

**Captura y cuantificación
de *Phytophthora parasitica* en muestras
de suelo de los cultivos de las flores
y ornamentales**

**Detención
de *Phytophthora nicotianae* en suelo
mediante ELISA y Dot-oro**

**Efectividad
de extractos de nicotina obtenidos
por el método de maceración-lixiviación
sobre *Bemisia tabaci*
en el cultivo del tomate**

**Condiciones de producción
de metabolitos activos
por una bacteria aislada del suelo**

**Daños, distribución
y enemigos naturales
de la chinche de encaje del aguacate
Pseudacysta perseae
(Heidemann) (Hemiptera: Tingidae)**

Contenido

• DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO

Captura y cuantificación de *Phytophthora parasitica* en muestras de suelo de los cultivos de las flores y ornamentales
Ileana Sanchoval, Tania Borilla, María O. López y Yoelkis Tomás 3

Detección de *Phytophthora nicotianae* en suelo mediante ELISA y Dot-oro
Caridad Font, Ana Fernández, Anay Gutiérrez y Martha K. García 7

Comparación de la eficacia de varios métodos de diagnóstico de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* en semillas de tomate y pimiento
Zenaída Amat, Antonia Hernández, María de los A. Felipe, Mirta Valdivia y Loretta Larrinaga 13

Podredumbre apical en ajo de montaña (*Allium* sp.) causado por una bacteria del grupo de *Pseudomonas* sp.
Paula Nápoles, Zenaída Amat, A. García y Alicia Albornoz 17

Caracterización del polimorfismo de la mosca blanca *Bemisia argentifolii* Bellows and Ferring (Homoptera: Aleyrodidae)
L. L. Vázquez 21

Estudio de cinco aislados del virus del mosaico del tomate (ToMV) en Cuba
Gloria González 25

• LUCHA QUÍMICA

Evaluación de nicosulfuron sobre malezas en maíz (*Zea mays* L.)
E. Paredes, R. C. García y F. La O 29

Determinación del MCPA en forma de éster mezclado con 2, 4 D éster y fenoxaprop-p-ethyl
A. Bécquer y Vanía del Pino 33

Efectividad de extractos de nicotina obtenidos por el método de maceración-lixiviación sobre *Bemisia tabaci* (Geen) en el cultivo del tomate
Zoila Trujillo, G. Dierksmeier, A. Lazo y Caridad Albertí 37

Valoración de la difenamida en el control de malezas en *Pinus caribaea* var. *caribaea*
M. A. Betancourt, J. Zúñiga y D. Hernández 41

• ECOLOGÍA

Estudio sobre la sobrevivencia de las oosporas y variación en la composición de las poblaciones de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary
Yoelkis Tomás y María O. López 45

Potencial infeccioso del suelo: parámetros óptimos para el desarrollo de *Pythium aphanidermatum*
Wendy Wong, Yeyssica Ilanos y Ana Fernández 49

Diferenciación de cepas de *Bacillus thuringiensis* por las dimensiones de las esporas y cristales de delta endotoxinas
Orietta Fernández-Larrea y Alina Díaz 53

Frecuencia de aparición de dos especies de neurópteros en la provincia de La Habana
Esperanza Rijo, Nidia Acosta y D. Calvo 57

Condiciones de producción de un metabolito activo por una bacteria aislada del suelo
Orietta Fernández-Larrea, Bertha Carreras y María E. Márquez 61

• MANEJO INTEGRADO

Daños, distribución y enemigos naturales de la chinche de encaje del aguacate *Pseudacysta perseae* (Heidemann) (Hemiptera: Tingidae)
P. de la Torre, L. Almaguel y E. Blanco 65

Control de la chinche del aguacate (*Pseudacysta perseae* (Heidemann)) en Ciudad de La Habana
Lérida Almaguel, E. Blanco, P. Suárez, P. de la Torre, Idalia Cáceres, Carmen Nieves, María E. Márquez y Lourdes Blanco 69

• RESÚMENES DE TESIS

Sistema de pronóstico para el tizón tardío de la papa causado por *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary en Cuba
Guadalupe Gómez 75

Contents

• PHYTOSANITARY DIAGNOSTIC

Trapping and quantification of *Phytophthora parasitica* from soil cultivated with flowers and ornamental plants
Ileana Sandoval, Tania Bonilla, María O. López and Yoelkís Tomás 3

Detection of *Phytophthora nicotianae* in soils by ELISA and golden-blot.
Caridad Font, Ana Fernández, Anay Gutiérrez and Martha K. García 7

Effectiveness comparison of several media for detection of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from tomato and pepper seeds.
Zenaida Amat, Antonia Hernández, María de los A. Felipe, Mirta Valdivia and Loretta Larrinaga 13

Leaf tip of mountain garlic caused by fluorescent *Pseudomonas*
Paula Nápoles, Zenaida Amat, A. García and Alicia Alborno 17

Characterization of polymorphism of white fly *Bemisia argentifolii* Bellows and Perring (Homoptera: Aleyrodidae)
L. L. Vázquez 21

The study of fine isolated of tomato mosaic virus (ToMV) in Cuba
Gloria González 25

• CHEMICAL CONTROL

Evaluation of nicosulfuron on weeds in maize (*Zea mays* L.)
E. Paredes, R. C. García and F. La O 29

Determination of MCPA in the form of ester mixed with 2,4 D éster y fenoxaprop-p-ethyl
A. Bécquer and Vanía del Pino 33

Effectiveness against *Bemisia tabaci* of nicotine extracts obtained by the maceration-lixiviation methods
Zoila Trujillo, G. Dierksmeier, A. Lazo and Caridad Albertí 37

Valoration of difenamida in the control of weeds in *Pinus caribaea* var. *caribaea*
M. A. Betancourt, J. Zúñiga and D. Hernández 41

• ECOLOGY

Study about the survival of the oospores and variation in composition of populations of *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary
Yoelkís Tomás and María O. López 45

Potential infectious of soilborne: Optimum parameters for the development of *Pythium aphanidermatum*
Wendy Wong, Yeysica Llanos and Ana Fernández 49

Differentiation of *Bacillus thuringiensis* strains by the dimensions of spores and delta endotoxines crystals
Orietta Fernández-Larrea and Alina Díaz 53

Frequency of appearance of two neuropterous species in the Havana province
Esperanza Rijo, Nidia Acosta and D. Caivo 57

Production's conditions of active metabolite by bacterium isolated from soil
Orietta Fernández-Larrea, Bertha Carreras and María E. Márquez 61

• INTEGRATE MANAGEMENT

Damage, distribution and natural enemies of the avocado bug, *Pseudocysta perseae* (Heidemann) (Hemiptera: Tingidae)
P. de la Torre, L. Almaguel y E. Blanco 65

The avocado bug, *Pseudocysta perseae* (Heidemann) in Havana City province
Lérica Almaguel, E. Blanco, P. Suárez, P. de la Torre, Idalia Cáceres, Carmen Nieves, María E. Márquez and Lourdes Blanco 69

• THESIS' ABSTRACTS

Forecast system for late blight potato caused by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Cuba
Guadalupe Gómez 75

CAPTURA Y CUANTIFICACIÓN DE *PHYTOPHTHORA PARASITICA* EN MUESTRAS DE SUELO DE LOS CULTIVOS DE LAS FLORES Y ORNAMENTALES

Ileana Sandoval, Tania Bonilla, María O. López y Yoelkis Tomás

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

RESUMEN

La captura de especies de *Phytophthora* en muestras de suelo con la utilización de trampas ha resultado satisfactoria en diversos países. En Cuba se ha estandarizado esta técnica en el cultivo del tabaco para detectar *P. parasitica* en los suelos, con hojas de tabaco como trampa. En este artículo se comprueba que la captura de esta especie fue positiva en los suelos de los jardines del complejo turístico Meliá-Varadero que presentaban plantas marchitas de vicaria (*Catharanthus roseus*) y de cucaracha morada (*Tradescantia* sp.) afectadas por este patógeno. El uso de pétalos de clavel como trampas resultó muy satisfactorio para la captura de *P. parasitica* en los suelos con plantas marchitas de clavel (*Dianthus barbatus*). Se recomienda utilizar este método para la detección y cuantificación de especies de *Phytophthora* en áreas donde se cultivan plantas ornamentales.

Palabras claves: trampas, cebos, captura, plantas ornamentales, *Phytophthora parasitica*

ABSTRACT

The trap method for detecting *Phytophthora* species in soil has been used in many countries. This technique has been standardized in Cuba to detect *P. parasitica* in tobacco soils using tobacco leaf traps. The analysis of soil samples from wilt *Catharanthus roseus* and *Tradescantia* sp. plants belonging to the Meliá-Varadero Hotel was positive using this method and also in soil of carnation plants (*Dianthus barbatus*), all affected by *P. parasitica*. It is confirmed that the carnation petal traps were the best for detecting *P. parasitica* from infected soils. The obtained results indicate that this method is useful for the quantification and detection of *Phytophthora* species in garden soils.

Key words: trap, capture, ornamental plants, *Phytophthora parasitica*

INTRODUCCIÓN

En numerosos países la producción de flores con destino a la exportación cobra cada día más importancia para el ingreso de divisas en la economía. Un ejemplo de ello lo tenemos en Colombia, donde la floricultura comenzó a tener importancia a partir de 1965 y, después del café y el banano, las flores son el tercer renglón exportable del país [Asocoflores, 1992].

En Cuba actualmente estos cultivos están ganando importancia por su utilización en las áreas turísticas, así como por la posibilidad de exportación; por tanto constituyen una fuente de ingreso de divisas para la economía del país. Sin embargo, muchas de estas especies están seriamente afectadas por diversas plagas, entre ellas los hongos, por lo que el estudio de los problemas presentes y su solución por métodos físicos, biológicos u otros, ayudará a resolver estas dificultades.

La captura de estas especies en las muestras de suelo con el uso de cebos o trampas se ha utilizado tradicionalmente en diversos países con resultados satisfactorios, por lo que Ponchet *et al.* (1972) recomendaron el uso de esta técnica para género tan importante, con cebos consistentes en pétalos de clavel o frutos de fresa.

Esta técnica se ha estandarizado en el cultivo del tabaco para la detección de *P. parasitica*, utilizando como cebo hojas de tabaco en las diferentes diluciones del suelo [Fernández, 1998], así como para la captura de *P. capsici* con discos de hojas de pimiento [Sandoval *et al.*, 1995].

Este trabajo tiene como objetivo conocer la presencia y estimar el número de propágulos de *Phytophthora parasitica* en los suelos con presencia de plantas de *Catha-*

ranthus roseus, *Tradescantia* sp. y *Dianthus barbatus* afectadas por este patógeno, y comprobar la efectividad de su captura a través de este método.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la detección de los esporangios de *P. parasitica* en el suelo se utilizó la técnica propuesta por Fernández (1998) para la captura de esta especie en discos de hojas de tabaco a partir de diluciones del suelo. Tal metodología toma los elementos de Ponchet *et al.* (1972) y Ricci (1972). En nuestro caso se adaptó el método con discos de hojas de *C. roseus* para suelos procedentes de estas plantas con síntomas de marchitez, así como para los suelos de las plantas de *Tradescantia* sp. afectadas en los tallos y las raíces por *P. parasitica*. Las muestras de suelo procedían de los jardines del hotel Meliá-Varadero, provincia de Matanzas.

En las áreas del Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC) fueron analizados los suelos sembrados con plantas de clavel (*D. barbatus*) afectadas por el marchitamiento causado por *P. parasitica*. Fueron analizados también los suelos para el trasplante de las vitroplantas en las bandejas de los cepellones, por lo que se analizó la densidad del inóculo del patógeno y su relación con su nivel de mortalidad (12 vitroplantas con tres réplicas).

Los suelos de los canteros empleados para el trasplante fueron analizados, en cuyo caso la incidencia de plantas muertas de *D. barbatus* fue del 50% o más. La toma de muestras se realizó a 5, 10, 15 y 20 cm de profundidad. Se utilizó como cebo pétalos de clavel, tal y como lo recomienda Ponchet *et al.* (1972).

En todos los casos la muestra de suelo fue de 10 gramos en 100 ml de agua destilada estéril (solución madre, (SM) y se prepararon diferentes diluciones de suelo (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}). Cada dilución de suelo y las SM se depositaron en placas plásticas que contenían orificios con capacidad de 2 mL de solución y se llenaron 5 orificios por cada dilución de suelo. Sobre la superficie de cada solución se colocaron los discos de hojas de *C. roseus* y los pétalos de clavel para la captura de los esporangios de *P. parasitica* y se cuantificó la densidad del inóculo por el método de Mc Crady (1915).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La detección de *P. parasitica* a partir de muestras de suelo y muy cercanas a la rizosfera de las plantas marchitas de *C. roseus* y *Tradescantia* sp. registraron poblaciones del patógeno que oscilaron entre 60 y 75 propágulos/g de suelo. A pesar de no haberse utilizado los pétalos de clavel, que son los cebos idóneos, según Ponchet *et al.*

(1972), se pudo sustituir por discos de hojas de vicaria. Estos discos o cebos presentaron entre cuatro y cinco días de incubación la presencia de los esporangios típicos de *P. parasitica*, lo que corroboró el diagnóstico realizado con anterioridad al detectarse marchitamiento en ambos cultivos (Tabla 1).

Tabla 1. Detección de *P. parasitica* en suelos procedentes de plantas de *C. roseus* y *Tradescantia* sp. afectadas por este patógeno

Plantas	Estimado de los propágulos/g de suelo
<i>C. roseus</i> (morada)	60
<i>C. roseus</i> (blanca)	75
<i>Tradescantia</i> sp. (morada)	70

Para el caso de las vitroplantas y plantas de clavel se utilizó como cebo el pétalo de clavel, que mostró a las veinticuatro horas de incubación acuosidad, para denotar la presencia de los esporangios del patógeno, por lo que resultó muy efectivo y rápido para el diagnóstico de *Phytophthora* en muestras de suelo y su cuantificación. Los resultados de la Tabla 2 nos demuestran que la mortalidad de las vitroplantas de clavel en los cepellones está relacionada con las poblaciones de *P. parasitica*, con registros entre 65 y 110 propágulos/g de suelo e índices de mortalidad entre 41, 6 y 58, 3 de dichas plantas.

Tabla 2. Detección de *P. parasitica* en suelos de los cepellones para el cultivo de las vitroplantas de *D. barbatus*

Réplicas	Estimado de los propágulos/g de suelo	Mortalidad de vitroplantas (%)
I	105	50
II	110	58,3
III	65	41,6

En condiciones de campo, la marchitez y muertes súbita de las plantas registran como agente principal a *P. parasitica*, cuyos síntomas observados son semejantes a los señalados en este cultivo por dicho patógeno, según los criterios de Garibaldi y Rapetii (1975), Rattink (1979) y Tello (1990).

Junto con los síntomas detectados en este estudio, el registro de las poblaciones de *P. parasitica* a diferentes profundidades del suelo en los canteros con elevada mortalidad de plantas de *D. barbatus* corrobora que a través del método de cebo pueden registrarse entre 45 a 85 propágulos/g de suelo, y que sus poblaciones se incrementan entre 5 y 15 cm de profundidad (Tabla 3). En tal sentido Tsao (1983) indicó que las poblaciones de *Phytophthora* se registran con mayor frecuencia en las

zonas más superficiales del suelo, principalmente en los primeros cinco centímetros. Sin embargo, Fernández (1998) detectó que entre 0-5 cm de profundidad, el número de propágulos de *P. parasitica* en los canteros de tabaco fueron elevados (225 propágulos/g de suelo), y decreció a 20, 30 y 50 cm de profundidad. En nuestro caso se registraron poblaciones del patógeno en todas las profundidades ensayadas, pero con tendencia a su aumento en los primeros 15 cm, donde se presenta la zona radical de las plantas de clavel.

Tabla 3. Detección de *P. parasitica* a diferentes profundidades en los canteros de plantas de clavel *D. barbatus* con mortalidad de plantas ($\geq 50\%$).

Profundidades	Estimado de los propágulos/g de suelo
5	70
10	85
15	60
20	45

Se ha comprobado el efecto estimulador que pueden ejercer las raíces de las plantas –como las de pimiento– en la acumulación de zoosporas de *P. capsici* debido a un fenómeno de quimiotaxis a través de los exudados radicales [Palazón y Palazón, 1989], por lo que en nuestro caso asumimos que el comportamiento de *P. parasitica* en esta zona obedezca a este fenómeno, tal y como se comprueba con las altas poblaciones que se registraron y con la mortalidad de más del 50% de las plantas de *D. barbatus*.

La detección y cuantificación del número probable de propágulos de *Phytophthora* a través de esta técnica proporciona en pocos días un diagnóstico confiable para tomar medidas de control, tales como la solarización de canteros y la aplicación de biopreparados con agentes antagonistas a esta especie, como *Trichoderma harzianum*, con el fin de reducir las poblaciones de tal patógeno en los suelos.

CONCLUSIONES

Se comprobó que el método de cebo utilizado en este trabajo en la cuantificación de *P. parasitica* resultó eficaz para este objetivo.

La modificación del método con hojas de *C. roseus* sirvió para la captura del patógeno, aunque los pétalos de clavel son los idóneos, pues registraron la presencia de los esporangios entre 24 a 48 horas de la incubación.

La mortalidad de las vitroplantas de clavel en los suelos de los cepellones está relacionada con el nivel de inóculo de *P. parasitica*.

Se comprobó la presencia de *P. parasitica* desde 5 hasta 20 cm de profundidad en canteros donde se registra alta incidencia de la marchitez de las plantas de clavel, con tendencia a presentarse mayor número de propágulos entre 5-15 cm de profundidad.

REFERENCIAS

- «Asocoflores. Indicadores de la evolución económica nacional e internacional» en *Revista Asocoflores* 31: 35, 1992.
- Fernández, Ana: *Biología, epifitotología, nocividad y control de Phytophthora nicotianae (= P. parasitica) en tabaco*. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, MINAGRI. Ciudad de La Habana, 1998.
- Garibaldi, A.; S. Rapetti: «Observazioni sul marcume pedale del garofano», en *Culture Protette* 4:17-20, 1975.
- Mc. Crady, M.H. *J. Infect. Dis.* 183-212, 1915.
- Palazón, C.; I. Palazón: «Estudios epidemiológicos sobre la "tristeza" del pimiento en la zona del Valle del Medio del Ebro», en *Bol. San. Veg. Plagas*, 15: 233-262, 1989.
- Ponchet, J. et al.: «Méthodes sélectives de sélement du *Phytophthora nicotianae* f.sp. *parasitica* (Dastur) Water. a partir du sol», en *Ann. Phytopathol.* 4: 97-108, 1972.
- Rattink, H.: «*Phytophthora* wilt of carnation in the Netherlands», en *J. Pl. Path.* 85: 83-84, 1979.
- Ricci, P.: «Moyens d'étude de l'inoculum du *Phytophthora nicotianae* f. sp. *parasitica* (Dastur) Water. de l'oelliet dans le sol», en *Ann. Phytopathol.* 4: 257-276, 1972.
- Sandoval, Ileana et al.: «*Trichoderma harzianum* (cepa A34): un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomate y pimiento», en *Boletín Técnico*, no. 4, 1995.
- Tello, J.C.: «La podredumbre del cuello y de la base del tallo del clavel causada por *Phytophthora* de Bary en los cultivos españoles», en *Revista de Fitopatología y Entomología*, vol. VII, 22: 9-12, 1990.
- Tsao, P.H.: «Factors Affecting Isolation and Quantification of *Phytophthora* from Soil. *Phytophthora*, its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology», Eds. Erwin, D. C.; Bartnick-García; Tsao, P. H., en *The American Phytopathological Society*, St. Paul, Minnesota, 1983.

DETECCIÓN DE *PHYTOPHTHORA NICOTIANAE* EN SUELO MEDIANTE ELISA Y DOT-ORO

Caridad Font,¹ Ana Fernández,¹ Anay Gutiérrez² y Martha K. García³

¹Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

²Facultad de Biología, Universidad de La Habana. Calle 25 e/ J e I, Vedado, Ciudad de La Habana

³Instituto Politécnico Mártires de Girón. Calle 17A esq. 5a., Playa, Ciudad de La Habana

RESUMEN

En el cultivo del tabaco se producen cuantiosas pérdidas en los semilleros y plantaciones por la enfermedad pata prieta, causada por el patógeno *Phytophthora nicotianae*. Para disminuir la incidencia de la enfermedad las siembras se realizan en áreas libres o con bajos niveles de inóculo, por lo que se necesitan técnicas de diagnóstico para determinar la infestación en los suelos. A partir de la masa micelial se preparó el antisuero policlonal de *P. nicotianae* y se utilizó en las técnicas PTA-ELISA y Dot-oro, en combinación con el método de cebo para la detección de los propágulos de este hongo en suelo. La sensibilidad en ELISA fue de 60 ng de proteína/mL del antígeno y de 240 zoosporas/mL, mientras que en Dot-oro fue de 125 pg de proteína y de 1,8 zoosporas/mL. Se determinó que el antisuero producido reacciona con todos los aislados de *P. nicotianae* probados y con otras especies de este género, pero no con otros que también infectan al suelo. En suelos artificialmente infectados, el tiempo al que se podían detectar los propágulos en las hojitas trampa fue al primer día por Dot-oro, y al tercero por ELISA, a diferencia del método de cebo que requiere de seis días. Con la aplicación de estas técnicas serológicas se pueden analizar un gran volumen de muestras en un tiempo menor en comparación con los métodos tradicionales, y posibilitan ampliar el pesquiasaje del patógeno para su predicción en las áreas destinadas a los semilleros de tabaco.

