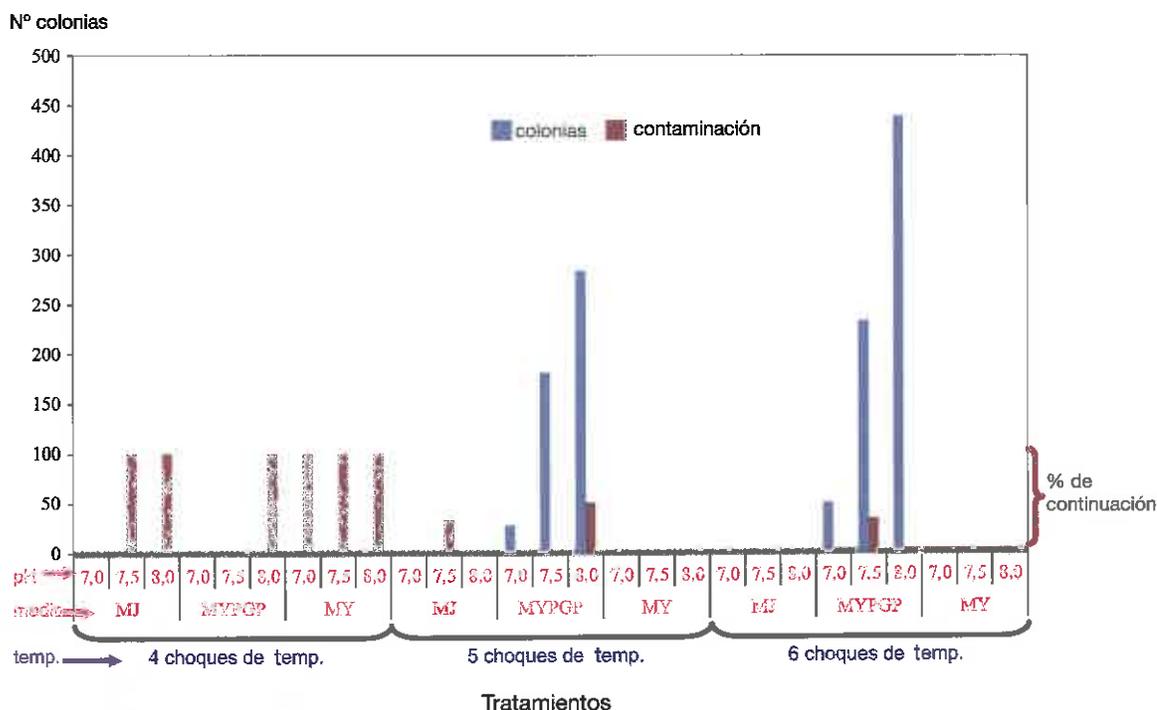
da en la hemolinfa de larvas sanas de *P. elenans* (1,46 mg/mL), más 5,0 g/L de Triptona y 15 g/L de extracto de levadura. Para la solidificación del medio se utilizó agar granulado (DIFCO), a razón de 20 g/L.

En observaciones previas a este experimento se observó que la realización de uno, dos o tres tratamientos de calor favorece la germinación de las esporas de *P. lentimorbus*, pero no garantiza su pureza, por lo que se hace necesario determinar el número mínimo de tratamientos para la eliminación de contaminantes en inóculos preparados a partir de esporas de *P. lentimorbus* y su efecto sobre la germinación de éstas.

Aproximadamente 24 horas después del último tratamiento de temperatura, se presentaron colonias de contaminantes en los platos inoculados con esporas tratadas en cuatro ocasiones. La germinación de las esporas de *P. lentimorbus* comenzó seis días después del último tratamiento de temperatura en los platos inoculados con esporas tratadas en cinco ocasiones; un día después, se presentaron las primeras colonias en los platos inoculados con las esporas tratadas en seis ocasiones.

La germinación tardía de las esporas se debió posiblemente a la muerte de las primeras esporas germinadas ya que, como se verificó anteriormente, el proceso de germinación inicia aproximadamente 48 horas después del primer tratamiento de temperatura, por lo que tratamientos de temperatura posteriores a las 48 horas matarían las primeras esporas en proceso de germinación.

Aunque se obtuvo un coeficiente de variación alto (62,27%), el  $R^2$  nos indica que hay un 96% de probabilidad de obtener estos mismos resultados en ensayos similares. El análisis de los resultados arrojó diferencias altamente significativas en el modelo ( $F_{26,54}=45,49$ ;  $P=0,0001$ ). Las diferencias aplican a todos los factores y todas sus interacciones. La interacción del medio MYPGP, preparado a un pH de 8,0 e inoculado con esporas tratadas en seis ocasiones a 80 °C, presentó los mayores porcentajes de germinación, con un promedio de 438 colonias ( $F_{8,54}=12,66$ ;  $P=0,0001$ ), lo que equivale a aproximadamente un 8% de germinación (Fig. 1), porcentaje muy similar al 9% reportado por Krieger *et al.* (1996) para el mismo medio (MYPGP).



**Figura 1.** Número de colonias de *Paenibacillus lentimorbus* y porcentaje de contaminación en tres medios de cultivo (J, MYPGP, Y) preparados con tres niveles de pH (7,0; 7,5 y 8,0), e inoculados con esporas tratadas con cuatro, cinco y seis choques térmicos de 80 °C.

El segundo mejor tratamiento fue el mismo medio (MYPGP), preparado al mismo pH, inoculado con esporas tratadas en cinco ocasiones, donde se alcanzó aproximadamente un 5% de germinación. Es importante recalcar que en todos los platos del medio MYPGP preparados a diferentes niveles de pH se obtuvo germinación cuando se inocularon con esporas tratadas en cinco y seis ocasiones a 80 °C. Estos resultados concuerdan con los reportados por Curran y Evans (1944), donde la proporción de esporas que responden a tratamientos de pregerminación con calor depende del número de tratamientos aplicados. El mayor porcentaje de germinación se presenta en las esporas tratadas en seis ocasiones (Fig. 1).

El análisis de varianza para la presencia de contaminantes arrojó diferencias altamente significativas entre tratamientos ( $F_{26,54}=55$ ;  $P=0,0001$ ), con un coeficiente de variación del 32% y  $R^2=0,963612$ . Al analizar el efecto de los factores y sus interacciones, se encontró que el único factor que presenta diferencias altamente significativas es el número de choques térmicos ( $F_{2,54}=703$ ;  $P=0,0001$ ).

Hubo un crecimiento de contaminantes en todos los medios inoculados con esporas tratadas en cuatro ocasiones a 80 °C, por lo que es necesario tratar las esporas más de cuatro veces para eliminar la mayor cantidad de contaminantes (Fig. 1). La rápida germinación y desarrollo de contaminantes en este tratamiento impidió observar la germinación de las esporas de *P. lentimorbus*, pues estas se caracterizan por su lenta germinación.

Cabe resaltar que al aumentar el pH del medio aumentó el número de esporas germinadas (Fig. 1), lográndose el mayor porcentaje de germinación (8%) en el medio MYPGP, preparado a un pH de 8,0; en el medio MYPGP preparado a un pH de 7,5 se obtuvo una germinación del 4%, y en el medio MYPGP preparado a un pH de 7,0 el porcentaje de germinación fue inferior al 1%, cuando estos medios fueron inoculados con esporas tratadas con seis choques de 80 °C. El porcentaje de germinación aumenta con el número de tratamientos de temperatura y el pH del medio MYPGP. Asimismo, el porcentaje de contaminación disminuye conforme aumenta el número de tratamientos de temperatura.

## Experimento 2. Reproducción de células vegetativas en medios artificiales

El experimento de reproducción de las células vegetativas en los medios Y, J y MYPGP, preparados en for-

ma líquida y con tres niveles de pH, presentó diferencias altamente significativas entre los tratamientos ( $F_{10,16}=10,30$ ;  $P=0,0001$ ). Al analizar más detalladamente este diseño, se observó que los bloques no son significativos en el análisis, resultado que evidencia las condiciones controladas de la incubadora en la que se llevó a cabo el experimento. El  $R^2$  indica que hay una probabilidad del 86% de obtener estos mismos resultados en ensayos similares; asimismo, el coeficiente de variación no es muy elevado (38%), a pesar de tratarse de concentraciones elevadas con números exponenciales, donde fácilmente se pueden cometer errores de conteo entre las repeticiones.

Se observaron diferencias altamente significativas entre los medios de cultivo evaluados ( $F_{2,16}=47,41$ ;  $P=0,0001$ ). El medio más eficiente para la reproducción de los bacilos fue el MYPGP, alcanzando una concentración de  $2,6 \times 10^8$  células/mL de medio a los cinco días de inoculado (Fig. 2). En segundo lugar se encontró el medio J, con una concentración de  $1,6 \times 10^8$  células/mL y, finalmente, el medio Y, el cual obtuvo una concentración de  $1,1 \times 10^7$  células/mL.

No hubo diferencias significativas en la reproducción de células vegetativas entre los tres niveles de pH ( $F_{2,16}=0,31$ ;  $P=0,7388$ ). Tampoco hubo diferencia en la interacción del medio con el pH ( $F_{4,16}=1,85$ ;  $P=0,1691$ ), por lo que se puede deducir que el pH no es un factor determinante en la reproducción, resultados que concuerdan y ratifican lo expuesto por Weiner *et al.* (1966), quienes no observaron cambios importantes en los niveles de pH en la hemolinfa de larvas sanas e infectadas con la enfermedad lechosa.

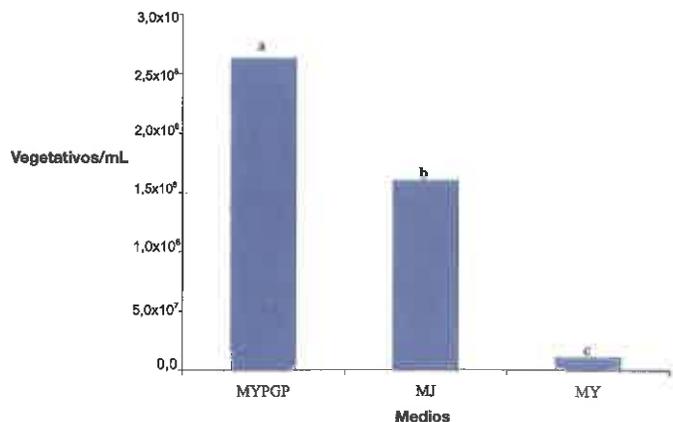


Figura 2. Concentración de células vegetativas de *Paenibacillus lentimorbus* en tres medios de cultivo (MYPGP, MJ, MY) (columnas con la misma letra no difieren estadísticamente entre sí según la prueba de Duncan).

De acuerdo con los resultados de los ensayos de germinación de esporas en medios sólidos y reproducción de células vegetativas en medios líquidos, el medio MYPGP presentó las mejores cualidades para ambas fases. Sin embargo, como concluye Klein (1992), la esporulación de la bacteria no ocurre en este medio, ni se logró inducir este proceso en el nuevo medio desarrollado en este estudio, por lo que es necesario buscar nuevas alternativas que permitan alcanzar este último y esencial paso en el proceso de reproducción de la bacteria.

Considerando que en el medio MYPGP se alcanza una concentración final de  $2,5 \times 10^8$  bacilos/mL, comparada con una concentración de  $2,0 \times 10^9$  esporas/mL de hemolinfa (Langford *et al.* y Beard, mencionados por Tanada y Kaya 1993) alcanzada en una larva de escarabajo infectada, el MYPGP es aún un medio muy pobre para la reproducción eficiente de *P. lentimorbus*.

Al realizar pruebas de patogenicidad con las células vegetativas de *P. lentimorbus* germinadas en el medio sólido MYPGP (pH de 8,00) y las células vegetativas reproducidas masivamente en el mismo medio preparado en forma líquida, se comprobó la pérdida de virulencia, anteriormente reportada por Steinkraus y Tashiro (1955), de los bacilos reproducidos *in vitro*.

Los resultados anteriores demuestran que es posible lograr la germinación y posterior reproducción de la bacteria *P. lentimorbus* *in vitro*. Aunque no se obtuvo infección de la enfermedad lechosa en las larvas de *P. elenans* inyectadas con los bacilos germinados, ni con los bacilos reproducidos en los medios líquidos, ni fue posible inducir la esporulación de estos bacilos *in vitro*, no se debe abandonar la posibilidad de reproducir este importante organismo biológico bajo condiciones artificiales; por el contrario, se deben buscar nuevas alternativas que garanticen la cantidad y calidad del entomopatógeno reproducido.

### Literatura citada

- Benintende, G; Márquez, A. 1996. Bacterias entomopatógenas. In Lecuona, RE. ed. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Buenos Aires, AR, Talleres Gráficos Mariano Mas. p. 61-72.
- Curran, HR; Evans, FR. 1944. Heat activation inducing germination in the spores of thermotolerant and thermophilic aerobic bacteria. *Journal of Bacteriology* 49: 335-346.
- Dutky, SR. 1940. Two new spore-forming bacteria causing milky disease of Japanese beetle larvae. *Journal of Agricultural Research* 61(1): 57-68.
- Harrison, H; Patel, R; Yousten, AA. 2000. *Paenibacillus* associated with milky disease in Central and South American scarabs. *Journal of Invertebrate Pathology* 76: 169-175.
- Hidalgo, E; Shannon, PJ; Flores, L. 1998. Selección de cepas de *Bacillus popilliae* para el control de especies de *Phyllophaga* (Coleoptera: Melolonthidae). In Morón, MA; Aragón, A. eds. Avances en el estudio de la diversidad, importancia y manejo de los coleópteros edáficos Americanos. Puebla, MX, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y la Sociedad Mexicana de Entomología. p. 165-172. *Publicación especial*.
- Klein, MG; Jackson, TA. 1992. Bacterial diseases of scarabs. In Jackson, TA; Glare, TR. eds. Use of pathogens in scarab pest management. Andover, UK, Intercept. p. 43-61.
- \_\_\_\_\_. 1992. Use of *Bacillus popilliae* in Japanese Beetle Control. In Jackson, TA; Glare, TR. eds. Use of pathogens in scarab pest management. Andover, UK, Intercept. p. 179-189.
- \_\_\_\_\_; Kaya, H. 1995. *Bacillus* and *Serratia* species for scarab control. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 90(1): 87-95.
- Krieger, L; Franken, E; Schnetter, W. 1996. *Bacillus popilliae* var. *melolontha* H1, a pathogen for the May beetles, *Melolontha* spp. In International Lincoln Workshop on Microbial Control of Soil Dwelling Pests (3, 1996, New Zealand). Proceedings. New Zealand, AgResearch Lincoln. p. 79-87.
- Milner, RJ. 1981. Identification of the *Bacillus popilliae* group of insect pathogens. In Burges, HD. ed. Microbial control of pest and plant diseases. 1970-1980. Londres, UK, Academic Press. p. 45-59.
- Pattersson, B; Rippere, KE; Yousten, AA; Priest, FG. 1999. Transfer of *Bacillus lentimorbus* and *Bacillus popilliae* to the genus *Paenibacillus* with emended descriptions of *Paenibacillus lentimorbus* comb. nov. and *Paenibacillus popilliae* comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 49: 531-540.
- St. Julian, G; Bulla, LA; Sharpe, ES; Adams, GL. 1973. Bacteria, Spirochetes, and Rickettsia as insecticides. *Annals New York Academy of Sciences* 217: 65-75.
- Stahly, DP; Takefman, DM; Livasy, CA; Dingman, DW. 1992. Selective medium for quantitation of *Bacillus popilliae* in soil and in commercial spore powders. *Applied and Environmental Microbiology* 58(2): 740-743.
- Steinkraus, KH; Tashiro, H. 1955. Production of milky disease spores (*Bacillus popilliae* Dutky and *Bacillus lentimorbus* Dutky) on artificial media. *Science* 121: 873-874.
- Tanada, Y; Kaya, HK. 1993. Insect pathology. 2 ed. San Diego, California, US, Academic Press 689 p.
- Weiner, BA; Kwolek, WF; Julian, GS; Hall, HH; Jackson, RW. 1966. Oxygen concentration in larval hemolymph of the Japanese beetle, *Popillia japonica*, infected with *Bacillus popilliae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 8: 308-313.

# Potencial de hormigas como depredadoras de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) en Costa Rica

Edgar H. Varón<sup>1</sup>  
Paul Hanson<sup>2</sup>  
Olger Borbón<sup>3</sup>  
Manuel Carballo<sup>4</sup>  
Luko Hilje<sup>4</sup>

**RESUMEN.** En Mesoamérica y el Caribe es común la presencia de árboles de sombra en los sistemas agroforestales de café (*Coffea arabica*). Estos sistemas pueden albergar altos niveles de biodiversidad de insectos, incluyendo hormigas, que podrían actuar como depredadores de plagas claves en dichos sistemas, como la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Por tanto, en Heredia, Costa Rica, mediante pruebas de escogencia en el laboratorio y el campo, se determinó el potencial de depredación de varias especies selectas (*Solenopsis geminata*, *Pheidole radoszkowskii* y *Crematogaster torosa*) sobre varios estadios de la broca. En condiciones de laboratorio, las tres especies causaron depredación en al menos un estadio de *H. hampei*, a veces con niveles de hasta 100%. No obstante, esto no ocurrió en el campo, quizás debido a que, por sus hábitos alimentarios generalistas, las hormigas no fueron atraídas por los granos infestados con broca.

**Palabras clave:** café, Costa Rica, *Crematogaster torosa*, *Pheidole radoszkowskii*, *Solenopsis geminata*, sombra.

**ABSTRACT.** Potential of ant predation on the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) in Costa Rica. In Mesoamerica and the Caribbean, shading trees within coffee agroforestry systems (*Coffea arabica*) are a fairly common occurrence. It has been shown that these systems can contain high levels of insect biodiversity, including ants that could act as predators of key pests of coffee, such as the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Therefore, in Heredia, Costa Rica, through laboratory and field tests, the predation potential of selected ant species (*Solenopsis geminata*, *Pheidole radoszkowskii* and *Crematogaster torosa*) on several coffee berry borer developmental stages was determined. Under laboratory conditions, all ant species caused predation to at least one stage of *H. hampei*, sometimes up to levels of 100%. However, this did not occur in the field, perhaps because ants were not attracted to borer-infested coffee beans, due to their generalist food habits.

**Key words:** Coffee, Costa Rica, *Crematogaster torosa*, *Pheidole radoszkowskii*, shade, *Solenopsis geminata*.

## Introducción

En Mesoamérica y el Caribe es común la presencia de árboles de sombra en los sistemas agroforestales de café (*Coffea arabica* L.), los cuales cumplen varias funciones agronómicas importantes (Beer *et al.* 1998) y pueden albergar una rica entomofauna, incluyendo hormigas (Perfecto y Snelling 1995, Perfecto *et al.* 1997, Barbera *et al.* 2002, 2004). Puesto que algunas de ellas depredan insectos (Vandermeer *et al.* 2002), podrían actuar como agentes de control biológico de plagas claves como la broca del café, *Hypothenemus*

*hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Sin embargo, las referencias acerca de hormigas que depreden a *H. hampei* son más bien anecdóticas; por ejemplo, en Colombia se mencionan algunas especies de *Brachymyrmex*, *Crematogaster* y *Pheidole* (CENICA-FE 1994), así como *Azteca* sp. en Ecuador (Sponagel 1994), mientras que se ha informado de *Crematogaster* sp. (Le Pelley 1968) y de *C. curvispinosa* en Brasil (Bennassi 1995), y de *Dolichoderus bituberculatus* en África (Leefmans 1923).

<sup>1</sup> Estudiante de postgrado, Dept. of Plant, Soil and Entomological Sciences. University of Idaho, Moscow ID 83844-2339. EUA. evar8434@uidaho.edu

<sup>2</sup> Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

<sup>3</sup> Centro de Investigaciones en Café (CICAFE), Heredia, Costa Rica.

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

Aunque actualmente se dispone de buenos inventarios sobre comunidades de hormigas en cafetales del Valle Central y la vertiente Caribe de Costa Rica (Perfecto y Snelling 1995, Barbera *et al.* 2002, 2004), donde es clara la dominancia de unas pocas especies, como *Solenopsis geminata* y *Pheidole radoszkowskii*, se desconoce si ellas u otras especies sub-dominantes podrían depredar a *H. hampei*.

A diferencia del control biológico mediante parasitoides (Bustillo 1993, Infante *et al.* 1993), los cuales son más específicos y, por ende, mejores controladores biológicos, aunque con algunas dificultades logísticas para la crianza masiva, las hormigas son relativamente fáciles de criar, y para aquellas que depreden a *H. hampei* se podría recurrir a prácticas que permitan su conservación e incremento. Por ejemplo, el mejoramiento de sus condiciones de hábitat podría favorecer el aumento de sus poblaciones y su eficacia como agentes de control biológico, como se ha hecho para otras especies de hormigas en otros sistemas (Huang y Yang 1987, Perfecto y Castiñeiras 1998, Way *et al.* 1998).

El objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad de depredación sobre *H. hampei* de algunas especies selectas de hormigas, como paso previo a establecer recomendaciones acerca de su conservación o incremento.

### Materiales y métodos

La investigación se efectuó en Heredia, Costa Rica, y constó de dos fases complementarias, una de laboratorio y otra de campo, en las que se evaluó la depredación de cinco especies de hormigas (*S. geminata*, *P. radoszkowskii*, *Crematogaster curvispinosa*, *Crematogaster torosa* y *Crematogaster crinosa*) sobre formas adultas e inmaduras de *H. hampei*. Las especies fueron identificadas por el especialista John Longino (The Evergreen State College, Olympia, Washington, EUA). La colección de referencia se encuentra en el Laboratorio de Entomología del CATIE.

El criterio para seleccionar las dos primeras especies fue su fuerte dominancia en las comunidades de hormigas en varias zonas de Costa Rica (Perfecto y Snelling 1995, Barbera 2002). De las especies de *Crematogaster*, se incluyó a *C. curvispinosa* por estar reportada en la literatura como depredadora de *H. hampei* (Benassi, 1995), pero esto se hizo solamente para los experimentos de laboratorio, ya que no apareció en el campo en la zona de estudio. En cambio, *C. torosa*

se incluyó por su alta abundancia en dicha zona (E. Varón, obs. pers.). En el caso de *C. crinosa*, se llevó para los experimentos de laboratorio desde Turrialba, donde es común en árboles de cedro (*Cedrela odorata* L.).

Los experimentos de laboratorio se realizaron en las instalaciones del CICAPE (Centro de Investigaciones en Café), en el cantón de Barva, el cual está en la vertiente Pacífica, a 10°04'N, 84°07'O y 1180 msnm. Los valores anuales promedio de precipitación, temperatura y humedad relativa son de 2200 mm, 19,7 °C y 79%, respectivamente. En esta zona hay una estacionalidad marcada en la precipitación, y la estación seca comprende de diciembre a abril. Los experimentos de campo se efectuaron en un cafetal de 105 ha, en Barrreal de Heredia, situado a 9°58'N y 84°4'O, muy cerca de donde se reportó la presencia de la broca por primera vez en Costa Rica.

### Laboratorio

Se utilizó un aparato de escogencia, en el cual la especie de hormiga evaluada podía elegir entre diferentes tipos de presas. Para todas las especies, excepto *S. geminata*, este consistió en una caja grande de acrílico, de 20 x 20 x 20 cm (cámara central), conectada mediante tubos de plástico transparente (de 70 cm de longitud y 8 mm de diámetro) con cámaras periféricas, que fueron recipientes cilíndricos plásticos más pequeños (5 cm de diámetro y 8,5 cm de altura; Fig. 1).

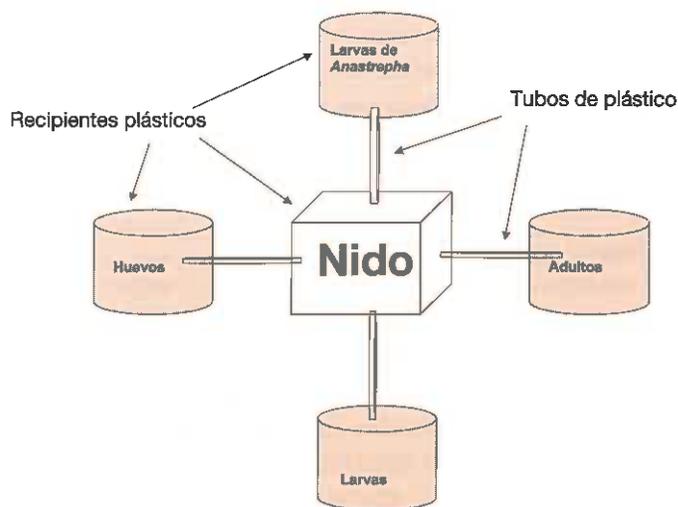


Figura 1. Aparato de escogencia, para medir la depredación sobre *Hypothenemus hampei* en el laboratorio.

Para *S. geminata*, debido al mayor tamaño de sus nidos, el aparato de escogencia consistió en una caja grande de acrílico (40 x 40 x 40 cm) (cámara central), conectada mediante tubos de plástico transparente (de 70 cm de longitud y 8 mm de diámetro) con cuatro cajas de acrílico más pequeñas (20 x 20 x 20 cm) (cámaras periféricas).

La cámara central se impregnó en la parte superior con una banda de 2 cm de ancho de pegamento Tanglefoot (The Tanglefoot Co., Michigan, EUA), para evitar el escape de las hormigas. Allí se colocó un nido de la especie de hormiga evaluada, lo más completo posible (con reinas, hembras vírgenes, machos y obreras), y se colocó aproximadamente un cuarto de onza de azúcar granulada y 10 mL de agua en el nido, diariamente.

En las cámaras periféricas se colocaron, individualmente, cada uno de los tipos de presas (tratamientos). Estas, según el caso, correspondieron a 10 larvas (I o II instar), pupas o adultos de *H. hampei*. En la cuarta caja se colocó el tratamiento testigo, que correspondió a 20 larvas de mosca de la fruta, *Anastrepha striata* (Diptera: Tephritidae), seleccionada por su abundancia en Turrialba (E. Varón, obs. pers.), y porque una especie de mosca de la fruta de la misma familia Tephritidae (*Ceratitis capitata*) fue reportada como depredada por *S. geminata* (Eskafi y Kolbe 1990).

Para el análisis estadístico se utilizó un diseño de bloques completos al azar con cuatro tratamientos (SAS Institute 1988). Cada experimento se repitió cuatro veces en cada nido y en cada repetición se aleatorizó la distribución de los tratamientos, considerándose dicha repetición como un bloque. La variable de respuesta fue el consumo de presas hasta las 48 h de exposición de las presas.

### Campo

El manejo de la finca donde se realizó el experimento incluye una poda al año, la cual consiste en cortar una fila de arbustos a 70 cm, dejando otras dos filas libres y quitándole solamente las ramas improproductivas. Además, se aplican herbicidas (paraquat y glifosato) y se fertiliza tres veces al año (marzo, agosto y diciembre). Asimismo, una vez al año se poda el poró.

Para realizar los experimentos fue necesario contar con granos infestados por *H. hampei*. Por tanto, se recolectaron granos de café maduro (de la variedad cultivada Caturra) en la finca Cabiria, en el CATIE,

en Turrialba, donde hay cosechas varias veces al año. Los granos se secaron a la sombra durante una semana. Después se remojaron por 5 min en una solución desinfectante, con 1 g de acaricida (propargite) y 1 g de fungicida (benomil) en 1 L de agua, y se dejaron secar por tres días.

Para la infestación de los granos se utilizaron cajas plásticas rectangulares, de 30 cm de longitud, en cuya tapa había orificios de 5 cm de diámetro, recubiertos con malla fina. Las bandejas se habían desinfectado con cloruro de benzoato al 3%. Cada grano se inoculó con dos hembras fértiles, las cuales también se desinfectaron, remojándolas en la solución antes descrita, y se secaron con un ventilador durante 10 min. Para evitar la aparición de mohos (*Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp.), los granos se desinfectaron 18 días después con una solución de 3 mL de carbendazim en 1 L de agua, durante 3 min.

El mismo día, los granos se colocaron en cajas de Petri, de las cuales unas permanecieron abiertas y otras tapadas. Para impedir que las hormigas penetraran y que los adultos de *H. hampei* escaparan, así como para permitir la aireación, en su parte superior las cajas se taparon con malla fina de 50 poros, Biorete 20/10 (Tessitura Giovanni Arrigoni S.A., Italia).

Para cada especie se utilizaron tres nidos individuales, para lo cual se localizaron y marcaron los nidos de *P. radoszkowskii* y *C. torosa* en una sección de la finca, sembrada a 1,7 x 1 m, con poró intercalado a 7 x 8 m. Los nidos de *S. geminata* estaban en otra sección, sembrada a 1,7 x 0,7 m, con eucalipto (*Eucalyptus deglupta*) intercalado a 14 x 16 m.

Se colocaron cuatro cajas de Petri a 30 cm alrededor del nido, según los puntos cardinales (Fig. 2). Por sorteo, a cada uno de los dos puntos opuestos (N-S o E-O) le correspondió una caja abierta o tapada. Cada dupla de un eje (N-S o E-O) representó una parcela pareada o bloque. Cada experimento se repitió tres veces (en el tiempo), durante tres semanas consecutivas en cada uno de los tres nidos, respetándose en cada uno la distribución inicial de tratamientos. Puesto que en cada caja (abierta o tapada) había cinco granos de café, para cada una de las tres mediciones se contó con 180 granos infestados.

Se utilizó un arreglo de parcela dividida en el tiempo (tres repeticiones), en un diseño de bloques completos al azar (seis parcelas pareadas), con ocho tratamientos (pareados) (SAS Institute 1988). Los tratamientos fueron: huevos expuestos vs. aislados, larvas

expuestas vs. aisladas, pupas expuestas vs. aisladas, y adultos de broca expuestos vs. aislados.

La variable de respuesta fue el consumo de presas hasta las 48 h de exposición de los granos infestados. Para esto, los granos fueron disecados en el laboratorio, donde se determinó la cantidad de individuos (huevos, larvas, pupas y adultos) vivos en cada grano. Esto demoró 30 min por grano, en promedio.

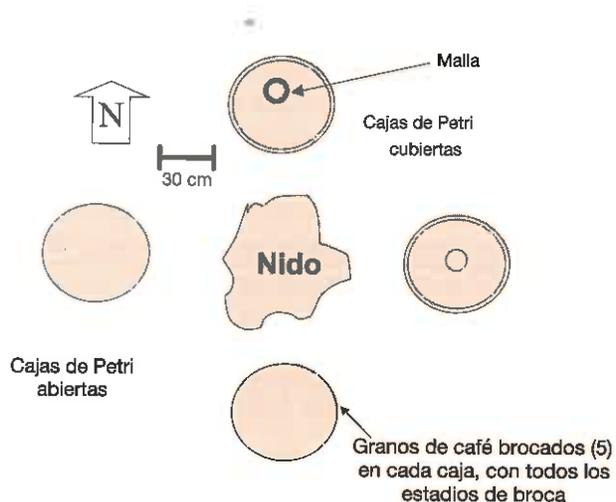


Figura 2. Disposición espacial de los tratamientos en el experimento de campo con *Hypothenemus hampei*.