Palabras claves: *P. nicotianae*, PTA-ELISA, Dot-oro, detección en suelos

ABSTRACT

Great losses are produced every year in tobacco nurseries and plantations by black shank disease (*Phytophthora nicotianae*). Current recommendations for the control of this disease suggest to grow up the plants in fields free or with low levels of pathogens, but for this propose is necessary to determine the levels of infections in soil. In our work we prepared a polyclonal antiserum against *P. nicotianae* from micelial mass. This antiserum was used in PTA-ELISA and Golden-blot in combination with the bait method for the detection this fungi in soil. The sensibility in ELISA was 60 ng of protein/mL of antigen and 240 zoospores/mL, in golden-blot was 125 ng of protein and 1,8 zoospores/mL. It was determined too, that antiserum obtained could react with another species of *Phytophthora* genus, but not with other fungi of soil. The time necessary to detect the fungi in artificially infected soil was 24 hour by Golden-blot, 72 hour by ELISA, and six days by bait method. The applications of these serological techniques make possible the analysis of great number of samples in a short time in comparison with the traditional methods and this facilitates to enlarge the screening of this pathogen.

Key words: *Phytophthora nicotianae*, PTA-ELISA, Golden blot, detection in soils

INTRODUCCIÓN

La enfermedad pata prieta —causada por *Phytophthora nicotianae*— es una de las más dañinas al cultivo del tabaco, fundamental renglón de la economía de nuestro país [Espino, 1996]. En cada campaña tabacalera esta enfermedad provoca cuantiosas pérdidas en los semilleros y en las plantaciones [Fernández, 1998].

Este hongo posee estructuras resistentes capaces de sobrevivir por varios años en el suelo [Kröber, 1980], constituyendo una de las principales vías de infección y

propagación de la enfermedad, la cual se desarrolla en pocos días propiciando la aparición de epidemias bajo condiciones climáticas favorables [Shew y Lucas, 1991].

En el diagnóstico fitosanitario de los suelos se han empleado diversas técnicas para determinar la presencia de los propágulos del patógeno, tales como medios selectivos [Kanwischer y Mitchel, 1978; Fernández, 1998] y el método de cebo [Fernández, 1998]. Con este último se han obtenido resultados satisfactorios, a pesar

de que requiere tiempo y de personal especializado para su realización.

Además de estos métodos biológicos para la detección de hongos, en la última década se han aplicado las técnicas serológicas de inmunofluorescencia indirecta [White y Wakeham, 1995], ELISA [Kumar, 1995; Schwabe *et al.*, 1993; Harrison *et al.*, 1993] y MNC-ELISA o DIBA (Dot Immuno Binding Assay) [Berger *et al.*, 1985] para hacer más sensible, rápido y fácil el diagnóstico, permitiendo que el hongo sea detectado antes de que aparezcan síntomas visibles de la enfermedad en el hospedante [Spire, 1995].

La técnica Dot-oro [Brada y Roth, 1984], aunque no es inmunoenzimática, posee las mismas características que las anteriores, y se ha utilizado para detectar otros microorganismos como el hongo *Candida albicans* [Poullain *et al.*, 1987] y la bacteria *Bacillus thuringiensis* [Carrera y Fernández-Larrea, 1995].

El objetivo del presente trabajo fue la preparación, evaluación de anticuerpos policlonales y estandarización de las técnicas PTA-ELISA y Dot-oro para la detección en suelos de *Phytophthora nicotianae*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los aislados de *P. nicotianae* y los demás hongos utilizados fueron obtenidos del cepario del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV) (Tabla 1). Se mantuvieron en medio papa-dextrosa-agar (PDA) a 25 °C excepto *P. infestans*, que se mantuvo en medio V8 a 20 °C.

La masa micelial de cada aislado se reprodujo en medio líquido PDA, y fue recogida entre los siete y diez días de crecimiento, filtrada al vacío y lavada con agua destilada estéril. La ruptura de la pared celular se realizó por sonicación con PBS frío y extracción del antígeno micelial por centrifugación. Iguales volúmenes de cada suspensión de los distintos aislados de tabaco de *Phytophthora* se unieron para formar una suspensión antigénica. Todas las suspensiones se guardaron en alícuotas en un freezer a -20 °C hasta su uso.

Las concentraciones de proteínas de cada una de las suspensiones miceliales se determinaron por el método de Lowry *et al.* (1951), utilizando BSA como patrón.

La suspensión antigénica de la mezcla de aislados de *P. nicotianae* se utilizó como inmunógeno para preparar el antisuero por inmunizaciones, e inmunizó conejos de raza chinchilla de aproximadamente dos kilogramos de peso corporal con inyecciones subcutáneas a razón de 1 mg/mL. Se emulsificó con igual volumen de adyuvante completo de Freund para la primera dosis, e incompleto para las restantes. Las inyecciones se administraron

semanalmente durante 35 días. La titulación se realizó por doble inmunodifusión y PTA-ELISA con muestras de sangre tomadas de la vena marginal de la oreja del conejo.

Con el antisuero preparado se estandarizaron las técnicas ELISA [Mohan, 1988] y Dot-oro [Brada y Roth, 1984]. Ambos métodos serológicos se aplicaron para la detección de los propágulos de *Phytophthora* en suelo.

Para estandarizar la técnica PTA-ELISA se determinaron las diluciones óptimas de IgG y conjugado, enfrentando 1 µg/mL de antígeno con diluciones de 1/100-1/5 000 del suero y diluciones de 1/250-1/2 000 del conjugado fosfatasa alcalina-anticonejo.

La diferenciación entre los valores negativos y positivos (umbral) se calculó según lo propuesto por Sutula y Cuillet (1986).

Con las concentraciones óptimas de antisuero y conjugado definidas anteriormente se determinó la sensibilidad de la técnica, la que se refirió tanto a concentración de proteínas como de zoosporas/mL, con diferentes concentraciones del antígeno desde cinco hasta 1 000 ng de proteína/mL, y diluciones decimales seriadas de las suspensiones de zoosporas desde 10⁶ hasta 10, obtenidas *in vitro* según el método de Taylor (1978).

Las reacciones cruzadas se determinaron enfrentando el antisuero obtenido contra los diferentes aislados de *P. nicotianae* de tabaco, con las otras especies de *Phytophthora* y con los otros géneros de hongos que infectan el suelo (Tabla 1).

Para la técnica Dot-oro las muestras se clarificaron por congelación. El antisuero se adsorbió con savia bruta de plántulas de tabaco sano para eliminar las reacciones inespecíficas. En todos los experimentos se utilizó a la dilución 1/5. La técnica se probó a 37 °C y a temperatura ambiente.

Se emplearon los conjugados de IgG anticonejo -fosfatasa alcalina para la técnica ELISA y de IgG anticonejo-oro coloidal para Dot-oro, ambos preparados en nuestro laboratorio.

Debido a la imposibilidad de detectar el patógeno directamente del suelo por los métodos serológicos, se utilizó un cebo (hojita de tabaco), que permite capturar al hongo del suelo contaminado, para el que se siguió el método de cebo [Fernández, 1998] empleado para la captura de los propágulos de *P. nicotianae*, consistente en realizar diluciones seriadas hasta 10⁻³ de las muestras de suelo preparadas al 10 % con agua destilada estéril. En los alvéolos de una placa de cultivo se depositaron 2 mL de cada una de las diluciones, y en la superficie se colocó una hojita de tabaco, las que se evaluaron diariamente por ELISA y Dot-oro.

Para determinar el tiempo al que se podía detectar los propágulos del hongo en las hojitas de tabaco por los

Tabla 1. Hongos fitopatógenos de suelo utilizados y su origen

<i>Microorganismo</i>	<i>Aislado de</i>
Phytophthora nicotianae	
10	Cítrico
15	Tomate
Sabana	Tabaco
MI	Tabaco
227	Tabaco
223	Tabaco
233	Tabaco
236	Tabaco
<i>P. infestans</i>	Papa
<i>P. cinnamomi</i>	Cítrico
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Papa
<i>Pythium</i> spp.	Tabaco
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Papa
<i>Rhizoctonia solani</i>	Papa

métodos serológicos, se hicieron ensayos, infestando suelo estéril con 0,1 g de inóculo harina-arena, y un testigo al que no se le adicionó el patógeno. A partir de las veinticuatro horas postinfección hasta los seis días se recogieron las hojitas diariamente, las que se trituraron y resuspendieron en 200 μ L de tampón de tapizado (para ELISA) o en 50 μ L de tampón TBS (para Dot-oro). Se almacenaron en congelación. Cada experimento se repitió tres veces, con tres réplicas por cada determinación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la titulación del antisuero producido con la técnica de doble inmunodifusión se observó una banda de precipitación hasta la dilución de 1/64, y en ELISA dio reacción positiva hasta una dilución de 1/5 000, similares resultados obtuvieron [Aumouzou-Alladaye *et al.*, 1988] con el antisuero policlonal de *P. fragariae*. Este antisuero se utilizó para estandarizar las técnicas serológicas ELISA y Dot-oro.

En PTA-ELISA las diluciones óptimas escogidas de antisuero y conjugado fue de 1/250 y 1/500, respectivamente. Estas diluciones se seleccionaron por el menor valor de la DO de las reacciones inespecíficas con los controles negativos, y que muestran una clara distinción con los controles positivos como señalan Peralta y Frías (1987).

El valor umbral fue de 0,204 calculado para 45 determinaciones de controles sanos. En los distintos experimentos, los valores de absorbencia que estuvieron por

debajo del umbral se consideraron negativos, y positivos los que resultaron por encima.

En la Fig. 1 se muestra la curva de sensibilidad. En ella se observa una relación directamente proporcional entre la concentración de proteínas y los valores de absorbencia. Considerando el valor umbral, la sensibilidad alcanzada fue de 60 ng de proteína/mL, que comparado con los 2 ng/mL obtenidos por Mohan (1988) para la detección de *P. fragariae* en raíces de fresa, nuestra técnica resulta menos sensible. En función de la concentración de zoosporas, la sensibilidad fue de 240 zoosporas/mL.

Cuando enfrentamos el antisuero de *P. nicotianae* con otros aislados de tabaco y cepas de otros hongos que infestan el suelo (Fig. 2), resultó que este es específico para el género *Phytophthora*, y no reacciona con los otros géneros de hongos probados. Este aspecto de las reacciones cruzadas entre especies del género había sido discutido ya por Mohan (1988, 1989 a y b). Esto resulta muy importante para el diagnóstico serológico, ya que nos permite detectar solamente a la *Phytophthora* en presencia de otros hongos patógenos de las plantas, que según Shew y Lucas (1991) se encuentran con frecuencia afectando al cultivo del tabaco.

En los ensayos para determinar la temperatura de trabajo con la técnica Dot-oro, los resultados fueron similares en las dos temperaturas probadas, lo que coincide con otros autores. Dewey *et al.* (1989) trabajaron a 37 °C, y Brada y Roth (1984) a temperatura ambiente, ambos con buenos resultados.

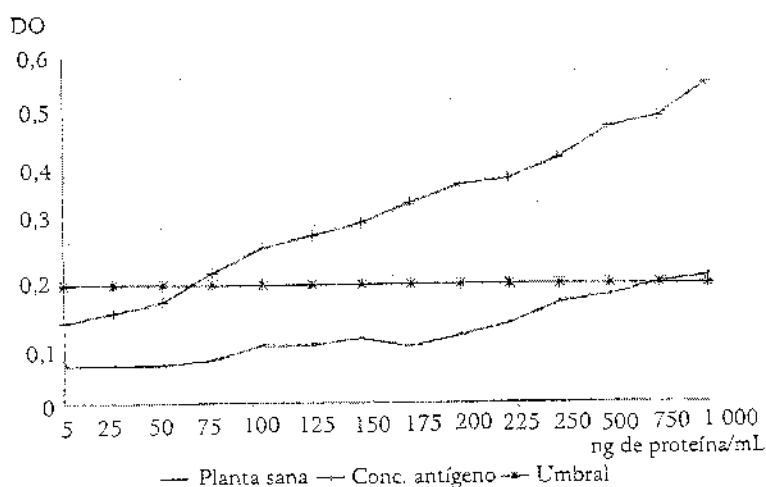


Figura 1. Curva de sensibilidad para *P. nicotianae* en PTA-ELISA

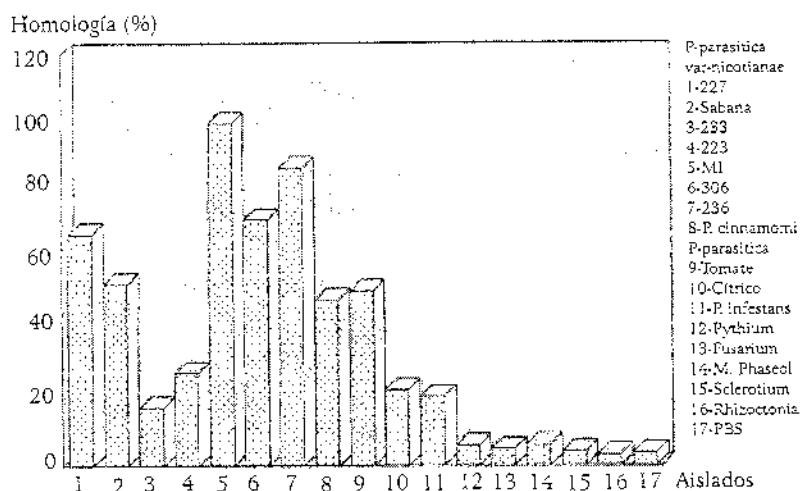


Figura 2. Especificidad del suero anti *P. nicotianae* en PTA-ELISA

En la *Tabla 2* se muestran los resultados de la sensibilidad. La mínima concentración que se detectó fue 125 pg. Otros autores, trabajando también con técnicas sobre membranas, señalan un nivel de detección en el orden de los picogramos. Dentro de estos trabajos se encuentran los desarrollados por Sing *et al.* (1993), quienes con el inmunoensayo DIBA lograron visualizar 170 pg de PVY. Por otra parte, Poulain *et al.* (1987) obtuvieron que la sensibilidad de la técnica Dot-oro era de 1 ng. La sensibilidad en función de la concentración de zoosporas fue de 1,8 zoosporas/mL.

En el enfrentamiento del antisuero con las soluciones antigénicas de hongos de otros géneros, se pudo comprobar que no existían reacciones cruzadas.

La *Fig. 3* refleja los resultados del tiempo al que se pueden detectar los propágulos de *P. nicotianae* en suelos infestados por la técnica PTA-ELISA. La diferencia entre los controles negativos y positivos se pone de manifiesto al segundo día, y a partir del tercero alcanza su valor máximo, que permanece constante hasta el sexto día.

Mediante la técnica Dot-oro se pudo detectar la presencia del patógeno a las 24 horas postinfección por la observación de una mancha bien definida sobre la membrana.

A pesar de que ambas técnicas presentan más sensibilidad que los métodos tradicionales, debemos señalar que el ensayo Dot-oro es más sensible que ELISA. Esto

Tabla 2. Sensibilidad de la técnica Dot-oro para la detección de *P. nicotianae*

Concentración antigénica (ng/μL)	Masa (ng)	Detección visual
100,0	500,0	+ + + +
50,0	250,0	+ - - +
25,0	125,0	+ - -
10,0	50,0	+ + +
1,00	5,00	+ +
0,50	2,50	+ +
0,10	0,50	+
0,05	0,25	+
0,025	0,125	+
0,005	0,025	-

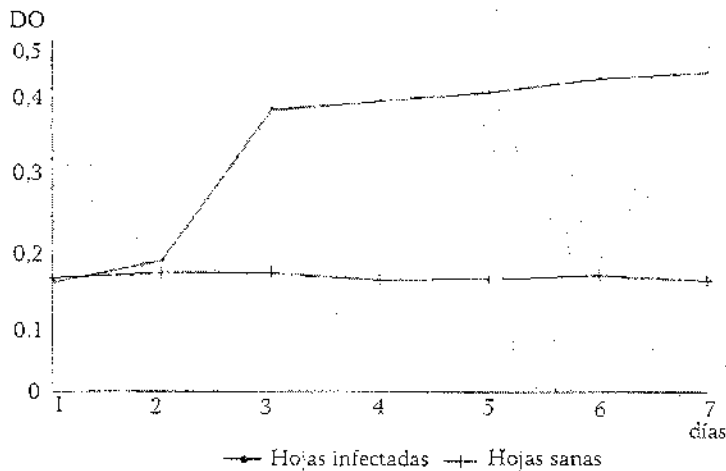


Figura 3. Determinación del tiempo para detectar propágulos de *P. nicotianae* por PTA-ELISA

concuera con los trabajos de Berger (1985), Smith (1987) y Sing (1993), quienes demostraron que las técnicas en membranas de nitrocelulosa poseen mayor sensibilidad que las realizadas en placas de poliestireno.

La reducción del tiempo de análisis es significativa, ya que cuando se evalúan las muestras de suelo por el método de cebo al sexto día es que se pueden apreciar las diferencias morfológicas entre los esporangios de *Phytophthora* y *Pythium*, mientras que con las técnicas PTA-ELISA y Dot-oro, los propágulos se detectan al tercer día y a las veinticuatro horas, respectivamente.

Con la aplicación de estas técnicas serológicas se pueden analizar un gran volumen de muestras en un tiempo menor en comparación con los métodos tradicionales, y posibilitan ampliar el pesquisaje del patógeno para su predicción en las áreas destinadas a los semilleros de tabaco.

CONCLUSIONES

Se logró reducir el tiempo de diagnóstico de seis días a veinticuatro horas o tres días con las técnicas Dot-oro y

ELISA-Indirecto, respectivamente, para suelos infestados con *P. nicotianae*.

REFERENCIAS

- Amouzov-Alladaye, E.; Dunez, J.; M. Clerjeau: «Immunoenzymatic Detection of *Phytophthora fragariae* in Infected Strawberry Plants», en *Phytopathology* 78 (6): 1022-1026, 1988.
- Berger, P. H.; D. W. Thornbury; T. P. Pirone: «Detection of Picogram Quantities of Potyviruses Using a Dot Blot Immunobinding Assay», en *Journal of Virological Methods*, 12: 31-39.
- Brada, D.; J. Roth: «"Golden-Blot"-Detection of Polyclonal and Monoclonal Antibodies Bound to Antigens on Nitrocellulose by Protein A-Gold Complex», en *Analytical Biochemistry*, 142: 79-83, 1984.
- Carreras, Bertha; Orietta Fernández-Larrea: «Identificación serológica de *Bacillus thuringiensis* utilizando la técnica Dot-oro», en *Protección Vegetal*, 10: 213-216, 1995.
- Dewey, M. F.; M. M. McDonald; S. I. Phillips: «Development of Monoclonal Antibody ELISA, Dot-Blot and Dip-Stick. Immunoassay for *Humicola lanuginosa* in Rice», en *Journal of General Microbiology*, 135: 361-374, 1989.
- Espino, M. E.: *Cuban's Cigar Tobacco*, T. F. H. Publication, Inc., 1986.
- Fernández, Ana: *Biología, epidemiología, nocividad y control de Phytophthora nicotianae (Phytophthora parasitica) en tabaco*, tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Ciudad de La Habana, 1998.
- Harrison, J. G. et al.: «Detection of Spores Balls of *Spongospora Subterranea* on Potatoes Tubers by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay», en *Plant Pathology*, 42 (2): 13-17, 1993.
- Kanwischer, M. E.; P. Y. Mitchell: «The Influence of a Fungicide in the Epidemiology of Black Shank of Tobacco (Abstr.)», en *Pro. Ann. Phytopatol. Soc.* 3: 338, 1978.
- Kröber, H.: «Überdauerung Einiger Phytophthora-Arten im Boden (Survival of Some *Phytophthora* Species in Soil)», en *Pflanzenschutz* 87: 227-235, 1980.
- Kumar, V. U. et al.: «Quantification of *Sclerospora graminicola* in Tissue of *Pennisetum glaucum* Using and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay», en *Plant Pathology* 42 (2): 251-255, 1995.
- Lowry, O. H. et al.: «Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent», en *J. Biol. Chem.* 193: 265-275, 1951.
- Mohan, S. B.: «Evaluation of Antisera Raised Against *Phytophthora fragariae* for Detecting Red Core Disease of Strawberries by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)», en *Plant Pathology* 37: 206-216, 1988.
- : «Cross Reactivity of Antiserum Aaised Against *Phytophthora fragariae* with Other *Phytophthora* Species and Its Evaluation a Genus Detecting Antiserum», en *Plant Pathology* 38: 352-363, 1989a.
- : «Analysis of Cross Reactive Antigens of *Phytophthora fragariae* in Strawberry and Their Relation to Resistance and Susceptibility», en *Journal Phytopathology* 127: 316-330, 1989b.
- Peralta, E.L.; M. T. Frías: *Manual sobre la técnica inmunoenzimática ELISA*, Ed. ENPES, 1987, pp. 28-60.
- Poulain, D.; A. Ayadi; J. Fruit: «Use of Colloidal Gold Labelled Monoclonal Antibody for Detection of an Antigen from *Candida*», en *Ann. Biol. Clin.* 45: 565-572, 1987.
- Schwabe, M. et al.: «Immunological Fast Proof of *Fusarium* in Grain», en *Brauwissenschaft* 46 (11): 408-412, 1993.
- Shew, H. D.; G. B. Lucas: *Compendium of Tobacco Disease*, American Phytopathological Society, St. Paul, Minn., 1991.
- Singh, R. P. et al.: «Selection of Monoclonal Antibody to Detect PYV and its Use in ELISA and DIBA Assay», en *Canadian Journal of Plant Pathology* 15: 293-300, 1993.
- Smith, T. D.; E. E. Bantorri: «Dot-ELISA on Nitrocellulose Membranes for Detection of Potato Leafroll Virus», en *Plant Dis.* 71: 795-799.
- Spire, D.: «Le diagnostic serologique des champignons: quelques exemples pour une strategie d' utilisation», en *Bulletin OEPP/EPPPO Bulletin* 25: 19-29, 1995.
- Sutula, C. L.; M. Cullet: «Interpreting ELISA Data and Establishing the Positive Negative Theresfold», en *Plant Dis.* 78 (8): 722-726, 1986.
- Taylor, G.S.: «Rapid Production of *Phytophthora parasitica* Var *nicotianae* Zoospores in Vitro for Infested Cloth», en *Plant Dis.* 62 (1): 281-282, 1978.

COMPARACIÓN DE LA EFICACIA DE VARIOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE *XANTHOMONAS CAMPESTRIS* PV. *VESICATORIA* EN SEMILLAS DE TOMATE Y PIMIENTO

Zenaida Amat,¹ Antonia Hernández,² María de los A. Felipe,³ Mirta Valdivia⁴ y Loreta Larrinaga¹

¹Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

²Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Villa Clara. Carretera Maleza Km 2½, Santa Clara, Villa Clara

³Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Ciego de Ávila. Antigua Agrupación, Carretera Central, Extremo Oeste.

⁴Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Camagüey. Ave. Finlay Km 2½ e/ Circunvalación y Nitrógeno

RESUMEN

En el presente artículo se probó la eficiencia de cuatro medios de cultivo en la detección de *X. c. pv. vesicatoria* en semillas de tomate y pimiento inoculadas artificialmente. Todos los aislamientos pertenecientes a nuestro cepario se sembraron en cada uno de los medios para comprobar su crecimiento y observar su morfología. Para la detección a partir de las semillas se utilizó el método de trituración en 2 mL de agua destilada estéril. Se hizo siembra por el método de las diluciones seriadas en los medios correspondientes. Todas las cepas de *X. c. pv. vesicatoria* tuvieron muy buen desarrollo en tres de los medios probados (LPGA, ABM y X-1). Los datos obtenidos revelaron que tanto a partir de las semillas de tomate como de las de pimiento el medio ABM recobró el mayor número de colonias y el menor de microorganismos saprofitos, diferenciándose significativamente del resto de los estudiados en estos dos parámetros.

Palabras claves: medio de cultivo, semillas, inoculación artificial

ABSTRACT

Effectiveness comparison of several media for detection of *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* from tomato and pepper seeds. In this trial was investigated the effectiveness of 4 media in the detection of *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* from tomato and pepper seeds artificially inoculated. All the strains from our collection were plated first in each medium to check their growth and morphology. Detection from seeds were performed by crushing 25g in 2 ml of sterile distilled water, left resting for 1-2 hours and plating by the dilution method. Data showed that strains had a good development on three of the test media: LPGA, ABM and X-1 whereas the best recovery from tomato and pepper seeds were obtained on ABM not only for a great number of colonies of the target bacterium but a supression of contaminant flora.

Key words: culture medium, seeds, artificial inoculation

INTRODUCCIÓN

Las semillas infectadas constituyen la vía principal de diseminación de numerosas bacterias fitopatógenas [Schaad, 1982], y entre estas, diferentes autores han considerado que la fuente primaria de inóculo de *X. c. pv. vesicatoria* se encuentra en este órgano de la planta [Diachun y Valleau, 1946].

Bashan *et al.* (1982) estimaron una permanencia de diez años en este sustrato para este microorganismo, y enfatizaron que la semilla resultaba un factor de vital importancia en su transmisión.

El recobrado exitoso de los patógenos de las semillas requiere un conocimiento adecuado de estas con la microflora acompañante, y del desarrollo de técnicas

capaces de revelar bajas densidades poblacionales en medio de una mezcla compleja de organismos saprofitos [Goto, 1972].

Para estos fines se han desarrollado diferentes medios de cultivo con una selectividad variable, y para el caso que nos ocupa los estudios de Mc Guire y Jones (1984), Mc Guire *et al.* (1986) y Kobori *et al.* (1993) evidenciaron la utilidad de la adición del tween 80 junto a numerosos antibióticos a medios selectivos para la detección de este microorganismo en las semillas y otras partes de plantas, con resultados diversos.

En este sentido, Scaad (1982) alertó sobre la dificultad que presentaba esta bacteria para ser aislada a partir de

las semillas, hecho que en nuestro país resulta un problema, ya que los métodos que tradicionalmente se han usado no han sido eficaces. En el presente ensayo se estudió la eficacia de varios medios de cultivo en la detección de este microorganismo en las semillas de tomate y pimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se probaron cuatro medios de cultivo: LPGA (como control), extracto de levadura-5g, peptona-5g, glucosa-10g, agar-20g; ABM [Amat y col., 1985] LPGA + ampicilina 60 ppm y benomyl y metaxyl 5 ppm en concentración final en el medio X-1 [Peterson, 1963] y D-5 [Kado y Heskett, 1970].

Los trabajos se realizaron en semillas de tomate y pimiento inoculadas artificialmente mediante su inmersión en suspensiones bacterianas de 10⁹ UFC/mL durante una hora.

Previamente, todos los aislamientos de esta bacteria pertenecientes a nuestro cepario se sembraron en cada uno de los medios de cultivo para comprobar su crecimiento y realizar su descripción morfológica.

Para el aislamiento del patógeno a partir de las semillas se tomaron cuatro porciones de 25g que se trituraron en 2 mL de agua destilada estéril. Se dejaron en reposo por espacio de una a dos horas. A partir de este líquido se hicieron diluciones decimales seriadas que se sembraron sobre los medios en prueba. Se efectuaron dos réplicas por cada medio, sembrándose hasta la dilución 10⁻⁴.

Se efectuó el conteo del número de colonias de la bacteria de contaminantes, analizándose de forma independiente por la prueba de Rangos Múltiples de Duncan. Los datos analizados corresponden a la dilución 1/100.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todas las cepas de *X. c. pv. vesicatoria* tuvieron muy buen desarrollo en los medios LPGA, ABM y X-1, dado por una rápida velocidad de crecimiento y morfología muy típica (Tabla 1).

Tabla 1. Colonias de *X. c. pv. vesicatoria* recuperadas en los medios de cultivo. Semillas de tomate y pimiento

Variantes	Número de colonias	
	Tomate	Pimiento
ABM	488,6 a	356,76 a
LPGA	127,6 b	43,9 b
X-1	112,8 b	69,8 c
D-5	82,9 b	63,3 c
ES:	0,157	0,409

Medias con letras iguales no difieren significativamente para un 95% de confiabilidad.

Estos datos concuerdan con estudios anteriores realizados por Peterson (1963) con el medio X-1 en el que realizó aislamientos a partir de suelo y diversas plantas indeseables y con los de diferentes investigadores franceses, quienes tradicionalmente han utilizado el LPGA para trabajos con varios géneros de bacterias fitopatógenas [comunicación personal, 1986].

Ensayos anteriores evidenciaron las posibilidades del medio ABM para detectar bajas concentraciones de esta bacteria en diferentes tipos de suelo [Amat *et al.*, 1985] y en plantas con fuerte infección [Amat, 1987].

En el medio D-5 el desarrollo fue más lento, y las colonias pequeñas y de aspecto blanquecino, que alcanzaron un tamaño adecuado sólo a los siete días. Estos últimos datos no coinciden con los de Kado y Heskett (1970), quienes lo recomendaron para aislar diferentes especies del género *Xanthomonas* a partir de varios sustratos, y lograron el crecimiento de las cepas después de 2-4 días.

Los resultados estadísticos en la comparación del número de colonias del patógeno para ambos cultivos se reflejan en la Tabla 1, y los datos del número de contaminantes se expresan en la Tabla 2. Estos datos permiten apreciar que tanto a partir de las semillas de tomate como de las de pimiento, el medio ABM recobró el mayor número de colonias de la bacteria y el menor de microorganismos saprofitos.

Tabla 2. Colonias de contaminantes detectadas en los medios. Semillas de tomate y pimiento

Variantes	Número de colonias	
	Tomate	Pimiento
LPGA	169,7 a	133,9 a
X-1	147,9 ^a	97,5 ab
D-5	130,8 ^a	86,8 b
ABM	2,85 ^b	2,18 c
ES:	0,254	0,183

Medias con letras iguales no difieren significativamente para un 95% de confiabilidad.

Los medios X-1 y LPGA detectaron poblaciones menores del patógeno debido fundamentalmente a su poca selectividad.

Jones *et al.* (1986), al utilizar semillas de tomate y pimiento inoculadas artificialmente con mutantes de *X. c. pv. vesicatoria* resistentes a estreptomycin y rifampicina, obtuvieron un recobrado elevado en medio envenenado con ambas drogas; sin embargo fallaron en sus intentos de detectar la bacteria al analizar 293 lotes de semillas de tomate con supuesta infección natural.

y lograron aislar el microorganismo en unos 53 lotes de semillas de pimiento en las mismas condiciones.

El medio ABM ha permitido el aislamiento del patógeno en cuestión a partir de 16 muestras de producción de ambos cultivos, de 17 analizadas [Amat *et al.*, 1990], cuestión que nos sugiere debemos continuar desarrollando nuestras investigaciones, ya que otros investigadores con medios altamente selectivos [Kruppa *et al.*, 1994] sólo lograron recobrar la bacteria en una muestra de tomate de ocho analizadas.

Además, la bacteria en estudio puede ser determinada en un período de cuatro a cinco días a partir de las semillas, plazo aún más breve que el establecido por Bashan y Assouline (1983) con la técnica de enriquecimiento que oscila entre 9 y 16 días.

CONCLUSIONES

Por los resultados se puede apreciar que el medio con mejores posibilidades para los análisis de semillas de ambos cultivos es el ABM. Este posee una alta selectividad, y se recobra un alto porcentaje de la bacteria. Las colonias resultan muy típicas, y las lecturas pueden hacerse sobre los cuatro o cinco días después de la siembra.

REFERENCIAS

- Amat, Z.; L. Larrinaga y A. García: «Adaptación de un medio de cultivo en el aislamiento selectivo de dos especies del género *Xanthomonas* del suelo. C.T.A. en *Protección de Plantas* 8(3), 1985.
- Amat, Z.: Norma Ramal. *Peritaje bacteriológico Xanthomonas campestris pv vesicatoria y Xanthomonas sp. en plantas y suelo*, 1987.
- Amat, Z. *et al.*: «Comparación de dos métodos de diagnóstico para la detección de *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* en semillas de tomate y pimiento», resúmenes del II Evento Internacional de Sanidad Vegetal y XII Congreso de la ALAM, abril, 1990.
- Bashan, Y.; Y. Okon; Y. Henis: «Long Term Survival of *Pseudomonas syringae* pv *Tomato* and *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in Tomato and Pepper Seeds», en *Phytopathology* 72: 1143-1144, 1982.
- Bashan Y.; Y. I. Assouline: «Complementary Bacterial Enrichment Techniques for the Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato* and *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in Infested Tomato and Pepper Seeds», en *Phytoparasitica* 11(3-4): 187-193, 1983.
- Diachun, S.; D. Valteau: «Growth and overwintering of *Xanthomonas Vesicatoria* in Association with Wheat Roots», en *Phytopathology* 36: 277-280, 1946.
- Goto, M.: *The Significance of the Vegetation for the Survival of Plant Pathogenic Bacteria*. Proceedings of the Third International Conference of Plant Pathogenic Bacteria, Wageningen, 1982.
- Jones V. B.; K. L. Ppohronesny; R. E. Stall: «Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in Florida on Tomato Crops, Residue, Weeds, Seeds and Volunteer Tomato Plants», en *Phytopathology* 76: 430-434, 1986.
- Kado, I.; M. G. Heskeet: «Selective Media for Isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*», en *Phytopathology* 60: 969-976, 1970.
- Kobori, R. F.; E. Abey; A. C. Maringoni: «Efecto dos meios tween20 e tween80 no crescimento e na actividade lipolitica de patovares de *Xanthomonas campestris*», en *Summa Phytopathologica* 19 (1): 33, 1993.
- Kruppa, P. C.; C. Kurosawa; A. C. Maringoni: «Avaliação de meios de cultura semi-seletivos para o isolamento de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*», en *Summa Phytopathologica* 20 (1): 55, 1994.
- Mc Guire G. R.; B. Jones: «Evaluation of Selective Medium for the Isolation of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from Seed and Foliage», en *Phytopathology* 74: 885, 1984.
- Mc Guire, G. R.; B. Jones; M. Sasser: «Tween Media for Semiselective Isolation of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from Soil and Plant Material», en *Phytopathology* 76: 887- 891, 1986.
- Peterson, G.H.: «Survival of *Xanthomonas vesicatoria* in Soil and Disease Tomato Plants», en *Phytopathology* 53: 765-767, 1963.
- Shaad, N. W.: Detection of Seed Borne Bacterial Plant Pathogens», en *Plant Disease Reprtr.* 66: 885-890, 1982.

PODREDUMBRE APICAL EN AJO DE MONTAÑA (*ALLIUM* SP.) CAUSADA POR UNA BACTERIA DEL GRUPO DE *PSEUDOMONAS* SP.

Paula Nápoles,¹ Zenaida Amat,² A. García³ y Alicia Alborno³

¹ Laboratorio Provincial Sanidad Vegetal de La Habana. Calle 27 no. 22816 e/228 y 234, La Coronela, La Lisa, Ciudad de La Habana

² Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

³ Laboratorio Central de Cuarentena Vegetal. Ayuntamiento 231 e/ Lombillo y San Pedro, Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana

RESUMEN

El ajo de montaña es una aliacea cuyo cultivo se ha incrementado en los últimos años debido al desarrollo de la agricultura urbana y por suplir en gran medida la carencia de otros condimentos. A finales de 1995 se presentó en áreas de Ciudad de La Habana una patología de origen bacteriano, cuyos síntomas consistían en pudrición acuosa de los ápices y área foliar generalizada. En ellos se aisló una bacteria fitopatógena del género *Pseudomonas* fluorescentes. En el trabajo se informa la descripción del agente causal y daños preliminares ocasionados.

Palabras claves: ajo de montaña, pudrición, *Pseudomonas*

ABSTRACT

Mountain garlic is a rustic alliacea whose crop have been increased in the last years because the development of urban agriculture and to supply the need of other condiments. By the end of 1995 a disease of bacterial origin was observed in several fields located in Havana City. Symptoms consisted in tip rot of the leaves which later extended to all leaf area. A phytopathogenic bacterium belonged to *Pseudomonas* fluorescent group were consisted isolated from the injured tissues.

Key words: mountain garlic, rot, *Pseudomonas*

INTRODUCCIÓN

El ajo de montaña (*Allium* sp.) es una especie rústica perteneciente al género *Allium*, que por sus características botánicas puede resistir las altas temperaturas y suplir como condimento a las aliáceas, que sólo se obtienen en la campaña de frío. Es por esto que su cultivo se ha incrementado en el sector privado y en los organopónicos como parte del desarrollo de la agricultura urbana.

Las aliáceas son afectadas en Cuba por bacterias fitopatógenas que causan pérdidas económicas, como son *Xanthomonas* sp. en cebolla [Amat et al., 1980] y en ajo y cebollino [Nápoles y Ramírez, 1990]. Han sido informadas además en ajo y cebolla: *Erwinia chrysanthemi* Burk [Cordovés y Jiménez, 1983; Nápoles, 1986], *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Martínez, 1976), *Pseudomonas cichorii* Stapp [Valdivia y García, 1989; Stefanova y Rodríguez, 1989] y más recientemente *Xanthomonas* sp. en ajo puerro [Nápoles y Ramírez, 1997].

A finales de 1995, en inspecciones realizadas a diferentes Cooperativas de Créditos y Servicios del municipio de Guanabacoa y a organopónicos de Ciudad de La Habana, se observaron síntomas de podredumbre apical, y en estadios más avanzados de descomposición acuosa de la mayor parte del área foliar en casi todas las plantas cultivadas de ajo de montaña. De estos síntomas se aisló una bacteria fitopatógena de muestras tomadas de cinco campos de 3 CCS y de un organopónico. Debido a las proporciones de epifitias que alcanzó la enfermedad en el cultivo nos dimos a la tarea de identificar el agente causal de la bacteriosis.

MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de hojas con síntomas se realizaron siembras sobre el medio de cultivo agar nutriente. Las placas fueron incubadas y observado el crecimiento bacteriano

a partir de las 48 horas. De las placas se aislaron cultivos puros, las colonias fueron transferidas al medio B de King *et al.* (1954) para la observación de fluorescencia.

Las colonias que resultaron fluorescentes bajo luz ultravioleta fueron infiltradas en hojas de tabaco var. Corojo para determinar la reacción de hipersensibilidad [Klement *et al.*, 1963]. De las cepas en estudio, seis indujeron reacción hipersensitiva positiva [A1-L, A2-L, A3-B, A4-B, A5-P, A6-O], las que fueron caracterizadas morfológica y culturalmente sobre AN y King B.

Con posterioridad estas cepas se sometieron a las pruebas de LOPAT [Lelliott *et al.*, 1966].

LOPAT

Levan: producción de dextrosa (Levan) en agar nutriente más 5% de sacarosa.

Oxidasa: según modificación de Stell (1961)

Producción de protopectinasa

Arginina: producción de amoníaco a partir de arginina, según Thornley *et al.* (1960)

Los aislamientos se caracterizaron bioquímica y fisiológicamente según las pruebas descritas por Harrigan y Mc Cance (1966).

Las cepas se inocularon por aspersión sobre ajo de montaña, ajo puerro, cebolla y cebollino, para determinar su carácter patogénico. Las plantas se mantuvieron en cámara húmeda 24 horas antes y después de la inoculación. Se asperjaron plantas testigos con agua destilada estéril. Se hicieron reaislamientos de todas las plantas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las colonias sobre Agar nutriente a las 48 horas eran granuladas de color blanco grisáceo con bordes irregulares. Sobre el medio King B mostraron morfología similar, alcanzando un mayor tamaño.

Las células bacterianas son bacilos gram negativos y presentan un solo flagelo polar. Los resultados de LOPAT se muestran en la *Tabla 1*.

Tabla 1. Resultados del LOPAT

Cepas	Levan	Oxidasa	Papa	Arginina	Tabaco
A1-L	+	-	-	-	+
A2-L	+	-	-	-	+
A3-B	+	-	-	-	+
A4-b	+	-	-	-	+
A5-P	+	-	-	-	+
A6-O	+	-	-	-	+

+: reacción positiva

-: reacción negativa

Las cepas en estudio resultaron: Levan positivas, oxidasa y arginina al igual que la protopectinasa.

Debido a estas características nuestros aislamientos se ubican dentro del grupo IA de *Pseudomonas fluorescentes* [Lelliott *et al.*, 1966] los que clasifican estas *Pseudomonas*

en cinco grupos. Por otro lado, Misaghi y Grogan (1966) dividen estas bacterias en los grupos IA, IB, IIA, IIB. Según nuestros resultados, estas cepas se ubican dentro del subgrupo IA de estos autores. Los resultados de las pruebas bioquímicas y fisiológicas se reflejan en las *Tablas 2 y 3*.

Tabla 2. Características bioquímicas de los aislamientos de ajo de montaña

Cepas	King B	NO ₃	Almidón	Indól	Leche tornasolada	SH ₂	Tirosinasa	Gelatina	O/F	Tartrato
A1-L	+	+	-	-	AP	-	+	-	O	+
A2-L	+	+	-	-	AP	-	+	-	O	+
A3-B	+	+	-	-	AP	-	+	-	O	+
A4-B	+	+	-	-	AP	-	+	-	O	+
A5-P	+	+	-	-	AP	-	+	-	O	+
A6-O	+	+	-	-	AP	-	+	-	O	+

+: positivo

-: negativo

A: alcalinización

P: peptonización

O: oxidativo

Tabla 3. Producción de ácido a partir de compuestos carbonados

Cepas	Glucosa	Sacarosa	Glicerol	Lactosa	Galactosa	Fructosa	Mannosa	Arabinosa	Rahnuosa	Rasinoso	Salicin	Maltosa
A1-L	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	d
A2-L	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	d
A3-B	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	d
A4-B	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	d
A5-P	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	d
A6-O	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	d

+: positivo

-: negativo

d: débil (ligeramente positivo)

Período de incubación: 15 días

Período de incubación 15 días. Es interesante destacar que los aislamientos acidificaron la sacarosa a las veinticuatro horas, lo que los acerca al grupo IA de Lelliott *et al.* (1996).

Las cepas resultaron patógenas en ajo de montaña, ajo puerro, cebolla y cebollino, reproduciéndose los síntomas observados en el campo. Se obtuvieron aislamientos del patógeno a partir de las plantas inoculadas.

En este sentido, Samson *et al.* (1981) diagnosticaron una nueva enfermedad en el ajo puerro, clasificando la bacteria como *Pseudomonas syringae* pv *porri*. Son necesarios estudios complementarios para determinar si nuestros aislamientos se corresponden a los descritos por estos autores.

Por otro lado, Valdivia y García en 1989 informaron a *Pseudomonas cichorii* en cebolla, y Stefanova y Rodríguez en el propio año reportaron esta bacteria en el ajo. Además Samson *et al.* (1981) informaron a *Pseudomonas fluorescens* como patógena sobre el ajo.

El agente causal de la podredumbre del ajo de montaña no se corresponde con estos patógenos, ya que está bien definido por la reacción de oxidasa.

Por observaciones realizadas, la bacteria que nos ocupa se disemina por los cortes que se efectúan sistemáticamente a las hojas, y puede quedar en el cuello de los bulbillos que se dejan en el campo para próximas cosechas.

Por otra parte, pudiéramos inferir que las bajas temperaturas que se presentaron en este invierno favorecieron el desarrollo de esta bacteria, ya que las máximas afectaciones causadas por este grupo de *Pseudomonas fluorescentes* se producen en países fríos [Samson *et al.*, 1981; Van Vuurde *et al.*, 1991].

Es necesario establecer una estrategia de rotación, ya que este microorganismo afecta a todas las aliáceas probadas y puede constituir una amenaza potencial para estos cultivos que actualmente se incrementan, dado el auge que tiene en estos momentos la agricultura.