## Resultados

### Laboratorio

*S. geminata* depredó fuertemente todos los estadios de *H. hampei*, con valores de 80-100% (Cuadro 1). Asimismo, consumió muchos individuos de todos los estadios, de manera equivalente ( $p > 0,05$ ), sin que hubiera

diferencias con el tratamiento testigo. Por su parte, *P. radoszkowskii* causó mayor depredación sobre los estadios de huevo (100%) y larva (97,5%), pero no difirió ( $p > 0,05$ ) de la causada a los adultos y al testigo.

De las especies de *Crematogaster*, *C. crinosa* también depredó fuertemente los estadios de huevo y larva de *H. hampei* (Cuadro 1), con valores equivalentes entre sí ( $p > 0,05$ ) y muy superiores a los observados para los adultos ( $p < 0,05$ ), en los que alcanzó apenas un 5%; para el testigo, la depredación fue nula. Por su parte, *C. curvispinosa* no consumió los adultos de *H. hampei* ni el testigo, y sus niveles de depredación sobre larvas y huevos fueron tan bajos que no difirieron de los demás tratamientos ( $p > 0,05$ ). En cambio, *C. torosa* depredó fuertemente a las larvas (70%) y huevos (100%), cuyos valores superaron notoriamente ( $p < 0,05$ ) a los de los adultos y el testigo.

### Campo

*S. geminata*, *P. radoszkowskii* y *C. torosa* por lo general consumieron pocos individuos de todos los estadios de *H. hampei* (Cuadro 2). Para *S. geminata*, los valores promedio absolutos fueron de 6,4% (huevos), y el consumo de larvas, pupas y adultos fue nulo, mientras que para *P. radoszkowskii* fueron de 24,9% (huevos), 18,7% (larvas) y 7,2% (adultos); no hubo consumo de pupas. Para *C. torosa* fueron de 13,4% para huevos, 10,3% (larvas), 24,7% (pupas) y 3,4% (adultos). Asimismo, aunque en algunas repeticiones consumieron más en los estadios expuestos que en los aislados, dichas diferencias no fueron consistentes a lo largo del experimento.

Como consecuencia, no hubo diferencias en los niveles de depredación entre ninguno de los estadios de *H. hampei*, independientemente de si estaban ex-

Cuadro 1. Porcentaje promedio de depredación de *Solenopsis geminata*, *Pheidole radoszkowskii* y *Crematogaster* spp. sobre tres estadios de *Hypothenemus hampei* y el testigo (larvas de *Anastrepha striata*) en experimentos de laboratorio. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 2002.

Especie	Huevo $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	Larva $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	Adulto $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	<i>A. striata</i> $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$
<i>S. geminata</i>	70,0 $\pm$ 46,9 a	100 $\pm$ 0 a	82,5 $\pm$ 12,6 a	75,0 $\pm$ 50 a
<i>P. radoszkowskii</i>	100 $\pm$ 0 a	97,5 $\pm$ 5 a	75,0 $\pm$ 33,2 a	60,0 $\pm$ 42,4 a
<i>C. crinosa</i>	100 $\pm$ 0 a	77,5 $\pm$ 45 a	5,0 $\pm$ 5,8 b	0 $\pm$ 0 b
<i>C. curvispinosa</i>	7,5 $\pm$ 15 a	20,0 $\pm$ 21,6 a	0 $\pm$ 0 a	0 $\pm$ 0 a
<i>C. torosa</i>	70,0 $\pm$ 40,8 a	90,0 $\pm$ 20 a	5,0 $\pm$ 10 b	17,5 $\pm$ 12,6 b

Los promedios seguidos por la misma letra no fueron estadísticamente diferentes ( $p > 0,05$ ) entre los tratamientos (estadios y testigo). Datos transformados por medio de:  $\arcseno \sqrt{\%100}$ .

**Cuadro 2.** Porcentajes absolutos y promedios de los diferentes estadios de *Hypothenemus hampei* encontrados en los granos de café expuestos o aislados en cajas Petri colocadas alrededor de nidos de *Solenopsis geminata*, *Pheidole radoszkowskii* y *Crematogaster torosa*. Finca Alfredo Montealegre. Heredia, Costa Rica. 2002.

Especie y repetición	Huevos		Larvas		Pupas		Adultos	
	% depredación		% depredación		% depredación		% depredación	
	Absoluta	Promedio	Absoluta	Promedio	Absoluta	Promedio	Absoluta	Promedio
<i>S. geminata</i>								
1	0		0		0		0	
2	19		0		0		0	
3	0	*6,43	0	0	0	0	0	0
<i>P. radoszkowskii</i>								
1	66		56,17		0		21,2	
2	8,6		0		0		0	
3	0	24,86	0	18,72	0	0	0	7,24
<i>C. torosa</i>								
1	30,91		30,9		0		10,17	
2	9,3		0		74,06		0	
3	0	13,41	0	1,30	0	24,68	0	3,39

**Cuadro 3.** Niveles de significancia estadística para el número promedio de los diferentes estadios de *Hypothenemus hampei* encontrados en los granos de café expuestos o aislados en cajas Petri colocadas alrededor de nidos de *Solenopsis geminata*, *Pheidole radoszkowskii* y *Crematogaster torosa*. Finca Alfredo Montealegre. Heredia, Costa Rica. 2002.

Especie y estadio	Tratamiento	Bloque	Repetición	Bloque/ repetición	Tratamiento/repetición
<i>S. geminata</i>					
Huevo	NS	NS	NS	NS	NS
Larva	NS	NS	*	NS	NS
Pupa	NS	NS	**	NS	NS
Adulto	NS	NS	NS	NS	NS
<i>P. radoszkowskii</i>					
Huevo	NS	NS	NS	NS	NS
Larva	NS	NS	NS	NS	NS
Pupa	NS	NS	**	NS	NS
Adulto	NS	NS	NS	NS	NS
<i>C. torosa</i>					
Huevo	NS	NS	*	NS	NS
Larva	NS	NS	NS	NS	NS
Pupa	NS	NS	**	NS	NS
Adulto	NS	NS	*	NS	NS

Nivel: No significativo (NS); significativo (\*) ( $p < 0,05$ ); y altamente significativo (\*\*) ( $p < 0,01$ ).

puestos o aislados, para ninguna de las tres especies de hormigas ( $p > 0,05$ ; Cuadro 3). Las únicas diferencias detectadas se presentaron cuando se analizó el factor repetición (es decir, la medición en el tiempo), lo cual ocurrió únicamente en el estadio de pupa para las tres especies de hormigas, y en el de adulto para *C. torosa*.

### Discusión

Todas las especies de hormigas evaluadas causaron depredación en al menos un estadio de *H. hampei*. Esto confirma que, a pesar de sus hábitos generalis-

tas en cuanto a alimentación (Hölldobler y Wilson 1990, Longino y Hanson 1995), ellas pueden depredar especies de insectos herbívoros, por lo que podrían ser útiles en programas de manejo integrado de *H. hampei*.

Sin embargo, su efecto fue más perceptible en los experimentos más simples y artificiales, en el laboratorio. Por ejemplo, *S. geminata* causó niveles de depredación de 70-100%, dependiendo del estadio, mientras que fueron de 75-100% para *P. radoszkowskii*, y de 0-100% para *Crematogaster* spp. En el testigo (lar-

vas de la mosca *A. striata*), los valores fueron de 0-100%, dependiendo de la especie de hormiga. En los experimentos de campo, en cambio, los niveles de depredación promedio no superaron el 25% en ningún caso. Estos resultados podrían sugerir que ellas fueron forzadas a depredar a *H. hampei*, pues en las cajas del laboratorio no había otro recurso alimenticio. No obstante, esto no es totalmente cierto, pues algunas especies de *Crematogaster* no se alimentaron de ciertos estadios de *H. hampei* ni de la mosca de la fruta y, además, en el campo también hubo cierto grado de depredación.

De hecho, se ha documentado que en condiciones naturales varias de las especies de hormigas evaluadas pueden actuar como depredadoras. Por ejemplo, aunque *S. geminata* se considera como cosechadora de semillas (Longino y Hanson 1995, Torres 1990, Trabaniño 1999), puede ser tan granívora como entomófaga, pues ataca y consume muchos rubros alimentarios (Wheeler 1910). Puede depredar insectos de importancia como plagas agrícolas, tales como *Spodoptera frugiperda* (Lastres *et al.* 1990, Perfecto 1991, Perfecto y Sediles 1992), *Agrotis* sp., *Listronotus* sp. (Lastres *et al.* 1990), *Diabrotica adelpha* y *Diabrotica balteata* (Risch 1981), *Anthonomus grandis* (Sturm *et al.* 1990), *Dalbulus maidis* (Perfecto 1991, Perfecto y Sediles 1992) y *Ceratitidis capitata* (Eskafi y Kolbe 1990).

Asimismo, *P. radoszkowskii*, cuyos congéneres se caracterizan por anidar en la hojarasca y ser cosechadoras de semillas (Levey y Byrne 1993), también depreda a *S. frugiperda* (Perfecto 1991). Por su parte, *Crematogaster* spp. pueden atacar a *Leptopharsa gibbicarina* (Montañez *et al.* 1998) y a *H. hampei* (Benassi 1995). En experimentos paralelos a los de este estudio, *S. geminata*, *P. radoszkowskii* y *C. crinosa* depredaron huevos, larvas y pupas del gusano barrenador de las meliáceas, *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) (Varón *et al.* 2003).

Estos hallazgos son congruentes con lo planteado por Way y Khoo (1992), quienes consideran que, aunque muchas especies de hormigas son depredadoras generalistas, al atacar plagas podrían ser valiosos agentes de control biológico, como sucede con *Oecophylla smaragdina*, *Oecophylla longinoda*, *Dolichoderus thoracicus*, *Formica rufa*, *Azteca* sp., *Wasmania auropunctata*, *Anoplolepis* sp. y *Solenopsis* sp. Asimismo, Perfecto y Castiñeiras (1998) destacan este efecto en *Pheidole megacephala*, *Ectatomma tuberculatum* y *Azteca chartifex*.

Sin embargo, desde la perspectiva del manejo de

plagas también es importante conocer la preferencia por ciertos estadios de una plaga, así como la estrategia específica de búsqueda de alimento por parte de cada especie de hormiga. Por ejemplo, *S. geminata* causó alta depredación de todos los estadios en el laboratorio, pero en el campo más bien fue baja. En el laboratorio, la depredación de huevos fue inferior a la de *P. radoszkowskii* y *C. crinosa*, aunque los datos no son estrictamente comparables, pues los experimentos fueron independientes.

No obstante, cabe advertir que la mayor depredación de *S. geminata* sobre la mayoría de los estadios de *H. hampei* en el laboratorio posiblemente reflejó su mayor actividad de búsqueda y su capacidad de reclutamiento, en comparación con las otras dos especies. Ella mostró gran rapidez de respuesta al encontrar los diferentes estadios y, una vez encontrados estos, el ataque fue casi inmediato (E. Varón, obs. pers.).

Lo anterior obedece quizás a su mayor capacidad de captar recursos grandes y defendibles, debido a que tiene un rápido reclutamiento, el cual es un mecanismo de comunicación que permite atraer miembros de la misma colonia a sitios donde su trabajo es necesario (Wilson 1971). La principal estrategia de *S. geminata* es acudir en masa y defender los recursos encontrados (Perfecto y Vandermeer 1996). En este caso, las fuentes de alimento fueron suministradas en volúmenes ("paquetes") grandes, como lo fueron los grupos de huevos, larvas y adultos de *H. hampei*, así como de larvas de *A. striata*. Sin embargo, la mayor depredación de *S. geminata* también podría explicarse porque en los experimentos se utilizó un nido más grande, que albergó una población mucho mayor que las de las otras especies, pero esto se hizo así porque sus nidos normalmente son bastante más grandes, también.

Por su parte, *P. radoszkowskii* también depredó bastante, sobre todo los estadios inmaduros de *H. hampei* (huevos y larvas). Esto podría explicarse porque *P. radoszkowskii* supera a *S. geminata* en su capacidad para encontrar recursos cuando las fuentes de alimento aparecen en volúmenes pequeños (Perfecto y Vandermeer 1996), lo cual no ocurrió en este experimento. Esto le impidió ser más rápida que *S. geminata* en la localización de las larvas y adultos de *H. hampei*, así como las larvas de *A. striata* en las cajas de depredación, excepto cuando las fuentes fueron los huevos de *H. hampei*, que fue cuando ella mostró su mayor eficiencia.

Finalmente, *Crematogaster* spp. causaron depredación sobre todo en los estadios inmaduros de *H. hampei*, lo que coincide con lo observado por Fonseca y Araujo (1939), citados por Le Pelley (1968), en Brasil, quienes notaron que una hormiga perteneciente a este género consumió altos números de estados inmaduros de *H. hampei* en los frutos. Fue evidente la menor depredación causada sobre adultos de *H. hampei* y larvas de *A. striata*, lo cual sugiere que son especies menos generalistas que *S. geminata* y *P. radoszkowskii*. Sin embargo, *C. curvispinosa* en general causó menor depredación que sus congéneres, debido no solamente a su propia capacidad de depredación, sino también a la baja viabilidad del nido utilizado, en el cual la población disminuyó paulatinamente, hasta que al final ningún individuo sobrevivió.

La alta depredación observada en laboratorio contrastó con los bajos niveles detectados en el campo, en condiciones menos artificiales, pues no hubo depredación de importancia sobre ningún estadio de *H. hampei*. Esto podría reflejar la dificultad que enfrentan todas estas especies de hormigas para desalojar la broca una vez que ha penetrado en el fruto de café.

El ingreso de hormigas a los granos fue observado no solamente para las especies en estudio, sino también para otras, las cuales no fueron identificadas. Esto confirma lo observado por otro autor (Vélez 2002)<sup>5</sup>, quien observó en detalle el ingreso de *S. geminata* en el túnel hecho por la broca. Asimismo, Fonseca y Araujo (1939), citados por Le Pelley (1965), observaron a *Crematogaster* sp. entrando en los túneles de la broca y sus diferentes estadios inmaduros. A pesar de eso, en este estudio en ninguno de los estadios la depredación fue significativa en términos estadísticos. Las únicas diferencias detectadas en el consumo ocurrieron entre las tres repeticiones efectuadas en diferentes fechas, y sobre todo en el estadio de pupa, lo cual podría explicarse porque se utilizaron granos que fueron infestados en la misma fecha y el estadio de pupa tiene muy corta duración. Es decir, podría haber sucedido que las pupas fueran muy abundantes una semana y dejaran de serlo rápidamente, al convertirse en adultos la mayoría de los individuos.

Es posible que los bajos niveles de depredación observados se deban a dificultades de penetrar en el orificio hecho por la broca. Esta incapacidad de pene-

trar en las perforaciones hechas por plagas fue observada para *Pheidole megacephala* en galerías de *Cylas formicarius elegantulus* en camote (*Ipomoea batatas*) (Castiñeiras 1989) aunque, a pesar de dicha incapacidad, la hormiga ejerció un control de la plaga por medio de la ocupación de los sitios que utiliza la plaga para perforar. Asimismo, aunque se ha reportado que *C. curvispinosa* puede penetrar al aumentar el diámetro de los orificios de *H. hampei* y depredarla (Benassi 1995), la especie aquí evaluada (*C. torosa*) es más grande, lo cual podría haber dificultado su penetración en el orificio.

En tal sentido, el tamaño podría ser un serio obstáculo para el control de *H. hampei*. El tamaño corporal de cada una de las especies es de 1,8-2,2 mm (*C. crinosa*); 2-2,5 mm (*C. curvispinosa* y *P. radoszkowskii*); 2,8-3 mm (*C. torosa*) y 3,5-5 mm (*S. geminata*). Sin embargo, más que el tamaño corporal, quizás es más determinante el tamaño de la cabeza, que corresponde a 0,3 mm (*C. crinosa*); 0,4 mm (*C. curvispinosa*); 0,6-1,4 mm (*P. radoszkowskii*); 0,7-0,8 mm (*C. torosa*), y 0,5-1,2 mm (*S. geminata*). Según las medidas de la cabeza, las especies evaluadas podrían controlar la broca, aunque *C. crinosa* y *C. curvispinosa* tendrían una ligera ventaja, pues la hembra de *H. hampei* mide 0,6-0,8 mm de ancho y su perforación tiene un diámetro similar; ella desarrolla todo su ciclo de vida dentro del fruto.

La baja depredación de *H. hampei* por hormigas también fue registrada por Vélez (2000), quien reportó un 7% de depredación en granos durante el secado por parte de un complejo de hormigas aparecidas de manera espontánea. Esto sugiere que la contribución de las hormigas en la depredación de la broca es marginal, debido a sus hábitos alimentarios generalistas.

En los experimentos de campo, de acuerdo con el número de individuos encontrados en cajas tapadas y abiertas, la mayor depredación absoluta fue para *P. radoszkowskii* (66%), seguida por *C. torosa* (31%), mientras que para *S. geminata* el único registro de depredación correspondió al 19%. Estos valores fueron menores de lo observado en el laboratorio, posiblemente porque las hormigas prefirieron buscar otros sitios y otras fuentes alimenticias, debido a sus hábitos generalistas y oportunistas.

Sin embargo, también se debe considerar que la metodología utilizada, por ser indirecta, genera incertidumbre sobre lo que realmente sucedió dentro de

<sup>5</sup> Vélez, M. 2002. CENICAFE, Colombia (comunicación personal).

los granos. Debido a que el período de incubación de la plaga es de unos 21 días, en ese lapso hubo un fuerte ataque de mohos (*Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp.) que, aunque fueron eliminados cuando se desinfectó el grano antes de ser utilizado, podrían haber afectado el ingreso de las hormigas, debido a un obstáculo físico de sus estructuras o a sus aflatoxinas. Esto pudo haberse reflejado en la mortalidad de larvas de *H. hampei* (25%) en todo el experimento, la cual podría atribuirse a dichos hongos, dadas las características de necrosamiento observadas en la mayoría de ellas.

En síntesis, con respecto a la capacidad depredadora de las especies de hormigas estudiadas, no hay duda de que pueden depredar a *H. hampei*, pero en condiciones naturales dicha capacidad está limitada por la dificultad de ingreso en el orificio hecho por la broca. Otras pruebas más directas de depredación, como por ejemplo de contrastes entre arbustos infestados con broca con acceso a hormigas y arbustos aislados de ellas por medio de mallas, podrían aportar más claridad sobre dicha capacidad, medida por el porcentaje de infestación o pérdidas en la producción.

En todo caso, convendría evaluar el uso de cebos artificiales en las ramas del arbusto de café, en las etapas fenológicas previas al arribo y ataque de los adultos de *H. hampei*. Dichos cebos podrían estimular e incrementar la actividad de reclutamiento de las hormigas y, así, la posibilidad de consumir los adultos antes de que penetren en los frutos. Esta técnica se ha utilizado con éxito para combatir otras plagas, empleando cebos azucarados o proteicos (Cañas y O'Neil 1998, Sekamatta *et al.* 2001).

## Agradecimientos

Los autores agradecen a Arturo Ramírez (CATIE) por su apoyo en la recolección de datos en el campo; a Isabel Chan (CICAFAE), Grace María Alpizar, Marcela Barrantes, Guido Sanabria, Arturo Gamboa, Asdrúbal Ramírez y Rodrigo Granados (CATIE) por su apoyo logístico; a John T. Longino (The Evergreen State College, Olympia, Washington) por la identificación de las especies de hormigas; a Gilberto Páez y Gustavo López (CATIE) por su apoyo en aspectos estadísticos; a Alfredo Montealegre, por facilitar su finca para el estudio de campo, y a Moisés Vélez (CENICAFE, Colombia) por compartir información inédita sobre el tema.

## Literatura citada

- Barbera, N; Hilje L; Hanson, P; Longino, JT; Carballo, M; De Melo, E. 2002. Diversidad de hormigas en sistemas agroforestales contrastantes de café, en Turrialba, Costa Rica. *Agroforestería en las Américas* 9(35-36): 75-80.
- Barbera, N; Hilje L; Hanson, P; Longino, JT; Carballo, M; De Melo, E. 2004. Diversidad de hormigas en un gradiente de cafetales orgánicos y convencionales. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 72: 81-92.
- Beer, J; Muschler, R; Kass, D; Somarriba, E. 1998. Shade management in coffee and cacao plantations. *Agroforestry Systems* 38: 139-164.
- Benassi, LRM. 1995. Levantamento dos inimigos naturais da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae) no norte do Espírito Santo. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 24(3): 635-637.
- Bustillo, AE. 1993. Control biológico como un componente en un programa de manejo integrado de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) en Colombia. In Seminario Taller sobre Manejo Integrado de Plagas del café (*Coffea arabica* L.) en Costa Rica (1993, Turrialba). Memorias. Turrialba, CR, CATIE. 100 p.
- Cañas, L; O'Neil, R. 1998. Applications of sugar solutions to maize and the impact of natural enemies on Fall Armyworm. *International Journal of Pest Management* 44(2):59-64.
- Castiñeiras, A. 1989. Relaciones de *Pheidole megacephala* (Hymenoptera: Formicidae) con *Cylas formicarius elegantulus* (Coleoptera; Curculionidae) en el cultivo del boniato: *Ipomoea batatas*. *Ciencia y tecnología Agrícola* 1(4):15-19.
- CENICAFE. 1994. ¿Tiene la broca del café enemigos nativos en Colombia? *Brocarta* 23:1-2.
- Eskafi, F; Kolbe, M. 1990. Predation on larval and pupal *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) by the ant *Solenopsis geminata* (Hymenoptera: Formicidae) and other predators in Guatemala. *Environmental Entomology* 19(1):148-153.
- Hölldobler, B; Wilson, EO. 1990. The ants. The Belknap Press of Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts. 571 p.
- Huang, HT; Yang, P. 1987. The ancient cultured citrus ant: A tropical ant is used to control insect pests in Southern China. *Bioscience* 37(9):665-671.
- Infante, F; Barrera, JF; Gómez, J; De la Rosa, W; Castillo, A. 1993. Avances sobre el combate biológico de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) en México. In Primer Seminario Taller sobre Manejo Integrado de Plagas del Café (*Coffea arabica* L.) en Costa Rica. (1993, Turrialba). Memoria. Turrialba, CR, CATIE. 100 p.
- Lastres, L; Andrews, K; Gilstrap, F. 1990. Control biológico del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) por *Doru taeniatum* (Dermaptera: Forticulidae) y *Solenopsis geminata* (Hymenoptera: Formicidae). In Memorias Congreso Nacional MIP (4, Managua). Memorias. Nicaragua. p. 305-306.
- Le Pelley, RH. 1968. Pests of coffee. Londres, UK, Longman's. 590 p.
- Leefmans, S. 1923. De Koffiebessenborbork (*Stephanoderes hampei* Ferrari = Coffeae Hagedorn). I. Levenswijze en ecologie. English summary. Meded. Van het Instituut Voor Plantenz. p. 57-94.
- Levey, D; Byrne, M. 1993. Complex ant-plant interactions: rain forest ants as secondary dispersers and post-dispersal seed predators. *Ecology* 74(6):1802-1812.
- Longino, JT; Hanson, PE. 1995. The ants (Formicidae). In Hanson, PE; Gauld, ID. eds. The Hymenoptera of Costa Rica. New York, US, Oxford University Press and The Natural History Museum. p. 589-620.

- Montañez, ML; Calvache, H; Luque, JE; Mendez, A. 1998. Control biológico de *Leptopharsa gibbicarina* (Hemiptera: Tingidae) con la hormiga *Crematogaster* sp. (Hymenoptera: Formicidae) en palma de aceite. *Revista Colombiana de Entomología* 24(3-4):89-94.
- Perfecto, I. 1991. Ants (Hymenoptera: Formicidae) as natural control agents of pests in irrigated maize in Nicaragua. *Journal of Economic Entomology* 84(1):64-70.
- \_\_\_\_\_; Castiñeiras, A. 1998. Deployment of the predaceous ants and their conservation in agroecosystems. In Barbosa, P. ed. *Conservation biological control*. Washington DC, US, Academic Press. p. 269-289.
- \_\_\_\_\_; Sediles, A. 1992. Vegetational diversity, ants (Hymenoptera: Formicidae) and herbivorous pests in a Neotropical agroecosystem. *Environmental Entomology* 21(1):61-67.
- \_\_\_\_\_; Snelling, R. 1995. Biodiversity and the transformation of a tropical agroecosystem: Ants in coffee plantations. *Ecological Applications* 5(4):1084-1097.
- \_\_\_\_\_; Vandermeer, J. 1996. Microclimatic changes and the indirect loss of ant diversity in a tropical agroecosystem. *Oecologia* 108:577-582.
- \_\_\_\_\_; Vandermeer, J; Hanson, P; Cartín, V. 1997. Arthropod biodiversity loss and the transformation of a tropical agroecosystem. *Biodiversity and Conservation* 6:935-945.
- Risch, S. 1981. Ants as important predators of rootworm eggs in the neotropics. *Journal of Economic Entomology* 74(1):88-90.
- SAS. 1988. SAS language guide for personal computers. 6.03 ed. Cary, North Carolina, US, SAS Institute Inc. 558 p.
- Sekamatte, B; Latigo, M, Russell-Smith, A. 2001. The potential of protein- and sugar-based baits to enhance predatory ant activity and reduce termite damage to maize in Uganda. *Crop Protection* 20:653-662.
- Sponagel, K. 1994. La broca del café *Hypothenemus hampei* en plantaciones de café robusta en la Amazonía Ecuatoriana. Giessen, DE, Wissenschaftlicher fachverlag. 185 p.
- Sturm, MM; Sterling, WL; Hartstack, W. 1990. Role of natural mortality in boll weevil (Coleoptera. Curculionidae) management programs. *Journal of Economic Entomology* 83(1):1-7.
- Torres, JA. 1990. Aspectos ecológicos, toxicológicos y agrícolas de la hormiga brasileña *Solenopsis invicta*. *Journal of Agriculture University of Puerto Rico* 74(4):375-394.
- Trabanino, R. 1999. Guía para el manejo integrado de plagas invertebradas en Honduras. El Zamorano, HN, Zamorano Academic Press. 156 p.
- Vandermeer, J; Perfecto, I; Ibarra, G; Phillpott, S; Garcia, A. 2002. Ants (*Azteca* sp.) as potencial biological control agents in shade coffee production in Chiapas, Mexico. *Agroforestry systems* 56:271-276.
- Varón, EH; Barbera, N; Hanson, P; Carballo, M; Hilje, L. 2003. Potencial de depredación de *Hypsipyla grandella* por hormigas, en cafetales de Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*. (En revisión).
- Vélez, M. 2000. Evaluación de marquesinas para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera:Scolytidae). Tesis Ing. Agr. Palmira, CO, Universidad Nacional de Colombia. 104 p.
- Way, MJ; Khoo, KC. 1992. Role of ants in pest management. *Annual Review of Entomology* 37:479-503.
- \_\_\_\_\_; Islam, Z; Heong, KL; Joshi, RC. 1998. Ants in tropical, irrigated rice: Distribution and abundance, especially of *Solenopsis geminata* (Hymenoptera: Formicidae). *Bulletin of Entomological Research* 88:467-476.
- Wheeler, WM. 1910. Ants: their structure, development and behavior. New York, US, Columbia University Press. 663 p.
- Wilson, EO. 1971. The insect societies. Cambridge, Massachusetts, US, The Belknap Press of Harvard University Press. 548 p.

# Seleção e caracterização genética por RAPD de linhagens de *Beauveria bassiana* para o controle de *Homalinotus coriaceus*

Ricardo P.C. Araujo<sup>1</sup>  
Joana M.S. Ferreira<sup>2</sup>  
Myrian S. Tigano<sup>3</sup>  
Fernanda B. Sarro<sup>4</sup>  
Claudio Costa<sup>1</sup>

**RESUMEN.** Selección y caracterización genética por RAPD de linajes de *Beauveria bassiana* para el control de *Homalinotus coriaceus*. La patogenicidad de veintidos linajes de *Beauveria bassiana* fue probada sobre adultos de *Homalinotus coriaceus*, cuyas larvas atacan el pedúnculo floral del coquero, ocasionando la caída de las flores y de los frutos inmaduros. El trabajo se desarrolló en Embrapa-CPATC y Embrapa-CENARGEM, siguiendo un diseño experimental completamente aleatorizado, con 23 tratamientos (22 linajes y un testigo) y cinco repeticiones, cada una con 20 insectos adultos. La prueba de patogenicidad fue realizada por la inmersión de adultos de *H. coriaceus* en suspensión conidial ( $10^9$  conidios/mL). Los aislados fueron caracterizados genéticamente por RAPD, utilizando 16 imprimadores. Los linajes seleccionados, con patogenicidad superior a 80%, fueron: CG002, CG544, CG817, CG557 y CG219. La caracterización genética indicó correlación entre el dendrograma y la matriz, con una similitud de 95%. El linaje más patogénico (CG002) presentó 67% de similitud con el cuarto linaje más patogénico (CG817), mientras que los demás linajes seleccionados presentaron una similitud menor al 67%. Los análisis de RAPD no produjeron grupos bien definidos, concluyéndose que la virulencia de *B. bassiana* a *H. coriaceus* no tiene relación con la similitud genética verificada entre los linajes.

**Palabras claves:** *Beauveria bassiana*, coquero, Curculionidae, *Homalinotus coriaceus*.

**ABSTRACT:** Selection and genetic characterization of *Beauveria bassiana* by RAPD analysis for the control of *Homalinotus coriaceus*. The pathogenicity of twenty-two *Beauveria bassiana* strains was evaluated against adults of *Homalinotus coriaceus* (Coleoptera: Curculionidae), an important coconut pest in Brazil whose larvae attack the bunch, causing the flowers and the immature fruits to fall down. The research was carried out in Embrapa-CPATC and Embrapa-CENARGEM, following a completely randomized design, with 23 treatments (22 strains and a blank) and five replications, with 20 adult insects each. The pathogenicity test was carried out by immersing *H. coriaceus* adults in a conidial suspension ( $10^9$  conidia/mL). The strains were genetically identified through RAPD, using 16 primers. The strains with a pathogenicity of over 80% were: CG002, CG544, CG817, CG557, and CG219. The genetic characterization showed a correlation of 95% between the dendrogram and the similarity matrix. The most pathogenic strain (CG002) showed a similarity of 67% with the fourth one (CG817). The other strains showed a similarity of under 67%. The RAPD analysis did not show well-defined groups, and we conclude that *B. bassiana* virulence to *H. coriaceus* is not correlated with genetic similarity between strains.