CONCLUSIONES

La bacteria aislada de ajo de montaña pertenece al grupo IA de *Pseudomonas fluorescentes*.

Es patógena sobre ajo puerro, cebolla y cebollino.

REFERENCIAS

- Amat, Z.; A. García; N. Montero: «Aparición de una nueva enfermedad causada por *Xanthomonas* sp. en plantas de cebolla (*Allium cepa* L.)», Memorias VII Seminario del CNIC, 31 de octubre al 2 de noviembre, Ciudad de La Habana (s.n.), 1983.
- Cordovés, M.; G. Jiménez: «Nuevo hospedante de *Erwinia chrysanthemi* Burk y *Erwinia carotovora* var. *carotovora* Dye en la provincia de Camagüey», (s.n.), 1983.
- Harrigan, W. F.; M. E. McCance: *Laboratory Method in Microbiology*, Cambridge Univ., 1960, pp. 62-82
- King, E. O.; M. E. Waard; O. R. Randoi: «Two Simple Media for the Demonstration of Pyocyanin and Fluorescein», en *J. Lab. Clin. Med.* (44) 1954, pp. 301-307.
- Klement, Z.: «Rapid Detection of the Pathogenicity of Phytopathogenic Pseudomonads», en *Nature* 1963, pp. 199-200.
- Lelliott, R. A.: «A Determinative Scheme for the Fluorescent Plant Pathogenic Pseudomonads», en *J. Appl. Bact.* 29 (3) 1966, pp. 470-489.
- Martínez, N.: «Incidencia de las enfermedades bacterianas en la provincia de Matanzas durante la etapa 1974-75», memorias del I Fórum Nacional de Fitobacteriología (s.n.), 1976.
- Misaghi, I.; G. Morgan: «Nutritional and Biochemical Composition of Plant Pathogenic and Saprophytic Fluorescents», en *Pseudomonads* 59, 1969, pp. 1436-1450.
- Nápoles, Paula; P. Ramírez: «Estudio de una nueva enfermedad en el cultivo del ajo (*Allium sativum* L.) en Cuba», en *Ciencia y Técnica en la Agricultura*, Serie Protección de Plantas 12 (2), 1990.
- Sanson, R.: «A Biovar of *Pseudomonas fluorescens* Pathogenic to *Allium sativum* L.», Proceeding of the Fifth International Conference of Plant Pathogenic Bacteria, CIAT, Colombia Aug. 16-23, 1981, pp. 51-63.
- Sanson, R., F. Foutice; B. Rat: «Une nouvelle maladie du porreau. La graise bacterienne a *Pseudomonas syringae*», en *Review Horticole* no. 219, aug.-sept., 1981.
- Stell, K.J.: «The Oxidase as a Taxonomic Tool», en *J. Gen. Microbiol.* 25, 1961, pp. 297-306.
- Stefanova, M. *et al.*: «Detección de *Pseudomonas cichorii* en plantas de ajo (*Allium sativum* L.) mediante inmunomicroscopía electrónica», en Programa y Resúmenes del VIII Congreso Latinoamericano de Microscopía. 2-5 mayo, La Habana (s. n.), 1989, pp. 111-112.
- Thomley, M. J.: «The Differentiation of *Pseudomonas* from Gram Negative Bacteria on the Basis of Arginine Metabolism», en *J. Appl. Bact.* (23), 1960, pp. 37-52.
- Valdivia, M.; A. García: «*Allium cepa* L., nuevo hospedante de *Pseudomonas cichorii* O», en Resúmenes IV Jornada Científico-Técnica de Sanidad Vegetal. Cienfuegos, LPSV, 1989, s.
- Van Vuurde, J. W. *et al.*: «Characteristic of Immunofluorescence Microscopy and Dilution-Plating to Detect *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola* in Bean Seed Lots and for Risk Assessment of Field Incidence of Halo Blight», en *Neth. J. Pl. Path.* 97: 233-244, 1991.

CARACTERIZACIÓN DEL POLIFORMISMO DE LA MOSCA BLANCA *BEMISA ARGENTIFOLII* BELLOWS AND PERRING (HOMOPTERA: ALEYRODIDAE)

L.L. Vázquez

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

RESUMEN

La importancia de *Bemisia argentifolii* Bellows and Perring para varios cultivos agrícolas motiva la necesidad de disponer de métodos de diagnóstico, por lo que la variabilidad morfológica de las poblaciones resulta un elemento que debe ser esclarecido. Con este propósito se estudiaron poblaciones de esta especie que colonizaban hojas de berenjena, frijol, pepino, tomate, tabaco y colirábano, para lo cual se montaron 10 pupas de individuos criados en cada cultivo. Se utilizó un microscopio óptico para medir nueve caracteres: longitud y ancho de la cápsula pupal, longitud del surco caudal, longitud y ancho del orificio vasiforme, largo y ancho de la punta de la lingula, distancia entre setas caudales y longitud de las setas caudales. La matriz de datos obtenida fue analizada mediante la técnica multivariada de componentes principales del programa automatizado Statitc 4.0. Se comprobó que *B. argentifolii* manifiesta variabilidad morfométrica correlacionada con la planta hospedante, siendo la longitud de las setas caudales, el ancho del orificio vasiforme y la longitud de la cápsula pupal, los caracteres que más contribuyen a la formación de los grupos y que confirman la variabilidad de la especie, con la excepción del ancho de la punta de la lingula, que no varió.

Palabras claves: Homoptera, Aleyrodidae, *Bemisia argentifolii*, polimorfismo

ABSTRACT

The importance of *Bemisia argentifolii* Bellows and Perring for various agricultural crops makes it necessary to have at our disposal methods of diagnosis and therefore the morphological variability of the generations is an element that must be made clear. With this aim, a study was made of populations of this species which were colonizing leaves of eggplant, beans, cucumber, tomato, tobacco and swede, for which purpose 10 pupae of individuals raised in each crop were mounted. A light microscope was used to measure nine characters (length and width of the pupal capsule, length of the caudal groove, the length and width of the vasiform aperture, the length and width of the lingula tip, the distance between setae, and the length of the caudal setae). The matrix of data obtained was analyzed by using the multivariate technique of principal variants from the Statitc 4.0 automatized program. It was ascertained that *B. argentifolii* presents a variability correlated with the plant host, and that the length of the caudal setae, the width of the vasiform aperture and the length of the pupal capsule are the characters that most contribute to the formation of the groups and confirm the species variability, excepting the width of the lingula tip which did not vary.

Key words: Homoptera, Aleyrodidae, *Bemisia argentifolii*, polymorphism

INTRODUCCIÓN

Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) se consideran en la actualidad insectos de gran importancia agrícola, por sus daños directos a los cultivos y su eficiencia en la transmisión a estos de enfermedades causadas por virus. Particularmente en Cuba se han referido ocho especies de moscas blancas en cultivos agrícolas, siendo las más frecuentes e importantes *Bemisia tabaci* (Gennadius) y *B. argentifolii* Bellows and Perring [Vázquez, 1995], esta última de gran repercusión por sus elevadas poblaciones, diversidad de hospedantes y alta eficiencia en la transmisión de geminivirus [Murguido *et al.*, 1997]. Desde que se comenzaron

a manifestar intensamente las moscas blancas a finales del año 1989, se apreciaron diferencias de tamaño y en cuanto a la presencia de setas dorsales en las pupas de los especímenes que se preparaban para identificar, conociéndose posteriormente que esto había sido objeto de estudio para *B. tabaci* por Mound (1963). Sin embargo, en la mayoría de las muestras que se analizaron durante los años posteriores, estábamos en presencia de la raza B de *B. tabaci*, hoy conocida como *B. argentifolii*, lo que evidenció que también esta nueva especie manifestaba polimorfismo en sus poblaciones naturales. Por ello, nos propusimos caracterizar este

poliformismo para *B. argentifolii*, como elemento necesario para el diagnóstico de esta plaga en el país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el análisis de la variación morfológica de las poblaciones se construyó una matriz de 60 observaciones, para lo cual se tomaron 10 pupas criadas en cada uno de los cultivos siguientes: berenjena, frijol, pepino, tomate, tabaco y colirábano.

Los especímenes se prepararon y montaron según la técnica descrita por Martin (1987). Los caracteres evaluados fueron los sugeridos por Mound (1963) para *B. tabaci* (Gennadius), adicionándose la distancia entre setas caudales y la longitud de estas, esto es:

LCP: Longitud de la cápsula pupal.
ACP: Ancho de la cápsula pupal.
LSC: Longitud del surco caudal.
LOV: Longitud del orificio vasiforme.
AOV: Ancho del orificio basiforme.
LPL: Largo de la punta de la lingula.

APL: Ancho de la punta de la lingula.
DSC: Distancia entre setas caudales.
LSEC: Longitud de las setas caudales.

Las mediciones de estos caracteres se realizaron con un microscopio binocular y el auxilio de un ocular micro-métrico.

La matriz básica de datos fue analizada mediante la técnica multivariada de componentes principales, del programa automatizado Statitc 4.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio morfométrico de las poblaciones confirmó que estas variaban para un grupo de caracteres analizados.

El análisis estadístico de los datos (Tabla 1) permite obtener cinco funciones discriminantes, de las cuales la primera contribuye al 26,5% de la variación total, y por tanto explica por sí solo la variación entre los grupos (cultivos), ya que posee la pseudo F mayor (142,0473) (Tabla 2), si la comparamos con la F individual por variables (Tabla 3).

Tabla 1. Valores medios (mm) y su desviación para los caracteres medidos en 60 cápsulas pupales de *B. argentifolii* en seis plantas hospedantes

Caracteres	Berenjena		Frijol		Pepino		Tomate		Tabaco		Colirábano	
	\bar{x}	S	\bar{x}	S	\bar{x}	S	\bar{x}	S	\bar{x}	S	\bar{x}	S
LCP	0,698	0,058	0,763	0,004	0,766	0,057	0,729	0,008	0,751	0,005	0,818	0,002
ACP	0,508	0,500	0,552	0,010	0,565	0,078	0,528	0,006	0,551	0,004	0,617	0,003
LSC	0,033	0,007	0,045	0,002	0,046	0,010	0,052	0,005	0,043	0,003	0,052	0,002
LOV	0,080	0,008	0,087	0,003	0,076	0,007	0,073	0,005	0,071	0,002	0,086	0,003
AOV	0,057	0,003	0,075	0,003	0,063	0,008	0,051	0,008	0,060	0,002	0,071	0,003
LPL	0,029	0,002	0,039	0,001	0,035	0,007	0,029	0,004	0,032	0,002	0,031	0,002
APL	0,021	0,001	0,024	0,001	0,022	0,002	0,022	0,004	0,024	0,002	0,024	0,002
DSC	0,049	0,004	0,048	0,001	0,044	0,003	0,047	0,007	0,044	0,002	0,052	0,002
LSEC	0,101	0,001	0,101	0,002	0,091	0,013	0,032	0,006	0,089	0,025	0,077	0,007

Tabla 2. Estudio de las funciones discriminantes formadas

Eje	Valor propio	Inercia	Seudo F
1	0,9281	26,5%	142,0473
2	0,8342	23,8%	55,3255
3	0,7927	22,0%	42,0517
4	0,7336	20,9%	30,2907
5	0,2136	6,1%	2,9870

$$z = 0,437 (LCP) + 0,5810 (ACP) - 0,5451 (LSC) - 0,1035 (LOV) + 0,5608 (AOV) - 0,2409 (LPL) + 0,0301 (APL) - 0,1175 (DSC) + 0,5918 (LSEC)$$

Tabla 3. Estudio de las variables morfométricas medidas

Variables	F de Fisher
LCP	13,763
ACP	9,055
LSC	12,350
LOV	13,281
AOV	25,004 *
LPL	8,959
APL	2,840
DSC	5,370
LSEC	39,252 *

Esta variación discrimina más claramente los grupos 4 (tomate), 1 (berenjena), 2 (frijol), 5 (tabaco) y 6 (colirábano). En el caso particular del grupo 3 (pepino) quedó evidenciado que sólo siete individuos pertenecen a este grupo, estando el resto fuera (Tabla 4).

Tabla 4. Tabla de pertenencia por grupo inicial considerado y por grupo de afectación

Grupo	1 (1)	2 (2)	3 (3)	4 (4)	5 (5)	6 (6)
1 (1)	10	0	0	0	0	0
2 (2)	0	10	0	0	0	0
3 (3)	0	1	7	0	2	0
4 (4)	0	0	0	10	0	0
5 (5)	0	0	0	0	10	0
6 (6)	0	0	0	0	0	10

Porcentaje de individuos bien clasificados: 95%

Las variables o caracteres que más contribuyen (Tabla 3) a la formación de los grupos y que confirman la variabilidad de la especie en relación con los hospedantes, son la longitud de las setas caudales (LSEC) y el ancho del orificio vasiforme (AOV), siguiéndole en orden decreciente el resto de las variables, excepto el ancho de la punta de la lingula (APL), que tiene una F menor que el menor valor de las pseudo F, por lo que no constituye un carácter que varía con el hospedante. La longitud de la cápsula pupal (LCP) es la tercera variable en orden, lo que explica las diferencias de tamaño que se aprecian entre poblaciones de la misma especie. A diferencia de Mound (1963) para *B. tabaci* se determinó que la LSEC es el carácter que más contribuye a la variación, y que el APL no se correlaciona con los cultivos.

Esta variabilidad se conoce para *B. tabaci*; pero no había sido estudiada en detalle para *B. argentifolii*, por lo que constituye un nuevo aporte al conocimiento de esta nueva especie descrita recientemente por Bellows *et al.* (1994).

Esta variación en el género *Bemisia* fue referida anteriormente por Russell (1957) cuando sinonimizó varias especies con *B. tabaci*, debido a que existía variabilidad en un grupo de caracteres morfológicos, todo lo cual estaba relacionado con la estructura de la superficie de la hoja de la planta hospedante. Posteriormente Mound (1963) estudió en detalle esta variabilidad y confirmó la alta correlación con la planta hospedante, pero argumentó que la causa no estaba clara, pudiendo deberse a una inducción fenotípica por los vellos foliares o genotípicamente por selección dentro de líneas consanguíneas.

REFERENCIAS

- Bellows, T.S. *et al.*: «Description of a Species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae)», en *Annals of the Entomological Society of America* 87 (2): 195-206, 1994.
- Martin, J. H.: «An Identification Guide to Common Whitefly Pest Species of the World (Homoptera: Aleyrodidae)», en *Trop. Pest. Management* 33 (4): 298-322, 1997.
- Mound, L. A.: «Host-Related Variation in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae)» en *Proc. R. Ent. Soc. London (A)* 38: 10-12, 1963.
- Murguido, C. *et al.*: «Informe sobre la problemática mosca blanca-geminivirus en Cuba», en *Boletín Técnico* 5. INISAV, La Habana, 1997.
- Russell, L. M.: «Synonyms of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae)», en *Bull. Brooklyn Ent. Soc.* 52: 122-123, 1997.
- Vázquez, L. L.: *Sistema de diagnóstico, inventario de especies y plantas hospedantes de moscas blancas en Cuba*, tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Ciudad de La Habana, 1995.

ESTUDIO DE CINCO AISLADOS DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL TOMATE (TOMV) EN CUBA

Gloria González

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F. Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

RESUMEN

En observaciones periódicas a plantaciones de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) var. Campbell-28, se detectaron síntomas de enfermedad viral en plantas de tomate y yerba mora (*Solanum nigrum* L.), consistentes en un mosaico verde y filiformidad en las hojas.

Para conocer el agente causal, las muestras fueron sometidas a análisis biológicos y serológicos. Además, se incluyeron muestras de semillas de tomate de la var. Campbell-38-80, y se utilizó un aislado del virus del mosaico del tabaco como patrón de comparación.

Se evidenció la presencia de cinco aislados del virus el mosaico del tomate (ToMV), los que presentan una relación serológica idéntica entre ellos, y parcial con respecto al virus del mosaico del tabaco, existiendo además una protección cruzada.

Este resultado pudiera ser utilizado como un método de preinmunización y de lucha contra el virus del mosaico del tomate

Palabras claves: aislados, virus del mosaico del tabaco, virus del mosaico del tomate

ABSTRACT

In periodical observations in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) var. Campbell-28 plantations, symptoms of viral disease were detected on tomato and black-night-shate (*Solanum nigrum* L.) plants consisting of a greening mosaic and a tread-like form of the leaves.

In order to know which is the causal agent, the samples were submitted to biological and serological analyses and determination of their physical properties. Additionally, samples of the C-38-80 tomato variety were included and a isolate of Tobacco Mosaic Virus was used as a comparison standard.

It became evident that 5 ToMV isolates were present, showing a serological relationship identical among each others and partial with respect to Tobacco Mosaic Virus, and existing furthermore among them a cross protection.

These results might be used as a method of pre-immunization and control against Tomato Mosaic Virus.

Key Words: isolates, Tobacco Mosaic Virus, ToMV

INTRODUCCIÓN

Los virus del mosaico del tabaco y del tomate pertenecen al grupo de los tobamovirus, y se encuentran ampliamente diseminados en malezas y cultivos de interés económico como el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), infectando las propias semillas de este [Tello, 1993; Hassan y col. 1995].

Ambos poseen características similares en cuanto a la morfología de la partículas y en los síntomas que provocan en el tomate, los que varían desde mosaico verde oscuro y amarilleamiento hasta filiformidad y necrosis en hojas, tallos y frutos, en dependencia de la temperatura, raza del virus y otros factores.

Debido a esto, sólo pueden diferenciarse mediante técnicas serológicas, composición de aminoácidos y fundamentalmente por la respuesta de los hospedantes diferenciales [Martelli y Quacquarelli, 1982].

En este trabajo se exponen los resultados al establecer cinco aislados del virus del mosaico del tomate provenientes del cultivo del tomate y de yerba mora (*Solanum nigrum*), y determinar sus diferencias biológicas y serológicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron muestreos periódicos a plantaciones de tomate en la provincia de La Habana, y se detectaron síntomas en este cultivo y en yerba mora similares a los producidos por un agente viral.

Los síntomas que se observaron variaron de mosaico ligero a severo, zonas amarillas y verdes, así como filiformidad en hojas. De esta forma se nombró aislado 1 al detectado en semillas de tomate, 2 al de yerba mora, y 3, 4, y 5 los provenientes de plantas de tomate.

Para conocer el agente causal de los aislados se inocularon especies de plantas indicadoras, pertenecientes a las familias Solanaceae y Fabaceae, mediante el método usual de transmisión mecánica.

Las relaciones serológicas entre los aislados de ToMV y TMV se establecieron mediante la técnica de doble inmunodifusión en agar no. 1 al 0,8%, ácida sódica al 1%, y como inmunosuero el obtenido a partir de un aislado de TMV.

La protección cruzada se realizó mediante la inoculación de mitades de hojas bien desarrolladas de *Nicotiana glauca* L. con un aislado del virus del mosaico del tabaco, y a los cuatro días más tarde toda la hoja se inoculó con un aislado del virus del mosaico del tomate.

Además, se realizaron observaciones al microscopio electrónico por el método Dip (*Dip-method*) a savia de plantas infectadas para verificar la presencia del virus.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al determinar el agente causal de los aislados mediante los síntomas detectados en plantas indicadoras, se corroboró que estos pertenecían al virus del mosaico del tomate (ToMV), ya que sólo produjeron síntomas de lesiones locales en *Nicotiana tabacum* L., var. criollo, *Nicotiana glauca* L. y *Petunia hybrida* L., como lo plantearon Hollings y Huttinga en 1976, y Blanco y col. en 1986, lo que lo diferencia del virus del mosaico del tabaco, el que da lugar a síntomas sistémicos en estas plantas.

En la *Tabla 1* se observa que el aislado proveniente de semillas de tomate de la var. C-38-80 produjo en hojas inoculadas de *Physalis peruviana* Medik lesiones locales cloróticas, mientras que con los restantes aislados se observaron síntomas de manchas amarillas, marchitez y muerte de las plantas.

Tabla 1. Síntomas en plantas indicadoras diferenciales a diferentes aislados de ToMV

Plantas indicadoras	Aislados					
	A1	A2	A3	A4	A5	A6
<i>N. tabacum</i> var. criollo	Ll	Ll	Ll	Ll	Ll	Ms
<i>N. glauca</i>	Ll	Ll	Ll	Ll	Ll	Ms
<i>Petunia hybrida</i>	Ll	Ll	Ll	Ll	Ll	Ms
<i>Physalis floridana</i>	Msa	Msa, Mch	Msi	Msa	Msa	Ms
<i>Physalis peruviana</i>	Ll	Ma, Mch	Ma, Mch	Ma, Mch	Ma, Mch	Ms
<i>Datura innoxia</i>	Ll, Ne	Ll	Ll	Ll	Ll, Ne	Ll
<i>N. megalosiphum</i>	Ll	Ll	Ll	Ll	Llp	Ms
<i>N. rustica</i>	Ll	Ll	Ll	Ll	Ll	Ll
<i>P. vulgaris</i> var. Cueto 25-9	Ll	Ll	Ll	Ll	Ll	Ll
<i>P. vulgaris</i> var. Pinto 114	Ll	Ll	Ll	Ll	Ll	Ll

Ll (Lesiones locales), Ma (Manchas amarillas), Mch (Marchitez), Msa (Mosaico sistémico amarillo), Msi (Mosaico sistémico leve), Ne (Necrosis), Ms (Mosaico sistémico), Llp (Lesiones locales pequeñas).

El aislado 2 detectado en *Solanum nigrum* L. se caracterizó por dar lugar en hojas de *Datura innoxia* Mill, lesiones locales necróticas sin necrosis sistémica, como los aislados 3 y 4, así como un mosaico amarillo y verde en las variedades de tomate inoculadas.

Los aislados 3 y 4, provenientes de plantas de tomate con síntomas similares se diferenciaron en que el primero dio lugar a un mosaico leve en plantas de *Physalis floridana* L., mientras que con los otros aislados se observó un mosaico amarillo sistémico.

Por otra parte, el aislado 5 detectado en plantas de tomate con síntomas de filiformidad en las hojas se diferenció de los restantes en producir lesiones locales necróticas de menor diámetro en *Nicotiana megalosiphum* Heurck and Mueller.

En cuanto a la respuesta obtenida al inocular plantas de *Nicotiana glauca* L., Hollings y Huttinga (1976) informan que 18 aislados del virus del mosaico del tomate producen lesiones locales necróticas, pero otros cinco de 22 aislados, incluyendo las razas Dahlemense, Ohio I, II y III, causan moteado sistémico y necrosis, similares a los producidos por el virus del mosaico del tabaco. En este estudio los cinco aislados produjeron solamente lesiones locales necróticas en esta planta y en frijol (*Phaseolus vulgaris*, L.), var. Cueto 25-9 y Pinto 114.

Estudios realizados en el cultivo del pimiento [Gil Ortega, 1993] demostraron la existencia de otras razas del virus del mosaico del tabaco, denominadas *cepas pimiento*, las que se clasificaron en P-0, P-0-1, P-0-1-2 y P-0-1-2-3, no refiriendo la sintomatología que causa en el cultivo del tomate.

Mediante la técnica de doble inmunodifusión en agar y utilizando un inmunosuero del virus del mosaico del tabaco (raza común), se observó una relación de identidad serológica total entre los aislados del virus del mosaico del tomate y parcial con respecto al virus del mosaico del tabaco. En este aspecto coincidimos con Reichenbacher y col. (1979), quienes observaron también la aparición de espuelas en medio agar al estudiar diferentes aislados del virus del mosaico del tabaco procedentes de tomate.

Por otra parte se observó protección cruzada entre el virus del mosaico del tabaco y los aislados del virus del mosaico del tomate, ya que al inocular este sobre las mitades de hojas de *Nicotiana silvestris* L., que habían sido inoculadas anteriormente con el virus del mosaico del tabaco, se obtuvo un número menor de lesiones locales en comparación con las mitades que no habían sido inoculadas previamente. Estos resultados concuerdan con los señalados por Siegel (1959) y Cornuet (1987).

Al microscopio electrónico se observaron partículas en forma de bastones de alrededor 300 nm, característicos de estos virus.

CONCLUSIONES

1. Mediante el estudio realizado se identificaron cinco aislados del virus del mosaico del tomate, que se diferencian fundamentalmente por la respuesta en plantas indicadoras.

2. Se comprobó la identidad serológica total entre los aislados del virus del mosaico del tomate y su relación parcial con respecto al virus del mosaico del tabaco.

3. El virus del mosaico del tabaco puede ser utilizado para preinmunizar las plantas de tomate contra los aislados del virus del mosaico del tomate, ya que se manifiesta protección cruzada entre ellos.

REFERENCIA

- Blanco, N.; S. Abreu; M. Escalona: «El virus del mosaico del tomate (ToMV) raza roseta en Cuba», en *Ciencia de la Agricultura*, no. 29, 5-8, 1986.
- Cornuet, P.: *Elements de virologie vegetale*, Instituto Nacional de la Investigación Agronómica, INRA/París, 1987.
- Gil Ortega, R.: «Resistencia genética a virus en pimiento», en *Phytoma España*, no. 50, junio/julio, 1993.
- Hassan, S.; M. Arif, T. Defoer: «Epidemiological Studies of Tomato Viruses in Malakand Agency of North West Frontier Province of Pakistan», en *Seed Pathology and Microbiology* (abst.), vol. 6, 1995.
- Hollings, M.; H. Huttinga: «Tomato Mosaico Virus», en *Descriptions of Plant Viruses*, September no. 156, 1976.
- Martelli, C.P.; A. Quacquerelli: «The Presents Status of Tomato and Peppers Viruses», en *Acta Horticulturae* 127, 39-63, 1982.
- Reichenbacher, D.; V. Ritcher; Schbert, L.: «Diferenciación serológica de tobamovirus por medio de electroforesis del tipo rocket», en *Arch. Phytopathol. M. Pflanzenschutz*, no. 15, vol. 2, 1979.
- Siegel, A.: Mutual Exclusion of Strain of Tobacco Mosaic Virus», en *Virology* 8, 470-477, 1959.
- Tello, J.: «Legislación sanitaria de semillas de hortalizas. Un aspecto: el plan experimental de sanidad en virosis de semillas de hortalizas», en *Phytoma España*, vol. 50, junio/julio, 1993.

EVALUACIÓN DE NICOSULFURON SOBRE MALEZAS EN MAÍZ (*ZEA MAYS* L.)

E. Paredes, R. C. García y F. La O

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

RESUMEN

Durante las campañas de primavera de 1995 y 1996, se realizaron dos experimentos para comprobar la selectividad de nicosulfuron sobre el maíz, variedad HT-66, y la efectividad sobre las malezas en aplicaciones foliares de 4-8 hojas, y a partir de la cuarta hoja del cultivo valorando además el uso de los surfactantes agral y sulfatron. Los experimentos se realizaron en el área experimental del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Alquízar, y en la CPA Ubaldo Díaz, en Güira de Melena, provincia de La Habana sobre suelo Ferralítico Rojo. Los resultados demostraron que los tratamientos de nicosulfuron 22,50-30,00 g/ha i.a. aplicados, tanto solo como con la adición de agral 0,2% en solución, fueron efectivos contra las malezas en maíz. Las mejores efectividades contra las malezas se lograron con las variantes de nicosulfuron a 30,00 g/ha i.a. con la adición o no de sulfatron a 0,2%, por lo que no es necesario el uso de sulfatron cuando se utilizan dosis altas de este herbicida. Los rendimientos solo mostraron diferencias significativas con el testigo sin tratamientos.

Palabras claves: herbicidas, nicosulfuron, atrazina, malezas, surfactantes, agral sulfatron y maíz

ABSTRACT

In order to prove the selectivity of nicosulfuron on corn (var. HT-66) at the state of the four leaf and its effectiveness on 4-8 leaves weeds, two experiments were carried out during 1995 and 1996 spring campaigns at Experimental Station of Plant Health Research Institute and CPA Ubaldo Díaz in Güira de Melena, both in Havana province, on Red ferralitic soil. The results showed that nicosulfuron treatments between 22.50- 30.00 g/ha i.a., applied alone or with 0.2% agral or sulfatron solution, were effective for weed control. Nicosulfuron at 30.00 g/ha i.a. mixed or not with 0.2% sulfatron were better than other treatments and similar one to another, with 95 and 94% of effectiveness respectively, so its is not a necessary the addition of surfactant solution when the high doses of herbicide are used. All treatments were not statistical different among them, including manual weeding control, but were different against non-treatment control.

Keys words: herbicide, nicosulfuron, atrazine, weeds control, surfactant, agral, sulfatron, corn

INTRODUCCIÓN

El maíz se cultiva en Cuba en alternancia con los cultivos de frío. Su producción está limitada entre otras causas por la interferencia con las malezas [Pérez, 1994], las que constituyen un problema mundial en maíz. La baja tasa de crecimiento y amplia distancia de siembra del cultivo crean en su primera etapa de desarrollo las condiciones de luz, espacio y nutrientes necesarios para el crecimiento de las malezas [Ampong, 1996]. Este mismo autor señala que pueden producirse hasta el 85% de las pérdidas de los rendimientos si no se toman las medidas de lucha en el momento oportuno. En algunos casos, el uso repetido de triazinas ha producido incrementos acelerados de aquellas especies con similar selec-

tividad fisiológica y bioquímica que el maíz, como es el caso de *Sorghum halepense* (L.) Pers. *Rottboellia cochinchinensis* (Lour) Clayton y *Panicum* spp. Esta situación se hace más aguda en aquellos casos en que se practica el monocultivo de maíz o se usan rotaciones en las que se repiten los mismos herbicidas [Pérez y col, 1990]. Así también el desarrollo del maíz está influido por la duración e interferencia de las especies de malezas y su densidad de población [Clement *et al.*, 1927; Hall *et al.*, 1992] citado por Tapia *et al.* (1997). En tal situación deben rotarse los herbicidas con aquellos selectivos de diferentes modos de acción tras el objetivo de reducir el peligro de la resistencia de las malezas y la acumulación

de los residuos en suelo, y por tanto las posibles pérdidas de rendimientos. En tal sentido se hace necesario la búsqueda de nuevas sustancias selectivas al maíz de diferente modo de acción, para ser introducidas en los programas de manejo de malezas.

En la actualidad el uso de las sulfonilureas (nicosulfuron) se aplica en diferentes regiones productoras de este cereal, tanto solo como en combinaciones, o mezclado con otros herbicidas con resultados satisfactorios [Rabey and Gordon, 1987; Tapia *et al.*, 1997]. Este herbicida tiene acción foliar sobre las malezas con buena efectividad cuando se aplica en los primeros estadios con la ventaja de no causar daños al cultivo ni producir mermas en el rendimiento [Bruce and Kells, 1995].

El uso de los tensoactivos en los tratamientos foliares de herbicidas es una práctica común para aumentar la acción tóxica del herbicida al reducir la tensión superficial de las gotas de la solución y, por tanto, hay mayor penetración de las sustancias hacia el interior del vegetal [Pitty, 1997; Kapusta *et al.*, 1995].

El objetivo de este experimento fue verificar la acción de nicosulfuron sobre las malezas y la posible afectación de los rendimientos en maíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante 1995 y 1996 se realizaron dos experimentos, uno en el área experimental del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal en Alquizar para desarrollar la fase experimental, y el otro en la CPA Ubaldo Díaz en Güira de Melena, para la fase de extensión, ambas en la provincia de La Habana, sobre suelo Ferralítico Rojo para determinar el efecto de nicosulfuron sobre las malezas y los rendimientos en el cultivo del maíz.

En la fase experimental se utilizó un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones y parcelas de cinco surcos con 5 m de largo por 4, 50 m de ancho. Los tratamientos se realizaron en postemergencia del maíz con cuatro hojas como promedio con una mochila Birchmeier modelo Senior con boquilla politip azul 1,2 mm de diámetro con solución final de 320 L/ha, y en la fase extensiva se utilizó un campo de producción de 4,0 ha, con similares características que el área experimental respecto a la fenología de las malezas y el cultivo. La aplicación se realizó con la asperjadora integral U-70, con solución final de 350 L/ha comparado con un testigo de similar magnitud. Las malezas al momento de la aplicación se encontraban entre cuatro y ocho hojas, y se evaluaron visualmente un día antes y 30 días después de la aplicación en porcentaje de cobertura, según la metodología de Labrada y col. (1979), y los rendimientos se determinaron mediante el pesaje en grano seco en t/ha al momento de la cosecha en los tres surcos centrales. Los

datos de las evaluaciones de malezas y el rendimiento fueron evaluados estadísticamente mediante análisis de varianza y la Dócima de Rangos Múltiples de Duncan al 5% de probabilidad del error. La dosis del herbicida se expresa en kg/ha i.a. y los tratamientos se exponen en las tablas de los resultados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Nicosulfuron 22,50 y 30,00 g/ha, solo o con la adición de agral y/o sulfatron a 0,2% de solución final resultaron efectivos contra las malezas, excepto *Cyperus rotundus* L. y *Parthenium hysterophorus* L., las que mostraron tolerancia a este herbicida en el momento de la evaluación. El efecto producido por la adición del tensoactivo fue superior en las dosis bajas que cuando se usó el herbicida solamente, mientras que en las dosis altas no hubo diferencias significativas (Tabla 1).

Sobre *Sorghum halepense* L. Pers. se observó que la adición del tensoactivo a la solución incrementaba la efectividad del herbicida en comparación con este cuando se aplica solo. Este efecto ayudó a reducir los niveles de enmalezamientos dominantes a no dominantes. Cuando se aplicó nicosulfuron a 30,00 g/ha se observaron brotes de la maleza al momento de la evaluación; sobre el resto de las especies, nicosulfuron tanto solo como con la adición de sulfatron, produjo un efecto satisfactorio. Estos resultados coinciden con los informados por Bruce y Kells (1995); Tapia *et al.* (1997) y Boyd *et al.* (1997). Estos autores señalan que nicosulfuron es metabolizado rápidamente por el maíz y no así en *S. halepense*, en que su acción demora más de veinticuatro horas, causando el efecto fitotóxico que se observa en la maleza. El nivel de tolerancia de este herbicida depende de las especies y variedades, y el estado fenológico de cada planta. Pitty (1997) señala que hay muchas diferencias fisiológicas entre las plantas, las cuales determinan el metabolismo final de los herbicidas en plantas susceptibles y tolerantes. Nuestros resultados coinciden plenamente con lo señalado por estos autores, donde se pudo comprobar la variabilidad de la acción en dependencia de las características de cada especie y el estado fenológico de cada maleza en particular.

El uso de los tensoactivos produjo un incremento del efecto fitotóxico del herbicida, tanto nicosulfuron con agral como con sulfatron, incrementó su efectividad cuando se le adicionó a la dosis menor. Green (1996) planteó que con el uso de los surfactantes puede reducirse las dosis de los herbicidas y a la vez aumentar su efectividad. Por otra parte, Smith and Show (1990) hacen referencia a que agral aumenta significativamente la eficiencia de los tratamientos foliares sobre las malezas, facilitando así la retención y penetración de los herbicidas en las hojas de las plantas.

Tabla 1. Efectividad del nicosulfuron sobre el porcentaje de cobertura de malezas en maíz

	Tratamientos g/ha i.a.																			
	Fase experimental						Fase extendida						Fase extendida							
	Nicosulfuron			Nicosulfuron + agral 90%			Nicosulfuron + sulfatron			Testigo con escarda			Testigo con escarda			Nicosulfuron + agral 90%				
Malezas	22,50		30,00		22,50 + 0,2%		22,50 + 0,2%		30,00 + 0,2%		-		-		-		22,5 + 0,2%			
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b		
Cyperus rotundus	10	15	10	13	10	12	10	15	15	12	0	0	5	10	1	1	1	1		
Sorghum halepense	5	7	10	3	5	0	4	0	10	0	0	0	3	10	2	0	0	0		
Echinochloa colonum	10	5	0	0	0	0	0	0	5	2	0	0	5	10	5	0	0	0		
Eleusine indica	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0		
Brachiaria platyphylla	4	0	2	0	2	0	4	0	0	0	0	0	3	5	2	0	0	0		
Rottboellia cochinchinensis	5	0	3	0	3	0	3	0	1	0	0	0	6	10	3	1	0	0		
Total gramíneas	21	12	15	3	10	0	11	0	16	2	2	0	17	38	12	1	0	0		
Amaranthus dubius	3	0	1	0	1	0	5	0	0	0	0	0	20	25	5	0	0	0		
Portulaca oleracea	20	0	15	0	15	0	5	0	10	0	0	0	5	5	2	0	0	0		
Parthenium hysterophorus	5	3	11	0	5	7	2	3	5	0	4	0	10	5	5	7	0	0		
Otras dicotiledóneas	10	0	9	0	11	0	10	3	12	0	5	0	11	3	10	7	0	0		
Total dicotiledóneas	38	3	36	0	32	7	22	3	27	0	9	0	46	38	22	2	0	0		
Total malezas	49	15	51	3	42	5	33	3	43	2	11	0	63	76	34	8	0	0		
Efectividad	69,4c		97,0a		88,0b		91,0b		95,0a		-		-		-		-		76	
	C.V. (%) = 2,877 S. E. = 0,0730																			

Los valores del porcentaje de cobertura de las malezas fueron transformados a $2 \arcsen \sqrt{p}$, a y b: un día antes y 30 días después de la siembra.

El efecto de nicosulfuron (22,50-30,00) g/ha sobre los rendimientos, tanto solo como con la adición de los tensoactivos evaluados, no tuvieron afectaciones significativas respecto al testigo con escardas; solo difieren con el testigo sin laboreo (Fig. 1). Los mejores rendimientos se obtuvieron con nicosulfuron 22,50 g/ha con la adición de agral y/o sulfatron 0,2%, y nicosulfuron 30,00 g/ha con sulfatron 0,2%, pero sin diferir significativamente uno del otro y del testigo con escardas manuales en la fase experimental. En la extensión se corroboraron los resultados de la fase experimental al obtenerse rendimientos superiores al testigo en 0,5 t/ha.

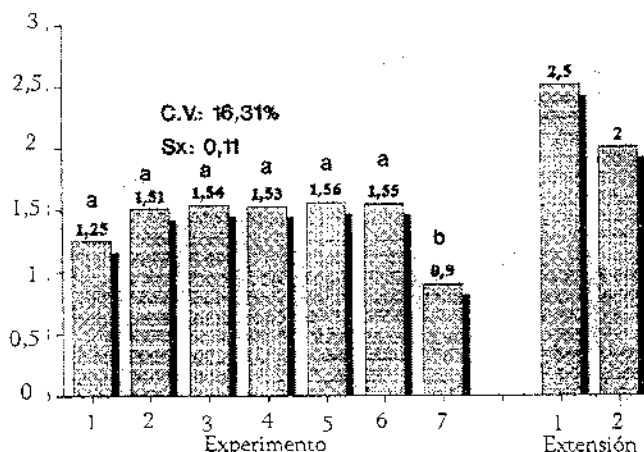


Figura. 1. Efecto de nicosulfuron sobre los rendimientos en maíz

Tratamientos	Dosis a/ha i.a.
Experimento	
1. Nicosulfuron	22,50
2. Nicosulfuron	30,00
3. Nicosulfuron + agral	22,50 + 0,2%
4. Nicosulfuron + sulfatron	22,50 + 0,2%
5. Nicosulfuron + sulfatron	30,00 + 0,2%
6. Testigo con escardas	- -
7. Testigo sin escardas	- -
Extensión	
1. Nicosulfuron + agral	22,50 + 0,2%
2. Testigo con escardas	- -

Los resultados demostraron que nicosulfuron es efectivo contra las malezas en estudio, con mayor efectividad cuando se aplica en mezcla con cualquiera de los tensoactivos probados o cuando se usa solo pero a la dosis mayor. En ningún momento se producen efectos fitotóxicos de consideración que dañen los rendimientos del cultivo.

CONCLUSIONES

Nicosulfuron 22,50 g/ha i.a. aplicado en postemergencia de cuatro a ocho hojas de las malezas con la adición de agral y/o sulfatron a 0,25, tuvo mejor efectividad que cuando fue aplicado sin el tensoactivo, excepto sobre *C. rotundus* y *P. hysterophorus*, las que se mostraron tolerantes a este herbicida. La dosis de 30,00 g/ha i.a. aplicada tanto solo como con la adición de sulfatron, no tuvieron diferencias significativas apreciables entre sí.

Nicosulfuron 22,5-30,0 g/ha, en aplicaciones foliares con el uso de los tensoactivos agral y/o sulfatron, no afectó los rendimientos del maíz cuando se aplicó en postemergencia y estadio de cuatro hojas del cultivo comparado con el testigo con escardas.

Para el manejo de malezas en maíz puede ser utilizado el tratamiento de nicosulfuron a 30,0 g/ha aplicado solo, o en mezcla de nicosulfuron 22,5 g/ha con la adición de agral y/o sulfatron al 0,2% en tratamientos de postemergencia de 4-8 hojas de las malezas, y a partir de la cuarta hoja del cultivo sin que se afecten los rendimientos.

REFERENCIAS

- Ampong, K. Nyarko: «Manejo de malezas en cereales tropicales, maíz, sorgo y mijo», pp. 280-286, en: Labrada R.; J. C. Caseley; C. Parker: *Manejo de malezas para países en desarrollo*, FAO, 120, 1996.
- Boyd, J. C.; D. Penner; J. J. Kells: «Physiological Basis for Nicosulfuron and Primisulfuron Selectivity in Five Plant Species», en *Weed Sc.* 45 (1): 22-30, 1997.
- Bruce, J. A.; James J. Kells: «Quackgrass (*Eriogonum repens*) Control in corn (*Zea mays*) with Nicosulfuron and Primisulfuron», en *Weed Techn.* 11 (2): 373-378, 1995.
- Green, J. M.: «Interaction of Surfactant Dose and Spray Volumen on Rimsulfuron Activity», en *Weed Sc.* 10 (3): 508-511, 1996.
- Kapusta, G. et al.: «Effect of Nicosulfuron Rate Adjuvant and Weed Size on Annual Weed Control in Corn» en *Weed Sc.* 8: 696-702, 1995.
- Labrada, R.; F. La O; Y. Gueshtovt: «Metodología sobre maías hierbas, parte II. Información Técnica», Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, MINAGRI (3): 17-18, 1979.
- Pitty, A.: *Interferencia: competencia, aielopatía y parasitismo. Introducción a la biología, ecología y manejo de malezas*, El Zamorano, Honduras, 1997. pp. 224-240.
- Pérez, E.: «Rotaciones y policultivos en el manejo». Taller de Cultivos Múltiples 16 de Marzo, IIH Lilliana Dimitrova, Quivicán, La Habana, 1994.
- Pérez, E. et al.: *Rotaciones de cultivos y uso de herbicidas por un periodo de dos años. Efecto sobre la composición de malezas*. X Congreso ALAM 10-14 de abril, Ciudad de La Habana, 1990.
- Smith, A. M.; P.N.P. Show: «The Influence of Agral 90. Surfactant on the Activity of Imazamethabenz in Wild Oat (*Avena fatua*)», en *Weed Sc.*, v. 30: 355-362, 1990.
- Tapia, L. et al.: «Postemergence Herbicide Application Timing Effects on Annual Grass Control and Corn (*Zea Mays*) Grain Yield», en *Weed Sc.* 45 (1): 138-143, 1997.