**Keywords:** *Beauveria bassiana*, coconut, Curculionidae, *Homalinotus coriaceus*.

## Introdução

Nos grandes plantios comerciais alguns insetos representam uma ameaça à produção. Entre os fatores responsáveis pela regulação da população de

pragas na maioria das culturas destacam-se os agentes entomopatogênicos (Araujo 1997). Isto indica o grande potencial de uso de produtos microbianos

<sup>1</sup> Depto. de Biotecnologia, Inst. Química – UNESP, C. postal 355 - CEP 14800-900, Araraquara, SP, Brasil.

<sup>2</sup> Lab. de Entomologia - Embrapa Tabuleiros Costeiros, C. postal 44 - CEP 49025-040 - Aracaju - SE, Brasil.

<sup>3</sup> Lab. de Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, C. postal 2372 - CEP 70770-900 - Brasília - DF, Brasil.

<sup>4</sup> Depto. Produção Vegetal - FCA - UNESP - Faz. Exp. Lageado, C. postal 237 - CEP 18603-970 - Botucatu - SP, Brasil. fbsarro@fca.unesp.br

como parte de um conjunto de medidas que, atuando em harmonia com o ambiente, pode regular a população da praga mantendo-a abaixo do nível de dano econômico, além de contribuir para a economia de divisas e para a redução da poluição ambiental (Alves *et al.* 1998).

As diversas descobertas na área de controle microbiano vêm contribuindo para a utilização cada vez maior de grupos de entomopatógenos no controle de pragas agrícolas e urbanas. Fungos entomopatogênicos têm sido isolados de pragas do coqueiro provenientes de várias localidades do estado de Sergipe. O fungo *Beauveria bassiana* tem ocorrido enzooticamente em coqueirais no estado de Sergipe, parasitando adultos da broca do cacho do coqueiro, *Homalinotus coriaceus* (Coleoptera: Curculionidae) (Ferreira *et al.* 2000), cujas larvas dilaceram os feixes libero-lenhosos do pedúnculo do cacho impedindo a translocação de seiva, o que acarreta a queda dos frutos (Ferreira *et al.* 2002).

Linhagens de *B. bassiana*, provenientes do Laboratório de Entomologia da Embrapa Tabuleiros Costeiros, bem como linhagens provenientes da coleção da Embrapa Recursos Genéticos/DF (CENARGEN), isoladas de várias famílias da ordem Coleoptera, têm sido testadas no controle de adultos de *H. coriaceus*. Testes preliminares de laboratório demonstraram a viabilidade de utilização da linhagem CG817, isolada de *H. coriaceus*, para o controle dos adultos desta espécie, além do potencial de produção em laboratório (Ferreira *et al.* 2000).

Devido a alta incidência natural de *B. bassiana*, em pragas do coqueiro, e a existência de diversas linhagens isoladas de coleópteros, desenvolveu-se esse trabalho para selecionar as linhagens mais patogênicas a *H. coriaceus* e através da caracterização genética por RAPD, avaliar a variabilidade genética dessas linhagens isoladas no estado de Sergipe e nas demais regiões geográficas do país, com o objetivo de verificar se havia correlação entre a patogenicidade, o polimorfismo molecular e o hospedeiro ou região geográfica.

## Material e métodos

### Manutenção dos insetos

Adultos de *H. coriaceus* foram coletados em coqueiros da variedade anão-verde, no Município de Saquarema/RJ, mantidos em caixas plásticas transparentes furadas contendo toletes de cana-de-açúcar.

### Cultura dos fungos

Vinte e dois isolados de *Beauveria bassiana* foram utilizados nesse trabalho (CG207, CG817, Saq., CG138, CB, Malh., CG004, CG544, CG011, CG216, CG219, CG545, CG478, CG304, CG002, CG475, CG557, CG674, CG547, CG311, CG546, CG211). Algumas linhagens foram isoladas de espécimes da broca-do-cacho e da broca-do-olho do coqueiro (*Rhynchophorus palmarum*), coletados no campo já infectados, e outras foram obtidas da coleção de fungos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-(CENARGEN)/DF, isolados de insetos da família Curculionidae, de diferentes regiões geográficas. A origem geográfica, a data de coleta dos insetos mortos e o inseto hospedeiro estão na Tabela 1. Os conídios utilizados no teste de patogenicidade foram obtidos de culturas inoculadas em arroz autoclavado mantidos a 25 °C por 15 a 20 dias até a esporulação. O micélio usado para análise RAPD foi obtido em placas contendo meio completo (0,001 g FeSO<sub>4</sub>, 0,5 g KCl, 1,5 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 6 g NaNO<sub>3</sub>, 0,001 g ZnSO<sub>4</sub>, 1,5 g caseína hidrolisada, 0,5 g levedo de cerveja, 10 g glucose, 2 g peptona, 20 g ágar e 1 L de água destilada) a 27 °C por 15 dias, sendo o micélio liofilizado e estocado a -80 °C.

### Análise RAPD

As linhagens selecionadas foram submetidas à caracterização genética por RAPD, no laboratório de Micologia da Embrapa Recursos Genéticos (CENARGEN). O DNA genômico dos 22 isolados de *B. bassiana* foi obtido usando o método de extração rápida denominado miniprep (Aljanibi & Martinez 1997). As reações de PCR foram feitas em volumes de 30 µL, com uma concentração padrão de 25 ng de DNA, usando um termociclador programável PTC-100 (MJ Research) cuja programação foi descrita por Tiganio-Milani *et al.* (1995). As amplificações foram feitas usando os seguintes reagentes: 2 unidades de Taq polimerase (Cenbiotec), 5 µL de 10x solução tampão para Taq polimerase, 200 µM de cada desoxynucleotídeos trifosfatados (Pharmacia Biotec) e 0,4 µM de 10-mer primer (Operon Technologies, Alameda CA). Dezesesseis primers foram selecionados para análise: OPB-01, OPB-08, OPC-04, OPE-01, OPE-02, OPE-03, OPE-04, OPE-06, OPE-07, OPE-08, OPE-09, OPE-14, OPE-15, OPE-16, OPE-19 e OPAB-04. Os produtos amplificados foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida a 2% com

**Tabela 1.** Origem hospedeira e localização geográfica das 22 linhagens de *Beauveria bassiana* isoladas de insetos da ordem coleóptera e mortalidade média ( $\pm$ DP) de adultos de *H. coriaceus* após imersão em suspensão conidial ( $10^9$  conídios/mL).

Linhagem	Data da coleta	Hospedeiro	UF	País	Mortalidade <sup>(2)</sup>
CG002	22/09/2000	<i>Elaeidobius</i> sp.	AM	Brasil	19,4 $\pm$ 0,89 a
CG544	09/03/2000	<i>Rhinostomus barbirostris</i>	SE	Brasil	18,6 $\pm$ 0,89 ab
Malh.	24/02/2000	<i>Rhynchophorus palmarum</i>	SE	Brasil	18,0 $\pm$ 0,71 ab
CG817	12/09/1999	<i>Homalinotus coriaceus</i>	SE	Brasil	17,4 $\pm$ 0,89 ab
CG557	22/09/2000	<i>H. coriaceus</i>	SE	Brasil	16,8 $\pm$ 1,64 ab
CG219	15/03/2000	<i>Chalcodermus</i> sp.	MS	Brasil	16,4 $\pm$ 1,52 abc
Saq.	10/01/2000	<i>H. coriaceus</i>	RJ	Brasil	16,0 $\pm$ 1,00 bc
CG475	22/09/2000	<i>Sternechus subsignatus</i>	PR	Brasil	13,4 $\pm$ 1,52 c
CG207	03/01/2000	<i>Chalcodermus aeneus</i>	GO	Brasil	12,2 $\pm$ 0,84 d
CG211	24/03/1982	<i>Aracanthus</i> sp.	CE	Brasil	10,4 $\pm$ 1,14 de
CB	13/01/2000	<i>Coraliomela brunnea</i>	SE	Brasil	7,6 $\pm$ 1,34 ef
CG674	22/09/2000	Coleoptera/Curculionidae	MT	Brasil	7,0 $\pm$ 2,55 f
CG478	14/04/2000	<i>Anthonomus grandis</i>	SP	Brasil	6,8 $\pm$ 2,77 f
CG011	14/03/2000	<i>S. subsignatus</i>	PR	Brasil	6,4 $\pm$ 1,52 f
CG311	03/10/2000	<i>Aracanthus</i> sp.	PR	Brasil	5,6 $\pm$ 2,07 fg
CG547	03/10/2000	<i>R. palmarum</i>	SE	Brasil	4,6 $\pm$ 1,34 fgh
CG138	11/01/2000	<i>Cosmopolites sordidus</i>	PE	Brasil	3,8 $\pm$ 0,84 fgh
CG216	15/03/2000	Coleoptera/Curculionidae	CE	Brasil	3,6 $\pm$ 0,55 fgh
CG545	14/04/2000	<i>R. palmarum</i>	SE	Brasil	3,0 $\pm$ 1,73 gh
CG546	06/10/2000	<i>R. palmarum</i>	SE	Brasil	2,8 $\pm$ 1,64 gh
CG004	09/03/2000	<i>Deois flavopicta</i>	DF	Brasil	2,4 $\pm$ 1,14 h
CG304	14/04/2000	<i>S. subsignatus</i>	RS	Brasil	2,2 $\pm$ 0,44 h

<sup>(2)</sup> Mortalidade média de cinco repetições contendo 20 adultos / repetição.  
DMS: 3,28

brometo de etídeo durante 4 horas, em seguida o gel foi fotografado no EAGLE-EYE.

### Teste de patogenicidade

A seleção das linhagens de *B. bassiana* mais patogênicas à *H. coriaceus* foi realizada no Laboratório de Entomologia da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju – SE e mantidos a 25 °C, 80% UR e fotofase de 12h. Foram avaliadas 22 linhagens, selecionando-se aquelas que apresentaram uma patogenicidade superior a 80%, sabendo-se que de acordo com Alves (1998), um microrganismo é considerado viável para ser utilizado como um agente de controle microbiano quando este apresenta uma patogenicidade igual ou superior a 80%. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, constando de 23 tratamentos (um testemunha e 22 linhagens) e 5 repetições com 20 adultos/repetição, totalizando 100 adultos por tratamento. O teste de patogenicidade foi realizado através da imersão de adultos de *H. coriaceus* em suspensão conidial ( $10^9$  conídios/mL), contendo 0,1% de Tween<sup>®</sup> 80, por aproximadamente 10 segundos. Os insetos da testemunha foram tratados

com a mesma solução, porém sem a presença de conídios. Após a imersão os insetos foram colocados isoladamente em garrafas plásticas de 250 mL contendo um pedaço de cana-de-açúcar, como substrato alimentar, trocado a cada dois dias. A avaliação foi diária durante 20 dias, tanto para insetos tratados como para testemunha, anotando-se o número de insetos mortos, o dia e a causa da morte. Para tanto, os insetos mortos foram colocados em câmaras úmidas para confirmação da infecção pelo fungo.

### Análise de dados

A mortalidade observada no teste de patogenicidade foi submetida à análise descritiva do ANOVA, obtendo-se as médias e os respectivos desvios-padrão. A análise das bandas obtidas no RAPD foi analisada usando NTSYS-pc V1.8. Com base no número de bandas obtidas das 22 linhagens de *B. bassiana* através dos 16 primers selecionados, foi criada a matriz de similaridade utilizando o coeficiente de similaridade de Nei & Li e o método de cluster usando UPGMA adotado por Sneath & Sokal (1973).

## Resultados e discussão

De acordo com o teste de patogenicidade verificou-se uma alta variabilidade na patogenicidade das 22 linhagens de *B. bassiana* aos adultos de *H. coriaceus*. As linhagens mais patogênicas foram: CG002, CG544, Malh., CG817, CG557, CG219 e Saq que apresentaram patogenicidade de: 97%, 93%, 90%, 87%, 84%, 82% e 80%, respectivamente (Fig.1).

Os 16 primers utilizados neste estudo geraram 198 bandas nas 22 linhagens de *B. bassiana* (Fig. 2). O número de bandas geradas para cada primer variou de 7 a 18 bandas. Os resultados do dendrograma foram comparados com a matriz de similaridade que foi calculada a partir da contagem binária de primers arbitrários. A correlação entre o dendrograma e a matriz de similaridade foi de 95%.

A análise de cluster e a matriz de similaridade usando o método de UPGMA evidenciou 4 grupos. O grupo 1 compreende três linhagens que estão agrupadas a 56% de similaridade. A linhagem CG674 encontra-se isolada (grupo 2) e as linhagens Malh., CG547, CG546, CG545 e CG544, isoladas de adultos de *R. palmarum* e *Rhinostomus barbirostris* em Sergipe, apresentam 70% de similaridade (grupo 4), sendo que a patogenicidade das linhagens CG544 e

Malh. diferiu estatisticamente das linhagens CG547, CG546 e CG545 (Tabela 1). As demais linhagens formam o grupo 3, apresentando 63% de similaridade (Fig. 3).

Dentre as sete linhagens mais patogênicas, a CG544 e a Malh., apresentam 70% de similaridade. Em relação às outras cinco linhagens mais patogênicas a similaridade observada foi de 60%. A linhagem CG002, que apresentou patogenicidade de 97%, possui 67% de similaridade com a quarta linhagem mais patogênica (CG817), sendo que em relação às outras a similaridade foi menor.

As linhagens isoladas de adultos de *H. coriaceus* (Saq., CG557 e CG817) apresentaram uma alta variabilidade, mesmo entre as linhagens provenientes do estado de Sergipe, porém a patogenicidade não diferiu estatisticamente (Tabela 1) variando de 80 a 87% no controle deste inseto (Fig. 1). Por outro lado, as três linhagens de *B. bassiana* (CG545, CG546 e CG547) isoladas de *R. palmarum*, apresentaram uma similaridade de 88% e baixa patogenicidade à adultos de *H. coriaceus* (15%, 14% e 23%, respectivamente). Nossos resultados concordam com Berretta *et al.* (1997) que avaliaram a variabilidade genética de isolados de *B. bassiana*, provenientes do Brasil e da

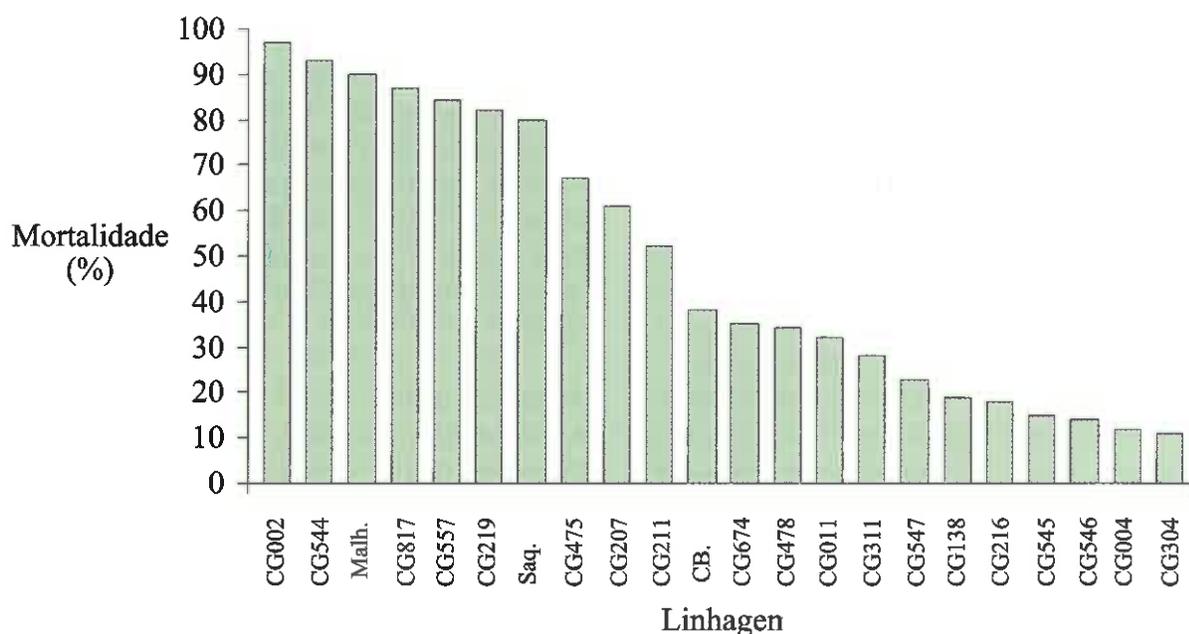
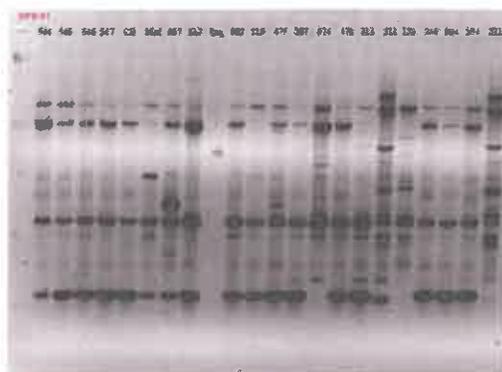


Figura 1. Porcentagem de mortalidade de adultos de *Homalinotus coriaceus* tratados em suspensão contendo  $10^9$  conídios/mL de 22 linhagens do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (25 °C, UR 80% e fotofase 12 h).

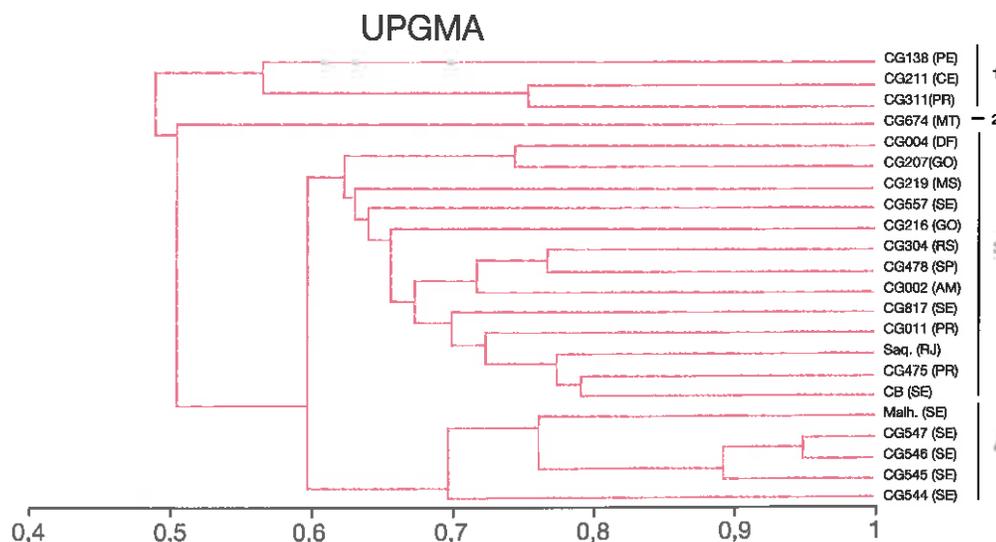
Argentina, através de RAPD com marcadores fluorescentes, observando não haver nenhuma correlação entre a origem geográfica ou hospedeira com a variabilidade, pois cada isolado apresentou um genótipo distinto.



**Figura 2.** Padrão em gel de poliacrilamida representativo de bandas obtidas por RAPD através da amplificação com o primer OPE-01 (5'CCCAAGGTCC3') de 22 linhagens do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*.

Castrillo e Brooks (1998) avaliaram a diferenciação de linhagens *B. bassiana* isoladas do mesmo hospedeiro, proveniente de regiões diferentes, usando isoenzimas e RAPD, observando que ambos os marcadores foram capazes de identificar variações nas linhagens provenientes da Carolina do Norte e da Virgínia, porém os marcadores RAPD proporcionaram uma melhor resolução na diferenciação entre as linhagens.

As análises de RAPD indicaram que as linhagens de *B. bassiana* são relativamente homogêneas, apresentando uma similaridade superior as 50%, porém a virulência contra *H. coriaceus* é divergente. Segundo Leucona *et al.* (1996) as análises de isoenzimas de *B. bassiana* têm mostrado que não é possível correlacionar o polimorfismo molecular com a virulência, também Luz *et al.* (1998) observaram que a virulência de 10 isolados de *B. bassiana* não poderia ser distinguida apenas pelos marcadores moleculares usados. Assim um maior número de amostras de isolados deveria ser analisado para que se conseguisse identificar grupos mais definidos.



**Figura 3.** Dendrograma construído com base nos dados obtidos das análises de RAPD, indicando a relação entre as 22 linhagens de *Beauveria bassiana*. A matriz de similaridade foi calculada utilizando o coeficiente de Nei & Li e a análise de cluster foi gerada usando o método UPGMA. Os números de 1 a 4 indicam os grupos formados de acordo com a porcentagem de similaridade observada.

## Literatura citada

- Aljanabi, SM; Martínez, I. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acid Research* 25: 4692-4693.
- Alves, SB. 1998. Controle microbiano de insetos. Piracicaba, BR.
- Araujo, RPC. 1997. Avaliação do controle biológico da broca do pedúnculo floral (*Homalinotus coriaceus* Gyll.) do coqueiro (*Cocos nucifera* L.) pelo fungo entomopatogênico *Metharizium anisopliae* (Mestch.) Sorokin. Dissertação. Brasil, Instituto de Química do Campus de Araraquara, UNESP. 63 p.
- Berretta, MF; Lecuona, ME; Zandomeni, RO; Grau, O. 1998. Genotyping isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* by RAPD with fluorescent labels. *Journal of Invertebrate Pathology* 71: 145-150.
- Castrillo, LA; Brooks, WM. 1998. Differentiation of *Beauveria bassiana* isolates from the Darkling Beetle, *Alphitobius diaperinus*, using isozyme and RAPD analyses. *Journal of Invertebrate Pathology* 72: 190-196.
- Ferreira, JMS; Warwick, DRN; Siqueira, LA. 1998. A Cultura do Coqueiro no Brasil. 2 ed. Brasília, BR, Embrapa-SPI, Aracaju. 292 p.
- \_\_\_\_\_; Araujo, RPC; Sarro, FB. 2000. Efficiency of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (057) on adults of the Black bunch weevil (*Homalinotus coriaceus*). In International Congress of Entomology (21, 2000.). Annals. Foz do Iguaçu, BR. v. 1, p. 519.
- \_\_\_\_\_; Araujo, RPC; Sarro, FB. 2002. Insetos e ácaros. In Ferreira, JMS. ed. Frutas do Brasil: coco fitossanidade. Brasília, BR, Embrapa Informação Tecnológica. p.10-40.
- Lecuona, RE; Tigano, MS; Diaz, BM. 1996. Characterization and pathogenicity of *Beauveria bassiana* against *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae) in Argentina. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 25: 299-307.
- Luz, C; Tigano, MS; Silva, LG; Cordeiro, SMT; Aljanabi, SM. 1998. Selection of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates to control *Triatoma infestans*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 93: 839-846.
- Sneath, PHA; Sokal, RR. 1973. Numerical Taxonomy. San Francisco, US, Freeman. 573 p.
- Tigano-Milani, MS; Honeycutt, RJ; Lacey, LA; Assis, R; McClelland, M; Sobral, BWS. 1995. Genetic variability of *Paecylomices fumosoroseus* isolates revealed by molecular markers. *Journal of Invertebrate Pathology* 65: 274-282.

# Efecto de la infección de PVX y PVY en la producción de *Solanum tuberosum* en invernadero con los cultivares Floresta y Granola

V. Vásquez<sup>1</sup>  
M. Montero-Astúa<sup>1</sup>  
C. Rivera<sup>1,2</sup>

**RESUMEN.** Se realizaron dos ensayos en invernadero para medir el efecto de la infección de PVY y PVX en las variedades cultivadas de papa Floresta y Granola, comúnmente sembradas en Costa Rica. Se sembraron vitroplantas libres de virus, de ambas variedades, en invernadero. Se inocularon 54 plantas de cada variedad con inóculo de PVX mantenido en *Nicotiana glutinosa*, y 35 plantas de cada variedad con inóculo de PVY mantenido en *Nicotiana tabaccum*. En el momento de la cosecha se evaluó el número y el peso de los tubérculos obtenidos por maceta de las plantas inoculadas y de las sanas (control). Las plantas sanas de la variedad Floresta produjeron tres veces más tubérculos y de mayor peso que las de Granola. El cultivar Floresta fue más susceptible a la infección con PVX, que redujo el rendimiento en un 26%. No se demostró efecto de la infección con PVY en ninguna de las variedades. Los síntomas fueron más severos en las plantas de Floresta que en las de Granola, para la infección con ambos virus.

**Palabras clave:** papa, potexvirus, potyvirus, rendimiento, virus.

**ABSTRACT. PVX and PVY effect on *Solanum tuberosum* greenhouse yield of the cultivars Floresta and Granola.** Two greenhouse experiments were conducted to evaluate the effect of PVY and PVX on the yield of two potato varieties commonly grown in Costa Rica: Floresta and Granola. Virus-free *in vitro* plants of both varieties were planted in pots in the greenhouse. Fifty-four plants of each variety were inoculated with PVX maintained in *Nicotiana glutinosa* and 35 plants of each variety were inoculated with PVY maintained in *Nicotiana tabaccum*. The number and weight of the tubers obtained from inoculated and healthy control plants were recorded. Healthy Floresta plants produced three times more tubers of greater weight than the healthy control plants of the Granola variety. Yields of Floresta plants infected with PVX were 26% lower than in healthy controls. Yields were not affected by PVY infection in either one of the varieties. Symptoms of both viruses were more severe in Floresta than in Granola.

**Key words:** Potato, potexvirus, potyvirus, virus, yields.

## Introducción

Las enfermedades virales afectan de distintas formas los cultivos, y su efecto depende de la severidad del virus, el estado fisiológico y la variedad de la planta que infecten, entre otros aspectos. En general, la literatura indica que entre los virus que causan mayores efectos negativos en el rendimiento de la papa se encuentran el *potato virus Y*, *potyvirus* (PVY) y el *potato virus X*, *potexvirus* (PVX) (Salazar 1995).

Las pérdidas producidas por PVY se manifiestan tanto en el rendimiento como en la calidad de los tubérculos. Estas pérdidas pueden variar del 10 al 80%, dependiendo del cultivar (Salazar 1982). El PVX puede causar pérdidas significativas, dependiendo del cultivar: se han informado disminuciones en el rendimiento que van desde un 5 hasta un 75% (Salazar 1982). Cuando estos virus se presentan en infección mixta causan el mosaico rugoso, cuyos síntomas son

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

<sup>2</sup> Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. viviana@cariari.ucr.ac.cr y crivera@racsa.co.cr

más severos y las pérdidas económicas pueden ser mucho más graves que en infecciones simples de PVY o de PVX (Stevenson 2001). En Costa Rica, Hord y Rivera (1998) informaron, para la zona norte de Cartago, una alta incidencia de PVX (92%) y de PVY (56%).

Las variedades cultivadas de papa más utilizadas en Costa Rica son Floresta y Granola. Para ninguno de estos cultivares se cuenta con estudios que cuantifiquen las pérdidas en la producción causadas por las infecciones virales. Debido a las altas tasas de infección por PVX y PVY que se han informado para Costa Rica y a la importancia de estos virus en la disminución en el rendimiento, se plantea la necesidad de evaluar su efecto en estos cultivares.

El objetivo de este estudio fue aportar datos cuantitativos sobre el efecto del PVX y el PVY en la producción de plantas de los cultivares Floresta y Granola, en condiciones de invernadero. Se compararon, además, las diferencias en rendimiento entre las dos variedades sanas.

### Materiales y métodos

Se realizaron dos experimentos en invernadero; el primero en los meses de agosto a diciembre, donde se evaluó el efecto del PVX en las variedades cultivadas Floresta y Granola; el segundo experimento tuvo lugar en los meses de diciembre a abril, donde se evaluó el efecto de PVY en ambas variedades. Los ensayos se llevaron a cabo en un invernadero con malla antiáfidos, pero sin condiciones controladas. Se utilizaron plantas *in vitro*, libres de virus, de las variedades cultivadas Floresta y Granola, mantenidas y multiplicadas por el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto Tecnológico de Costa Rica. El cultivar Floresta provino del Centro Internacional de la Papa (CIP) y el cultivar Granola fue mejorado en Alemania.

Para la aclimatización y el crecimiento en invernadero se utilizó la metodología de Flores *et al.* (2002). Se trasplantaron 120 vitropantitas de cada variedad a macetas de 3 L, dos plantas por maceta, con suelo estéril como sustrato. Cinco semanas después, se inocularon mecánicamente con los virus indicados. Posteriormente, cuando las plantas cumplieron 14 semanas de estar en el invernadero, se eliminó el riego. Dos semanas más tarde, se les eliminó el follaje y una semana después se realizó la cosecha. Con ambas variedades se siguió la misma metodología, con la excepción de la cosecha, la cual se realizó cuatro semanas

antes para el cultivar Granola, debido a que tiene un ciclo más corto.

Como fuentes de inóculo se utilizaron un aislamiento de PVX, mantenido en invernadero en plantas de *Nicotiana glutinosa*, y un aislamiento de PVY, mantenido en invernadero en plantas de *Nicotiana tabacum*. El material se maceró en el invernadero para la inoculación, a una dilución de 1:2 en solución amortiguadora de fosfato de sodio 10mM, pH 7. Se utilizó carborundum como abrasivo y el inóculo se frotó con un aplicador sobre las hojas de las plantas. Se inocularon en total tres hojas por planta: dos jóvenes, localizadas en la parte superior, y una madura, en la parte media de la planta. Después de la inoculación la superficie de las hojas se lavó con agua destilada.

La efectividad de la inoculación se comprobó tres semanas después de la misma, mediante la prueba de DAS-ELISA. Se utilizaron anticuerpos y conjugados comerciales de la casa AGDIA (Elkhart, Indiana, US). Las lecturas de absorbancia se realizaron en un lector de ELISA Dynex MRX, a 460 nm, 120 minutos después de agregar el sustrato. Las muestras se consideraron positivas cuando la absorbancia fue mayor a la media de los controles negativos ( $n=4$ ), más tres veces la desviación estándar.

Al cumplir las plantas de Granola tres meses en el invernadero y las de Floresta cuatro meses, se cosecharon los tubérculos producidos por maceta, separando los sanos de los infectados. Posteriormente los tubérculos se clasificaron, según su peso, en seis categorías: categoría 1) de 60 a 110 g; 2) de 35 a 59 g; 3) de 15 a 34 g; 4) de 8 a 14 g; 5) de 2 a 7 g, y 6) tubérculos con pesos menores de 2 g. Se tomó además el peso individual de los tubérculos y el peso total de cada categoría y se consideraron malformaciones o defectos cosméticos de los tubérculos. Los datos de la cosecha se analizaron con la prueba de T, promedios, medias y desviaciones estándar, utilizando el programa STATISTICA (versión 6.0 StatSoft).