DETERMINACIÓN DEL MCPA EN FORMA DE ÉSTER MEZCLADO CON 2,4 D ÉSTER Y FENOXAPROP-P-ETHYL

A. Bécquer y Vania del Pino

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5ta. B y 5ta. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

RESUMEN

Se desarrolló un método analítico por cromatografía gaseosa para determinar el contenido de MCPA en forma de éster en formulaciones de concentrados emulsionables con 2, 4 D éster y fenoxaprop-p-ethyl utilizando una columna de vidrio de un metro de longitud rellena con OV-210 al cinco por ciento sobre Chromosorb W-HP 80/100 mesh y un detector de ionización por llama (FID) usando como patrón interno el clorpirifos. La desviación típica fue de $\pm 0,48$ y el coeficiente de variación de dos por ciento. El método resultó preciso y selectivo.

Palabras claves: Formulaciones de plaguicidas, método analítico, MCPA, éster

ABSTRACT

It was developed an analytical method by gas-liquid Chromatography to determine the MCPA ester content in formulations of emulsifiable concentrate with 2, 4 D ester and fenoxaprop-p-ethyl using a glass column 1 meter of length packed with 5 % OV - 210 on Chromosorb W-HP 80/100 and flame ionization detector (FID) using as internal standard the Chlorpirifos. The typical deviation was $\pm 0,48$ and the variation coefficient 2 %. The method resulted exact and selective.

Key words: Pesticides formulation, analytical method, MCPA, ester

INTRODUCCIÓN

Una de las características fundamentales de un plaguicida es el contenido del ingrediente activo, quien está llamado a ejercer la acción biocida sobre la plaga, enfermedad o maleza que deseamos combatir.

De no cumplirse lo establecido en las especificaciones de compra [FAO, 1995] con respecto al parámetro antes mencionado, provocaría grandes pérdidas económicas, lo cual implica la necesidad de controlar la calidad de los formulados de plaguicidas que consume nuestra agricultura.

En los últimos tiempos los fabricantes de productos fitosanitarios, para lograr que sus producciones alcancen una excelente efectividad biológica, se han dedicado a la mezcla de diferentes ingredientes activos de plaguicidas en una sola formulación, principalmente con los herbicidas.

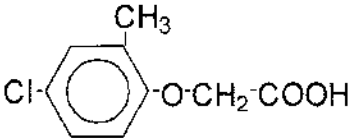
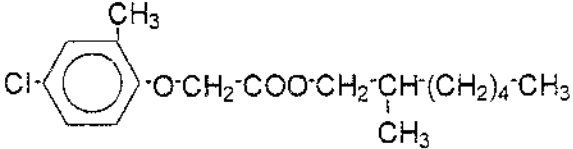
El MCPA es un herbicida selectivo utilizado en los cultivos de la caña de azúcar, arroz y pastos [Oficina

Central de Registro de Plaguicidas, 1995]. Dicho producto pertenece al grupo químico de los fenoxiacéticos, los cuales actúan selectivamente y ejercen sobre las plantas reacciones biológicas y provocan trastornos fisiológicos y morfológicos, causando la muerte a las malas hierbas [Tomlin, 1987].

En nuestro país se comenzó el empleo de una formulación de MCPA en forma de éster mezclado con 2,4-D éster y fenoxaprop-p-ethyl, utilizándose fundamentalmente en el cultivo del arroz a una dosis de 0,6-1,0 L/ha.

Con la finalidad de comprobar la calidad de este preparado fue necesario desarrollar un método analítico para determinar el contenido del MCPA-éster, puesto que los métodos disponibles [CIPAC, 1970] tienen su base en una hidrólisis alcalina y una posterior valoración con hidróxido de sodio, el cual no es selectivo, y la presencia del 2,4-D y del fenoxaprop-p-ethyl podrían interferir en los resultados finales.

Propiedades físico-químicas del MCPA

Fórmula empírica Fórmula estructural	$C_9H_9ClO_3$ 
Nombre común Nombre químico Apariencia Peso molecular Punto fusión Solubilidad	MCPA Ácido 2-metil-4-clorofenoxiacético Polvo blanco cristalino 200,6 119,7 Agua: 825 ppm a 15 °C Etanol: 825 mg/L Heptano: 5 mg/L Tolueno: 62g/L Xileno: 49 g/L
Toxicidad	Oral aguda: LD ₅₀ 700 mg/kg Dermal aguda: LD ₅₀ 1 000mg/kg
Fórmula empírica éster Fórmula estructural	$C_{17}H_{25}ClO_3$ 

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Reactivos

- OV-210 al 5 % sobre Chromosorb W-HP 80/100 mesh.
- Acetona.
- Patrón analítico del éster isooctílico del MCPA al 98,6%.
- Clorpirifos técnico al 97% (patrón interno).
- Formulación de MCPA éster (20 %), 2,4-D éster (7 %) y fenoxaprop-p-ethyl (5 %).

Cristalería y equipos

- Columna de vidrio de un metro de longitud y tres milímetros de diámetro interno.
- Microjeringuilla de 10 microlitros (μ L).
- Pipeta volumétrica de 10 mL.

- Tubo de ensayo de 20 mL de capacidad con tapa.
- Balanza analítica Sartorius de una precisión de 0,0001 g.
- Cromatógrafo Shimadzu GC-14 A con detector FID

Método

Principio del método

El método se basa en la separación del MCPA éster del resto de los componentes de la formulación por cromatografía gas-líquida, usando un detector de ionización por llama (FID) con el empleo del clorpirifos como patrón interno.

Condiciones cromatográficas

- Columna de vidrio de un metro de longitud y tres milímetros de diámetro interno rellena con OV-210 al 5 % sobre Chromosorb W-HP 80/100 mesh.

- Temperatura del horno: 160 °C.
- Temperatura del inyector: 240 °C.
- Temperatura del detector: 240 °C.
- Presión del nitrógeno: 70 kPa.
- Presión del aire: 35 kPa.
- Presión del hidrógeno: 40 kPa.

Procedimiento

Preparación del patrón interno

Se prepara una solución de clorpirifos en acetona a una concentración de 4 mg/mL.

Preparación del patrón de MCPA éster

Se pesa con exactitud alrededor de 0,02 g del patrón de MCPA en un tubo de ensayo y se disuelve en 10 mL de la solución del patrón interno (este volumen de patrón interno debe ser tomado con una pipeta de 10 mL).

Preparación de la muestra

Se pesa con exactitud alrededor de 0,1 del formulado con la mezcla de los tres herbicidas y se le añade con pipeta 10 mL de la solución del patrón interno.

Inyección en el cromatógrafo

Se inyecta dos microlitros (µL) de la solución del patrón de MCPA éster y posteriormente dos microlitros (µL) de la muestra por duplicado.

Comprobación del método propuesto

Para corroborar la precisión del método se realizaron 15 determinaciones de una muestra del formulado con la mezcla de los herbicidas anteriormente mencionados, y los valores fueron procesados estadísticamente, calculándose la desviación típica y el coeficiente de variación.

Cálculos

$$\text{Por ciento de MCPA isoctyl} = \frac{R_m \times P \times 100 \times D}{R_p \times M}$$

$$R_m = \frac{\text{Altura o área del pico del MCPA isoctyl en la muestra}}{\text{Altura o área del pico del patrón interno en la muestra}}$$

$$R_p = \frac{\text{Altura o área del pico del MCPA isoctyl en la solución patrón}}{\text{Altura o área del pico del patrón interno en la solución patrón}}$$

P: Pureza del patrón de MCPA isoctyl (%)

D: Densidad del formulado (g/mL)

Tabla 1. Resultados en los análisis del MCPA isoctyl éster

No.	X	X	X-X	(X-X) ²
1	23,8	23,9	0,1	0,01
2	23,4	23,9	0,5	0,25
3	24,5	23,9	0,6	0,36
4	24,7	23,9	0,8	0,64
5	24,0	23,9	0,1	0,01
6	23,6	23,9	0,3	0,09
7	23,3	23,9	0,6	0,36
8	24,5	23,9	0,6	0,36
9	23,7	23,9	0,2	0,04
10	23,2	23,9	0,7	0,49
11	24,5	23,9	0,6	0,36
12	24,3	23,9	0,4	0,16
13	23,7	23,9	0,2	0,04
14	24,2	23,9	0,3	0,09
15	23,9	23,9	0,0	0,00

Promedio = X= 23,9

Desviación típica = ± 0,48

Coefficiente de variación = 2 %

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los valores obtenidos en relación con la desviación típica (± 0,48) y al coeficiente de variación, podemos afirmar que el método presenta una buena precisión, y se corresponde con las recomendaciones internacionales [Zweig, 1972] donde se acepta un máximo de dos por ciento referente al coeficiente de variación.

El método posee además la característica de separar eficientemente el MCPA éster del resto de los componentes del formulado (2,4 D éster y el fenoxaprop-p-ethyl), lo cual se demuestra en la excelente resolución obtenida en los cromatogramas.

CONCLUSIONES

El método de cromatografía gaseosa desarrollado para determinar el contenido del MCPA éster en concentrados emulsionables mezclados con 2,4 D éster y el fenoxaprop-p-ethyl es satisfactorio, puesto que presenta una desviación típica de ±0,48 y un coeficiente de variación de 2 %, lo cual demuestra la buena precisión de la técnica analítica propuesta.

Además se comprobó que el procedimiento propuesto es selectivo por lograr la separación del MCPA éster del resto de los herbicidas mezclados en la formulación.

REFERENCIAS

CIPAC: *Handbook, Analysis of Technical and Formulated Pesticide*, 1970.

FAO: *Manual on the Development and Use of FAO Specifications for Plant Protection Products*, fourth edition, Roma, 1995.

Oficina Central de Registro de Plaguicidas: *Lista oficial de plaguicidas autorizados*, 1995/1996, Cuba.

Tomlin, C.: *World Compendium «The Pesticide Manual»*, eighth edition, 1987.

Zweig, G.: *Analytical Methods for Pesticide and Plant Growth Regulator*, vol. VI, 1972.

*una publicación
electrónica*

AMBITO FITOSANITARIO

www.cuba.cu/ciencia/inisav

AMBITO FITOSANITARIO es una publicación del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), que se inicia con la finalidad de divulgar los resultados científicos de nuestros investigadores, además incluye comunicaciones cortas, noticias, proyectos de investigación en curso, reconocimientos, entre otros temas que propician el intercambio de experiencias entre todos los que en Latinoamérica y el resto del mundo laboran en esta rama.

TEMATICA
Sanidad Vegetal

FRECUENCIA
Semestral

DIRECTOR

Dr. Jorge Ovies Díaz

EDITORA

Lic. Acela Mirabal Abreu

CONSEJO EDITORIAL

Dr. Luis Vázquez Moreno

Lic. Adriana Ballester Hernández

CONTACTO EDITORIAL

e-mail: inisav@ceniai.inf.cu

EFFECTIVIDAD DE EXTRACTOS DE NICOTINA OBTENIDOS POR EL MÉTODO DE MACERACIÓN-LIXIVIACIÓN SOBRE *BEMISIA TABACI* (GEEN) EN EL CULTIVO DEL TOMATE

Zoila Trujillo, G. Dierksmeier, A. Lazo y Caridad Alberti

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en la CPA Gilberto León, en San Antonio de los Baños, provincia de La Habana. Se evaluaron los extractos de nicotina a 3 y 1,5 g/L con respecto al estándar dimetoato aplicado a 0,6 kg i.a./ha para el combate de *B. tabaci* en el cultivo del tomate, *Lycopersicum esculentum* (Willd) variedad Campbell 28. La efectividad se evaluó a 1, 24, 72 y 168 horas posteriores a los tratamientos mediante el conteo de adultos de *B. tabaci* en 25 plantas por parcelas en los niveles superior, medio e inferior. Se tomó de cada planta una hoja del nivel medio para el conteo de los estadios inmaduros con el uso del estereoscopio. Resultaron efectivos en el combate de *B. tabaci* las concentraciones de nicotina de 3 y 1,5 g/L con valores de efectividad superiores al estándar dimetoato.

Palabras claves: *Bemisia tabaci*, nicotina, tomate

ABSTRACT

Effectiveness against *Bemisia tabaci* of nicotine extracts obtained by the maceration-lixiviation methods. The present work was carried out at the CPA Gilberto León in San Antonio de los Baños, Havana province. The 3 and 1.5 g/l nicotine extracts were assayed against dimethoate applied at 0.6 kg i.a./ha to fight *B. tabaci* in tomato crop (*Lycopersicum esculentum* (Willd) variety Campbell 28). The effectiveness was evaluated at 1, 24, 72 and 168 hours after the treatments by counting the adults of *B. tabaci* on 25 plants per plot highest, medium and lower levels. A leaf was taken from each plant at the medium level to count the mature stages under a stereoscope. The nicotine concentrations of 3 and 1.5 g/l were found effective to fight *B. tabaci* with effectiveness values higher than those of the dimethoate standard.

Key words: *Bemisia tabaci*, nicotine, tomatoes

INTRODUCCIÓN

El cultivo del tomate es afectado por enfermedades virales que causan síntomas de mosaico dorado y encrepamiento foliar producidos por geminivirus y transmitidos por la mosca blanca (*Bemisia tabaci*, Geen).

En el combate de *B. tabaci* y otros insectos de cuerpo blando se utilizaban desde hace más de dos siglos las infusiones, fumigaciones o espolvoreos con polvo de tabaco muy fino [Chiesa, 1965]. Este uso fue sustituido con la introducción de nuevos insecticidas en el mercado. A partir de 1990 las poblaciones de *B. tabaci* no eran controladas con los insecticidas tradicionales, por lo que fue necesario retomar el uso de los extractos de nicotina en el combate de esta plaga.

Por estas razones un grupo multidisciplinario perteneciente al Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal realizaron estudios para desarrollar un método de extracción de nicotina con vistas a su utilización en el combate de las moscas blancas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en la CPA Gilberto León, ubicada en el municipio de San Antonio de los Baños, provincia de La Habana, sobre suelo ferralítico rojo con un pH de 5,9 en agua, en el cultivo del tomate *Lycopersicum esculentum* (Will), variedad Campbell 28, con marco de siembra de 0,9 x 0,30 m y riego por aspersión, en el período comprendido de diciembre de 1991 a febrero de 1992.

Descripción de las variantes

Variante	Concentraciones
1. Extracto de nicotina	3 g/L
2. Extracto de nicotina	1,5 g/L
3. Dimethoato 38% C.E.	0,6 kg i.a./ha
4. Testigo sin tratamiento	-

Los extractos de nicotina utilizados fueron obtenidos por el método de maceración-lixiviación, usando para ello un tanque de 55 galones modificado. Este tanque posee un área filtrante en el fondo con una llave; en él se vertieron aproximadamente 22 galones de agua y se depositaron unos 40 kg de tabaco en polvo, se mezclaron mecánicamente y se añadió agua hasta unos 30-40 cm del borde superior del tanque; se mezcló todo y se esperó de 1-2 horas. Transcurrido el tiempo se completó con agua (sin mezclar) hasta el borde del tanque, después de lo cual se abrió la llave para que drenara hacia un tanque colector. En total se obtuvieron unos 160 L de un caldo de unos 2-3 g/L, en dependencia del contenido de nicotina del material de partida. El por ciento de nicotina se determinó por el método de arrastre con vapor en un medio fuertemente básico, determinándose el alcaloide por espectrofotometría.

A los extractos de nicotina se les agregó (Ca OH)₂, a razón de 5-7 g/L, para obtener un pH de 10-11, debido a que en un medio alcalino se libera la nicotina que puede estar conjugada, y además se inactiva el virus del TMV.

Se realizaron chequeos previos al cultivo para determinar el índice de incidencia de la plaga.

Los tratamientos se realizaron con una máquina de arrastre P.O.-11, con una solución final de 400-500 L/ha.

Para determinar la efectividad de los tratamientos se realizaron observaciones a 1, 24, 72 y 168 horas posteriores a los tratamientos en 25 plantas por parcela tomadas al azar, contando el número de adultos de *Bemisia tabaci* en los niveles superior, medio e inferior. Se tomó una hoja del nivel medio por planta para las

observaciones de los estadios inmaduros de *Bemisia tabaci* con el uso del microscopio estereoscópico.

La efectividad técnica sobre *Bemisia tabaci* se valoró mediante la fórmula de Aboutt [Ciba-Geygi, 1981].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los tratamientos de nicotina sobre adultos de *B. tabaci* a 3 g/L alcanzaron un 90 % de efectividad técnica a la hora posterior al tratamiento, y de 87 y 74 % a las 24 y 72 horas, respectivamente. Este efecto disminuyó a partir de las 168 horas (siete días) con valores del 50 %. Resultados similares se obtuvieron con el segundo tratamiento, donde el decrecimiento de la efectividad se observó a las 168 horas posteriores a los tratamientos. Estos resultados de efectividad sobre *B. tabaci* fueron superiores al estándar dimetoato a 0,6 kg i.a./ha, donde se logró un 48, 50 y 40 % de efectividad técnica a las 24, 48 y 168 horas respectivamente (Tabla 1). Herse (1945) señaló que los extractos de nicotina de cualquier forma que se use (en solución, espolvoreo, fumigación) causa la muerte a los insectos en poco tiempo, e indica que este efecto comienza por los ganglios abdominales y avanza a lo largo del cordón nervioso, hasta llegar al cerebro.

En relación con los estadios inmaduros, la nicotina a 3g/L mostró efectividades de un 50 y 55 % a las 72 y 168 horas respectivamente, sobre los huevos de *B. tabaci*, y un cinco por ciento sobre las ninfas a las 168 horas (Tablas 2 y 3). Chiesa (1965) planteó que a los preparados a base de nicotina también se les atribuye poder ovicida.

Tabla 1. Efectividad técnica del uso de la nicotina contra adultos de *Bemisia tabaci* (Geen) en tomate en San Antonio de los Baños, provincia de La Habana

Variantes	Concentraciones	Chequeo previo	Efectividad técnica (%)							
			Primer tratamiento				Segundo tratamiento			
			1 hora	24 horas	72 horas	168 horas	1 hora	24 horas	72 horas	168 horas
Extracto de nicotina	3 g/L	6,73	90	87	74	50	89	85	72	45
Extracto de nicotina	1,5 g/L	6,05	83	84	70,1	45	82,2	83,2	69,5	43,4
Dimetoato 38 % C.E.	0,6 kg i.a./ha	6,52	0	48	50	40	0	44,3	46,1	40,2
Testigo sin tratamiento	-	6,52	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 2. Efectividad técnica del uso de la nicotina contra huevos de *Bemisia tabaci* (Geen) en tomate en San Antonio de los Baños, provincia de La Habana

Variantes	Concentraciones	Chequeo previo	Efectividad técnica (%)							
			Primer tratamiento				Segundo tratamiento			
			1 hora	24 horas	72 horas	168 horas	1 hora	24 horas	72 horas	168 horas
Extracto de nicotina	3 g/L	0,7	0	0	50	55	0	0	46,4	53,2
Extracto de nicotina	1,5 g/L	0,68	0	0	38	40	0	0	36,4	38,2
Dimetoato 38 % C.E.	0,6 kg i.a./ha	0,72	0	0	30	32	0	0	3,3	0
Testigo sin tratamiento	-	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 3. Efectividad técnica del uso de la nicotina contra ninfas de *Bemisia tabaci* (Geen) en tomate en San Antonio de los Baños, provincia de La Habana

Variantes	Concentraciones	Chequeo previo	Efectividad técnica (%)							
			Primer tratamiento				Segundo tratamiento			
			1 hora	24 horas	72 horas	168 horas	1 hora	24 horas	72 horas	168 horas
Extracto de nicotina	3 g/L	1,9	0	0	0	5	0	0	4,4	0
Extracto de nicotina	1,5 g/L	1,7	0	0	0	4,3	0	0	3,8	0
dimetoato 38 % C.E.	0,6 kg i.a./ha	-	0	0	0	3,5	0	0	3,6	0
Testigo sin tratamiento	-	0,3	0	0	0	0	0	0	0	0,72

Con los tratamientos de nicotina a la concentración de 1,5 g/L se obtuvieron efectividades de 83, 84 y 70% sobre *B. tabaci* a 1, 24 y 72 horas respectivamente, posterior a los tratamientos, además de obtener una reducción aceptable de la población de huevos de un 38 y 40% a las 72 y 168 horas de aplicada, y sólo un 4,3% sobre las ninfas a las 168 horas. Estos valores de efectividad técnica fueron superiores a los alcanzados por el estándar. Las poblaciones de *B. tabaci* en el testigo sin tratamiento se incrementaron, y se mantuvieron superiores en relación con las variantes en estudio. Un segundo tratamiento mostró resultados similares para cada uno de los estadios de la plaga (Tablas 1, 2 y 3).

González y Concepción (1994) obtuvieron resultados similares de efectividad con el uso del insecticida de origen biológico tabaquina y *V. lecanii* sobre *B. tabaci* y *Aphis craccivora* respectivamente, en caupí (*Vigna unguiculata* sub. sp. *unguiculata*).

Los resultados de Oliva y col. (1994) indicaron que los extractos de nicotina e hidrato de cal son compatibles con los entomopatógenos *B. bassiana*, *V. lecanii* y *Trichoderma* sp., compuestos de uso común en el combate de otras plagas.

Suárez (1996) obtuvo resultados sobre el combate de *B. tabaci* en los cultivos de pepino y tomate. Vázquez (1996) incluyó el uso de los extractos de nicotina en el Programa de Manejo Integrado de *B. tabaci* en el cultivo del tomate.

La utilización de los extractos de nicotina a las dosis de 1,5 y 3 g/L constituyen una alternativa para el combate de esta plaga dentro de los Programas de Manejo Integrado elaborados para este fin.

CONCLUSIONES

Los tratamientos con extractos de nicotina a las dosis de 1,5 y 3 g/L son efectivos para el combate de *Bemisia tabaci*.