### Resultados

En el primer experimento —donde se evaluó la infección con PVX— se perdieron tres plantas de Granola y cinco de Floresta durante el proceso de aclimatización. De las 54 plantas de la variedad Granola y las 54 de la variedad Floresta inoculadas con el PVX, se detectaron infectadas con el virus 40 plantas de Granola (74% de las inoculadas) y 54 de Floresta (100% de las inoculadas).

En total, se cosecharon 100 plantas de Granola, 40 infectadas (20 macetas) y 60 sanas (30 macetas). El número promedio de tubérculos sanos control por maceta fue de 4,3 y el número promedio por maceta infectada fue de 3,8 tubérculos ( $T=0,23$ ). El peso promedio de los tubérculos para las macetas sanas fue de 7,033 g y para las macetas infectadas de 7,018 g ( $T=0,98$ ; Cuadro 1). Al comparar las plantas sanas con las infectadas, ni el número de tubérculos ni el peso fueron estadísticamente significativos ( $T > 0,05$ ).

**Cuadro 1.** Tubérculos sanos y tubérculos infectados con PVX del cultivar Granola producido en invernadero.

Categoría por peso (g)	Sanos		Infectados	
	Número	Peso promedio (g)	Número	Peso promedio (g)
60-110	0	—	—	—
35-59	0	—	—	—
15-34	20	17	9	15
8-14	40	8	21	8,5
2-7	56	3,3	31	3
< 2	27	< 2	20	< 2

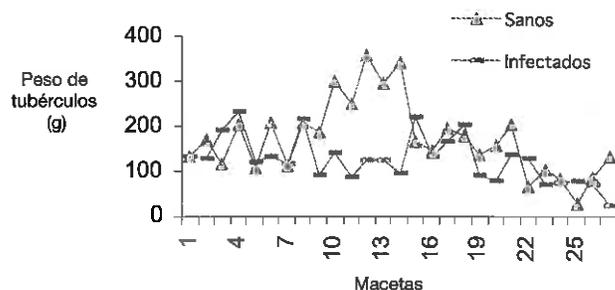
De la variedad Floresta se cosecharon en total 108 plantas, 54 sanas (27 macetas) y 54 infectadas (27 macetas). El número promedio de tubérculos cosechados de las plantas sanas por maceta fue de 12, y el promedio por maceta infectada fue de 9,6 tubérculos (Cuadro 2). La diferencia en el número de tubérculos producidos por planta sana o infectada no fue significativo ( $T=0,072$ ). El peso sí presentó diferencias significativas entre tubérculos sanos y tubérculos infectados ( $T=0,016$ ; Fig. 1). El peso promedio por maceta de los tubérculos sanos cosechados fue de 173 g y el peso promedio por maceta de tubérculos infectados fue de 127 g (Cuadro 2). La diferencia en el peso de los tubérculos fue de un 26%.

En promedio, una maceta con dos plantas sanas de Granola produjo 4,3 tubérculos, y una maceta con dos plantas sanas de Floresta produjo en promedio 12 tubérculos ( $T=0,001$ ).

Para la evaluación de la infección con PVY (segundo experimento), en todo el proceso de aclimatación se perdieron 25 plantas de Granola y 15 plantas de Floresta. De las 35 plantas de Granola y 35 de Floresta inoculadas con PVY, solamente 25 plantas de Granola (71% de las inoculadas) y 35 de Floresta (100% de las inoculadas) fueron posteriormente detectadas como infectadas por este virus.

**Cuadro 2.** Tubérculos sanos y tubérculos infectados con PVX del cultivar Floresta producido en invernadero.

Categoría por peso (g)	Sanos		Infectados	
	Número	Peso promedio (g)	Número	Peso promedio (g)
60-110	8	81	2	62
35-59	43	38	28	40
15-34	80	18	82	18
8-14	63	8,5	47	8,5
2-7	52	3,3	43	3,5
< 2	66	< 2	55	< 2



**Figura 1.** Relación entre el peso de los tubérculos de plantas sanas y el peso de los tubérculos de plantas infectadas con PVX, de la variedad Floresta.

En total se cosecharon 60 plantas de Granola: 22 infectadas (11 macetas) y 30 sanas (15 macetas). El número promedio de tubérculos control sanos por maceta fue de 9,6 y con plantas infectadas fue de 9,4 tubérculos ( $T=0,69$ ). El promedio del peso de los tubérculos con plantas sanas fue de 35,2 g y con plantas infectadas de 34 g ( $T=0,78$ ; Cuadro 3). Ni el número de tubérculos ni su peso fueron estadísticamente significativos.

Se cosecharon 30 plantas sanas de la variedad Floresta (15 macetas) y 22 plantas infectadas (11 macetas) (murieron 13 plantas). El número promedio de

**Cuadro 3.** Tubérculos sanos y tubérculos infectados con PVY del cultivar Granola producido en invernadero.

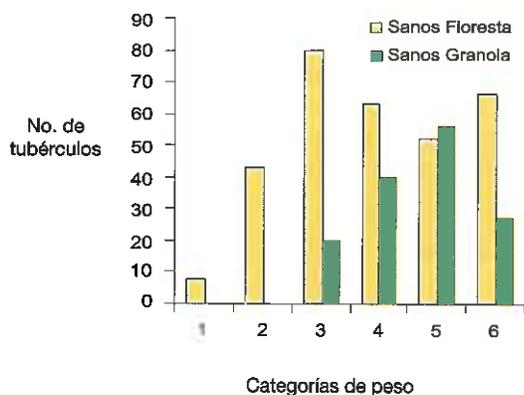
Categoría por peso (g)	Sanos		Infectados	
	Número	Peso promedio (g)	Número	Peso promedio (g)
60-110	0	—	—	—
35-59	0	—	—	—
15-34	7	13	4	18
8-14	40	8,5	17	8,7
2-7	91	4	40	3,8
< 2	49	< 2	28	< 2

tubérculos cosechados por maceta de plantas sanas control fue de 16,1 y de plantas infectadas fue de 13. La diferencia en el número de tubérculos producidos por maceta sana e infectada no fue significativa ( $T=0,73$ ). El peso promedio por maceta de tubérculos cosechados sanos fue de 279 g, y el de tubérculos infectados fue de 239 g. El peso de tubérculos sanos y tubérculos infectados no presentó diferencias significativas ( $T=0,63$ ; Cuadro 4). La infección con el virus PVY en la variedad Floresta no presentó diferencias significativas entre las plantas sanas y las plantas infectadas.

**Cuadro 4.** Tubérculos sanos y tubérculos infectados con PVY del cultivar Floresta producido en invernadero.

Categoría por peso (g)	Sanos		Infectados	
	Número	Peso promedio (g)	Número	Peso promedio (g)
60-110	9	79	6	79,8
35-59	53	41,5	24	43,2
15-34	73	18,8	51	17,8
8-14	76	8,0	37	8,6
2-7	74	3,4	35	3,2
< 2	66	< 2	14	< 2

Se obtuvo una diferencia significativa entre la producción de las plantas sanas de los cultivares Granola y Floresta (Fig. 2). Las plantas sanas de Floresta produjeron 44% más tubérculos que las de las sanas de la variedad Granola. Con relación al peso de los tubérculos, las plantas de Floresta superaron en un 87% a las plantas de Granola.



**Figura 2.** Producción de tubérculos de plantas sanas de las variedades Floresta y Granola clasificadas por categorías de peso.

En los experimentos de inoculación con PVX y PVY, la efectividad de la infección fue más alta en las plantas de Floresta que en las plantas de Granola. La mortalidad en el período de aclimatación y en el período de pos-inoculación fue mayor en las plantas de Granola que en las de Floresta. Las plantas de Granola no presentaron diferencias significativas ante la infección con PVX o con PVY, mientras que las plantas de Floresta presentaron diferencias con la infección de PVX.

En ambas variedades se observaron mosaicos y moteados. La variedad Floresta presentó una sintomatología más severa al inocularse con PVX y PVY que la variedad Granola. La variedad Floresta presentó un mosaico 15 días después de la inoculación con PVX, síntoma que llegó a ser severo a los 45 días (Fig. 3). Esta variedad mostró un moteado 15 días después de ser inoculada con PVY, que se tornó más severo a los 45 días de inoculación con el virus (Fig. 4). La variedad Granola presentó clorosis 15 días después de inoculada con PVX, que se incrementó levemente en los siguientes días (Fig. 5). Con el virus PVY se produjo una clorosis similar a la observada con PVX, que se mantuvo en un nivel leve durante los siguientes meses y hasta la cosecha (Fig. 6).



**Figura 3.** Síntomas producidos por la infección con PVX en plantas de la variedad Floresta. **A.** Quince días después de la inoculación con PVX se observa mosaico, principalmente en la hoja inoculada. **B.** Mosaico severo observado al mes y medio después de la inoculación, generalizado para toda la planta.



A

B

**Figura 4.** Síntomas de la infección con PVY en plantas de la variedad Floresta. **A.** Clorosis producida por la infección, 15 días después de la inoculación. **B.** Moteado severo que se observa en la mayoría de las hojas de la planta, mes y medio después de la inoculación.



A

B

**Figura 5.** Síntomas producidos por la infección con PVX en plantas de la variedad Granola. **A.** Puntos cloróticos leves, principalmente en la hoja inoculada. **B.** Zonas cloróticas más severas en varias hojas de la planta inoculada.



A

B

**Figura 6.** Síntomas de la infección con PVY en plantas de la variedad Granola. **A.** Quince días después de la inoculación se observa un leve moteado en la hoja inoculada. **B.** Al mes y medio de inoculada, se observan manchas cloróticas en varias hojas de la planta, síntomas que se mantienen.

### Discusión

La metodología utilizada para el proceso de aclimatación funcionó mejor en el experimento realizado en los meses de agosto a diciembre que en el de los meses de diciembre a abril. Esta diferencia se atribuye principalmente a las temperaturas en los meses en que se realizó cada uno de los ensayos. El primer ensayo se realizó en la época lluviosa, cuando las temperaturas en el invernadero se mantuvieron en el día entre 18 y 23 °C. En el segundo experimento las temperaturas fueron más variables, entre 18 y 26 °C. En estos meses la humedad relativa es más baja, lo cual provocó un estrés mayor en las plantas, por lo que se produjo una mayor mortalidad.

La efectividad en la inoculación fue del 100% en las plantas de Floresta y alrededor del 70% en las plantas de Granola, para ambos virus. Aunque los virus PVX y PVY son fácilmente transmitidos por inoculación mecánica (McDonald y Singh 1996, Stevenson 2001), se ha comprobado que, algunas veces, la infección primaria por PVY puede no ser detectada por ELISA, aunque hay estudios que indican que una in-

fección secundaria es confirmada en el 100% de los casos por este método (Mihovilovich *et al.* 1998). Debido a que la inoculación en Floresta se detectó en el 100% de las plantas para ambos virus, podemos asumir que el método de ELISA fue muy eficiente en evaluar la infección. Además, el cultivar Floresta presenta una mayor susceptibilidad a ambos virus que el Granola, debido a la resistencia que presenta este último a los virus PVX y PVY (Bundessortenamt 1999).

Además de infectarse con mayor facilidad que el Granola, el cultivar Floresta fue el único afectado por PVX en el rendimiento (Fig. 1). Para la infección primaria con PVX se registran pérdidas desde el 0,2 hasta el 70%, dependiendo de la variedad (Salazar 1982, 1995). Otros autores especifican que las pérdidas por este virus oscilan entre 10 y 50%, dependiendo del cultivar (Singh y Kuraha 1993). Singh *et al.* (1994) informaron pérdidas en el campo de entre 11 y 17% en el primer año, y de 29 a 36% en el tercer año, para variedades en la India. En el caso de Floresta, se tuvieron pérdidas del 26% en una infección primaria, en invernadero. Si se compara con los datos para otras variedades, se puede sugerir que esta variedad es muy susceptible al PVX.

En ninguna de las variedades se comprobaron pérdidas con PVY; esto puede deberse a que este virus ataca mayormente cuando los tubérculos se siembran infectados. Las pérdidas en el campo por semilla infectada en la segunda o tercera siembra con PVY varían entre 60 y 100%, dependiendo del cultivar. Las pérdidas pueden ser mayores en climas que provocan mayor estrés por escasez de agua o temperaturas altas (Ryboost *et al.* 1999). En plantas infectadas en el campo, las pérdidas varían entre el 10 y el 30% en cultivares altamente susceptibles (Mondjana *et al.* 1993). Se podría sugerir que el cultivar Floresta no presenta una alta susceptibilidad ante la infección primaria con PVY, y para la variedad Granola esto se confirma debido a la tolerancia a PVY que posee (Bundessortenamt 1999).

Al observar los síntomas producidos por estos virus, se nota que la variedad Floresta es más susceptible, principalmente al PVX (Figs. 3 y 5) y, probablemente, el daño en el follaje incide directamente en el efecto en la producción (Salazar 1995).

La variedad Floresta produjo mayor cantidad de tubérculos y de mayor peso que la variedad Granola (Fig. 2). Esto concuerda con los estudios realizados por Amador (1997), donde se comprueba la alta pro-

ductividad de las plantas de la variedad Floresta. Por otro lado, para la variedad Granola se informa que es una papa de mesa de muy buen sabor, pero no se tienen informes de una alta productividad (Solana 2002/2003).

La variedad Floresta se cosechó cuatro semanas después que la variedad Granola debido a que la primera es de ciclo intermedio (Amador 1997) y la segunda de ciclo medianamente temprano (Bundessortenamt 1999). Es importante tomar en cuenta la duración del ciclo a la hora de elegir el cultivar, además de su tolerancia a los virus, el rendimiento esperado y la comercialización en el mercado, entre otros factores.

Se concluye que la variedad Floresta produjo en promedio un 44% más de tubérculos y de mayor tamaño que la variedad Granola; sin embargo, también fue más susceptible a la infección viral con PVX, que disminuye hasta en un 26% su rendimiento, mientras que la variedad Granola presenta tolerancia a esta infección. No se debe perder de vista que este estudio se realizó en condiciones de invernadero y para una infección primaria, por lo que la infección con estos virus podría ser más severa en condiciones de campo y en infecciones secundarias o terciarias.

### Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONICIT), el Ministerio de Ciencia y Tecnología (MICIT) y la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica. Los autores agradecen a la Estación Experimental Fabio Baudrit, Subestación Fraijanes, y al Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica (CIA) por facilitarnos el invernadero donde se realizaron los experimentos, y al Centro de Biotecnología del Instituto tecnológico de Costa Rica por proporcionarnos las vitroplantas del experimento.

### Literatura citada

- Amador, R. 1997. Estudio fenológico de densidades de siembra y de extracción de nutrientes en cuatro variedades de papa *Solanum tuberosum*. In Consumo de papa en Costa Rica. Cartago, CR, Coopebaires-Ministerio de Agricultura y Ganadería. 35 p.
- Bundessortenamt. 1999. Beschreibende Sortenliste: Kartoffeln. Alemania. p.106.
- Flores, D; Barboza, S; Orozco, R. 2002. Guía para la producción de semilla prebásica y básica de papa en Costa Rica. San José, CR, EUNED. 31 p.
- Hord, M; Rivera, C. 1998. Prevalencia y distribución geográfica de los virus PVX, PVY, PVA, PVM, PVS, y PLRV en el cultivo de la papa en la zona norte de Cartago, Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 22:137-143.

- Donald, JG; Singh, RP. 1996. Host range symptomatology and serology of isolates of potato virus Y that share properties with both the PVY<sup>n</sup> and PVY<sup>o</sup> strain groups. *American Potato Journal* 76:309-315.
- Mihovilovich, E; Salazar LF; Saguma, F; Bonierbale, MW. 1998. Survey of the durability of extreme resistance to PVY derived from *Solanum tuberosum* subesp. *andigena*. Lima, PE, CIP (Centro Internacional de la Papa) program report. p. 123-128.
- Mondjana, AM; Rouse, DI; German, TL. 1993. The impact of PVY on potato yield and severity of early dying. *Annual Potato Journal* 70:829.
- Rybost, KA; Hane, DC; Hamn, PB; Voss, R; Kirby, D. 1999. Effects of seedborne potato virus Y on Russet Norkotah performance. *American Journal of potato Research* 75:91-96.
- Salazar, LF. 1982. Manual de enfermedades virosas de la papa. Lima, PE, CIP (Centro Internacional de la Papa). 111 p.
- \_\_\_\_\_. 1995. Los virus de la papa y su control. Lima, PE, CIP (Centro Internacional de la Papa). 226 p.
- Singh RA; Khurana, P. 1993. Viral and allied disease of potato. *Advances in horticulture* Vol. 7. 491-528.
- Singh, S; Kumar, S; Khurana, SMP. 1994. Incidence and relative concentration of common potato virus in five cultivars. *Indian Journal of Virology* 10: 44-50.
- Solana. 2002/2003. Quality seed potatoes. Manual de variedades de papa. Hamburg, Germany.
- Stevenson W. ed. 2001. Compendium of potato disease. St. Paul, MN, US, American Phytopathological Society. p. 57-72.

## Manejo da mosca-branca na cultura da uva

Francisca Nemauro Pedrosa Haji<sup>1</sup>  
Andréa Nunes Moreira<sup>1</sup>  
Ervin Bleicher<sup>2</sup>  
Rodrigo César Flôres Ferreira<sup>1</sup>  
José Adalberto de Alencar<sup>1</sup>

**RESUMEN. Manejo de la mosca blanca en el cultivo de la vid.** Entre las plagas que atacan la vid en el Submedio del Valle del Río San Francisco, en la región Nordeste de Brasil, *Bemisia tabaci* biotipo B (= *Bemisia argentifolii*) (Hemiptera: Aleyrodidae) destaca como una de las principales, pudiendo causar serios daños a la viticultura. En este artículo se presentan el manejo, la metodología, la ficha de muestreo del monitoreo y el nivel de acción de *B. tabaci* biotipo B en el cultivo de la vid. El muestreo está basado en un número fijo de muestras recolectadas al azar por unidad de área en los diferentes estadios fenológicos del cultivo.

**Palabras clave:** *Bemisia argentifolii*, *Bemisia tabaci* biotipo B, manejo integrado de plagas, monitoreo, *Vitis vinifera*.

**ABSTRACT. Whitefly management in grapevines.** The whitefly *Bemisia tabaci* biotype B (= *Bemisia argentifolii*) (Hemiptera: Aleyrodidae) is the main insect pest attacking grapevines in the Submédio São Francisco River Valley, in the Brazilian Northeast. Due to the high level of infection and the great number of host plants, it can cause serious damage to the vineyards of the region. This paper presents our experience with management, methodology, sampling for monitoring and action level of *B. tabaci* type B in grapevines. Periodical sampling was based on a constant number of samples, per unit area, taken randomly during the different phenological stages of the crop.

**Key words:** *Bemisia tabaci* type B, *Bemisia argentifolii*, integrated pest management, monitoring, *Vitis vinifera*.

### Introdução

A produção mundial de uvas finas de mesa é de aproximadamente 10,6 milhões de toneladas anuais, sendo a China, Turquia, Itália e Chile os principais produtores. O Brasil produz cerca de 200 mil toneladas anuais, distribuídas, principalmente, pelos Estados do Rio Grande do Sul, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Pernambuco e Bahia (Torres 1998, Agriannual 2004).

Nas últimas décadas, a região do Submédio do Vale do São Francisco, localizada no Nordeste brasileiro, especialmente os municípios de Petrolina - PE e Juazeiro - BA, vêm se destacando por impulsionar o desenvolvimento da viticultura e propiciar a obtenção de até 2,5 safras por ano

(SEBRAE 1995). Este importante pólo de irrigação, considerado o maior produtor e responsável por 95% das exportações brasileiras de uvas finas de mesa (Anuário Brasileiro 2004), tem uma área cultivada de 6.220 ha e produção de 188.399 t/ano (Agriannual 2004). Nesta região, a cultura da uva reveste-se de especial importância econômica e social, envolvendo um grande volume anual de negócios, gerando empregos diretos e indiretos no campo e sobressaindo-se como uma das principais frutas na pauta de exportação e importação (Silva & Correia 2000).

Alguns problemas na cultura da uva têm sido enfrentados, como a presença de pragas, destacando-se a mosca-branca *Bemisia tabaci* biotipo B (= *Bemisia*

<sup>1</sup> Embrapa Semi-Árido, Depto. de Entomologia, Caixa Postal 23, 56302-970, Petrolina-PE, Brasil. [nemauro@cpatsa.embrapa.br](mailto:nemauro@cpatsa.embrapa.br)

<sup>2</sup> Universidade Federal do Ceará, Depto. de Fitotecnia, Fortaleza, CE, Brasil.

*argentifolii*) (Hemiptera: Aleyrodidae), cujas perdas ocasionadas ainda não foram quantificadas. Todavia, em função da elevada infestação e do grande número de hospedeiros colonizados, esta praga pode apresentar sérios danos à viticultura.

O primeiro relato da videira como hospedeira de *B. tabaci* foi feito por Hemmati (1990), em 1979/80 no Irã, porém, em baixa densidade populacional e não ocasionando danos à cultura. Em 1992, *B. argentifolii* foi constatada com moderada infestação, no Vale Coachella, na Califórnia, Estados Unidos, em cultivares de uva (Dokoozlian com. pes., citado por Summers *et al.* 1995), tornando suscetíveis a esta praga 226.500 ha de cultivares de uva e 280.000 ha de árvores frutíferas. Entre as cultivares de uva de mesa, a Thompson Seedless, Perlette, Flame Seedless, Ruby Seedless, Christmas Rose e Redglobe foram colonizadas por *B. argentifolii* (Summers *et al.* 1995). Brown (1993) também cita *Vitis vinifera* como hospedeira do biótipo B de *B. tabaci* nos Estados Unidos. Estudos realizados na Bacia do Lago de Ilopango, em El Salvador, evidenciaram ninfas e adultos de várias espécies de moscas-brancas colonizando *V. tiliaefolia* (Serrano *et al.* 1993), espécie selvagem de videira considerada importante no melhoramento em cruzamentos com *V. vinifera*, para a obtenção de variedades resistentes a doenças (Alvarenga *et al.* 1998). No México, Ordaz (1997) e Robledo & Sagahón (1999), mencionam a videira, dentre as frutíferas, como uma das mais atacadas por *B. argentifolii*.

No Brasil, *B. argentifolii* foi constatada na região do Submédio do Vale do São Francisco, em 1995, colonizando diferentes espécies de plantas cultivadas e silvestres e em 1996, na cultura da uva, com infestação muito intensa nas plantas daninhas presentes sob os parreirais (Haji 1999, Haji *et al.* 1996a, 1996b).

O ciclo de vida da mosca-branca varia em função das condições climáticas, principalmente temperatura e umidade, e com as diferentes espécies de plantas hospedeiras (Lenteren & Noldus 1990). De um modo geral, o período de ovo a adulto da mosca-branca pode variar de 18 a 19 dias, sob temperatura média de 32 °C (Villas Bôas *et al.* 1997).

Em videira, variedade Superior Seedless, Haji *et al.* (2002) estudaram o ciclo biológico de *B. argentifolii*, em condições de casa-de-vegetação, sob

temperatura de  $28 \pm 1,2$  °C e umidade relativa de  $44 \pm 2,6\%$ . Estes autores observaram que a duração média do período ovo-adulto foi de  $24,12 \pm 4,77$  dias; o período médio de incubação dos ovos de  $5,14 \pm 0,38$  dia; o primeiro estágio ninfal de  $2,0 \pm 0,0$  dia; o segundo de  $2,15 \pm 0,36$  dia; o terceiro de  $12,61 \pm 4,5$  dias e o quarto de  $2,21 \pm 0,47$  dia.

A videira apresenta suscetibilidade à colonização de *B. argentifolii*, sendo considerada um rico potencial para o desenvolvimento deste inseto. Este potencial de suscetibilidade foi demonstrado por Summers *et al.* (1995) nos Estados Unidos, em condições de viveiro, com a cultivar de uva Kern County após diversas gerações do inseto. Dokoozlian, citado por Summers *et al.* (1995), constatou uma redução nos carboidratos de reserva nas raízes das cultivares de uva Perlette e Flame Seedless, altamente infestadas com mosca-branca no Vale Coachella, na Califórnia.

A intensidade dos danos de *B. argentifolii* dependerá de diversos fatores, como o tempo de infestação e o número de adultos colonizadores. Em parreirais que apresentam uma infestação de mosca-branca logo no início da safra, provavelmente os danos permanecerão por mais tempo, quando comparados aos de uma infestação tardia, devido ao aumento do número de possíveis gerações do inseto. A proximidade de parreirais a culturas altamente preferidas, como melão e algodão, apresenta um maior risco de infestação da mosca-branca, particularmente, após a colheita e incorporação destes hospedeiros, do que aqueles adjacentes a culturas não hospedeiras (Summers *et al.* 1995).

No Submédio do Vale do São Francisco, o sintoma mais frequentemente observado pelo ataque da mosca-branca em videira, até o momento, é a presença de substância açucarada e o desenvolvimento de fumagina nas folhas e nos frutos, tendo como consequência a redução do processo fotossintético das plantas e alteração na qualidade dos frutos. Nesta região, embora o impacto de *B. argentifolii* na cultura da uva seja uma evidência, não foram realizados estudos que permitam estimar as perdas econômicas causadas por esta praga (Haji 1999, Haji & Alencar 2000, Haji *et al.* 2000b).

Trabalhos de levantamentos de plantas hospedeiras da mosca-branca desenvolvidos na região do Submédio do Vale do São Francisco (Haji *et al.* 2001b), demonstraram que as invasoras presentes em

áreas de videira são consideradas hospedeiras dessa praga. Nesta região, Kill *et al.* (1999), realizaram um levantamento de plantas daninhas infestadas por mosca-branca em áreas de fruteiras irrigadas, incluindo a cultura da uva e observaram as várias fases do ciclo do inseto, colonizando 14 espécies de plantas, pertencentes a 12 gêneros e 10 famílias botânicas. *Herissantia crispa*, *Euphorbia heterophylla* e *Emilia saginata* apresentaram infestação alta; *Physalis angulata*, *Amaranthus deflexus*, *Richardia grandiflora*, *Merremia aegyptia*, *Macroptilium* sp. e *Ludwigia* sp. em baixa infestação; *Commelina benghalensis*, *Sida cordifolia* e *Ludwigia* sp. foram constatadas a presença da praga.

Para o controle químico da mosca-branca, Haji *et al.* (2000c) avaliaram a eficiência de produtos no controle de ninfas em videira e constaram que os melhores tratamentos em ordem decrescente foram: buprofezin (90%), detergente neutro (78%), pyriproxyfen (75%), óleo mineral (66%) e *Azadiracta indica* (64%).

No Brasil, as pesquisas sobre controle biológico da mosca-branca são ainda incipientes e baseadas praticamente na prospecção e identificação de várias espécies de inimigos naturais associadas a esta praga. Na videira, na região do Submédio do Vale do São Francisco, Moreira *et al.* (1999) registraram a ocorrência do endoparasitóide *Encarsia lutea* (Hymenoptera: Aphelinidae); dos predadores *Chrysoperla* sp. (Neuroptera: Chrysopidae); representantes da ordem Coleóptera, família Coccinelídea e ácaros da família Phytoseiidae. Em relação aos fungos, constatou-se, no Estado de Pernambuco, a ocorrência do fungo *Cladosporium* sp. sobre ninfas de mosca-branca em videira (M.F.Lima, com. pessoal). A preservação desses inimigos naturais no agroecossistema da videira contribui para a redução de populações da mosca-branca. Desta forma o controle químico dessa praga deve ser realizado, com a utilização de inseticidas seletivos. Tais medidas atendem aos requisitos demandados pelo mercado externo de frutas, principalmente, para consumo *in natura*, isentas de resíduos de agroquímicos e de outros contaminantes, as quais influenciam consideravelmente na proteção do meio ambiente e dos recursos naturais.

### Manejo da mosca-branca

O manejo integrado de pragas (MIP) preconiza que o controle de pragas deve ser realizado por meio de técnicas eco-compatíveis que visem manter a população de insetos abaixo do nível de dano econômico (Botton 2001). O nível de dano econômico refere-se à menor densidade populacional da praga capaz de causar um dano, induzindo a planta a uma perda na produção de valor econômico igual ao custo da aplicação de uma das táticas de controle. Portanto, a definição de nível de dano econômico depende do plano de amostragem para determinação da população da praga, da intensidade do dano e do custo do controle. Estas variáveis são influenciadas pela suscetibilidade da planta, condições climáticas, solo, condições sociais e econômicas do produtor, que agem indiretamente no nível de ação e devem ser consideradas na tomada de decisão (Torres 2001). Nesse contexto, a base de qualquer sistema de MIP é o monitoramento. Esta prática inovadora de monitoramento ou acompanhamento racional do nível populacional ou de injúrias das pragas na cultura da uva dá uma maior segurança para o agrônomo, técnico ou produtor, para a tomada de decisão sobre a adoção ou não de medidas de controle.

### Amostragem

O monitoramento sistemático das pragas e seu nível populacional ou injúrias é realizado mediante amostragens periódicas, baseadas geralmente, em um número fixo de amostras colhidas, ao acaso, por unidade de área, nos diferentes estágios fenológicos da cultura.

A área a ser amostrada, que corresponde à parcela ou talhão de videira a ser podada pelo produtor, deverá apresentar solo e declividade uniformes, a mesma idade e a mesma variedade dominantes. A diferença entre cada talhão ou parcela, em relação à data da poda, deve ser de no máximo 15 dias. A amostragem deve ser em zig-zague (Fig. 1) e realizada semanalmente, ao acaso, desde a brotação até o final da maturação dos frutos, observando-se a presença ou ausência de adultos e de ninfas da praga, em folhas e cachos. Cada ponto da amostragem deve ser constituído por uma planta. A entrada do amostrador na parcela ou talhão a ser amostrado nas diferentes semanas de avaliação, deverá ocorrer em pontos distintos, de modo que a área seja percorrida em toda a sua extensão (Haji *et al.* 2000a e 2001a).

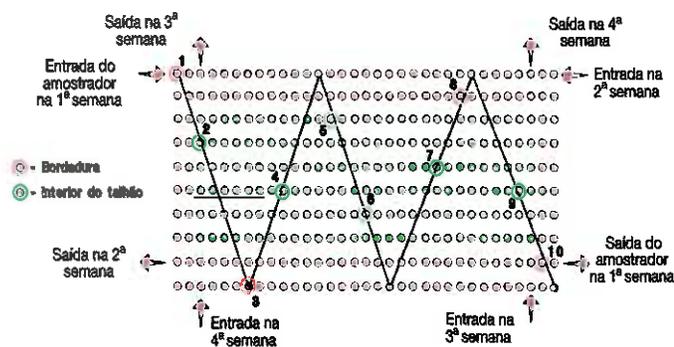


Figura 1. Esquema experimental para amostragem em um talhão de videira de até 1,0 ha.