REFERENCIAS

- Chiesa, M.: *Terapéutica vegetal*, 2a. ed., Colección Agrícola, Salvat, Barcelona, Madrid, 1965, pp. 61-77.
- Ciba-Geigy: *Manual para ensayos de campo en protección vegetal*, 1981, p. 33.
- González, B.M.; Elizabeth Concepción: «Algunas alternativas de lucha contra áfidos en el caupí», resúmenes IX Forum de Ciencia y Técnica y II Encuentro Nacional de Bioplaguecidas, Ciudad de La Habana, 1994, p. 46.
- Herce, P.: *Análisis de insecticidas*, Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas, Madrid, 1945.
- Oliva, L.R.; E.D. Núñez; L. A. Veltre: «Estudio de compatibilidad de los extractos de nicotina sobre *B. bassiana*, *V. lecanii* y *Trichoderma* sp.», resúmenes del IX Forum de Ciencia y Técnica y II Expo-CREE, INISAV, Ciudad de La Habana, 1994, p. 39.
- Suárez, P.: «Valoración de extracto de nicotina sobre *Bemisia tabaci* en diferentes cultivos», informe al XI Forum de Ciencia y Técnica, Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, La Habana, 1996.
- Vázquez, L. L.: «Manejo Integrado de *B. tabaci* en el cultivo del tomate», informe al IX Forum de Ciencia y Técnica, 1996.

VALORACIÓN DE LA DIFENAMIDA EN EL CONTROL DE MALEZAS EN *PINUS CARIBAEA* VAR. *CARIBAEA*

M. A. Betancourt, J. Zúñiga y D. Hernández

Instituto de Investigaciones Forestales. Calle 174 no. 1723 e/ 17B y 17C, Siboney, Playa, Ciudad de La Habana

RESUMEN

La investigación se realizó en la Estación Experimental Forestal de Topes de Collantes, provincia de Sancti Spiritus, en canteros donde se producen posturas de *Pinus caribaea* var. *caribaea* a raíz desnuda. Se valoró el comportamiento de la difenamida aplicada con tratamiento premergente en dosis de 3,00; 3,50 y 4,00 kg/ha i.a., con el fin de determinar su efecto sobre las malezas y si era tóxico a la planta cultivada. El mejor control sobre las malezas anuales fue con las dosis de 4,00 kg/ha i.a., pero este herbicida resultó tóxico a las posturas de pino.

Palabras claves: *Pinus caribaea*, malezas, difenamida, toxicidad

ABSTRACT

The research was made in the Experimental Forestry Station of Topes de Collantes (Sancti Spiritus), using pieces of ground with *Pinus caribaea* var. *caribaea* seedlings naked root. It was evaluated the behavior of difenamide applied as pre-emergent treatment in doses of 3,00; 3,50 and 4,00 kg/ha a.i. with the objective of determining its effect over the weeds and its toxicity in relation to the plants. Using doses of 4,00 kg/ha a.i. we got the best control over the annual weeds, but the herbicide result toxic for pines seedlings.

Key words: *Pinus caribaea*, weeds, difenamide, toxicity

INTRODUCCIÓN

Las plantas indeseables constituyen uno de los problemas básicos, tanto desde el punto de vista integral de plagas y enfermedades como en la obtención de resultados económicos en la producción forestal del país. Según González (1980), las pérdidas por malezas en Cuba en viveros forestales asciende entre un 25-30 %, sin embargo esto puede disminuir mediante una buena selección de suelo y aplicación de herbicidas.

Son varias las investigaciones al efecto. Álvarez *et al.* (1986), Blanco *et al.* (1987) y Betancourt *et al.* (1980) realizaron experimentos con varios herbicidas en el control de malezas en viveros con *Pinus caribaea* var. *caribaea*, con buenos resultados, aunque la mayoría de los preparados resultaron tóxicos a la especie cultivada.

En virtud de ello, se decidió valorar la posibilidad del uso de la difenamida para fines de desyerbe, lo cual se recoge en el presente trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló sobre un suelo ferralítico rojo lixiviado [Calzadilla, 1982], de la Estación Experimental Forestal de Topes de Collantes, provincia de Sancti Spiritus. La temperatura media anual fue de 21, 2°C, la precipitación media anual de 2,300 mm y la altitud de 710 msnm [Tórrez, 1992].

El diseño utilizado fue totalmente aleatorizado con tres repeticiones.

Sobre un área de 13 m² se construyó un cantero de 12,0 x 1,0 x 0,15 m con una separación entre parcelas de 10 cm. La siembra se realizó por punto, depositándose tres semillas de la especie *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* Barret y Golfari. Las demás atenciones culturales en la producción de posturas a raíz desnuda, tales como la mezcla de suelo, riego, entresaque de

posturas y control de plagas y enfermedades, se ejecutaron por NRAG 326/87.

La aplicación del tratamiento preemergente se efectuó después de la siembra (23-12-91) con el suelo húmedo y limpio de malezas, utilizando la asperjadora manual SWISS-MEX, con boquilla de cono, y una solución final de 500 L/ha de caldo.

Las evaluaciones de malezas por especies se realizaron a los 30, 60 y 90 días, además de hallarle su peso seco.

Los síntomas posibles de fitotoxicidad fueron anotados según la escala de Behrenot (citada por Labrada, 1991), donde 1 = sin daño y 9 = pérdida total.

La altura de la planta cultivada se midió a los seis meses. Todos los datos obtenidos se procesaron por análisis de varianza y prueba de rangos múltiples de Duncan.

Las dosis de los herbicidas aparecen referidas a sus equivalentes de ingredientes activos en la tabla de resultados, al igual que las especies predominantes en el experimento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evaluación del efecto sobre las malas hierbas indica que el mejor tratamiento de difenamida fue el de 4,0 kg/ha, el cual disminuyó el número total de malezas en 74 y 60 % por m², así como el peso seco entre un 80 y 65, 5 respectivamente (Tabla 1).

Esta dosis a los 30 días fue efectiva contra *Portulaca oleracea* L., *Amaranthus* sp., *Argemone mexicana* L. y *Elysi sine indica* L., siendo aceptables contra *Echinochloa colona* L. y *Oxalis corniculata* L., y no fue efectivo contra *Cyperus rotundus* L. y *Parthenium hysterophorus* L. (Tabla 2).

Ya a los 60 días, aunque es superior a las dosis de 3,0 y 3,5 kg/ha i.a. y al testigo, la población de malezas fue más elevada. Esto puede estar dado por muchos factores, ya que en los suelos rojos su degradación es mucho más rápida debido a la microflora del suelo y ciertos hongos, lo que hace que sea más lixiviado que absorbido por el suelo [Labrada, 1981], y también por la agresividad de esta dosis contra estas especies. Es por ello que en suelo ferralítico rojo lixiviado y en dosis de 4,0 kg/ha i.a., su efectividad oscila entre 30-50 días.

Tabla 1. Efecto de la difenamida sobre las malezas/m² en vivero de *Pinus caribaea* var. *caribaea*

Variante	Dosis en kg/ha i.a.	Monocot.	Dicot.	Total	%	Peso seco de las malezas (g/m ²)	%
Testigo	Escarde manual	23/61	47/91	70/152c	100	104/225	100
Difenamida	3,0	22/53	38/67	60/125c	86/82	96/200	92/88
Difenamida	3,5	16/42	25/54	41/96b	59/63	65/70	63/75
Difenamida	4,0	8/23	10/37	18/60a	26/40	21/80,5	20/35

Testigo sin tratamiento (100%)

Numerador: Primera evaluación 23/1/92

Denominador: Segunda evaluación 20/2/92

Tabla 2. Efecto de la difenamida sobre las especies de malezas

Variante	Dosis en kg/ha i.a.	P.O.	Asp.	A.m.	E.i.	E.c.	O.c.	Ph.	Cr.
Testigo	Escarde manual	5/12	4/10	5/9	3/10	12/21	10/16	15/35	16/39
Difenamida	3,0	2/5	1/4	2/6	1/12	4/28	10/22	25/27	10/11
Difenamida	3,5	-/-	-/-	-/-	6/12	5/15	8/17	15/32	8/20
Difenamida	4,0	-/-	-/-	-/-	-/-	3/12	3/10	6/35	4/13

Numerador: Primera evaluación 23/1/92

Denominador: Segunda evaluación 20/2/92

Análisis sobre la fitotoxicidad

En cuanto a la fitotoxicidad, la *Tabla 3* muestra que el preparado difenamida fue altamente tóxico a la planta cultivada. Esto se debe a su selectividad fisiológica y bioquímica, así como a su solubilidad y a las características de estos suelos, que permite al producto ponerse en contacto directo con las semillas y raíces de las

posturas posterior a su emersión; además, esto afirma que la especie es susceptible, y no hay tipo de selectividad posicional como en el caso de otros herbicidas.

Ya en la última evaluación (a los 50 días), las tres dosis dejaron un total de 39 plantas vivas, pero todas afectadas con fuerte clorosis, que posteriormente provocó su muerte, lo que impidió el análisis de la altura.

Tabla 3. Análisis sobre la fitotoxicidad del pino a los 50 días

Variante	kg/ha i.a.	Plantas sanas	%	Plantas muertas	%	% Plantas vivas
Testigo	Escarde manual	300	100	-	0	100
Difenamida	3,0	80	36	220	74	26
Difenamida	3,5	40	13	260	87	13
Difenamida	4,0	0	0	300	100	0

CONCLUSIONES

El tratamiento premergente con difenamida a 3,0; 3,5 y 4,0 kg/ha de i.a. resultó altamente tóxico a *Pinus caribaea* var. *caribaea*, lo que provocó la mortalidad del 100 % de las posturas.

La difenamida en dosis de 4,0 kg/ha i.a. fue efectiva entre 30-50 días después de aplicada contra las malezas *P. oleracea*, *Amaranthus* sp. y *E. indica*, siendo aceptable su control sobre *E. colona* y *O. corniculata*, y nula su efectividad sobre *C. rotundus* y *P. hysterothorus*.

Las dosis de difenamida 3,0 y 3,5 kg/ha i.a. fueron inefectivas contra la mayoría de las malezas, y pasados los 30 días de la aplicación habían perdido la efectividad herbicida.

REFERENCIAS

- Álvarez, M.; M. Betancourt; J. Vidal: «Efectividad de la utilización de herbicidas en las labores de viveros con envases», en *Revista Forestal Baracoa*, 16 (1): 7, 1986.
- Betancourt, M. et al.: «Estudio de productos y dosis con posibilidades de utilización en la producción de posturas, preparación de sitio y mantenimiento de plantaciones», informe de etapa 509.04.08, Instituto de Investigaciones Forestales, 1990.
- Blanco, J.; F. Morales; M. Pérez: *Utilización del bromuro de metilo contra plantas indeseables en viveros de P. caribaea*, Estación Experimental Forestal Viñales, 19-29, 1987.
- Calzadilla, E.: *Estudio fisiográfico y edafológico del Escambray*, Instituto de Investigaciones Forestales, La Habana, 1982.

ESTUDIO SOBRE LA SOBREVIVENCIA DE LAS OOSPORAS Y VARIACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DE LAS POBLACIONES DE *PHYTOPHTHORA INFESTANS* (MONT.) DE BARY

Yoelquis Tomás y María O. López

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

RESUMEN

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) es fuertemente atacado por una de las enfermedades más devastadoras: el tizón tardío (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary). En la actualidad existen evidencias del surgimiento de genotipos muy agresivos. Con el objetivo de conocer la variación existente en las poblaciones fúngicas del cultivo y la sobrevivencia de las oosporas en condiciones controladas, se realizaron los aislamientos pertenecientes a los campos de producción de papa de las localidades de Artemisa, Alquizar, Güines y Batabanó en la provincia La Habana correspondiente a las campañas comprendidas entre 1994 y 1998. Se determinó el porcentaje del grupo A₂ presente. La sobrevivencia de las oosporas se estableció mediante exposiciones a temperaturas que variaron desde 20 °C hasta 45 °C y a tiempos de una hasta 72 horas, utilizando folíolos de la variedad Bintje. Este bioensayo indicó que no hubo infección a las cuatro horas y a una temperatura de 45 °C, ni a las 48 horas y a temperaturas superiores a 35 °C, mientras que a las veinticuatro horas y 40 °C las oosporas se mantuvieron infectivas. En la campaña 1994-1995 no se detectó A₂; en la de 1995-1996 fue de un nueve por ciento, en el período 1996-1997 de un ocho por ciento, mientras que en la 1997-1998 alcanzó un 95%. En nuestras condiciones estos resultados nos brindan elementos epidemiológicos sobre el papel que pueden tener las oosporas en el suelo para la aparición de infecciones de tizón tardío.

Palabras claves: *Phytophthora infestans*, oosporas, sobrevivencia, poblaciones fúngicas

ABSTRACT

Potato crop (*Solanum tuberosum* L.) is attacked by the most important disease, the late blight of potato (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary). In the present there are evidences about the formation of aggressive genotypes. The objective of this article is to know the variation in the potato fungi population and the oospore survival in normal conditions. The isolations were carried out in the potato production fields at Artemisa, Alquizar, Güines and Batabanó in Havana province, among crops campaigns including 1994 and 1998, for determining the percentage of A₂ group. The oospores had been exposed to different temperatures such as 20°C, 30°C, 40°C and 45°C, and between 1 and 72 hours using Bintje variety folioles. This bioassay indicated that 4 hours and 45°C of temperature had not infection, not either at 48 hours and at temperatures higher than 35°C, while 24 hours and 40°C the oospores maintained infective. For 1994-1995 campaign the A₂ percentage was 0%, in the 1995-1996 was 9%, in 1996-1997 was 8%, while in 1997-1998 it campaign was increased up to 96%. In our conditions these results gave us epidemiological elements about the role of oospores in the soil for the outbreaks of late blight infection.

Key words: *Phytophthora infestans*, oospores, survival, fungi population

INTRODUCCIÓN

El tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary), afecta a esta cultivo desde hace más de 150 años, y constituye el mayor obstáculo para la producción del tubérculo en los países que lo cosechan [Niederhauser, 1993]. Los análisis concernientes a la genética de sus poblaciones han revelado que sólo un tipo de cruzamiento escapó de México durante la mi-

gración inicial, y el segundo tipo de cruzamiento fue probablemente introducido hacia Europa desde el noroeste de México durante 1970 y luego introducido a otras localidades del mundo [Goodwin y Drenth, 1997]. Estos autores afirman que en 1994 muchas cosechas de papa fueron destruidas en Estados Unidos a causa de las infecciones de tizón tardío, a pesar de las

aplicaciones de fungicidas para prevenir y controlar la enfermedad.

En América se confirmó la aparición de una nueva raza del hongo llamada US-8, que es un patógeno más agresivo que el original US-1, y se evidencia que el efecto aditivo de US-1 y US-8 es más destructivo que cada uno por separado. Además, US-8 es resistente al metalaxyl, el fungicida primario que ha sido usado con buenos resultados para controlar US-1, y debido a su rápida dispersión en los campos de papa en el medio-oeste y nordeste de los Estados Unidos, ocasionó la pérdida de 26 millones de dólares a los campesinos productores [Fry y Goodwin, 1995]. En esta región sólo se presentaba el grupo A₁, y posteriormente se demostró que con ambos tipos de cruzamiento presentes hay reproducción sexual y que, por tanto, hay inóculo en forma de oosporas en el suelo, estructura capaz de sobrevivir de una estación a otra [Drenth *et al.*, 1994].

La producción de oosporas en campo y su sobrevivencia bajo condiciones naturales ha sido objeto de estudio desde la introducción de aislamientos del tipo A₂. Las oosporas de *P. infestans* se han observado en tallos pero raramente en hojas de papa y tomate crecidas en invernaderos e inoculadas con mezclas de los aislados A₁ y A₂ [Frinking *et al.*, 1987; Mosa *et al.* 1991]. Un pequeño número de oosporas se encontró en tubérculos [Grinberger *et al.* 1989]. En Europa, en las regiones de Alemania y Holanda se registró la formación de oosporas en hojas de papa en el campo, información necesaria para demostrar que estas contribuyen a epidemias de tizón tardío [Götz, 1991; Drenth, 1994]. En Canadá se han encontrado oosporas en muestras de hojas tomadas del campo [Chycoski y Punja, 1995].

En Cuba la semilla agámica de papa se importa principalmente de Canadá y Holanda, países donde existen poblaciones del patógeno con alta proporción del grupo A₂. Actualmente ya tienen dificultades a causa de la presencia de oosporas en el suelo y la resistencia al metalaxyl.

Este trabajo tuvo como objetivos el conocimiento acerca de la existencia y distribución del tipo de cruzamiento A₂ en las localidades de Artemisa, Alquizar, Güines y Batabanó en la provincia de La Habana durante las campañas entre 1994 y 1998, y determinar si las oosporas del patógeno son capaces de sobrevivir al ser expuestas a temperaturas entre 20 y 45°C, y a tiempos de una hasta 72 horas.

MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de la aparición de los focos del tizón tardío en las localidades de Artemisa, Alquizar, Güines y Batabanó, en la provincia de La Habana en las campañas del

cultivo de la papa comprendidas entre 1994 y 1998, se procedió al aislamiento del hongo *P. infestans*. Se tomaron 40 folíolos afectados por foco según apareció la enfermedad.

Las muestras fueron procesadas utilizando el método de siembra en medio selectivo recomendado para el aislamiento del hongo por Goodwin *et al.* (1992). Se determinó el grupo de compatibilidad sexual a los 213 aislamientos obtenidos mediante cruces realizados con cepas de referencia del patógeno A₁, y A₂, en condiciones *in vitro* [Ashby, 1992].

Se calculó la frecuencia de aparición de ambas poblaciones fúngicas, obteniendo el porcentaje de estas para las campañas 1994-1995, 1995-1996, 1996-1997 y 1997-1998.

Formación de oosporas en hojas bajo condiciones controladas

Se utilizaron plantas de papa de la variedad Bintje, susceptible a todas las razas del hongo. Las hojas fueron inoculadas con una gota de esporangióforos de A₁ (aislado 168.1 de Güines con 10⁶ esp/mL), y una gota de A₂, (aislado denominado 161.1 de Artemisa) a igual concentración, depositadas en los extremos de la hoja, de manera que pudieran permanecer una frente a la otra para que se produjera el enfrentamiento. Se incubaron a 20°C durante 10 días. Posteriormente las hojas se secaron a temperatura ambiente utilizando papel de filtro estéril, y se fragmentaron en un mortero hasta obtener pequeños fragmentos. Estos se mezclaron con suelo ferralítico rojo esterilizado a razón de 1mg de polvo/10g de suelo. Esta mezcla se distribuyó en 5 partes que se colocaron a 20°C, 30°C, 35°C, 40°C y 45°C, utilizando seis placas Petri con agua destilada estéril, se realizaron tres réplicas por placas a las que se le colocaron folíolos de Bintje, utilizando en total 15 folíolos, y se dejó una placa con cultivo fresco utilizada como testigo. Luego se extrajeron a tiempos de 1, 2, 24, 48 y 72 horas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron más de diez aislamientos de *P. infestans* para cada campaña del cultivo. Estos fueron identificados, lo que proporcionó un conocimiento sobre la composición de las poblaciones del hongo con respecto a su sexualidad. La frecuencia relativa determinada para la población fúngica A₂, aparece en la *Tabla 1*:

Tabla 1. Frecuencias relativas obtenidas para el tipo de compatibilidad sexual A₂

	Campaña 1994/1995	Campaña 1995/1996	Campaña 1996/1997	Campaña 1997/1998
No. de aislamientos	18	101	21	61
% de A ₂	0%	9%	8%	95%

En la *Tabla 1* se puede apreciar que en la campaña 1994-1995, en los 18 aislamientos obtenidos no se detectó A₂. En la campaña 1995-1996 se obtuvo un nueve por ciento de A₂; el ocho por ciento obtenido para la campaña 1996-1997 se debe posiblemente a que el número de muestras analizadas para este período no fue satisfactorio, debido a las dificultades presentadas en los campos de producción de papa que propiciaron la realización de aplicaciones con fungicidas antes de hacer los muestreos. Además este resultado se asemeja a la situación presentada en Europa fundamentalmente en las regiones de Polonia, Alemania y Holanda donde se obtuvo una disminución de esta población A₂ del patógeno [Fry, 1993]. El 96% de para la campaña 1997-1998 corrobora un incremento considerable de A₂ en relación con las proporciones obtenidas en las campañas anteriores, que no sobrepasaron el 10%, así como un desbalance notable entre las proporciones de A₁ y A₂, donde A₁ sólo alcanzó un dos por ciento, resultado que se corresponde con los muestreos realizados a los campos de producción de papa que reflejaron un nivel de infección severo por el tizón tardío en las variedades Red Pontiac, Chieftain, Mondial y Desiree con una afectación aproximada de un 50% de atizonamiento. Es por tanto necesario realizar estudios estadísticos sobre el equilibrio de las poblaciones A₁ y A₂, puesto que la presencia de oosporas del hongo en el suelo pueden provocar fuertes infecciones, aunque probablemente no esté ocurriendo la formación de oosporas del patógeno en los campos analizados [Turkensteen *et al.*, 1996]. Es necesario, por tanto, realizar estudios estadísticos posteriores sobre la probabilidad de formación de oosporas, puesto que la presencia de estas estructuras en el suelo podrían provocar severas infecciones, aunque puede asumirse que estas afectaciones en los campos analizados se corresponden a que como en Cuba la semilla agámica de papa es importada fundamentalmente de Holanda y Canadá, en este último país existen poblaciones del patógeno con alta proporción del grupo A₂ y condiciones que han propiciado un manejo inadecuado sobre esta enfermedad [Platt *et al.*, 1996].