A amostragem de adultos deve ser realizada, ao acaso, observando-se a presença ou ausência da mosca-branca, em uma folha localizada entre a posição apical e mediana do ramo, em três ramos por planta, nas posições apical, mediana e basal (Fig. 2). No momento da amostragem, virar e observar a folha cuidadosamente, para evitar que os adultos da mosca-branca voem. A amostragem deve ser realizada de preferência pela manhã, no horário das 6 às 9 horas.

Para as ninfas, a amostragem deve ser feita, ao acaso, nas folhas e nos cachos. Nas folhas, amostrar uma folha localizada na metade do ramo, em três ramos por planta, nas posições apical, mediana e basal (Fig. 2). Para auxiliar a visualização das ninfas e delimitar a área a ser observada, recomenda-se utilizar uma lupa de bolso com aumento de 10x, com um campo visual de 2,5 x 2,5 cm. Nos cachos a amostragem deve ser realizada desde o início da frutificação (chumbinho) até a fase de maturação, em um cacho por ramo, em três ramos por planta, nas posições apical, mediana e basal (Fig. 2).

Nos pomares com áreas podadas de até 1,0 ha, a amostragem deve ser efetuada em dez plantas, ao acaso, sendo quatro na bordadura e seis no interior do talhão, considerando como bordadura uma fileira de plantas em volta da parcela; em áreas maiores que 1,0 e até 5,0 ha, amostrar 20 plantas, ao acaso, sendo oito na bordadura e doze no interior do talhão e considerar como bordadura três fileiras de plantas em volta da parcela.

Todas as informações obtidas no campo deverão ser anotadas imediatamente na ficha de amostragem, com bastante cuidado e rigor. Desta forma, o produtor acompanhará e terá conhecimento sobre a infestação da praga durante todo o ano, nas diferentes fases fenológicas da cultura.

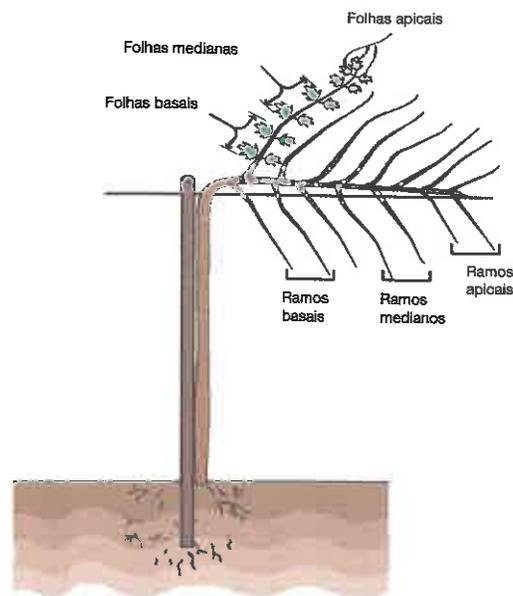


Figura 2. Esquema representativo da amostragem em uma planta de videira.

### Ficha de amostragem

Para a realização da amostragem da mosca-branca, o amostrador poderá optar pela ficha simplificada (Tabelas 1 e 2) ou completa (Tabelas 3 e 4). Nestas fichas, constam informações básicas sobre a propriedade, os dados da amostragem referentes à mosca-branca, outras pragas e inimigos naturais. Ao usar a ficha simplificada, o amostrador saberá imediatamente se foi ou não atingido o nível de ação e, com a ficha completa, será necessário fazer o cálculo para determinar se foi ou não atingido o nível de ação.

### Ficha simplificada

A primeira coluna da ficha simplificada de amostragem de *B. argentifolii* e de ocorrência de inimigos naturais e outras pragas (Tabelas 1 e 2), refere-se ao número de amostras a serem efetuadas e a segunda, refere-se a amostragem da mosca-branca no estágio adulto, em folhas e no estágio de ninfas em folhas e cachos. Na terceira e quarta colunas, constam os inimigos naturais e outras pragas, respectivamente, cujas ocorrências deverão ser anotadas.

A amostragem deve ser iniciada pelos adultos, com bastante cuidado para não afugentá-los. À medida que vai sendo realizada a amostragem, assinalar um "x" na coluna correspondente ao número da amostra. Ao encontrar dois ou mais adultos por

**Tabela 1.** Ficha simplificada de amostragem da mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B e de ocorrência de inimigos naturais e outras pragas, em parcela de até 1,0 ha de videira.

Propriedade: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Parcela: \_\_\_\_\_ Variedade: \_\_\_\_\_ Área: \_\_\_\_\_ ha  
 Amostrador: \_\_\_\_\_ Horário: \_\_\_\_\_ às \_\_\_\_\_ horas  
 Fase da cultura:  Poda  Brotação  Floração  Chumbinho  Raleio  Repasse  Colheita  Repouso

Nº de amostras	Mosca Branca		Inimigos naturais							Encarsia sp.	Outras pragas
	Adultos (folhas)	Ninfas		Predadores			Acaros predadores	Aranhas			
		Folhas	Cachos	Bicho lixeiro**		Joaninha***					
			Ovos	Larvas	Adultos	Larvas	Adultos				
01											
02											
03											
04											
05											
06											
07											
08											
09											
10											
11											
12											
13											
14											
15											
16											
17											
18											
19											
20											
21											
22											
23											
24											
25											
26											
27											
28											
29											
30											

(\*) Nível de ação. Adaptado de Bleicher & Jesus (1983).

\*\* = *Chrysoperla* sp.

\*\*\* = *Cycloneda* sp.

folha, fazer um “x” na coluna correspondente a adultos e outro “x” na coluna da planta número um. Utilizando o campo visual da lupa de bolso mencionada anteriormente, observar as ninfas e ao constatar a presença de uma ou mais ninfas por folha e/ou por cacho, assinalar um “x” na coluna correspondente. A ausência não será anotada. Nas demais colunas, serão anotadas a presença de outras pragas e de inimigos naturais. Para as amostras seguintes, proceder de forma idêntica a anterior, tendo o cuidado de assinalar um “x” na coluna referente ao número da amostra e dos adultos e ninfas encontradas, de forma cumulativa, não deixando nenhum retângulo sem marcar. Quando nas Tabelas 1 e 2, a marca (\*) correspondente ao nível de ação para adultos (60%) e para ninfas (40%), for atingida, significa que o nível de ação ou de controle foi atingido. Quando o nível de ação não for atingido, mas ficar bem próximo da marca (\*), para maior segurança recomenda-se repetir a amostragem após três dias.

Em situações em que a população da praga esteja muito elevada, não há necessidade de efetuar todas as amostras.

**Ficha completa**

Na ficha completa (Tabelas 3 e 4), a amostragem deve ser realizada em plantas situadas na bordadura e na área interna do talhão ou parcela. Na primeira coluna, dividida em duas (praga e planta), consta a mosca-branca e as partes da planta (folhas e cachos) onde serão efetuadas a amostragem, os estágios da mosca-branca (adultos e ninfas) e a posição dos ramos, onde serão amostrados folhas e cachos, como também outras pragas e os inimigos naturais (bicho lixeiro, joaninha, ácaros predadores, aranhas e parasitóides) constatados, para o conhecimento de suas ocorrências. Na segunda coluna, apresenta-se o número de plantas a serem amostradas na bordadura, o total e a porcentagem de infestação; na terceira coluna, tem-se o número de plantas a serem

**Tabela 2.** Ficha simplificada de amostragem da mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B e de ocorrência de inimigos naturais e outras pragas, em parcela maior que 1,0 e até 5,0 ha de videira.

Propriedade: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Parcela: \_\_\_\_\_ Variedade: \_\_\_\_\_ Área: \_\_\_\_ ha  
 Amostrador: \_\_\_\_\_ Horário: \_\_\_\_ às \_\_\_\_ horas  
 Fase da cultura:  Poda  Brotação  Floração  Chumbinho  Raleio  Repasse  Colheita  Repouso

Nº de amostras	Mosca Branca		Inimigos naturais							Encarsia sp.	Outras pragas
	Adultos (folhas)	Ninfas	Predadores					Ácaros predadores	Aranhas		
			Bicho lixeiro **		Joaninha ***						
	Folhas	Cachos	Ovos	Larvas	Adultos	Larvas	Adultos				
01											
02											
03		*									
04											
05											
06			(*)								
07											
08											
09											
10											
11											
12											
13											
14											
15											
16											
17											
18											
19											
20											
21											
22											
23											
24		(*)									
25											
26											
27											
28											
29											
30											
32											
32											
33											
34											
35											
36	(*)										
37											
38											
39											
40											
41											
42											
43											
44											
45											
46											
47											
48											
49											
50											
51											
52											
53											
54											
55											
56											
57											
58											
59											
60											

(\*) Nível de ação. Adaptado de Bleicher & Jesus (1983).  
 \*\* = *Chrysoperla* spp. \*\*\* = *Cycloneda* sp.

amostradas na área interna da parcela, o total e a porcentagem de infestação; na quarta, consta a porcentagem de infestação total e na quinta coluna, o nível de ação. Para preencher a segunda coluna, utilizar a seguinte escala de notas: 0 = ausência de adultos ou de ninfas em folhas e 1 = presença de dois ou mais adultos ou de uma ou mais ninfas em folhas. Para anotação das

ninfas em cachos: 0 = ausência de ninfas nos cachos; 1 = presença de uma ou mais ninfas em um cacho; 2 = presença de uma ou mais ninfas em dois cachos; 3 = presença de uma ou mais ninfas em três cachos. Os números obtidos nos ramos deverão ser totalizados na bordadura e na área interna do talhão, para que seja calculada a porcentagem de infestação da mosca-branca.

**Tabela 3.** Ficha completa para amostragem da mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B e de ocorrência de outras pragas e inimigos naturais, em parcela de até 1,0 ha de videira.

Propriedade: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Parcela: \_\_\_\_\_ Variedade: \_\_\_\_\_ Área: \_\_\_\_\_ ha  
 Amostrador: \_\_\_\_\_ Horário: \_\_\_\_\_ às \_\_\_\_\_ horas  
 Fase da cultura:  Poda  Brotação  Floração  Chumbinho  Raleio  Repasse  Colheita  Repouso

Amostragem		Nº de plantas amostradas												% Inf. Total	Nível de ação (NA)		Obs.	
		Bordadura						Área interna da parcela							Sim	Não		
Praga	Planta*	1	2	3	4	Total	% Inf.	1	2	3	4	5	6	Total	% Inf.			
Mosca-branca**	Adultos (0 a 1)	RB																
		RM																
		RA																
	Total																	
	Ninfas	RB																
		RM																
		RA																
Total																		
Cachos (0 a 3)	Ninfas																	
Outras pragas																		
Inimigos Naturais	Bicho lixeiro	Ovos																
		Larvas																
		Adultos																
	Joaninha	Larvas																
		Adultos																
	Acaros predadores																	
Aranhas																		
Encarsia																		

\*RA= ramo apical; RM= ramo mediano; RB= ramo basal; Inf.= infestação  
 \*\*Escala de notas:  
 Ninfas: 0 = ausência; 1 = > 1 ninfa.  
 Adultos: 0 a 1 = ausência; 1 = > 2 adultos.

Observações:

NA: Adultos: ≥ 60 % de folhas infestadas NA: Ninfas: ≥ 40 % de folhas infestadas e/ou ≥ 10 % de cachos atacados

**Tabela 4.** Ficha completa para amostragem da mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B e de ocorrência de outras pragas e inimigos naturais, em parcela maior que 1,0 e até 5,0 ha.

Propriedade: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Parcela: \_\_\_\_\_ Variedade: \_\_\_\_\_ Área: \_\_\_\_ ha  
 Amostrador: \_\_\_\_\_ Horário: \_\_\_\_ às \_\_\_\_ horas  
 Fase da cultura:  Poda  Brotação  Floração  Chumbinho  Raleio  Repasse  Colheita  Repouso

Amostragem		Nº de plantas amostradas																		%Inf. Total	Nível de Ação (NA)		Obs.							
		Bordadura									Área interna da parcela										Sim	Não								
Praga	Planta*	1	2	3	4	5	6	7	8	Total	%Inf.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total	%Inf.					
Mosca-branca*	Folha** (0 a 1)	Adulto		RB																								(NA) Adultos: ≥ 60% de folhas infestadas. (NA) Ninfas: ≥ 40% de folhas infestadas e/ou 10% de cachos atacados		
				RM																										
				RA																										
				Total																										
	Ninfa		RB																											
					RM																									
					RA																									
		Total																												
Cacho (0 a 3)		Ninfas																												
Outras Pragas																														
Inimigos Naturais	Bicho lixeiro	Ovos																												
		Larvas																												
		Adultos																												
	Joaninha	Larvas																												
		Adultos																												
	Ácaros predadores																													
	Aranhas																													
Encarsia sp.																														

\*RA= ramo apical; RM= ramo mediano; RB= ramo basal; Inf.= infestação  
 \*\*Escala de notas:  
 Ninfas: 0 = ausência; 1 = > 1 ninfa.  
 Adultos: 0 a 1 = ausência; 1 = > 2 adultos.

Para a ficha de amostragem de até 1,0 ha (Tabela 3), o total de plantas amostradas poderá variar de 0 a 12 para as plantas da bordadura e de 0 a 18 para as plantas da área interna do talhão. O cálculo da porcentagem de infestação deverá ser realizado por meio de uma regra de três, onde 12 e 18 corresponderão a 100% de infestação, respectivamente, na bordadura e na área interna do talhão e X% ao valor encontrado

pelo amostrador. O cálculo da porcentagem da infestação total deverá ser realizado por meio de uma regra de três, onde 12 + 18 = 30 corresponderão a 100% e o total de infestação da bordadura mais o total de infestação da área interna da parcela, corresponderão a X%.  
 Na ficha de amostragem para áreas maiores que 1,0 e até 5,0 ha (Tabela 4), os totais de plantas

amostradas poderão variar de 0 a 24 e de 0 a 36, na bordadura e na área interna do talhão, respectivamente. Para calcular a percentagem de infestação, utilizar 24 e 36 que corresponderão a 100% de infestação na bordadura e na área interna do talhão, respectivamente. O cálculo da percentagem de infestação total deverá ser realizado por meio de uma regra de três, onde  $24 + 36 = 60$  corresponderão a 100% e o total da bordadura mais o total do interior da parcela, corresponderão a X%.

No caso dos inimigos naturais, anotar a presença especificando o número de indivíduos encontrados.

Essa metodologia de amostragem da mosca-branca em videira vem sendo utilizada desde 2000, na região do Submédio do Vale do São Francisco, por empresas exportadoras de uvas integrantes do Programa de Produção Integrada de Uvas Finas de Mesa. É um trabalho realizado pela Embrapa Semi-Árido, em parceria com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Associações de Produtores e conta atualmente com a participação de 67 empresas, totalizando uma área monitorada de 2.977 ha.

### Nível de ação

O nível de ação da mosca-branca *B. tabaci* biótipo B é: para adultos 60% de folhas infestadas e para ninfas, 40% de folhas infestadas e/ou 10% ou mais de cachos infestados (Haji *et al.* 2001c).

Ao optar pela utilização da ficha simplificada, o controle deverá ser efetuado quando a população da mosca-branca atingir o nível de ação representado por (\*) nas Tabelas 1 e 2. No caso da ficha completa de amostragem (Tabelas 3 e 4), o nível de ação deverá ser calculado em função dos dados obtidos.

### Literatura citada

- Agriannual. 2004. São Paulo, BR, FNP. p. 494-495.
- Alvarenga, AA; Abrahão, E; Regina, M de A; Antunes, LEC; Pereira, AF. 1998. Origem e classificação botânica da videira. Informe Agropecuário 19(194):5-8.
- Anuário Brasileiro de Fruticultura. 2004. Santa Cruz do Sul, BR, Editora Gazeta. p. 32-39.
- Bink-Moenen, RM; Gerling, D. 1990. Aleyrodidae of Israel. Bolletino del Laboratorio di Entomologia Agraria "Fillipo Silvestri" 47:3-49. Resumo consultado: CAB-Abstracts 1993-7/95. CD-ROM.
- Bleicher, E; Jesus, FMM de. 1983. Manejo das pragas do algodoeiro herbáceo para o Nordeste do Brasil. Campina Grande. EMBRAPA-CNPA. 26 p. (Circular Técnica N° 8).
- Botton, M. 2001. Monitoramento e manejo. Cultivar - Hortaliças e Frutas 1(6):18-20.
- Brown, JK. 1993. Evaluación crítica sobre los biótipos de mosca blanca en América, de 1989 a 1992. In Hilje, L; Arboleda, O. Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. Turrialba, CR, CATIE. p. 1-9. (Informe Técnico N° 205).
- Dardon, DE. 1993. Las moscas blancas en Guatemala. In Hilje, L; Arboleda, O. Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. Turrialba, CR, CATIE. p. 38-41. (Informe Técnico N° 205).
- FRUTICULTURA. 2001. Disponível em: <<http://www.codevasf.gov.br/produtos/fruticultura.htm>> Acesso em: 22 jul.
- Gonzalez, RH. 1983. Manejo de plagas de la vid. Santiago: Universidad del Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Veterinarias y Florestales. 115 p. (Ciencias Agrícolas N° 13).
- Haji, FNP; Alencar, JA de; Lima, MF. 1996a. Mosca branca: danos, importância econômica e medidas de controle. Petrolina. EMBRAPA-CPATSA. 9 p. (Documentos N° 83).
- Haji, FNP; Lima, MF; Tavares, SCC de H; Alencar, JA de; Prezotti, L. 1996b. Recomendações fitossanitárias para a cultura do tomate industrial nos perímetros irrigados do Submédio São Francisco - Ano Agrícola 1996. Petrolina. EMBRAPA-CPATSA. 8 p. (Comunicado Técnico N° 65).
- Haji, FNP. 1999. Frutas: perspectivas e manejo integrado sustentável da mosca-branca. In Encontro Latino-Americano e do Caribe sobre mosca-branca e geminivirus Recife, Brasil, IPA. Anais e mini-resumos 8:64-67.
- Haji, FNP; Alencar, JA de. 2000. Pragas da videira e alternativas de controle. In Sousa Leão, PC de; Soares, JM (ed.). A viticultura no semi-árido brasileiro. Petrolina, Embrapa Semi-Árido. p. 273-291.
- Haji, FNP; Alencar, JA de; Barbosa, FR; Moreira, AN; Lima, MF; Moreira, WA; Tavares, SCCH. 2000a. Monitoramento de pragas e doenças na cultura da videira. Petrolina, Embrapa Semi-Árido. 40 p. (Documentos N° 151).
- Haji, FNP; Diniz, RS.; Alencar, JA de; Barbosa, FR; Moreira, AN. 2002. Ciclo biológico de *Bemisia argentifolii* em mudas de videira no Submédio do Vale do São Francisco. In Congresso Brasileiro de Entomologia (Manaus, Amazonas, BR). Resumo. SEB/INPA. 19:22.
- Haji, FNP; Lima, MF; Mattos, MA de A; Moreira, AN; Barbosa, FR; Alencar, JA de; Kiill, LHP. 2001a. Plantas hospedeiras de *Bemisia argentifolii* em áreas cultivadas das regiões do Submédio do Vale do São Francisco e sertão central Pernambucano. Petrolina. Embrapa Semi-Árido. 14 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento N° 55).

- Haji, FNP; Mattos, MA de A; Alencar, JA de; Barbosa, FR; Moreira, AN. 2000b. Aspectos biológicos, danos e estratégias de controle da mosca-branca. Petrolina. Embrapa Semi-Árido. 38 p. (Circular Técnica N° 55).
- Haji, FNP; Moreira, AN; Bleicher, E; Ferreira, RCF; Alencar, JA de; Barbosa, FR. 2001b. Monitoramento e determinação do nível de ação da mosca-branca *Bemisia argentifolii* na cultura da uva. Petrolina. Embrapa Semi-Árido. 8 p. (Circular Técnica N° 67).
- Haji, FNP; Moreira, AN; Haji, AT; Alencar, JA de; Barbosa, FR. 2000c. Avaliação de produtos no controle da mosca-branca em videira. In Congresso Brasileiro de Fruticultura (Fortaleza, BR). Anais. SBF/Embrapa Agroindústria Tropical. 15: CD-ROM.
- Hartley, MJ; Popay, AJ; Martin, NA; Workman, P; Burgess, EP; Wearing, CH. 1984. Integrated pest control in greenhouse crops. Resumo consultado: CAB-Abstracts 1984-1986. CD-ROM.
- Hemmati, F. 1990. Collecting and surveying of insect fauna on grapevine in Khuzestan province. Scientific Journal of Agriculture 13(13):3-10. Resumo consultado: CAB-Abstracts 1990-1991. CD-ROM.
- Kiill, LHP; Haji, FNP; Lima, PCF. 1990. Avaliação do grau de infestação de mosca-branca (*Bemisia* spp.) em plantas invasoras em áreas de fruteiras irrigadas. In Encontro Latino-Americano e do Caribe sobre mosca-branca e geminivirus (Recife, BR). Anais e mini-resumos. IPA. 8:83.
- Lenteren, JC van; Noldus, LPJJ. 1990. Whitefly-plant relationships: behavioural and ecological aspects. In Gerling, D, ed. Whitefly: their bionomics, pest status and management. New Castle, Athenaeum. p. 47-89.
- Michalopoulos, G. 1989. First records of the bayberry whitefly, *Parabemisia myricae* (Kuwana) in Greece. Entomologia Hellenica 7:43-45. Resumo consultado: CAB-Abstracts 1992. CD-ROM.
- Moreira, AN; Haji, FNP; Santos, AP dos; Haji, AT; Barbosa, FR; Alencar, JA de. 1999. Aspectos biológicos de *Bemisia argentifolii* em tomateiro e videira no Submédio do Vale do São Francisco. In Encontro Latino-Americano e do Caribe sobre mosca-branca e geminivirus (Recife, BR). Anais e mini-resumos. IPA 8:75.
- Mound, LA; Halsey, SH. 1978. Whitefly of the world. A systematic catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with host plant and natural enemy data. New York: J. Wiley, 340 p.
- Ordaz, FN. 1997. Campaña contra la mosquita blanca en México. In Taller Latinoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus (Santo Domingo, RD). Memoria. MIP-Programa Nacional de Manejo Integrado de Plagas. p. 12-14.
- Robledo, CT; Sagahon, JCR. 1999. Campana contra la mosquita blanca (Homoptera: Aleyrodidae) em Mexico In Encontro Latino-Americano e do Caribe sobre mosca-branca e geminivirus (Recife, BR). Anais e mini-resumos. IPA 8:165-174.
- Salguero, V. 1993. Perspectivas para el manejo del complejo mosca blanca - virosis. In Hilje, L; Arboleda, O. Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. Turrialba, CR, CATIE. p. 20-26. (Informe Técnico N° 205).
- SEBRAE-PE (Petrolina, PE). 1995. Levantamento estatístico das atividades agropecuárias do Submédio São Francisco. Petrolina, PE. s.p.
- Serrano, L; Sermeño, JM; Larios, JF. 1993. Las moscas blancas en El salvador. In Hilje, L; Arboleda, O. Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. Turrialba, CR, CATIE. p. 42-49. (Informe Técnico N° 205).
- Silva, PCG da; Correia, RC. 2000. Caracterização social e econômica da videira. In Sousa Leão, PC de; Soares, JM. ed. A viticultura no semi-árido brasileiro. Petrolina. Embrapa Semi-Árido. p. 9-32.
- Summers, CG; Newto Junior, AS; Hansen, KR. 1995. Susceptibility of selected grape cultivars and tree fruit to silverleaf whitefly (*Bemisia argentifolii*) colonization. HortScience 30(5):1040-1042.
- Torres, G. 1998. Pesquisa e tecnologia garantem viticultura tropical. Informe Agropecuário 19(194):3.
- Torres, JB. 2001. Limitações no controle de pragas. Cultivar - Hortaliças e Frutas 1(6):6-10. Número Especial - Caderno técnico.
- Villas Bôas, GL; França, FH; Ávila, AC de; Bezerra, IC. 1997. Manejo Integrado da mosca branca *Bemisia argentifolii*. Brasília. EMBRAPA-CNPQ. 11p. (Circular Técnica N° 9).
- Winnkler, AJ; Cook, JA; Kliiewer, WM; Lider, LA. 1974. General viticulture. Berkeley, US, University of California Press. 710 p.

## Caracterización morfológica de larvas de *Anastrepha obliqua* y *Anastrepha suspensa* en Cuba

Yilianys Rodríguez<sup>1</sup>  
Eliazar Blanco<sup>1</sup>  
Ángela M. Rodríguez<sup>1</sup>

**RESUMEN.** El objetivo de este trabajo fue la diferenciación morfométrica de *Anastrepha obliqua* (Macquart) y *Anastrepha suspensa* (Loew), partiendo de los caracteres taxonómicos de mayor importancia en el diagnóstico de larvas del tercer estadio. Se realizaron montajes de los espiráculos anteriores y posteriores, así como del esqueleto cefalofaríngeo, y se midieron las estructuras que los conforman. El gancho bucal y el número de carinas orales no mostraron diferencias significativas; sin embargo, la longitud del esqueleto cefalofaríngeo evidenció diferencias entre ambas especies. El número de túbulos de los espiráculos anteriores presentó rangos de 10-17 y 9-15 para *A. obliqua* y *A. suspensa*, respectivamente. Además, se determinó que el diámetro de la base de los espiráculos anteriores fue de 117,0-150,8  $\mu\text{m}$  y 91,0-137,8  $\mu\text{m}$  para ambas especies, respectivamente. *A. obliqua* presenta un menor número de pelos en los espiráculos posteriores, más largos y ramificados que en *A. suspensa*.

**Palabras clave:** diagnóstico, estadios inmaduros, diferencias morfométricas, moscas de la fruta.

**ABSTRACT.** Morphological characterization of *Anastrepha obliqua* and *Anastrepha suspensa* larvae in Cuba. This paper describes morphometric differences between *Anastrepha obliqua* (Macquart) and *Anastrepha suspensa* (Loew), taking into consideration the most important taxonomic characters for the diagnosis of third instar larvae. Slide mounts of anterior and posterior spiracles and the cephalopharyngeal skeleton were carried out. The more relevant structures were measured. Neither the mouthhook nor the oral ridges showed significant differences between the two species, while the length of the cephalopharyngeal skeleton did show differences between both species. Values for the number of tubules in anterior spiracles ranged from 10 to 17 and from 9 to 15 for *A. obliqua* and *A. suspensa*, respectively. The base diameter of the anterior spiracles ranged from 117.0 to 150.8  $\mu\text{m}$  and 91.0 to 137.8  $\mu\text{m}$  for *A. obliqua* and *A. suspensa*, respectively. *A. obliqua* has less spiracular hairs, which are longer and more split than in *A. suspensa*.

**Key words:** Diagnosis, fruit flies, morphometric differentiation, immature stages.

### Introducción

El estudio de las moscas de la fruta reviste especial interés en el continente americano (White y Elson-Harris 1992, Hernández-Ortiz 2002). Su importancia económica, por constituir plagas limitantes de la producción y del intercambio comercial, hace que surja la necesidad de extender el conocimiento de las especies que conforman este grupo de insectos (Berg 1979, Steck y Wharton 1988, Caraballo 2001).

En la literatura abundan los trabajos sobre la identificación de moscas de las frutas en estado adulto (Stone 1942, Korytkowski y Ojeda 1968, White y Elson-Harris 1992, Aluja 1993, Caraballo 2001); sin embargo, este es menos frecuente que las formas larvarias (Berg 1979). En Cuba, hasta la fecha no se ha realizado una revisión detallada de los caracteres morfológicos de las larvas de las especies presentes en el país (CNSV 1994).

<sup>1</sup> Centro Nacional de Sanidad Vegetal. Laboratorio Central de Cuarentena Vegetal. Ayuntamiento #231, entre San Pedro y Lombillo. Plaza. Ciudad Habana. Cuba. entomologia@sanidadvegetal.cu

La identificación de las larvas de moscas de las frutas se basa fundamentalmente en el análisis de los espiráculos posteriores y anteriores y del gancho bucal (López 1997). En Cuba, las especies más frecuentes y parecidas en cuanto a los caracteres morfológicos de sus estadios inmaduros son *Anastrepha obliqua* (Macquart) y *Anastrepha suspensa* (Loew) (Diptera: Tephritidae). El objetivo del presente estudio es definir la variabilidad de algunos caracteres taxonómicos de dichos estadios inmaduros, importantes para su diferenciación.

## Materiales y métodos

### Procesamiento y medición de muestras

Se examinaron 50 larvas del tercer estadio de cada especie, procedentes de las diferentes provincias del país. Estas fueron obtenidas a partir de la encuesta nacional de moscas de la fruta que se lleva a cabo en Cuba para la detección de especies de plagas exóticas. Las muestras de larvas se obtuvieron mediante la colocación de frutos hospedantes en jaulas de maduración. Estas se conservaron en etanol al 70% hasta su eventual procesamiento (CNSV 1994).

Para la preparación y el montaje de estructuras, como el esqueleto cefalofaríngeo, los espiráculos anteriores y posteriores, se procedió según la metodología sugerida por White y Elson-Harris (1992), con algunas modificaciones. Los montajes se realizaron en medio Berlesse, usando un microscopio-estereoscopio a aumento de 12,5X.

Las preparaciones fijas se etiquetaron y se colocaron en una estufa para su secado durante 72 h. Transcurrido este tiempo, cada preparación se selló con esmalte de uñas transparente, con el fin de evitar la contaminación por hongos (Triguero 1998). Finalmente, se estableció una colección de referencia en cajas plásticas para diapositivas, utilizando una caja para cada especie. Posteriormente se midieron las siguientes estructuras morfológicas: el esqueleto cefalofaríngeo, los espiráculos anteriores y los espiráculos posteriores (Figs. 1, 2 y 3).

El número de ramificaciones o bifurcaciones se determinó contando los pelos espiraculares que terminaban en dos o más extremos.

Las mediciones se realizaron mediante un microscopio óptico provisto de un ocular con retículo micrométrico (4X y 40X para la longitud del esqueleto cefalofaríngeo y el resto de las estructuras, respectivamente). Las constantes definidas para este equipo fueron 27,0 y 2,6  $\mu\text{m}$ , respectivamente.

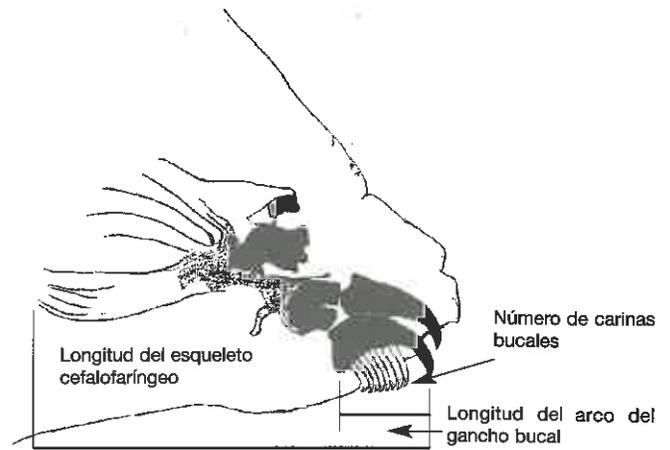


Figura 1. Detalles de las mediciones ( $\mu\text{m}$ ) realizadas en el esqueleto cefalofaríngeo de *Anastrepha* sp.

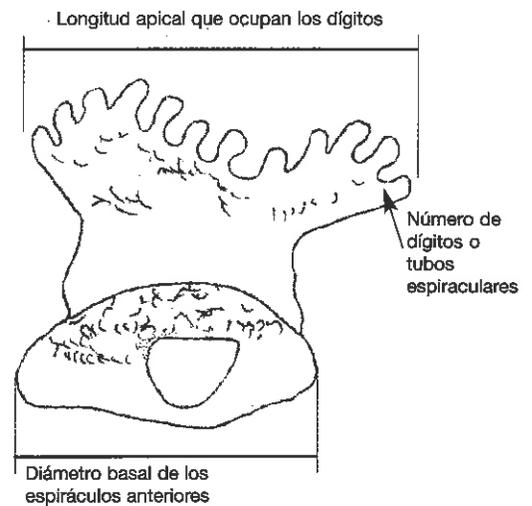


Figura 2. Detalles de las mediciones ( $\mu\text{m}$ ) realizadas en el espiráculo anterior de *Anastrepha* sp.

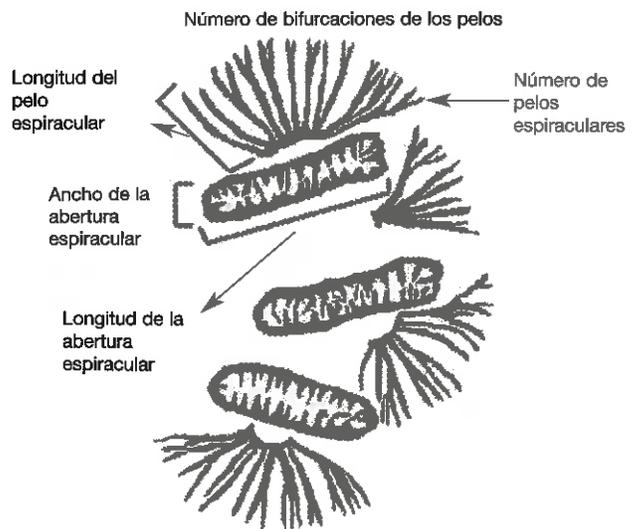


Figura 3. Detalles de las mediciones ( $\mu\text{m}$ ) realizadas en el espiráculo posterior de *Anastrepha* sp.

**Análisis de los datos**

Los valores obtenidos a partir de las mediciones de las estructuras (Figs. 1, 2 y 3) se introdujeron en una base de datos. Se determinaron la media aritmética, la moda y la desviación estándar y se realizó una prueba *t* de Student para definir cuáles de los caracteres establecidos presentaban diferencias significativas entre las especies analizadas.

**Resultados y discusión**

**Aparato bucal**

El número más frecuente de carinas orales fue de siete para *A. obliqua* y ocho para *A. suspensa*, sin diferencias significativas entre ambas especies (Cuadro 1), lo cual coincide con los resultados obtenidos por Heppner (1984). La longitud del esqueleto cefalofaríngeo mostró diferencias significativas entre las dos especies; la longitud del gancho bucal, en cambio, no manifestó diferencias (Cuadro 1).

**Espiráculos anteriores**

Todos los parámetros medidos en los espiráculos anteriores mostraron diferencias significativas para ambas especies (Cuadro 2).

*A. obliqua* presentó entre 10 y 17 dígitos en los espiráculos anteriores, y *A. suspensa* entre 9 y 15. Dentro de estos rangos, los valores que más se repitieron fueron de 15 y 11 en *A. obliqua* y *A. suspensa*, respectivamente (Cuadro 3).

Los resultados indicaron que, a pesar de que el número de dígitos se traslapa en ambas especies, *A. suspensa* tiende a presentar un número menor de dígitos en los espiráculos anteriores con relación a *A. obliqua*. Al respecto, White y Elson-Harris (1992) refieren un rango de 12-16 para *A. obliqua* y de 9-15 para *A. suspensa*, valores que coinciden en gran medida con los obtenidos para los ejemplares cubanos.

Heppner (1984) plantea la presencia de 12-13 túbulos en los espiráculos anteriores para *A. suspensa* y se refiere a la presencia de 12 túbulos para *A. obliqua* (Heppner 1991), aunque no señala las diferencias que se presentaron en este carácter morfológico para ambas especies.

Se determinó que la distancia entre el primer y el último dígito de los espiráculos anteriores es proporcional a la cantidad de túbulos (Cuadro 3). Steck *et al.* (1990) informaron para este carácter

**Cuadro 1.** Resultados de la prueba *t* de Student para los parámetros medidos en el aparato cefalofaríngeo de *Anastrepha obliqua* y *Anastrepha suspensa* ( $p < 0,05$ ).

Estructuras	Medias		<i>t</i>	<i>p</i>
	<i>A. obliqua</i>	<i>A. suspensa</i>		
Número de carinas	7,636±0,86	7,950±0,60	-1,429	15905445
Longitud del gancho bucal (µm)	193,155±13,14	191,609±10,85	0,623	53469254
Longitud del esqueleto cefalofaríngeo (µm)	1159,500±61,76	1375,200±52,50	-10,682	6,4848E-12*

\* Diferencias significativas.

**Cuadro 2.** Resultados de la prueba *t* de Student para los parámetros medidos dentro de los espiráculos anteriores de *Anastrepha obliqua* y *Anastrepha suspensa* ( $p < 0,05$ ).

Estructuras	Medias		<i>t</i>	<i>p</i>
	<i>A. obliqua</i>	<i>A. suspensa</i>		
Distancia del primer al último dígito en los espiráculos anteriores (µm)	260,932±27,37	232,417±15,18	6,209	1,5224E-08*
Número de dígitos en espiráculo izquierdo	14,021±1,19	11,304±1,03	11,790	4,3004E-20*
Número de dígitos en espiráculo derecho	13,619±1,50	11,447±1,33	6,830	1,6528E-09*
Diámetro de la base del espiráculo anterior (µm)	133,958±11,67	121,674±10,46	5,156	1,6216E-06*

\* Diferencias significativas.

**Cuadro 3.** Rangos observados en estructuras de los espiráculos anteriores en *Anastrepha obliqua* y *Anastrepha suspensa*.

Estructuras	<i>A. obliqua</i>	<i>A. suspensa</i>
Número de dígitos de los espiráculos anteriores	10-17	9-15
Distancia entre el primero y el último dígito en los espiráculos anteriores (µm)	182-299	182-260
Diámetro de la base del espiráculo anterior (µm)	117-150,8	91-137,8

intervalos de 198-273 µm para *A. obliqua* y 161-248 µm para *A. suspensa*. Estos valores se encuentran ligeramente desplazados con relación a los observados en los ejemplares cubanos; no obstante, hay una mayor distancia entre dígitos en *A. obliqua* que en *A. suspensa*.

El diámetro de la base de los espiráculos anteriores es un carácter que no se había tenido en cuenta para la diferenciación de estas dos especies; en el presente estudio, hubo diferencias significativas entre *A. obliqua* y *A. suspensa* (Cuadros 2 y 3).

Steck y Watson (1988), describieron los estadios inmaduros de *Anastrepha interrupta*, *Anastrepha limae* y *Anastrepha grandis* teniendo en cuenta estos caracteres morfológicos en los espiráculos anteriores, pero no indicaron su diferenciación para las especies analizadas.

#### Espiráculos posteriores

No se observaron diferencias significativas entre ambas especies con relación al largo y ancho de las entradas espiraculares (Cuadro 4). Estos resultados coinciden con los de White y Elson-Harris (1992). A pesar de que no se muestran diferencias en cuanto a estos parámetros, los valores que más se repiten para ambas especies son 20,8 µm y 106,6 µm para *A. obliqua* y *A. suspensa*, respectivamente.

Según White y Elson-Harris (1992), la relación entre la longitud y el ancho de las entradas espiraculares es similar en ambas especies. Estos autores describen que se presentan tres veces más largas que an-

chas, aunque no ofrecen los valores exactos de sus dimensiones. Heppner (1984, 1991) se refiere a estas estructuras como "elongadas", sin emitir más detalles.

Por otra parte, en cuanto a la longitud, ramificaciones y número de los pelos espiraculares, se establecieron diferencias significativas entre ambas especies (Cuadro 4). *A. obliqua* presentó pelos espiraculares de mayor longitud, más ramificados y menos numerosos que *A. suspensa* (Cuadro 4). En esta última especie se pueden presentar hasta 40 pelos espiraculares.

El número de pelos para *A. obliqua* fue de entre 7 y 20 pelos espiraculares y, en el caso de *A. suspensa*, varió entre 13 y 40. Berg (1979) provee una clave ilustrada donde incluye estos caracteres, pero es un tanto ambigua.

White y Elson-Harris (1992) señalaron 10-16 pelos espiraculares para *A. obliqua* y 9-16 para *A. suspensa*, sin diferencias entre ambas especies. Resulta importante señalar que estos autores coincidieron en que existe un traslape entre los valores observados en ambas especies. A pesar de constituir un carácter de importancia en la identificación (López 1997), White y Elson-Harris (1992) no se refieren al número de bifurcaciones en el pelo.

De acuerdo con lo observado, *A. obliqua* presentó la mayoría de los pelos ramificados, al contrario de *A. suspensa*, donde casi la totalidad de los pelos no presentaron bifurcaciones (Cuadro 4). Estos resultados coincidieron con los reportados por Berg (1979), aunque este autor no observó diferencias entre las dos especies.

**Cuadro 4.** Resultados de la prueba t de Student para los parámetros medidos en los espiráculos posteriores para *Anastrepha obliqua* y *Anastrepha suspensa* (p<0,05).

Estructuras	Medias		t	p
	<i>A. obliqua</i>	<i>A. suspensa</i>		
Ancho de la entrada espiracular (µm)	24,856±6,79	24,321±2,81	0,506	0,61413749
Longitud de la entrada espiracular(µm)	101,188±7,63	102,108±9,08	-0,541	0,58991694
Longitud del pelo espiracular (µm)	51,416±6,95	42,413±6,53	6,576	2,609E-09*
Número de pelos espiraculares	13,298±3,07	22,064±5,45	-9,611	1,5046E-15*
Número de ramificaciones en el pelo	8,816±4,45	2,771±1,77	8,757	7,4724E-14*

\*Diferencias significativas.

Heppner (1991) describió las larvas de *A. obliqua*, e hizo referencia a que esta especie presenta pelos bien desarrollados y algunas veces bifurcados. Sin embargo, no ofrece otros detalles sobre estos caracteres morfológicos. Heppner (1984) elaboró una clave para el diagnóstico de *A. ludens* y *A. suspensa*, describiendo en esta última especie la presencia de pelos espiraculares, en su mayoría no bifurcados. Estos resultados coincidieron con los que se determinaron en el presente trabajo para los ejemplares de Cuba.

La mayor parte de las claves disponibles hasta el momento no ilustran con exactitud estos elementos y describen principalmente estructuras más difíciles de observar (Berg 1979, White y Elson-Harris 1992). En el presente estudio, se determinó que las características que presentaron los pelos espiraculares son elementos muy importantes en la diferenciación de larvas del tercer instar de las dos especies estudiadas.

Conforme a la variabilidad de los caracteres taxonómicos observados, se sugiere que el diagnóstico de las larvas de estas dos especies de moscas de la fruta se realice con base en las características morfológicas de las estructuras estudiadas: espiráculos posteriores, anteriores y el esqueleto cefalofaríngeo. Steck y Wharton (1988) recomendaron la utilización de estos caracteres para el diagnóstico de larvas del tercer instar de *A. interrupta*, *A. grandis* y *A. limae*.

### Literatura citada

- Aluja, M. 1993. Manejo integrado de la mosca de la fruta. Distrito Federal, MX, Trillas. 251 p.
- Berg, G. 1979. Clave ilustrada de larvas de moscas de la fruta de la familia Tephritidae, Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA). El Salvador, 35 p.
- Caraballo, J. 2001. Diagnósis y clave pictórica para el género *Anastrepha* Schiner, 1868 (Diptera: Tephritidae) de importancia económica en Venezuela. Entomotropica 16(3):157-164.
- CNSV (Centro Nacional de Sanidad Vegetal). 1994. Programa de Detección y Manejo de las moscas de la fruta. Centro Nacional de Sanidad Vegetal, Subdirección de Cuarentena, Cuba. 58 p.
- Heppner, JB. 1984. Larvae of fruit flies I *Anastrepha ludens* (Mexican fruit fly) and *Anastrepha suspensa* (Caribbean fruit fly) (Diptera: Tephritidae). Florida, US, Dept. Agric. and Consumer Serv. Division of Plant Industry. 4 p. (Entomology Circular 260).
- \_\_\_\_\_. 1991. Larvae of fruit flies, 7. *Anastrepha obliqua* (West Indian fruit fly) (Diptera: Tephritidae). Florida, US, Dept. Agric. and Consumer Serv. Division of Plant Industry. 2 p. (Entomology Circular 339).
- Hernández-Ortiz, V. 2002. First report of *Anastrepha compressa* in Mexico and new records for other *Anastrepha* species in the Yucatan Peninsula (Diptera: Tephritidae). Florida Entomologist 85(2):389-391.
- Korytkowski, G; Ojeda; D. 1968. Especies del género *Anastrepha* Schiner 1868 en el nor-oeste peruano. Rev. Per. Entomol. 11(1):32-70.
- López, L. 1997. Morfología de estados inmaduros, In Curso regional sobre moscas de la fruta y su control en áreas grandes con énfasis en la técnica del insecto estéril. Metapa de Domínguez, Chiapas, MX, Centro Internacional de Capacitación en Moscas de la Fruta. p. 63-65.
- Ramos de Mejía, A. 1975. Guía para la identificación de moscas de la fruta. Distrito Federal, MX, Secretaría de Agricultura y Ganadería, Dirección General de Sanidad Vegetal. 40 p.
- Steck, GJ; Carroll, LE; Celedonio-Hurtado, H; Guillen-Aguilar, J. 1990. Methods for identification of *Anastrepha* larvae (Diptera: Tephritidae), and key to 13 species. Proceedings of the Entomological Society of Washington 92(2):333-346.
- Steck, GJ; Wharton, RA. 1988. Description of immature stages of *Anastrepha interrupta*, *A. limae* and *A. grandis* (Diptera: Tephritidae). Annals of the Entomological Society of America 81(6):994-1003.
- Stone, A. 1942. The Fruitflies of the genus *Anastrepha*. Estados Unidos, USDA Miscellaneous Publication 439. 111 p.
- White, IM; Elson-Harris, M. 1992. CAB International. Melksham, UK, Redwood Press. 600 p.

## Preparación de lixiviados de compost y lombricompost

Erick Larco<sup>1</sup>

### Introducción

Los *lixiviados* de compost se obtienen de la adición de agua al compost aeróbico maduro, de donde resulta un líquido oscuro e inodoro, que posee nutrientes solubles y microorganismos benéficos. Este tipo de producto se diferencia de los *extractos* de compost, que provienen de la mezcla fermentada que se obtiene de colocar en un saco el material y este a su vez en un recipiente de agua durante una a dos semanas; su primer beneficio es como fertilizante líquido. Asimismo, se distinguen del *té* de compost, que se obtiene al colocar material maduro de compost en agua, a través de una oxigenación continua, para recoger un extracto alimentado con una fuente energética, que permite el crecimiento de microorganismos benéficos (Diver 2002b).

Esta hoja técnica propone una manera de preparar lixiviados de compost y lombricompost, que pueden utilizarse para controlar algunas enfermedades y como abono foliar. Hasta el momento, se ha demostrado que estos preparados pueden ayudar a combatir el mildiu polvoso (*Uncinula necator*) en uvas, utilizarse en invernaderos para el control de hongos del suelo, reducir la incidencia de *Phytophthora infestans* en papa y tomate y *Botrytis cinerea* en frijol y fresas, y combatir *Venturia inaequalis* en manzano.

### Compostaje

El compostaje es un proceso aeróbico donde el material orgánico experimenta una transformación, gracias a las diferentes etapas de descomposición, que generan dióxido de carbono, agua y minerales inmersos en materia orgánica estable, libre de fitotoxinas y disponible para el uso agrícola. El proceso permite el desarrollo y la supervivencia de microorganismos.

Se comienza por la formación de montículos del material por descomponer, donde empieza la fase mesófila (multiplicación de microorganismos mesófilos y aumento de la temperatura del material hasta cerca de los 40 °C); sigue la fase termófila (presencia de microorganismos termófilos por aumento de la temperatura hasta los 60 °C; eliminación de microorganismos patógenos) y, finalmente, de enfriamiento (etapa de maduración, donde se estabiliza la temperatura y reaparecen los organismos termófilos y mesófilos). Una vez transformado en humus, el producto final del compostaje da lugar a un abono de altísima calidad (Porta *et al.* 1994, Romero 2000).

Los factores más importantes en el proceso biológico de maduración del compostaje son la temperatura, humedad, acidez-alcalinidad (pH), aireación, relación C:N, capacidad de intercambio catiónico (CIC), población microbiana y presencia de microorganismos patógenos.

### Elaboración de compost de broza de café o estiércol vacuno

Se forma un montículo de un metro de altura con broza de café o estiércol vacuno, con el fin de alcanzar la temperatura adecuada para eliminar los microorganismos existentes y las semillas de malezas (55 °C). La temperatura se registra diariamente, con el objetivo de determinar el momento adecuado para realizar el movimiento o volteo de estos materiales en la pila para permitir la aireación y el control de la temperatura. En el caso del estiércol de ganado vacuno, se puede adicionar aserrín de madera al 5% para reducir el exceso de humedad inicial y permitir que el material alcance la temperatura deseada.

<sup>1</sup> Consultor independiente. Ecuador. elarco@catie.ac.cr

Durante los primeros ocho días, el material se voltea una vez al día; posteriormente, este movimiento se hace cada cuatro días, de acuerdo con los registros de temperatura dentro del material. Se le adiciona agua para mantener la humedad y se realiza la comprobación del contenido de humedad mediante la prueba de puño, que consiste en tomar el material en la mano y aplastarlo, observando que no se pueda exprimir agua y se forme un puñado que no se desmorone. El proceso finaliza con la obtención del material maduro, cuya temperatura se estabiliza alrededor de 25 °C, y cuya textura (tamaño de las partículas, básicamente) difiere de las originales tanto en olor como en color.

### Preparación de lixiviados a partir del compost maduro

El material se coloca en canoas de madera, que se recubren con plástico negro y se inclinan para recoger el lixiviado final. Se adiciona cuidadosamente agua hasta sobresaturar el material, con lo que se consigue que el líquido, por acción de la gravedad e inclinación de la canoa, recorra por esta para al final recoger el lixiviado. El líquido se reincorpora nuevamente al material, con el fin de lavar y recolectar la mayor cantidad posible de nutrientes y microorganismos. Esta recirculación se puede realizar durante cinco días seguidos (Fig. 1).

### Lombricompost o vermicompost

Se refiere al proceso de descomposición de los residuos orgánicos mediante la actividad de las lombrices de tierra. Las especies más empleadas son *Eisenia andrei* o lombriz tigre, *Eisenia foetida* o lombriz roja californiana y *Eudrilus eugeniae* o roja africana.

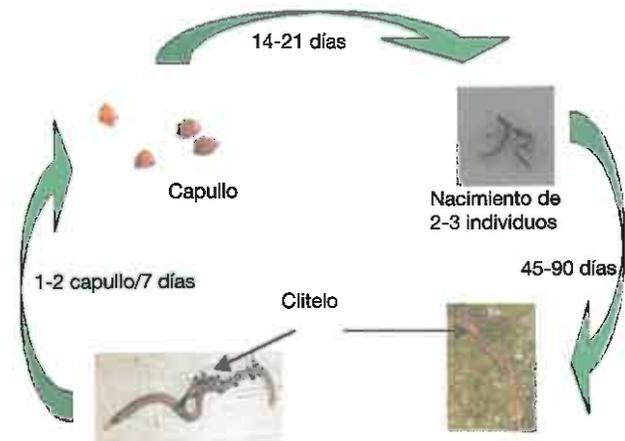


Figura 2. Ciclo biológico de Eisenia foetida. Su madurez sexual, indicada por el apareamiento del clitelo, tiene lugar a los dos meses de vida. (Fotos: E. Larco, G. Lombarda)

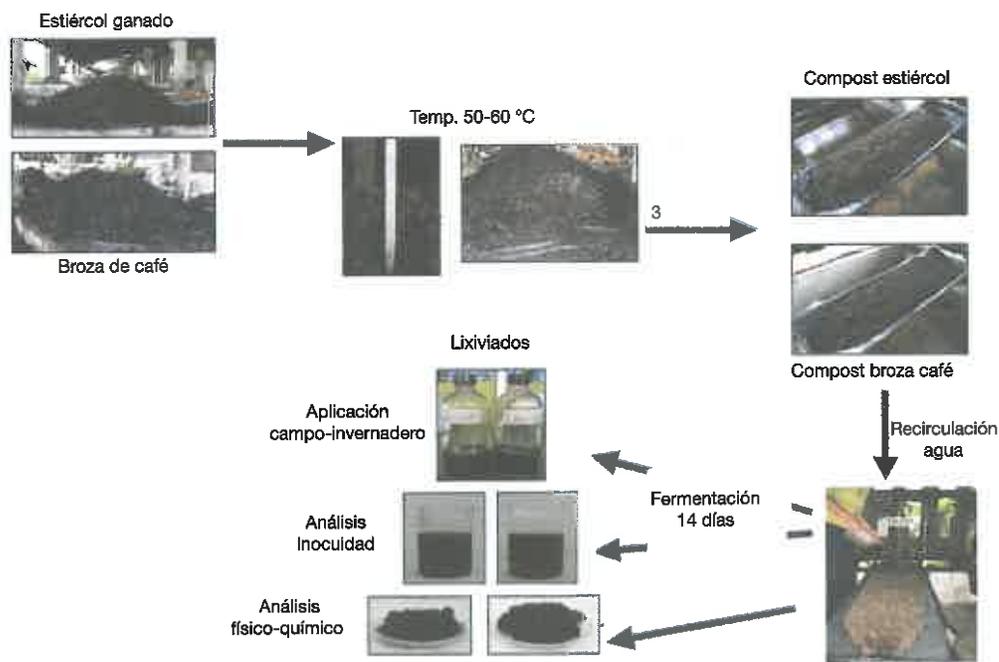


Figura 1. Proceso para la obtención de lixiviados de compost. (Fotos: Erick Larco)

La copulación de dos lombrices se efectúa con no menos de siete días entre una y otra, y se obtiene uno o dos capullos por lombriz por copulación. Después de dos a tres semanas de incubación, el capullo eclosiona y nacen las nuevas crías, entre dos y nueve lombrices de color rosado pálido translúcido por capullo, que se pueden mover y alimentar de inmediato. Las nuevas lombrices alcanzan su madurez sexual de 45 a 90 días después de su nacimiento, dependiendo de las condiciones del cultivo (Rovesti 2003).

Las principales características que deben reunir las lombrices seleccionadas para el lombricompost son: ciclo biológico corto, gran voracidad, adaptabilidad, tolerancia a situaciones de estrés y facilidad de manipulación (Martínez 2000).

Si no se presta el cuidado suficiente en su alimentación, las lombrices pueden presentar trastornos fisiológicos como el síndrome proteico, que resulta de la intoxicación por exceso de proteína en el alimento. Asimismo, pueden sufrir alteraciones por la presencia de plaguicidas u otros agentes nocivos, mostrando síntomas como movimientos rápidos de escape, inflamaciones en la región clitelar, contracciones y abultamiento a lo largo del cuerpo y, por último, la muerte (Rovesti 2003).

De los enemigos naturales, los ratones, aves y ranas son los principales vertebrados que amenazan las lombrices en los criaderos. Existe un amplio grupo de invertebrados depredadores, como las hormigas, ácaros, planarias, tijeretas y ciempiés, entre otros (Rovesti 2003).

### Preparación de lombricompost de broza de café, estiércol vacuno o desechos de banano y plátano y obtención de sus lixiviados

Como la humedad de la lombricera es mucho más alta que la de la compostera anterior, la obtención de lixiviados se hace al mismo tiempo que la elaboración del lombricompost. En el caso del lombricompost de banano y plátano, es posible desarrollar primero un pre-compostaje por 15 días. Este proceso permite eliminar sustancias tóxicas para la lombriz y favorecer la descomposición. Los desechos de banano y plátano se fraccionan en pequeños trozos, se colocan en un saco de fibra y se entierran durante cuatro semanas, con el fin de eliminar látex, sustancias fenólicas y quinonas propias de la oxidación de estos materiales, que son tóxicas para las lombrices.

Se colocan bases de aluminio de 0,30 x 0,45 m, provistas de una malla metálica —que protege el compartimiento y evita la fuga de las lombrices— para la recolección de los lixiviados parciales en recipientes plásticos. Sobre este estante y la malla metálica se depositan canastillas plásticas con perforaciones, donde se ubica el lecho de las lombrices en la base de la estructura metálica. En las patas de la estructura se colocan recipientes plásticos con aceite y detergente para evitar el acceso de depredadores a las canastillas de las lombrices. Se adicionan 10 cm de material y se incorporan 350 lombrices *E. foetida*; se mantiene un control diario de la humedad del material, adicionando agua con un rociador.

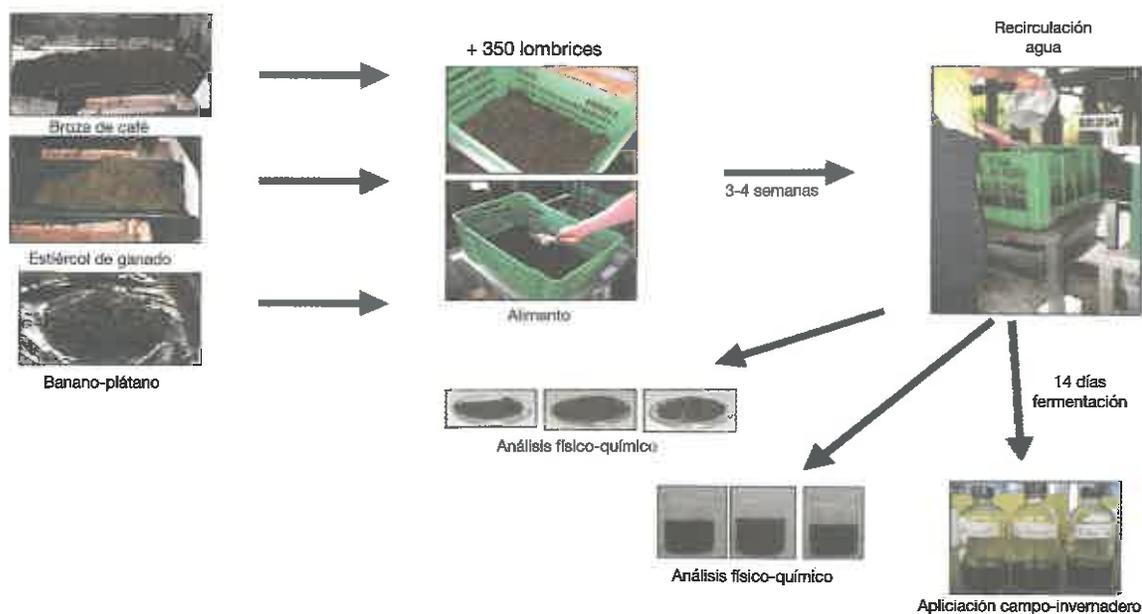


Figura 3. Proceso para la obtención de lixiviados de lombricompost. (Fotos: Erick Larco)

Con el fin de aumentar la actividad microbiana, se puede agregar una dilución al 1% de melaza. Los materiales se remueven diariamente y se les añade agua con el objetivo de mantener una humedad superior al 80%, para evitar la aparición de depredadores de la lombriz.

El lixiviado se recoge en el recipiente colocado en la parte inferior de la canastilla, y el líquido obtenido de la descomposición se incorpora nuevamente al material para concentrarlo. Este proceso se realiza continuamente, hasta que el lixiviado no presente ningún tipo de olor desagradable (Fig. 3).

### Recomendaciones generales

Los lixiviados de compost y lombricompost se almacenan en recipientes de vidrio cubiertos con papel aluminio, con el objetivo de evitar el efecto directo de la luz solar, y se almacenan en un lugar oscuro, seco y fresco por 14 días antes de utilizarlos, para lograr una fermentación anaeróbica que permitirá que los microorganismos produzcan metabolitos secundarios.

Es recomendable realizar pruebas previas con los productos sobre algunas hojas de los cultivos, para comprobar que no haya efectos fitotóxicos. Para utilizar los productos, es aconsejable realizar diluciones en dosis de una parte de lixiviado en dos ó cuatro partes de agua previamente hervida y enfriada, y aplicarlas lo más temprano posible en la mañana, siempre y cuando no llueva.

Asimismo, es aconsejable realizar pruebas de inocuidad en el laboratorio, para descartar la presencia de *Salmonella* o coliformes fecales (*Escherichia coli*), patógenos perjudiciales a la salud humana.

### Literatura citada

- Martínez, C. 2000. Lombricultura y agricultura sustentable: lombricultura, alternativa en la agricultura sustentable. 1 ed. México, DF, MX. p. 135-153.
- Porta, J; López-Acevedo, M; Roquero, C. 1994. Edafología para la agricultura y el medio ambiente. Madrid, ES, Mundi-Prensa. 807 p.
- Romero, MR. 2000. Lombricultura y agricultura sustentable: agricultura orgánica. elaboración y aplicación de abonos orgánicos. México, DF, MX. p. 125-134.
- Rovesti, L. 2003. Lombricultura. Manual Práctico. CU. 99 p.



# Plagas Forestales Neotropicales

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

No. 15

Diciembre 2004

## NOTA EDITORIAL

Un boletín más, pero no la simple acumulación numérica de esta publicación periódica, sino la certeza y convicción de que en cada nuevo número comunicamos nuevas cosas. El presente número es elocuente en tal sentido, pues contiene información sobre las dos plagas más limitantes para la producción forestal en el continente, así como sobre nuevos problemas fitosanitarios. Como habrán notado los lectores, en casi todos los números previos ha aparecido información sobre abejones descortezadores e *Hypsipyla grandella*, sobre las que, por fortuna, se efectúa investigación más o menos permanente. Y así se continuará en ediciones futuras, dada su enorme importancia. Acerca de los nuevos problemas fitosanitarios, que emergen de manera continua, una vez más invitamos a nuestros lectores a enviarnos sus aportes, para así inducir a otros individuos y entidades a propiciar su conocimiento antes de que se conviertan en problemas de mayor magnitud.

## Nueva iniciativa europea para atender los problemas del descortezador en América Central

Nuestros colegas extranjeros siempre están pendientes de lo que nos puedan ofrecer y apoyar, no solo con recursos económicos, sino con su experiencia y conocimientos. Esta vez, una institución noruega está integrando un programa muy ambicioso para atender los problemas de descortezadores de pino en la región. Una vez diseñado, el programa buscará apoyo económico, entre otros, del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. Asimismo, busca insti-

tuciones de la región que estén interesadas en participar en procesos de capacitación e investigación. Hasta el momento han contactado al CATIE, ECOSUR, ESNACIFOR, UMA y UVG, así como la CONAN. Si bien el programa busca primordialmente atender el problema del descortezador, existen objetivos para tratar de influir en las políticas de manejo y desarrollo de los países participantes, así como generar investigación e impartir las capacitaciones necesarias.

Creo muy conveniente que este nuevo programa parta de los resultados y sugerencias de programas anteriores, sobre todo de los más recientes, como el realizado por CATIE y que cubrió prácticamente toda la región, capacitando en temas básicos a todos los técnicos de las instituciones encargadas del manejo forestal en la región. De no tomar en cuenta lo que ya se ha realizado, se corre el enorme peligro de que los esfuerzos anteriores no sean aprovechados de manera adecuada.

Considero de importancia crucial que se atiendan procesos elementales, como la revisión y actualización de los programas curriculares de las universidades e instituciones que forman profesionales en el manejo de recursos forestales en la región, donde se plasme que la sanidad forestal (como una parte de la salud forestal) es una actividad eminentemente de prevención, inmersa y dirigida por el manejo forestal y no como algo paralelo y ajeno al mismo.

**Contacto:**  
Jorge Macías,  
jmacias@tap-ecosur.edu.mx

## Manual de Monitoreo de descortezadores y sus depredadores mediante el uso de semioquímicos

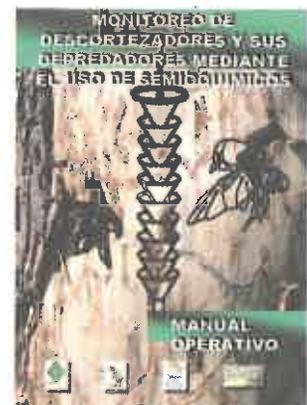
Como lo comunicamos anteriormente en este boletín, ECOSUR realiza investigaciones sobre feromonas de descortezadores y estaba en el proceso de validar en México la metodología, generada por el Servicio Forestal de Texas, de monitoreo de estos insectos mediante feromonas y kairomonas.

Ya ha sido publicado por el ECOSUR el Manual Operativo correspondiente, y se está tratando de instituir en todo México a través de la Comisión Nacional Forestal.

El manual marca los procedimientos para que los usuarios vayan estableciendo cómo fluctúan las poblaciones de insectos descortezadores y sus depredadores, al tiempo que los relacionan con las infestaciones circundantes.

Copias de dicho manual pueden ser solicitadas directamente a ECOSUR.

**Contacto:**  
Jorge Macías,  
jmacias@tap-ecosur.edu.mx



## Enfermedades de *Tabebuia donnell-smithii*

Como un seguimiento de lo informado en un boletín anterior, se ha encontrado que la muerte regresiva en la primavera del *Tabebuia donnell-smithii*, en el Soconusco, Chiapas, es causada por *Botryodiplodia theobromae*. Las ramas afectadas presentan un amarillamiento del follaje, seguido de defoliación y muerte de meristemas apicales. En ramas y tallos se observa un ennegrecimiento a nivel de haces vasculares, que avanza proximalmente hasta alcanzar las ramas más gruesas y el fuste, llegando a ocasionar la muerte del árbol en 3 a 4 años. Se ha observado que esta enfermedad es frecuente en árboles sujetos a estrés hídrico temporal.

### Contacto:

Graciela Huerta, ECOSUR,  
ghuerta@tap-ecosur.edu.mx

## Más sobre repelentes de *Hypsipyla grandella*

En el Boletín No. 11 se informó sobre la iniciativa del CATIE en cuanto a la búsqueda de sustancias repelentes de los adultos de *H. grandella*. Gracias al apoyo económico del CONICIT (proyecto FV-005-03), se pudo continuar con dichos esfuerzos por un año. Así se pudieron evaluar 20 sustancias puras, formuladas en dispensadores de liberación



Manchado en sección transversal



Árboles mostrando síntomas de muerte descendente.

controlada por la empresa ChemTica International (Costa Rica), lo cual se hizo en jaulas de campo que contenían arbolitos de cedro expuestos a dichas sustancias. Seis de ellas (lavándula,



Jaulas para la evaluación de repelentes.

benzaldehído, 1-hexanal, verbenona, 1-hexanol y trans-3-hexenal) repelieron a los adultos, lo cual se expresó en el menor número de larvas (por haber menos huevos depositados por las hembras) alimentándose de dichos arbolitos. Aunque los resultados tienen sustento estadístico, hubo algunas tendencias erráticas (reveladas por los altos coeficientes de variación), por lo que aunque el proyecto concluyó, los estudios han continuado para verificar la veracidad de los datos, antes de emitir cualquier recomendación de tipo práctico para el manejo de *H. grandella*.

### Contacto:

Luko Hilje, lhilje@catie.ac.cr

Este Boletín está disponible por correo electrónico, o dentro de la revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología, a la cual puede ingresar a través de [www.catie.ac.cr](http://www.catie.ac.cr)

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



# Acceso

MEDIDAS SANITARIAS Y FITOSANITARIAS

IICA / Sanidad Agropecuaria e Inocuidad de los Alimentos • Boletín Informativo No. 17 / Marzo 2005

## Uruguay promueve acciones contra demoras indebidas al comercio internacional



*Con el apoyo de gran cantidad de países, Uruguay impulsa el diálogo para resolver los contratiempos, las solicitudes de información y procedimientos burocráticos desmedidos que obstaculizan el esfuerzo de los exportadores*

Bajo el título "Demoras indebidas", la delegación de Uruguay presentó ante el Comité de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias (Comité MSF) dos documentos que tienden a promover un debate que permita solicitar a las organizaciones internacionales de referencia, con carácter prioritario, la elaboración de normas, directrices o recomendaciones concretas y específicas sobre plazos, peticiones de información y procedimientos.

La discusión tomó fuerza en la XXXI Reunión del Comité MSF, celebrada el 9 y 10 de marzo en Ginebra, sede de la Organización Mundial del Comercio (OMC), y que contó con la participación de 33 países de las Américas. En la cita anterior, con su primer documento, Uruguay había logrado una positiva aceptación, y este mes de marzo profundizó su propuesta. La Iniciativa despertó el interés de 13 delegaciones. En el nuevo documento, la delegación uruguaya señala el carácter transversal del tema: las demoras indebidas son problema en muchos ámbitos del comercio y de las MSF (reconocimiento de equivalencia, procesos de inspección y certificación, establecimiento de requisitos, elaboración de análisis de riesgo, etc.).

La propuesta de Uruguay contó con el interés de la comunidad internacional, y sobre todo de los países de las Américas. (Brasil, Canadá, EUA, Chile, Ecuador, Colombia, México, Bolivia, Argentina, Australia, India, Cuba y las Comunidades Europeas.)

Las demoras que la delegación de Uruguay destaca están relacionadas con la adopción de decisiones para establecer criterios de acceso a las importaciones (principalmente si hay que elaborar análisis de riesgos), peticiones desmedidas de información que ocasionan serios trastornos a las autoridades nacionales y/o al sector privado, y procedimientos administrativos burocráticos y poco transparentes. Propuso que este tema sea abordado en Comité MSF mediante un punto de agenda específico y que se realice un debate general sobre los artículos 4 (equivalencia), 5 (análisis de riesgo), 6 (regionalización), y 8 (procedimientos de inspección y certificación) del Acuerdo de MSF.

Algunos Miembros del Comité MSF consideraron que el asunto debe incorporarse en el plan del trabajo a ser presentado en el marco del Examen del Acuerdo MSF.

### Otros temas

**Regionalización.** En esta reunión continuó el debate alrededor de documentos presentados por las delegaciones de Chile y Australia. Aunque cuentan con elementos que los hace complementarios, persiste la falta de consenso sobre la necesidad de establecer directrices no técnicas que ayuden a la implementación del artículo 6 (regionalización) y sobre el foro en el cual algunos miembros desean promoverlas. Esto impidió que se aprobara una propuesta de decisión presentada por la Secretaría, la cual contenía algunos puntos en donde sí parecía haber consenso.

Uno de estos puntos de consenso es la presentación de experiencias positivas o negativas sobre la regionalización y la posible incorporación de un nuevo acápite en el proceso de notificaciones. Otro aparente punto de consenso sería motivar a los miembros a contestar las consultas del presidente del Comité MSF sobre regionalización. Las cuales se formularon el 5/08/2004 y tienen que ver con las funciones y responsabilidades, los plazos, y el trabajo del Comité MSF.

El Comité MSF consideró importante la información que los organismos internacionales de referencia (OIR) puedan aportar al debate y consideran la posibilidad de realizar consultas concretas a esos organismos a fin de dotar al Comité MSF de mayores insumos.

Los ministros de la Organización Internacional de Protección Fitosanitaria (OIPF) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) tienen gran relevancia para los miembros y el trabajo del Comité MSF en el tema de regionalización.

En la séptima reunión de la Comisión Interina de Medidas Fitosanitarias, programada del 4 al 8 de abril de 2005, se examinará la posibilidad de establecer entre reuniones un grupo de trabajo de composición abierta que examine, entre otras cosas, si además de las normas y proyectos de normas fitosanitarias pertinentes existentes se necesita más orientación sobre la regionalización.

La OIE analiza en la actualidad la ampliación de los capítulos del código zoonosanitario sobre los principios y procedimientos para el reconocimiento de las zonas libres de enfermedad. El proyecto de texto pronto estará a disposición de los miembros ya que la reunión de la Comisión del Código de la OIE fue en enero de 2005 y el Comité Internacional se reunirá en mayo próximo.

El presidente del Comité MSF acordó realizar una reunión informal para la próxima reunión de junio.

**Revisión del Acuerdo.** En esta reunión, el Comité MSF contó con documentos adicionales presentados por las delegaciones de Argentina, Chile, China y Nueva Zelanda. La Secretaría distribuirá un primer borrador del reporte sobre el examen del acuerdo a mediados de abril y los miembros tendrán tiempo hasta el 10 de junio para entregar observaciones por escrito. El informe deberá ser aprobado en las reuniones formales del 29 y 30 de junio. Los miembros podrán debatir en una reunión informal.

Transparencia fue uno de los temas de mayor debate. Algunos miembros consideran que se deben incrementar las obligaciones de notificación sobre medidas o normas que estén armonizadas; otros proponen que sea de carácter voluntario; y otros indican que se debe desarrollar primero las capacidades nacionales en la gestión de la transparencia, esto incluso por las consecuencias que podría tener en una disputa comercial. Algunos miembros comentaron sobre la importancia de un plazo efectivo para la presentación de observaciones a las notificaciones, ya sea por cantidad de días o el momento en que empieza a correr el período de consulta. Los otros temas tuvieron algún grado de debate, por lo que se invita a los miembros a considerar el poco tiempo restante para el informe y la aprobación de un plan de trabajo.

**Trato especial y diferenciado.** La discusión referente a las propuestas presentadas por algunos miembros en el marco del mandato de Doha continúa lenta, principalmente por las características de las mismas; en tanto algunas representan cambios en el Acuerdo MSF y algunos miembros consideran que limitan la potestad de los países para aplicar MSF basadas en ciencia. Se dispondrá de una reunión oficiosa para continuar el análisis.

Los documentos completos que fueron presentados y analizados en la reunión del Comité MSF pueden consultarse en [www.infoagro.net/salud](http://www.infoagro.net/salud)



# Preocupaciones Comerciales Planteadas

*Las preocupaciones comerciales resumidas a continuación fueron abordadas en la Trigésima Segunda Reunión del Comité MSF de la OMC*

## Preocupaciones comerciales zoonositarias

- 1 **México/Bolivia. Sacrificio de ganado importado en Bolivia - preocupaciones de México:** El representante de México informó que veinticinco animales de la especie bovina que habían llegado a Bolivia a un evento ganadero habían sido sacrificados innecesariamente debido al riesgo de EEB. Lo anterior se contrapone a diversas disposiciones establecidas en el Acuerdo MSF. Finalmente, México señaló que está libre de EEB y que para mantener dicha condición se están aplicando muchas medidas. Bolivia indicó que las autoridades habían solicitado información antes de la llegada de los animales pero que la información recibida no era suficiente para realizar una evaluación del riesgo. El ganado había llegado a Bolivia sin la documentación apropiada, por lo que procedía re-exportar o sacrificar a los animales. **CASO NUEVO**
- 2 **Estados Unidos (EE.UU.)/Japón. Restricciones de Japón a las importaciones de carne - preocupaciones de los EE.UU.:** EE.UU. manifestó que en respuesta a un único caso de EEB de un animal importado, Japón ha prohibido las importaciones de carne bovina. Se examinaron las diferentes acciones emprendidas en los últimos catorce meses con el fin de resolver todos los problemas planteados, sin embargo, la prohibición continúa vigente. EE.UU. instaron a Japón a eliminar las restricciones injustificadas y a cumplir con las obligaciones estipuladas en el Acuerdo MSF. Japón indicó que la EEB ha sido documentada en muchos países y que constituye uno de los aspectos normativos más importantes a nivel internacional. Asimismo, está trabajando a través de una comisión de inocuidad de los alimentos que realiza una evaluación del riesgo sobre las medidas adoptadas y que determinará qué nuevas acciones habrán de tomarse. **CASO NUEVO**
- 3 **Argentina/Indonesia. Restricciones de Indonesia relacionadas con la fiebre aftosa - preocupaciones de Argentina:** Argentina reiteró que este problema se ha traído a colación en innumerables ocasiones ante el Comité MSF, sin que haya sido resuelto satisfactoriamente. Volvió a solicitar a Indonesia alinear sus acciones con las normas de la OIE o bien, aportar evidencia científica que justifique las medidas adoptadas. El representante de Indonesia indicó que ésta era la primera reunión del Comité MSF a la que asistía y, desafortunadamente, no había ninguna representación de la capital que pudiera comentar al respecto. Las preocupaciones expresadas se harían llegar a las autoridades apropiadas a fin de darles respuesta. 11/2001, 06-10/2003, 03-06-16/2004 (acceso 8, 12, 13, 14, 15, 16)
- 4 **EE.UU./India. Falta de notificación por parte de la India de medidas con respecto a productos lácteos y alimentos para mascotas - preocupaciones de los EE.UU., con el interés de las CE:** El representante de los EE.UU. reiteró sus preocupaciones sobre la continua falta de notificación por parte de la India y las perturbaciones comerciales negativas resultantes. Las inquietudes más recientes se relacionan con la falta de notificación de las acciones emprendidas en materia de productos lácteos y alimento para mascotas. Los EE.UU. solicitaron a la India suspender las restricciones hasta enviar notificación con tiempo suficiente para formular comentarios al respecto. El representante de las CE apoyó las inquietudes planteadas. India tomó nota de las preocupaciones planteadas por los EE.UU. y las CE. India ha estado notificando a la OMC, sin embargo, ha faltado claridad con respecto a cuáles condiciones sanitarias deben notificarse. Se está tomando nota de estas preocupaciones para remitirlas a la capital. 10/2004 (acceso 16)
- 5 **Noruega/CE. Prohibición de las CE contra la presencia de harina de pescado en el alimento para rumiantes - preocupaciones de Noruega, con el interés de Islandia:** Noruega observó que de acuerdo con la OIE no existe evidencia científica que respalde una prohibición sobre la harina de pescado en lo que respecta al riesgo de EEB. En la actualidad, existe una prueba que permite distinguir entre la harina de mamífero y la harina de pescado. La actual prohibición de las CE contra la harina de pescado es más restrictiva de lo necesario. El representante de las CE reconoció que algunos países habían perdido el mercado comunitario de proteínas para rumiantes, pero que habían ganado un monopolio virtual en el mercado de proteína para aves y cerdos. Si bien ahora existe una prueba, persisten muchos asuntos delicados, en especial con respecto a los consumidores. Reanudar este debate resultará difícil. 07-11/2001, 03/2002 (acceso 5, 6, 8)
- 6 **Las Comunidades Europeas (CE). Reconocimiento de la condición de zona libre de fiebre aftosa para todos los miembros de las CE:** El representante de las CE reiteró que a pesar de haber planteado este problema en ocasiones anteriores, algunos países continuaban aplicando restricciones por la fiebre aftosa. Todo el territorio de las CE está libre de la fiebre aftosa y dicha condición ha sido reconocida por la OIE. Desde 2002 no se han presentado nuevos brotes y no existe justificación científica para las restricciones impuestas por algunos países. Finalmente, señaló que los países tenían que cumplir con las obligaciones en el marco del Acuerdo MSF. 03-06/2004 (acceso 14, 15)
- 7 **CE. Peste porcina clásica: reconocimiento de la condición de zona libre de la enfermedad y de la regionalización:** El representante de las CE expresó que este problema ha sido abordado en ocasiones anteriores, pero que aún así, muchos países se refusan a aceptar el artículo seis del Acuerdo MSF con respecto a la regionalización. Algunos países continúan aplicando restricciones que carecen de fundamento científico. Finalmente, manifestó que los países deben respetar sus obligaciones en el marco del Acuerdo MSF, las cuales incluyen el reconocimiento de la regionalización. 06/2004 (acceso 15)

## Preocupaciones comerciales relativas a la sanidad vegetal

- 8 **México/Guatemala. Restricciones de Guatemala a la importación de aves y el tránsito de aguacates - preocupaciones de México:** El representante de México informó que estos problemas se habían planteado con anterioridad, reconoció la cooperación prestada por Guatemala e indicó que se continuará con las conversaciones. Guatemala expresó que, en efecto, se estaban sosteniendo conversaciones y que éstas continuarían de forma bilateral. **CASO NUEVO**
- 9 **China/EE.UU. Restricciones de los EE.UU. sobre las peras Ya - preocupaciones de China:** El representante de China señaló que luego de la suspensión de las importaciones de pera por parte de los EE.UU., se han realizado estudios de manera conjunta, los cuales han arrojado resultados positivos reconocidos por ambos países. Sin embargo, los EE.UU. han adoptado un enfoque de cero riesgos. Se espera que se reanude el comercio. El representante de los EE.UU. indicó que las importaciones se suspendieron a finales de 2003 luego de que se detectara la plaga en repetidas ocasiones. Se desarrolló un protocolo de común acuerdo y se puso en marcha un programa para probar las medidas de mitigación. Sin embargo, los niveles de infestación aún exceden las especificaciones del plan de trabajo. Se desconoce la existencia de dicha plaga en los EE.UU. Permanece el compromiso de continuar trabajando con China para revisar el protocolo. **CASO NUEVO**

1. Este resumen no fue preparado por la Secretaría del Comité MSF de la OMC, por lo tanto, no constituye un documento oficial.  
2. Los meses y los años en que el tema se trató en las reuniones del Comité MSF. # del Boletín. Acceso en que se informó del asunto.

- 10 EE.UU./CE. Directiva de las CE sobre sanidad vegetal - preocupaciones de los EE.UU.: El representante de los EE.UU. informó que durante muchos años se han realizado embarques de grandes volúmenes de fruta seleccionada con destino a las CE, acompañados de los certificados fitosanitarios respectivos. El nuevo protocolo exige un nivel de inspección del 100%, lo cual afecta considerablemente la naturaleza perecedera de los productos y no toma en cuenta la historia comercial de larga data. El representante de las CE indicó que los nuevos procedimientos están dirigidos a facilitar las importaciones fitosanitarias. Sin embargo, debido a que en el pasado se exigían niveles mínimos de inspección, no se lograba recopilar suficiente información. Los nuevos procedimientos tomarán en cuenta la historia previa y determinarán la cantidad de verificaciones que se requieran, pero para ello será necesario pasar por un período de ajuste. CASO NUEVO
- 11 EE.UU./Tailandia. Regla No. 11 de Tailandia - preocupaciones de los EE.UU., con el interés de Nueva Zelanda: El representante de los EE.UU. manifestó que las preocupaciones en torno a la falta de notificación y de un período para formular comentarios, han sido planteados con anterioridad. Los EE.UU. y Nueva Zelanda expresaron serias preocupaciones con respecto a la regla en cuestión, incluyendo la inexistencia de una evaluación del riesgo, la aplicación de requisitos potencialmente discriminatorios, así como la exigencia de requerimientos de certificación onerosos y costosos. Los países solicitaron que las reglas no se apliquen hasta que estos asuntos sean abordados. Tailandia indicó que la aplicación de la regla había sido posergada hasta finales de mes y que mantendría informado al Comité MSF sobre acontecimientos futuros. Asimismo, señaló que los aspectos relacionados con las medidas y normas sobre inocuidad de los alimentos de la finca a la mesa son de gran preocupación. En su calidad de país exportador importante, sus acciones no tienen el objetivo de discriminar. Tailandia considera que los impactos negativos son menores a lo previsto. Las preocupaciones expresadas serán tomadas en cuenta y remitidas a las autoridades correspondientes. CASO NUEVO
- 12 Canadá/Venezuela. Permisos de importación de Venezuela para papa (patata), carne y cebolla - preocupaciones de Canadá, con el interés de los EE.UU.: El representante de Canadá reiteró su preocupación con respecto a la concesión discrecional de licencias de importación administradas por los servicios sanitarios y fitosanitarios nacionales carentes de una base de MSF. Recientemente se han celebrado reuniones importantes con la delegación de Venezuela y se espera que esto abra el camino para seguir avanzando. Los EE.UU. hicieron patente su preocupación en torno a los regímenes existentes para el trámite de licencias y permisos de importación. Venezuela señaló que las recientes reuniones realizadas con Canadá al parecer han resultado productivas y que en el futuro espera poder rendir un informe positivo ante el Comité MSF con respecto a las acciones emprendidas. Además, manifestó sorpresa ante las preocupaciones planteadas por los EE.UU. sin consulta previa. 03-07-10/2001, 03-06/2002, 03-06-10/2003, 03-06/2004 (acceso 4, 6, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15)
- 13 CE/EE.UU. Restricciones fitosanitarias de los EE.UU. para la importación de plantas en medio de cultivo - preocupaciones de las CE, con el interés de China: El representante de las CE observó que durante más de veinticinco años ha existido un diálogo intermitente en torno a este tema, con pocos resultados. El análisis del riesgo de plagas ha estado disponible solo en época reciente. Tanto las CE como China manifestaron preocupación en cuanto al acceso al mercado y a las restricciones comerciales injustificadas. Los EE.UU. expresaron que está adoptando una serie de medidas para garantizar que las preocupaciones planteadas sean examinadas. Actualmente, estudia los procedimientos vigentes y está solicitando comentarios con respecto a la regla propuesta, y espera actuar de la manera más expedita posible. 07/2003 (acceso 5)
- 14 Nueva Zelanda/Japón. Restricciones de control oficial impuestas por Japón - preocupaciones de Nueva Zelanda, con el interés de los EE.UU. y las CE: El representante de Nueva Zelanda señaló como aspecto positivo las medidas propuestas por Japón de ampliar su actual lista de plagas no sujetas a cuarentena y espera que se ponga en práctica rápidamente. Los tres países reconocieron los esfuerzos del gobierno japonés e instaron a cumplir otras normas internacionales. Japón informó que se están revisando los análisis del riesgo de plagas según la normativa internacional. Se ha enviado una notificación a los miembros de la OMC para solicitar comentarios y los mismos están siendo estudiados por las autoridades correspondientes. 06-11/2002, 03-06-10/2003, 03-06-10/2004 (acceso 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16)
- 15 EE.UU./CE. Requisitos de las CE para el material de embalaje de madera sólida - preocupaciones de los EE.UU., con el interés de Canadá, República Dominicana y las Filipinas: El representante de los EE.UU. expresó que están de acuerdo con el aplazamiento de un año por parte de las CE de los requisitos de descortezado contenidos en la norma NIMF No. 15. Los países señalaron que al formular esta norma, el grupo de trabajo científico había examinado la cuestión del descortezado. Esperan que las CE pongan a disposición del grupo de trabajo del CIPF toda justificación técnica tan pronto esté disponible. Las CE manifestaron que han actuado de forma responsable y conforme al Acuerdo MSF. Sin embargo, sus expertos señalan que existen motivos científicos válidos para el descortezado, sobre todo en relación con los nemátodos. Si bien el requisito de descortezado ha sido pospuesto, es probable que el problema vuelva a presentarse en el futuro. 10/2004 (acceso 16)

## Preocupaciones comerciales relativas a la inocuidad de los alimentos

- 16 Canadá/CE. Normas de higiene en las CE para alimentos y pienso - preocupaciones de Canadá, con el interés de los EE.UU. y Jamaica: Los países expresaron varias inquietudes respecto a las reglas propuestas, incluidos los requisitos de rastreabilidad y elaboración de informes, los procedimientos de aplicación y la interpretación de términos como, por ejemplo, sistemas alimentarios "como" el HACCP y su aplicación a productos de bajo riesgo. Los países solicitaron explicaciones más formales sobre la forma en que se aplicarán las nuevas reglas. El representante de las CE indicó que la nueva legislación se había demorado mucho tiempo y representa un progreso importante respecto al cuerpo de leyes obsoletas. Confían en que las nuevas reglamentaciones no constituirán un obstáculo y serán bastante flexibles con las inquietudes que se presenten. La situación podría aclararse en un seminario que tendrá lugar más adelante en el año, en Bruselas, para los socios comerciales. CASO NUEVO
- 17 China/Japón. Protocolo japonés que enmienda los límites máximos de residuos (LMR) de plaguicidas, medicamentos veterinarios y aditivos del pienso - preocupaciones de China y comentarios adicionales de las Filipinas: El representante de China comprende que Japón está modificando sus LMR para más de 600 plaguicidas, medicamentos veterinarios y aditivos del pienso. China es un exportador importante de hortalizas a Japón y espera que este país siga las disposiciones del Acuerdo MSF incluida la evaluación científica, la minimización de los impactos comerciales, la notificación adecuada y el período para recepción de comentarios y adopción. Japón manifestó que la entrada en vigor de este proceso está prevista para mayo de 2006 y que el mismo está dirigido a reducir el consumo de alimentos que contienen niveles inaceptables de residuos. Dichos niveles se establecen con base en la opinión de expertos y buscan asegurar una protección máxima y, al mismo tiempo, evitar perturbaciones al comercio. Las autoridades japonesas consideran que sus acciones son congruentes con el Acuerdo MSF pero remitirán a la capital las preocupaciones relacionadas con el período para recibir comentarios. CASO NUEVO
- 18 China/CE. Directivas de las CE sobre el límite de tolerancias para los residuos de plaguicidas y métodos de inspección para el té - preocupaciones de China, con el interés de India: El representante de China manifestó que los límites máximos de residuos establecidos por las CE son demasiado rigurosos, carecen de un sustento científico y de una evaluación del riesgo. China e India han señalado que las normas para el té son más estrictas que para otros productos consumidos en las CE. Las CE señalaron que la nueva legislación marco establecerá los LMR para toda la comunidad de manera que todos los productos puedan comercializarse libremente. Las mismas reglas se aplican a todos los productores europeos. Los límites adoptados se basan en los métodos del Codex pero las CE indicaron que sus normas se aplican por igual a los productos importados y a los producidos internamente, por lo que no hay discriminación. CASO NUEVO
- 19 EE.UU./Panamá. Régimen panameño de inspección de instalaciones - preocupaciones de los EE.UU., con el interés de Canadá: El representante de los EE.UU. manifestó que Panamá no notificó la reciente adopción de reglamentaciones relativas a la inspección de instalaciones y, por ende, no se brindó la oportunidad para hacer comentarios. Los EE.UU. solicitaron una copia de la evaluación del riesgo donde se describieran los factores de riesgo y el nivel de riesgo aceptable. Canadá expresó su preocupación con el enfoque de acreditación e instó a examinar detenidamente los procedimientos y restricciones impuestos. Panamá señaló que es la primera vez que este asunto se presenta en el seno de la OMC y que tomará nota de las preocupaciones y las remitirá a la capital. Antes no se habían presentado problemas y las notificaciones se enviaron a la OMC a principios de septiembre de 1998 para que se hicieran observaciones. Panamá sigue dispuesto a continuar las conversaciones. CASO NUEVO

**20** Canadá/Grecia. Procedimientos griegos de inspección/prueba para el trigo importado - preocupaciones de Canadá: El representante de Canadá manifestó que Grecia ahora exige probar todos los cargamentos de trigo sin ofrecer justificación científica alguna. Sus procedimientos de prueba son discriminatorios, carecen de fundamento científico y no son congruentes con los requisitos de las CE. El asunto reviste considerable importancia y se instó a eliminarlos sin demora.

**21** Chile/Australia. Restricción de Australia a las uvas frescas - preocupaciones de Chile: El representante de Chile indicó que desde 1998 se solicitaron requisitos de acceso para las uvas de mesa a Australia. Señaló que han pasado por dos análisis del riesgo y tres procesos de consulta pública. Informó que Australia publicó los nuevos requisitos el 24 de febrero con 45 días para consultas, y espera que no se demore más de lo previsto ya que les preocupa perder la cosecha de 2005.

**22** Argentina/Panamá. Restricciones de Panamá a productos lácteos - preocupaciones de Argentina: El representante de Argentina mencionó las muchas acciones que ha tomado para avanzar en esta cuestión pero todavía espera respuesta de Panamá e instó al gobierno a actuar de manera que se resuelva el asunto.

**23** EE.UU./Corea. Requisitos de Corea en materia de pruebas de niveles de residuos - preocupaciones de los EE.UU., con el interés de las CE y las Filipinas: El representante de los EE.UU. reconoció la revisión de procedimientos realizada por Corea pero señalaron que dichas revisiones no abordan plenamente todas las preocupaciones. Como ejemplo adujo que si bien se ha reducido la cantidad de sustancias químicas en las pruebas a las importaciones, a los productores nacionales únicamente se les somete a pruebas aleatorias, que son costeadas por el gobierno. Las Filipinas solicitaron un trato especial para los países en desarrollo dado que los requisitos son onerosos.

**24** China/Japón. Garantía de seguridad y mejoramiento de la calidad en Japón del pienso y de los aditivos del pienso - preocupaciones de China: El representante de China indicó que la nueva notificación busca establecer límites máximos de residuos pero que algunos niveles, principalmente para el pienso y los aditivos del pienso, carecen de la justificación científica necesaria para respaldar los nuevos límites establecidos.

Las CE indicaron que están sosteniendo conversaciones bilaterales con Grecia y Canadá. Las autoridades griegas están considerando la derogación de ciertos criterios, el restablecimiento de los requisitos normales de las CE y un examen de las disposiciones que podrían ser discriminatorias. Esperan que las acciones se tomen tan pronto como sea posible. CASO NUEVO

Australia señaló que como resultado de una reestructuración, Bioseguridad de Australia tendría mayor independencia y realizaría los análisis del riesgo pendientes a las importaciones. Recientemente se realizaron dos evaluaciones del riesgo a las importaciones, que incluyen este asunto, y se enviaron las debidas notificaciones. Australia está trabajando rápidamente para procesar los análisis del riesgo existentes a las importaciones. CASO NUEVO

Panamá indicó que como parte de su evaluación del riesgo se incluirá la inspección de plantas. Reconoció los esfuerzos emprendidos y expresó su deseo de colaborar con una serie de visitas en el lugar. 03-10/2004 (acceso 14, 16)

Corea manifestó que está revisando las reglamentaciones que espera aplicar este año. En cuanto al costo de las pruebas, la tarifa es mucho menor que lo propuesto originalmente y se basa en consultas públicas y en los costos conforme al sistema de recuperación de costos de Corea. 10/2003, 03-06-10/2004 (acceso 13, 14, 15, 16)

Japón manifestó que faltan normas internacionales para armonizar los niveles científicos existentes publicados no son adecuados y, por ello, estableció nuevos niveles con base en los límites establecidos por otros países. Japón es flexible y está dispuesto a reconsiderar estos niveles cuando se disponga de información científica adicional. CASO NUEVO G/SPS/W/JP/128

## Resolución de cuestiones

**25** Solución de preocupaciones comerciales de Brasil respecto a la exportación de mangos a Japón: El representante de Brasil indicó que en septiembre las autoridades científicas japonesas firmaron el convenio que establecía normas específicas para la importación de mangos de Brasil. Hasta el momento se han realizado ocho embarques sin restricciones.

**26** Solución de preocupaciones de los EE.UU. respecto a la falta de regionalización por parte de China debido a la influenza aviar: En la última reunión el representante estadounidense informó que China no había regionalizado a los EE.UU. con motivo de la aparición de la influenza aviar. Mediante conversaciones bilaterales este asunto ha sido resuelto.

**27** Solución de preocupaciones de los EE.UU. respecto al control de *Septoria* en los productos hortícolas exportados a Corea: El representante de los EE.UU. informó que este asunto ha sido resuelto por mutuo acuerdo en conservaciones con Corea respecto a las restricciones originadas por *Septoria* en los cítricos.

Fechas importantes Márqueles en su agenda		✓
4 al 8 de abril	Reunión de la Comisión Internacional de Medidas Fitosanitarias (CIPF)	( )
Mediados de abril	Circulación del primer borrador del informe sobre Examen del Acuerdo	( )
22 - 27 mayo	Reunión del Comité Internacional de la OIE	( )
10 de junio	Fecha para que los países presenten observaciones al proyecto de informe sobre el Examen del Acuerdo	( )
16 de junio	Fecha límite para solicitar la incorporación de nuevos temas en el orden del día	( )
17 de junio	Distribución de la agenda tentativa para la reunión del Comité MSF (Aerograma de la Secretaría)	( )
27 - 30 de junio	Reunión formal e informal del Comité MSF	( )

### La reunión en cifras

La XXXI Reunión del Comité MSF, celebrada el 9 y 10 de marzo en la sede de la OMC, contó con la participación de 31 países de las Américas.

- El 97% de los Estados Miembros del IICA (33 de 34) estuvo presente.
- El 100% de los países miembros del IICA que asistieron lo hizo con "expertos de capital".
- 27 países con 42 "especialistas de capital" asistieron con el apoyo de la Iniciativa para las Américas en MSF, dirigida a fortalecer la participación activa ante el Comité MSF. Esta fue la octava reunión consecutiva.
- Se presentaron 9 declaraciones; 7 de ellas (77%) fueron de naciones de las Américas.
- Se discutieron 27 casos comerciales, 18 de ellos presentados por países de las Américas.



Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA)

Sanidad Agropecuaria e Inocuidad de los Alimentos  
Tel.: (506) 216-0184 • Fax: (506) 216-0173  
Apto. postal 55-2200 Coronado, Costa Rica  
Dirección electrónica: sanagro@iica.ac.cr • www.infoagro.net/salud  
www.iica.int

## Conociendo los miembros del PITTA de Producción Orgánica: el Programa de Producción Orgánica (PAO) de la Universidad de Costa Rica

Oscar Acuña

### Introducción

La agricultura orgánica es una forma rentable y natural de producir; utiliza prácticas más saludables, busca el restablecimiento del equilibrio entre especies y favorece el rescate de la experiencia tecnológica local. Durante los últimos años, la Universidad de Costa Rica ha desarrollado una serie de proyectos afines a la agricultura orgánica. En la ejecución de estos proyectos coincidieron grupos de profesionales de diferentes áreas, hasta que se llegó a plantear la necesidad de unificar y coordinar esfuerzos.

El Programa de Agricultura Orgánica (PAO) de la Universidad de Costa Rica es una gestión interdisciplinaria de investigadores que busca promover la producción orgánica de alimentos a través de la investigación, la extensión y la docencia.

### Objetivos del PAO

- Promover acciones que faciliten la investigación de manera interdisciplinaria y bajo lineamientos definidos acordes con las necesidades de la producción agrícola sostenida.
- Optimizar la transferencia de los resultados de las investigaciones en agricultura orgánica hacia los sectores productivos.
- Crear conciencia entre los consumidores sobre la conveniencia de los productos orgánicos.
- Captar y distribuir recursos financieros internos y externos para la investigación en agricultura orgánica.



Parcelas de agricultura orgánica en la Estación Experimental de la UCR. (Foto: Oscar Acuña).



Módulo de producción de hongos comestibles, CIA, UCR. (Foto: Oscar Acuña).

**PITTA**  
PRODUCCION ORGANICA

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

### Servicios que ofrece el PAO

- Asesorías en producción, manejo orgánico y biológico.
- Manejo de finca para la producción animal orgánica.
- Introducción a la producción de hongos comestibles.
- Elaboración y control de calidad de insumos orgánicos y biológicos.
- Manejo de sistemas de producción agrícola con el uso de coberturas vegetales.
- Análisis de laboratorio de insumos orgánicos.
- Análisis bioquímico de suelos.
- Análisis nematológicos de sustratos orgánicos.
- Diagnóstico y manejo de plagas insectiles.

### Proyectos de investigación y promoción

1. Aprovechamiento de desechos agroindustriales orgánicos mediante el cultivo de setas tropicales comestibles.
2. Trabajo Comunal Universitario: Agricultura Orgánica Urbana.
3. Desarrollo agronómico de la planta *Morinda citrifolia* (noni).
4. Preparación y evaluación de sustratos orgánicos y su actividad biológica sobre la producción de los cultivos orgánicos.
5. Investigación sobre la producción hidropónica.
6. Evaluación de sustratos orgánicos en el control de nematodos.
7. Elaboración de extractos naturales para el control de plagas y enfermedades.

8. Producción de metabolitos secundarios para el combate de enfermedades fungosas en plantas y humanos.
9. Programa Nacional de Control de Calidad de Insumos Orgánicos (MAG).
10. Evaluación del extractos acuosos de *Tagetes foetidissima*.
11. Clínica de diagnóstico de plagas insectiles.
12. Desarrollo de sistemas de alimentación orgánica para especies pecuarias.
13. Prueba de efectividad de hongos entomopatógenos en el control de garrapatas (*Boophilus microplus*).

### Miembros del PAO

Augusto Rojas (coordinador), Federico Fernández, Guiselle Alvarado, Helga Blanco, Jorge Briceño, Luis Salazar, Oscar Acuña, Roberto Bonilla, Rodolfo Wing Ching, Jorge Loaiza, Carlos Zumbado, Víctor Álvarez.

### Instituciones que colaboran con el PAO

Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA), Centro de Investigaciones en Economía Agrícola y Desarrollo Agroempresarial, Centro de Investigaciones en Nutrición Animal (CINA), Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos (CIPROC), Escuela de Agronomía, Escuela de Nutrición, Escuela de Zootecnia, Estación Experimental Alfredo Volio, Facultad de Microbiología, Sede Regional del Atlántico (UCR), Universidad Nacional, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Ministerio de Agricultura y Ganadería.

## Noticias

### Programa de Fomento de la Producción Agropecuaria Sostenible

Olman Quirós Madrigal, PFPAS

Como resultado de un proceso de varios años, se aprobó el Programa de Fomento de la Producción Agropecuaria Sostenible (PFPAS). Este es una respuesta del Gobierno de Costa Rica a las inquietudes de organizaciones de pequeños y medianos productores del sector agropecuario que quieren pasar a sistemas de producción más sostenibles. Tras su ratificación en la Asamblea Legislativa (*La Gaceta* N° 81, 27 de abril de 2004, ley N° 8408), se pone a disposición del sector agropecuario una serie de acciones de fomento para la producción sostenible, concentrándose en la producción orgánica y la producción conservacionista.

El PFPAS se ha planteado como una operación piloto que se ejecutará durante cuatro años, y su objetivo general consiste en incrementar los ingresos y mejorar la calidad de vida de las familias de los pequeños y medianos productores agropecuarios, a través del fomento de la competitividad de los sistemas de producción agropecuaria sobre una base económica y ambientalmente sostenible.

Los fondos para desarrollar el Programa provienen de un crédito que el país ha adquirido con el Banco Interamericano de Desarrollo (BID), y los recursos que se pondrán a disposición de las organizaciones son no reembolsables. El presupuesto total del Programa es de US\$ 17,6 millones, de los cuales US\$ 14,4 millones provienen del préstamo con el BID, y el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) es la instancia responsable de su ejecución. El Programa se divide en tres componentes:

**Componente I. Inversiones y Asistencia Técnica en Producción Agropecuaria Sostenible** (presupuesto de US\$ 8,8 millones). Su objetivo es fomentar proyectos locales de asistencia técnica e inversiones, facilitando la introducción de nuevas tecnologías a través de dos tipos de incentivos:

- (i) Cuando sea requerido por la organización, el PFPAS podrá pagar el 50% del costo de la asistencia técnica.

- (ii) Incentivos del 20 al 30% de la inversión que realicen los productores en sus fincas y que arrojen beneficios ambientales.

**Componente II. Capacitación e información** (US\$ 2,35 millones). Objetivos:

- (i) Fortalecer las organizaciones de productores para que operen en forma empresarial.
- (ii) Capacitar a los extensionistas del MAG para que hagan frente a las nuevas exigencias de las organizaciones.
- (iii) Adecuar el sistema de información InfoAgro para ofrecer a los productores la información necesaria para sus operaciones particulares.

**Componente III. Estudios para apoyar la competitividad del sector agropecuario** (US\$1,6 millones). El objetivo es proveer al MAG de los instrumentos necesarios para desarrollar su política en el sector frente a los nuevos retos de competitividad.

**Estructura Operativa**

La estructura operativa del Programa se conforma de:

- a. **Consejo Directivo Nacional (CND)**. Presidido por el Ministro de Agricultura, cuenta con representación de las organizaciones de productores. Es la instancia superior para las decisiones estratégicas del Programa.
- b. **Unidad Coordinadora del Programa (UCP)**. Se encargará tanto a lo interno del MAG como hacia lo externo de la ejecución del Programa. Su relación con el Programa Nacional de Extensión Agropecuaria, de SEPSA, y otras organizaciones relevantes es fundamental para el logro de los objetivos.

Para mayor información, diríjase a las oficinas del Programa en la sede central del MAG, en San José (teléfono 291-4621) o a las oficinas regionales del MAG.

**Producción escalonada de piña orgánica**

**Carlos Mora Castro**  
Grecia, Costa Rica



Este modelo de finca integral, construido en los últimos 12 años por la familia Mora Castro en Río Cuarto de Grecia, Costa Rica, se destaca por entender y explotar las interrelaciones entre los componentes agrícola y pecuario, con la meta de cerrar los ciclos de nutrientes en el interior de la finca y romper la dependencia de insumos externos.

En las parcelas cultivadas más intensivamente con cultivos anuales se experimentaron y optimizaron coberturas verdes y un sistema de rotación de cultivos. Mientras tanto, en el resto de la finca se establecieron sistemas agroforestales, asociando una gran cantidad de frutales. Se pasó por una etapa intensiva de recuperación en la que se aplicaban regularmente productos biológicos para abonar y controlar plagas y enfermedades. Estos, a pesar de ser elaborados en la finca misma, son considerados insumos que demanda el sistema. Hoy, después de diez años, esta etapa fue superada. Se logró mantener el equilibrio con un aporte externo mínimo. Ya no se hacen aboneras, solamente se incorpora la vegetación natural que crece en las parcelas en descanso. De igual manera, la biodiversidad cultivada ya no demanda, salvo en casos excepcionales, plaguicidas naturales.

La finca Elián (8 ha) cuenta hoy con una importante diversidad de subsistemas productivos, clasificados en un huerto mixto (1 ha) de frutales, entre los que cabe destacar el mamón chino, la pipa y el coco, que generan un importante ingreso. Los cultivos asociados (1,1 ha) constituyen un sistema rotativo con camote, yuca, piña y dos años de descanso (0,5 ha en descanso, fuera de rotación). El área forestal cuenta con una plantación (0,9 ha) de pilón y cedro maría, sembrados en 1993, y más de 3 ha de bosque natural, que protege la parte más inclinada de la finca y la quebra-

da. Además, en un sector de la plantación (0,3 ha) se cultiva palmito arbolado. El subsistema pecuario se compone de gallinas, uno a tres cerdos y dos novillos. Actualmente se encuentra en proceso de renovación, después de haber vendido todos los animales. Se dispone para ello de unas 2 ha de pasto.

El cultivo de la piña aporta el mayor ingreso agrícola neto por hectárea. Tiene la ventaja de producir durante todo el año y de que se puede programar la cosecha con bastante precisión, por lo que contribuye a la estabilidad del sistema de producción. Con la siembra escalonada de pequeños lotes de 1500 plantas cada dos meses y la inducción dirigida de la floración, se ha logrado mantener una producción constante de 150-200 piñas de excelente calidad por semana. Aunque la demanda es mayor, por el momento se mantiene un sistema manejable por la familia. Sin embargo, es el huerto mixto el subsistema que mayor retribución aporta por día familiar laborado; además, en términos absolutos, aporta los mayores ingresos efectivos a la familia. Por ello, se puede catalogar como el sistema más eficiente.

No podemos dejar de lado el valor agregado de la riqueza ecológica recuperada en forma de bosque, suelos vivos, diversidad de plantas y animales. A pesar de su difícil cuantificación monetaria, la conservación de los recursos naturales es la mayor ganancia del esfuerzo de la familia Mora Castro y trasciende mucho más allá de las fronteras de la finca.

La diversificación que ha alcanzado la finca ha permitido a la familia Mora Castro colocar en el mercado productos que tienen gran aceptación, como la piña, el camote, la yuca, las pipas y el mamón chino, entre otros. La mezcla de cultivos y de pequeñas áreas asegura que los productos se colocan en función de la oferta establecida. El escalonamiento del cultivo de piña ha sido una decisión central, pues además de ser uno de los cultivos más importantes de la

finca, la familia Mora Castro es la única proveedora de piña orgánica en la feria de productos orgánicos “El Trueque” en San José, Costa Rica. El cultivo de la piña es el que aporta el mayor ingreso agrícola neto por hectárea.

Cultivo: Piña  
 Área cultivada: 2500 m<sup>2</sup>  
 Duración del ciclo de cultivo: 16 meses  
 Variedad usada: Monte lirio y Champaca  
 Origen de la semilla: compra la mitad y la otra de la finca  
 Cultivos precedentes en la parcela: camote  
 Tipo de siembra: Directa por hijos, doble hilera a 40 x 80 m

Labor	Descripción de la técnica usada
Limpia y retoque de lomillos	Con una pala se deshieran los lomillos que se usarán antes en el cultivo del camote, y se vuelven a formar adecuadamente.
Preparación de la semilla	Se limpian y revisan los hijos que van a ser sembrados.
Aplicación de calcio	Se aplica antes de sembrar, utilizando 12 kg de cal/ 320 m <sup>2</sup> .
Siembra	Se siembran dos hileras de hijos de piña por lomillo. Se siembra escalonadamente, cada dos meses, en un área de 320 m <sup>2</sup> .
Aplicación de supermagro	Se aplica caldo biológico, que contiene estiércol, leche y melaza, enriquecido con minerales. Este preparado se aplica una vez por mes durante el período de cultivo.
Aplicación de Kmag	Se aplica cuatro meses después de la siembra, a razón de 7 kg por cada lote de 480 m <sup>2</sup> .
Deshierba	Se deshierba con motoguadaña cada mes. Luego se debe limpiar a mano el área cercana a cada planta.
Inducción floral	Entre el décimo y onceavo mes de cultivo, se aplica Ethrel® (30 cc/bomba, para 800 plantas) para inducir la floración. Se induce la floración a la mitad de la parcela de la misma edad y al mes siguiente la otra mitad.
Cosecha	Se hace a los cinco meses de la inducción floral. Se realiza manualmente de forma escalonada, tal y como se sembró, separando la fruta del tallo.
Manejo post-cosecha	Una vez cortadas las piñas, se almacenan y se seleccionan por tamaño, para separarlas por precio de venta.
Traslado al mercado	Las frutas son trasladadas al mercado, junto con los demás productos, en cajas y en el vehículo del agricultor. Son vendidas en la feria de productos orgánicos de San José.



Finca Elián, Río Cuarto, Grecia, Costa Rica. (Foto: Gabriela Soto).



Piña orgánica. (Foto: Gabriela Soto).

## Publicaciones



Soto, G. 2005. La certificación orgánica paso a paso. Manual para apoyar a los productores en el establecimiento de sus propios Sistemas Internos de Control. Turrialba, CR, CATIE. 24 p.

## *Futuros eventos de producción orgánica*

### **7 – 10 Mayo, 2005**

I Forum Latinoamericano de Agricultura Orgánica y Sostenible. Se realizará simultáneamente con la Feria Internacional de Productos Orgánicos y Agroecología. Sao Paulo, Brasil. Más información en [www.biobrazilfair.com.br](http://www.biobrazilfair.com.br).

### **8 Noviembre 2005**

El Programa de Investigación y Transferencia de Tecnologías Agropecuarias en Producción Orgánica (PITTA-PO) en Costa Rica lanza el primer Concurso Nacional de Productores/as Experimentadores/as e Innovadores/as. El concurso premiará los mejores experimentos en fertilización orgánica, control orgánico de plagas, malezas y enfermedades y otras técnicas de producción or-

gánica realizados por pequeños y medianos productores orgánicos. También se premiarán los mejores "inventos" de herramientas, maquinaria, sistema de riego, y otros. Para mayor información, contactar a Shirley Guerrero, en el PNAO. Tel.: 260 8300, correo electrónico

[sguerrero@proteconet.go.cr](mailto:sguerrero@proteconet.go.cr)



## Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

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

Visitenos en:

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

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

Tel. (506) 558 2408

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

Sección Informativa

# Futuros Eventos

**6-10 junio 2005**  
**III Encuentro Internacional-III**  
**Congreso Nacional del Arroz**

Organizado por el Instituto de Investigaciones del Arroz (IIA), el Grupo Agroindustrial Pecuario Arrocerero (GAIPA) y el CIAT

**Sede:** Palacio de Convenciones de La Habana, Cuba

**Información:**

Dr. Rubén Alfonso Caraballo  
Director del Instituto de Investigaciones del Arroz  
Instituto de Investigaciones del Arroz  
Apartado 5, Bauta, La Habana, Cuba  
Correos electrónicos: tercerencuentro@iiarroz.cu, arroz2005@iiarroz.cu  
Tel/Fax: 53-7-8816177

Lic. Mireya Mesa Tamargo  
Organizadora Profesional de Congresos  
Palacio de Convenciones de La Habana  
Apartado 16046, La Habana, Cuba  
Correo electrónico: mireya@palco.cu  
Teléfonos: (53-7) 2086176/2026011-19 ext. 1512  
Fax: (53-7) 2028382/2087996/2083470

**20-24 junio 2005**  
**Curso "Manejo Agroecológico de Plagas en el**  
**Sistema de Producción"**

Organizado por el Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal del Ministerio de Agricultura de Cuba

**Sede:** INISAV, La Habana, Cuba

**Información:**

Ing. Luis L. Vázquez Moreno  
Calle 110 # 514 e/ 5taB. y 5ta F  
Playa CP 11600, Ciudad de La Habana  
Cuba  
Correo electrónico: lvazquez@inisav.cu  
Fax: (537) 2029366, 2040535

O bien, en el sitio  
<http://www.inisav.cu>

**27-29 junio 2005**  
**XXXII Congreso Nacional de Entomología de la**  
**Sociedad Colombiana de Entomología**

**Sede:** Hotel Internacional Casa Morales, Ibagué, Colombia

**Información:**

[www.socolen.org.co/congreso](http://www.socolen.org.co/congreso)

**27 junio-1 julio 2005**  
**XLV Reunión Anual de la American Phytopathological**  
**Society - División Caribe**  
**VI Reunión Anual de Fitopatología**

**Sede:** San José, Costa Rica

**Información:**

Comité Organizador APEP  
Apartado Postal 1745-2050, San Pedro de Montes de Oca  
San José, Costa Rica  
Correo electrónico: apscd05@una.ac.cr

**12-16 septiembre 2005**  
**II Simposio Internacional sobre Control Biológico de**  
**Artrópodos**

**Sede:** Davos, Suiza

**Información:**

Secretaría del Simposio de ISBCA  
Correo electrónico: ISBCA@bluewin.ch

O bien, en el sitio  
[www.cabi-bioscience.ch/ISBCA-DAVOS-2005/](http://www.cabi-bioscience.ch/ISBCA-DAVOS-2005/)

**26-29 septiembre 2005**  
**VII Congreso Internacional-XXXII Congreso Nacional**  
**de la Sociedad Mexicana de Fitopatología**

**Sede:** Chihuahua, Chihuahua, México

**Información:**

Dr. Guillermo Fuentes-Dávila  
INIFAP-CIRNO  
Norman E. Borlaug, Km. 12 entre 800 y 900 Valle del Yaqui  
Apdo. Postal 515  
Cd. Obregón, Sonora, México CP 85000  
Correo electrónico: g.fuentes@cgjar.org  
Teléfonos: 52-01-644-4141940, 4145700, 4145799  
Fax: 644-4145914, 4145438, 4145898

**5-7 octubre 2005**  
**XXVI Congreso de la Asociación Colombiana de**  
**Fitopatología y Ciencias Afines (ASCOLFI)**

**Sede:** Bogotá, Colombia

**Información:**

ASCOLFI  
Calle 37A, #27-33, Palmira, Valle, Colombia  
Fax: 92-275-0557  
Correo electrónico: ascolfi@telesat.com.co

O bien, en el sitio  
<http://www.telesat.com.co/ascolfi>

**16-18 noviembre 2005**  
**III Simposio Internacional de Café y Cacao**  
**CUBACAFÉ 2005**

**Sede:** Teatro de Convenciones Heredia, Santiago, Cuba

**Información:**

M. Sc. Mario Verdecia  
Est. Cent. Inv. Café y Cacao (ECICC)  
Cruce de los Baños Tercer Frente  
Santiago de Cuba, CP 92700  
Cuba  
Correo electrónico: simposio@ecicc.ciges.inf.cu  
Tel: (53) (225) 6229, 6231

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

# INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

## NATURALEZA

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

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

## ARBITRAJE

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

## Instrucciones generales para la presentación de los escritos.

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

- Cuando el trabajo lo amerite, se incluirán fotos a color. Sin embargo, se debe enviar la "separación de colores" lista para su impresión. Si esto no es posible, se requiere el envío de US\$ 30 por cada fotografía, para cubrir el costo de la separación de colores.
- Las abreviaturas se explican la primera vez que son utilizadas (por ejemplo: *Estados Unidos de América, EUA*), y a partir de allí se utiliza solamente la abreviatura. Los géneros de los binomios se escriben completos solo la primera vez que se mencionan; después, se anotarán de la siguiente manera: *B. tabaci, P. solanacearum*, etc.
- Se recomienda a los autores revisar la ortografía del manuscrito antes de enviarlo a revisión.

## ESTRUCTURA DE LOS ARTÍCULOS

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

## TÍTULO

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

## AUTORES

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

## RESUMEN

- El cuerpo de todo artículo científico debe ser precedido por un *Resumen* no mayor de 250 palabras, acompañado de una versión en inglés (*Abstract*). Al pie de cada uno de ellos debe haber cinco *Palabras clave*, también traducidas

al inglés (**Keywords**) descriptivas del contenido del artículo. Ambos requisitos facilitan la difusión del artículo en los servicios bibliográficos internacionales. El resumen debe ser una versión sintética de los aspectos más relevantes de las secciones de *Métodos y materiales* y *Resultados*.

#### EL CUERPO DEL ARTÍCULO

- Se subdivide en las siguientes secciones: *Introducción*, *Métodos y materiales*, *Resultados* y *Discusión*, *Agradecimientos* y *Literatura citada*. No debe haber una sección de *Conclusiones*, pues éstas deben incorporarse en la *Discusión*.
- La **Introducción** presenta, en forma breve, los antecedentes e importancia del tema estudiado, e indica el objetivo de la investigación.
- **Métodos y materiales** contiene una descripción concisa de la metodología y materiales empleados, con un nivel de detalle suficiente como para que cualquier otro investigador pueda repetir los experimentos y verificar su validez. Para su organización, se recomienda subdividirlo en secciones tales como: *localización*, *tratamientos* y *diseño experimental*, *variables de respuesta* y *análisis estadístico*.
- **Resultados** presenta una descripción, en prosa, de las tendencias más sobresalientes detectadas en los experimentos, respaldadas por los resultados de los análisis estadísticos y compendiados en cuadros y gráficos. Es recomendable incluir también hechos negativos, lo cual podrían evitar a otros investigadores incurrir en errores metodológicos innecesariamente.
- **Discusión** analiza de manera crítica, a partir de la hipótesis que originó la investigación, los resultados obtenidos, comparándolos con los de otros autores. Además, resalta los principales hallazgos y conclusiones, así como su valor científico o técnico. Puede incluir recomendaciones de tipo metodológico o aplicado.
- Los **agradecimientos** recogen los nombres, sin títulos académicos, de las personas o instituciones que contribuyeron en aspectos claves de la investigación.
- **Literatura citada** enumera únicamente las fuentes bibliográficas consultadas mencionadas en el texto, incluyendo citas de internet.
- Puesto que el formato de una cita bibliográfica varía según el tipo de fuente, y también según las revistas, se recomienda revisar un número reciente para observar las modalidades empleadas en la Revista.

- Aunque la lista de citas debe hacerse en orden alfabético, nótese que en el texto del artículo los autores deben mencionarse primero en orden cronológico y luego alfabético (p.ej., Trejos 1998, Alvarez *et al.* 1999, Salazar y Ruiz 1999, Cárdenas 2002).
- Cuando haya más de dos autores, se citarán completos en **Literatura citada**, pero se utilizará solo el nombre del primero en el texto, seguido de *et al.* (en cursiva).
- Los trabajos que aún no han sido aceptados para publicación aparecen en el texto, pero no en la sección de **Literatura citada**.

#### ILUSTRACIONES

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

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

#### Dirección

Gabriela Gitli

Editora

Revista *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*

CATIE, 7170 Turrialba, Costa Rica

Tel.: (506) 558 2408 ó 558 2633

Fax. (506) 556 1576 ó 556 1533

cicmip@catie.ac.cr

ggitli@catie.ac.cr

# Manejo Integrado de Plagas y Agroecología

## ¿Desea ser patrocinador de la Revista MIPA?



Cada vez hay más empresas involucradas en la generación y comercialización de tecnologías de manejo integrado de plagas (MIP) y agroecología. Asimismo, hay una amplia y creciente demanda de dichas tecnologías, pero muchas veces los usuarios desconocen cómo adquirirlas.

En su nueva etapa, tras 17 años de publicación ininterrumpida, la revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología desea constituirse en una herramienta para que dichos usuarios cuenten con un directorio de aquellas empresas interesadas en el desarrollo de sistemas productivos sostenibles, la conservación de los recursos naturales, y la protección de la salud de los agricultores y los consumidores.

Nuestra revista es el único foro en español específicamente dedicado al manejo integrado de plagas y la agroecología. Llega a 27 países del mundo. Además, está disponible en línea.

La imagen de su empresa estará vinculada a una publicación amparada por una de las instituciones agrícolas más prestigiosas de América Latina —el CATIE—, y a una revista indexada en las principales bases de datos internacionales en agricultura y premiada por el CONICIT de Costa Rica con el Premio a la Editorial Científica y Tecnológica.

### Espacio publicitario (US \$ 600 por año)

- Diseño y diagramación del anuncio de su empresa, a todo color.
- Publicación impresa de su anuncio a todo color en cada número de la revista.
- Enlaces electrónicos al portal (sitio web) de su empresa.
- Dos ejemplares gratuitos de cada número de la revista durante el año de publicidad.

### Patrocinio (US \$ 1500 por año)

- Publicación del logo de su empresa en la contratapa de cada número de la revista, resaltando así el compromiso de su empresa con la agricultura sostenible.
- Diseño y diagramación del anuncio de su empresa, a todo color.
- Entrega del original electrónico diseñado para su distribución adicional por medio impreso o electrónico.
- Publicación impresa de su anuncio en cada número de la revista.
- Enlaces electrónicos al portal (sitio web) de su empresa.
- Seis ejemplares gratuitos de cada número de la revista durante el año del patrocinio.
- El patrocinio es deducible del impuesto sobre la renta en Costa Rica (sede del CATIE).

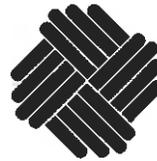


# *Patrocinadores*

La Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología se complace en anunciar que, como parte de las actividades para generar ingresos que aseguren su sostenibilidad, cuenta con patrocinadores, los cuales aparecen anunciados en este espacio.



**United States  
Department of Agriculture  
FAS/ICD/RSED**



**Autoridad Sueca  
para el Desarrollo  
Internacional (ASDI)**  
(Contribución vía Presupuesto  
Básico de CATIE)