Sobrevivencia de las oosporas

Este análisis indicó que a la temperatura de 45°C y cuatro horas de exposición estas perdieron la viabilidad y la capacidad infectiva, al igual que a las cuarenta

y ocho horas y a temperaturas superiores a 35°C, mientras que a las veinticuatro horas y 40°C las oosporas se mantuvieron infectivas. Cohen *et al.* (1997) demostraron que las temperaturas óptimas para la esporulación sexual alcanzan un rango de 8 hasta 15°C, pero las oosporas son mayormente producidas a 23°C. El desarrollo de los oogonios de seis a ocho días después de la coinoculación esporangial y el desarrollo de las oosporas después de 10 a 12 días coincide con nuestros resultados para la formación de las oosporas en las hojas de papa variedad Bintje, puesto que a los 10 días después de la inoculación se observaron oogonios y anteridios, y a los 14 días apareció la gruesa pared de las oosporas.

Estas investigaciones demuestran que es necesario realizar un manejo integrado de esta enfermedad y analizar cuidadosamente el material de siembra introducido antes de iniciar la campaña del cultivo para evitar las propagaciones de las poblaciones A₂ del patógeno que son más agresivas y que constituyen una fuente de inóculo primario en el suelo, capaz de desencadenar epidemias severas en nuestras condiciones.

REFERENCIAS

- Ashby, S. F.: «Oospores in Cultures of *Phytophthora faberi*» en *Kew Bull. Misc. Inf.* 9: 257-262, 1992.
- Chicoski, C. I.; Z.K. Punja: «Characteristic of Populations of *Phytophthora infestans* from Potato in Canada During 1993 and 1994». en *Phytophthora* 150, 361, 1995.
- Cohen, Y. *et al.*: «Oospore Production of *P. infestans* in Potato and Tomato Leaves», en *Phytopathology*, 87(2), pp.191-196, 1997.
- Drenth, A.; I. C. Tas; F. Govers: «DNA Fingerprinting Uncovers a New Sexually Reproducing Population of *P. infestans* in the Netherlands». en *European Journal of Plant Pathology* (in press), 1994.
- Frinking, H. D.; L. C. Davidse; H. Limburg: «Oospore Formation by *P. infestans* in Host Tissue After Inoculation with Isolates of Opposite Mating Type Found in the Netherlands». en *Netherlands Journal of Plant Pathology* 93: 147-149, 1987.
- Fry, W. E. *et al.*: «Historical and Recent Migrations of *P. infestans*: Chronology, Pathways and Implications», en *Plant Disease* 77: 653-661, 1993.
- Fry, W. E.; S. B. Goodwin: «Recent migrations of *P. infestans*», en *P. infestans* 150, pp. 89-95, 1995.
- Goodwin, S. B.; A. Drenth: «Origin of the A₂ Mating Type of *P. infestans* Outside Mexico», en *Phytopathology*, 87: 992-998, 1997.
- Goodwin, S. B.; A. Drenth; W. E. Fry: «Cloning and Genetic Analyses of Two Highly Polymorphic, Moderately Repetitive Nuclear DNAs from *P. infestans*», en *Current Genetics* 22: 107-115, 1992.

Götz, E.: «Untersuchungen zum Auftreten des A₂-paarungstyps bei *P. infestans* (Mont.) de Bary in Ostdeutschland», en *Potato Research* 34: 233-237, 1991.

Grinberger, M.; D. Kadisch; Y. Cohen: «Occurrence of the A₂ Mating Type and Oospores of *P. infestans* in Potato Crops in Israel», en *Phytoparasitica* 17: 197-204, 1989.

Mosa, A. et al.: «Formation of Oospores by *P. infestans* in Inoculated Potato Tissues», en *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 57: 334-338, 1991.

Nietherhauser, S. J.: «International Cooperation in Potato Research and Development», en *Annu. Rev. Phytopathology* 31: 1-21, 1993.

Platt, H. W.; R. D. Peters; R. Hall: «Potato Late Blight-Pathogens Populations in Canada», abstracts of Conference Papers, Posters and Demonstrations, pp 354, 1996.

Turkensteen L. J., W. G. Flier; Van P. Barlen: «Evidence For sexual reproduction of *P. infestans* in an allotment garden complex in the Netherlands, Abstracts of Conference Papers, Posters and Demonstrations, p. 356, 1996.

POTENCIAL INFECCIOSO DEL SUELO: PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA EL DESARROLLO DE *PYTHIUM APHANIDERMATUM*

Wendy Wong, Yeysica Llanos y Ana Fernández

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

RESUMEN

Pythium aphanidermatum (Edson) Fitzpatrick es un patógeno del suelo que causa grandes daños al cultivo del tabaco, principalmente en la etapa de semillero. En Cuba no existen métodos para determinar el potencial infeccioso de los suelos infestados con este patógeno, por lo que se desarrollaron varias investigaciones para conocer los parámetros óptimos para el desarrollo de *P. aphanidermatum* en el suelo y establecer un método que permita determinar el nivel de infestación de los suelos. Se evaluó la influencia de diferentes factores en el desarrollo del hongo entre los que se encuentran la temperatura para la cual se probaron 22, 27 y 32 °C; la humedad del suelo (70, 80 y 100 % de capacidad de retención de agua) y la influencia de la adición de harina de maíz y avena al uno, dos y tres por ciento para estimular el desarrollo del patógeno en el suelo. La temperatura más favorable para la infección de las plantas fue de 32 °C. Los síntomas se observaron a los tres días, y ocurrió una muerte rápida de todas las plantas. A 27 °C las primeras afectaciones ocurrieron a los cinco días, y a 22 °C a los seis días. En relación con la humedad, la mayor mortalidad de las plantas se detectó cuando el suelo se humedeció al ciento por ciento de su capacidad de retención del agua, y ya a los tres días el 75 % de las plantas estaban muertas. En el resto de las humedades probadas la incidencia de la enfermedad fue menor. La harina de maíz fue efectiva para la estimulación del desarrollo del hongo en el suelo. La dosis más favorable fue de tres por ciento (100 % plantas afectadas), y decreció de forma proporcional con las dosis de uno (62,5 %) y dos por ciento (87,5 %). Con la avena no hubo diferencias entre las dosis de dos y tres por ciento, y fue menor al uno por ciento. Estos resultados constituyen los parámetros óptimos para la elaboración de un método rápido que permite determinar de forma preventiva el potencial infeccioso de los suelos de campos contaminados con este patógeno, causante del damping off en el cultivo del tabaco. Él posibilita la selección de áreas libres o con bajos niveles del patógeno, aspecto fundamental de las estrategias de lucha para el control de los patógenos del suelo en los semilleros.

Palabras claves: *Pythium aphanidermatum*, temperatura, humedad, nutrientes

ABSTRACT

Pythium aphanidermatum is a soil pathogen that causes big damages on tobacco crops mainly at seedbed stage. In Cuba there are no methods to determine the infectious potential of infected soils with this pathogen. So several research works were developed to find optimum parameters for development of *P. aphanidermatum* on soil and to establish a method for the determination soil infection levels. The influence of different factors on the fungus develops was evaluated among which are: temperature (22, 27 and 32 °C), soil humidity (70, 80 and 100 % water retention capacity) and the effect of different doses of corn flour and oats (1, 2 and 3 %). The best temperature for plants infection was 32 °C. The symptoms were observed at the third day and fast death of all plants occurred. At 27 °C the first affectation occurred at 5 days and at 22 °C at 6 days. With respect to humidity the higher mortality was detected when the soil was 100 % humid and third day 75 % of the plants were dead. At the rest of water concentration tested the disease incidence was less. Corn flour was effective for the stimulation of the fungus development the soil. The more favourable doses was 3 % (100 % of plants was affected) and the number decreased proportionally with 1 % (62,5) and 2 % (87,5). With oats there were no differences between the doses of 2 and 3 %, was less with 1 %. These results constitute the optimum parameters to elaborate a quick method which to determine a preventive way, the infectious potential of the contaminated soils with this pathogen, which cause the damping off in the tobacco crops. This work allows the selection of free areas or with low levels of this pathogen; an important aspects for the strategies for the control of soil pathogen in seedbed.

Key words: *Pythium aphanidermatum*, temperature, soil humidity

INTRODUCCIÓN

Pythium aphanidermatum (Edson) Fitzpatrick es un patógeno del suelo que causa grandes daños al cultivo del tabaco, principalmente en la etapa de semillero. La enfermedad, conocida como *damping off* o pudrición del

pie causada por este hongo, está presente en casi todas las zonas tabacaleras de nuestro país.

Esta puede presentarse en cualquier etapa de desarrollo del semillero, produciéndose fases tanto de pudrición de

la raíz como del tallo. Los semilleros son atacados por lo general cerca de la línea del suelo; se desarrolla una podredumbre carmelita, acuosa y blanda, y las posturas caen quedando postradas en el suelo [Lucas, 1975]. Aunque las mayores afectaciones producidas por este hongo se presentan en las posturas, este también puede atacar plantas de todas las edades [Shew and Lucas, 1991].

Los hongos fitopatógenos del suelo bajo la acción de diferentes factores pueden provocar daños importantes en los cultivos. Este riesgo puede ser apreciado por la determinación del potencial infeccioso, que caracteriza la aptitud de un suelo a inducir enfermedad en el cultivo [Nourrisseau *et. al.*, 1992].

El potencial infeccioso del suelo es la cantidad de energía patogénica disponible dentro de él, y se manifiesta sobre la planta por puntos de infección, que sólo puede medirse mediante la confrontación de este con una población de un hospedero sensible, en condiciones favorables para el desarrollo del patógeno [Bouhot, 1975].

En campo la manifestación del potencial infeccioso sobre una población de plantas depende de los componentes del inóculo del patógeno (densidad, capacidad saprofítica, capacidad infecciosa), condicionada por otros factores tales como la sensibilidad de la especie vegetal, las características microbiológicas y físico-químicas del suelo, el clima y las prácticas culturales [Moret, 1992].

La aparición de una enfermedad provocada por un patógeno del suelo requiere no sólo de su presencia, sino también de la adecuación de todos los factores antes referidos. Estas condiciones no siempre están presentes, por lo que para medir el potencial infeccioso de un suelo es necesario determinar en el laboratorio las condiciones óptimas para obtener los ataques sobre una población de plantas sensible al patógeno.

El objetivo de este trabajo es conocer algunos de los parámetros óptimos para el desarrollo de *P. aphanidermatum* a fin de establecer un método que permita determinar el potencial infeccioso de los suelos destinados al cultivo del tabaco, resultados que nos ayudarán a controlar mejor la enfermedad y disminuir las pérdidas en el cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Influencia de la temperatura sobre la infección por *P. aphanidermatum*

Se utilizaron plántulas de tabaco de la variedad Corojo, de 30 días de germinadas las semillas. Se trasplantaron dos plántulas por recipiente con suelo estéril; se inocu-

laron con 0,5 g del hongo previamente crecido en medio harina-arena y se colocaron en cuartos con condiciones de alta humedad, climatizados previamente con las temperaturas de 22 ± 2 ; 27 ± 2 y 32 ± 2 °C. Se realizó una observación diaria y se cuantificaron las plantas enfermas. Se utilizaron cinco réplicas por variante y el ensayo se repitió tres veces.

Efecto de la humedad del suelo sobre la infección por *P. aphanidermatum*

Las plantas se obtuvieron de la misma forma que en el experimento anterior, y se inocularon también con 0,5 g del hongo. Las humedades del suelo probadas fueron 70, 80 y 100 % de capacidad de retención del agua del suelo ferralítico rojo, según el método de Bouhot de 1975. Los recipientes se colocaron a una temperatura de 30 ± 2 °C, el ensayo se repitió tres veces y se utilizaron cinco réplicas por cada variante. Se observaron diariamente para cuantificar las plantas enfermas.

Efecto de diferentes dosis de nutrientes sobre la infección por *P. aphanidermatum*

Las posturas utilizadas se obtuvieron de la misma forma que en los experimentos antes realizados, y se inoculó la misma cantidad del hongo. Las variantes empleadas fueron harina de maíz y avena [Bouhot, 1975] al uno, dos y tres por ciento, las cuales fueron añadidas de forma independiente alrededor del cuello de las plántulas. Los recipientes se colocaron a una temperatura de 30 ± 2 °C, el ensayo se repitió tres veces y se utilizaron cinco réplicas por cada variante. Se observaron diariamente para cuantificar las plantas enfermas.

Los testigos utilizados fueron plántulas de tabaco obtenidas de la misma forma sin inocular con el patógeno.

En los experimentos fue utilizada luz artificial (10 horas luz-14 oscuridad) con lámparas fluorescentes de 40 W (de cuatro bombillos) ubicadas a una altura de 50 cm.

Fue utilizado un diseño experimental completamente aleatorizado, y los datos del por ciento de plantas enfermas se transformaron a $\arcsen \sqrt{x}$, y se procesaron mediante el paquete estadístico Statistcf versión 4.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Influencia de la temperatura sobre la infección por *P. aphanidermatum*

Los resultados de la influencia de la temperatura se reflejan en la *Tabla 1*. En los ensayos probados se

evidenció que la temperatura más favorable para la infección de las plantas fue de 32°C. Los síntomas se observaron a los tres días y ocurrió una muerte rápida de todas las plantas sucesivamente. A 27°C las primeras afectaciones ocurrieron a los cuatro días, y a 22°C a los cinco días. En esta última temperatura la mortalidad de las plantas fue baja en comparación con las otras dos probadas. El estudio de la temperatura ha sido siempre de interés para numerosos investigadores por la importante influencia que este factor ambiental ejerce sobre el desarrollo de los microorganismos.

La temperatura incide además sobre el grado de virulencia de los patógenos del suelo. Estudios con *Pythium ultimum* en garbanzo mostraron que los síntomas de la enfermedad fueron menos leves a 10,

15 y 20°C, y la necrosis de los tejidos de las plantas fue más grave a 30°C [Bhatti and Kraft, 1992], resultados que concuerdan con los obtenidos por nosotros.

En pruebas de laboratorio, la temperatura óptima para la infección de raíces de plantas de pepino por *P. aphanidermatum* fue de 32 a 36°C, y para *P. spinosum* fue de 24 a 28°C [Lo and Lin, 1990].

En experimentos con *P. myriotylum* se demostró que temperaturas de 37°C fueron óptimas para el desarrollo de este patógeno [Anderson et al., 1997].

En todos estos resultados se demuestra que de forma general son las altas temperaturas las que favorecen el desarrollo de este género de hongos, las cuales son las que predominan en nuestro país.

Tabla 1. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento micelial de *Pythium aphanidermatum*

Temperaturas	Por ciento de mortalidad				
	3 días	4 días	5 días	6 días	9 días
22 ± 2 °C	0	0	10	30	70
27 ± 2 °C	0	10	20	50	70
32 ± 2 °C	10	20	30	50	80

Efecto de la humedad del suelo sobre la infección por *P. aphanidermatum*

La infección por el patógeno en las posturas ocurrió en todas las humedades del suelo probadas, y en el testigo no fueron observadas plantas enfermas. La mayor mortalidad de las plantas se detectó cuando el suelo se humedeció al ciento por ciento de su capacidad de retención de agua. Ya a los tres días el 75% de las plantas estaban muertas. En el resto de las humedades probadas la incidencia de la enfermedad fue menor: 37,5 y 50% de mortalidad respectivamente (Fig. 1). El potencial hídrico es uno de los factores más importantes que influyen en la producción y modo de germinar de los esporangios.

Bouhot (1975) comprobó que un 80 % de la capacidad de retención de agua en suelo resultó más favorable para el desarrollo de *Pythium* spp., mientras que con 50 y 100 % de humedad, las infecciones fueron inferiores a esta. Estos resultados no concuerdan exactamente con los obtenidos por nosotros, pero de forma general demuestran que las altas humedades del suelo favorecen el desarrollo y la infección de las especies de *Pythium*.

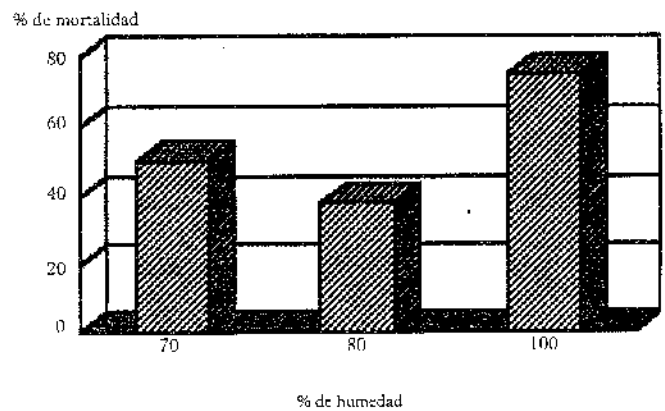


Figura 1. Efecto de la humedad del suelo sobre la infección de *Pythium aphanidermatum*

Efecto de diferentes dosis de nutrientes sobre la infección por *P. aphanidermatum*

Las sustancias orgánicas empleadas, avena en polvo y harina de maíz, resultaron adecuadas para lograr un rápido desarrollo de *P. aphanidermatum*. La dosis de harina de maíz más favorable fue de tres por ciento, donde el ciento por ciento de las plantas resultaron muertas. En el resto de las dosis decreció proporcional-

mente el porcentaje de afectación. En el caso de la avena no hubo diferencia entre las dosis de dos y tres por ciento. A uno por ciento la mortalidad fue menor (Fig. 2).

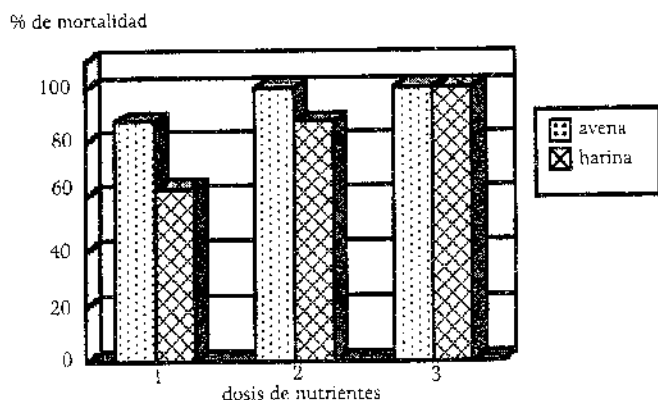


Figura 2. Efecto de diferentes dosis de nutrientes sobre el desarrollo de *Pythium aphanidermatum*

La utilización de sustancias orgánicas para favorecer el desarrollo micelial en las capas de superficiales del suelo y lograr una acción patogénica sobre plantas jóvenes, ha sido satisfactoria para patógenos fungosos del suelo como *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp. y *Fusarium oxysporum* [Camporata, 1980]. Particularmente la actividad de los integrantes de la familia *Pythiaceae* en el suelo, depende en gran medida de la presencia de materias orgánicas no colonizadas por otros microorganismos, ya que estos hongos son excelentes colonizadores primarios, pero débiles competidores del suelo [Moret, 1992].

Para *Pythium* spp. se ha informado que el aporte de avena en polvo, permite obtener un 50 % de mortalidad sobre plántulas de pepino con sólo un 1,7% de tierra naturalmente infectada, mientras que sin avena esta misma mortalidad requiere un ciento por ciento de tierra infectada; esto señaló que la avena aumentó 50 veces la sensibilidad de la detección de *Pythium* [Yarwood, 1966].

CONCLUSIONES

Podemos concluir que las altas temperaturas (27-32°C), la humedad del suelo ferralítico rojo de ciento por ciento de su capacidad de retención de agua y las dosis de dos y tres por ciento de harina de maíz y avena en polvo, están entre los parámetros óptimos para el desarrollo de *P. aphanidermatum*, que nos ayudarán a estandarizar las condiciones para elaborar un método que nos permita determinar el potencial infeccioso de suelos infestados con este patógeno.

REFERENCIAS

- Anderson, M. G.; B. A. Fortnum; S. B. Martin: «First Report of *Pythium myriotylum* in Tobacco Seedling Float System in South Carolina», en *Plant Dis.* 81: 2, 1997.
- Bhatti, M. A.; J. M. Kraft: «Effects of Inoculum Density and Temperature on Root Rot and Wilt of Chickpea», en *Plant Dis.* 76 (1): 50-54, 1992.
- Bouhot, D.: «Recherches sur l'ecologie des champignons parasites dans le sol. V. Une technique selective d'estimation du potentiel infectieux des sols, terreaux et substrats infestés par *Pythium* spp. Etudes qualitatives», en *Ann. Phytopathology* 7: 19-25, 1975.
- Camporata, P.: «Recherches sur l'ecologie des champignons parasites dans le sol. XV Choix d'une plante riège et caracterisation des sooches de *Rhizoctonia solani* pour la mesure du potentiel infectieux des soli et substrats», en *Ann. Phytopathology* 12: 31-44, 1980.
- Lo, C. T.; Y. S. Lin: «Effects of Temperature on the Infection of Cucumber Root by *Pythium aphanidermatum* and *Pythium spinosum*», en *Plant Protection, Bulletin, Taipei.* 32 (1): 1-9, 1990.
- Lucas, G. B.: «Damping-off», en *Diseases of Tobacco*, Raleigh, 1975, pp. 161-171.
- Moret, Y. A.: *Potencial infeccioso del suelo: parámetros óptimos para el desarrollo de *Phytophthora nicotianae**, Trabajo de Diploma, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, 1992.
- Nourrisseau, J. G.; D. Didelot; F. Bizais: «La fusariose de l'asperge importance, détection, prevision et perspectives pour une production de plants de qualité», en *Phytoma*, 435, 59-65, 1992.
- Shew, H. D.; G. B. Lucas: *Compendium of Tobacco Diseases*, American Phytopathological Society, St. Paul, Minn., 1991.
- Yarwood, C. E.: «Detection of *Pythium* in soil», en *Plant Dis. Rep.* 50 (10): 791-792, 1966.

DIFERENCIACIÓN DE CEPAS DE *BACILLUS THURINGIENSIS* POR LAS DIMENSIONES DE LAS ESPORAS Y CRISTALES DE DELTA ENDOTOXINAS

Orietta Fernández-Larrea y Alina Díaz

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

RESUMEN

Uno de los aspectos más debatidos de la especie bacteriana *Bacillus thuringiensis* es lo concerniente a su clasificación. En la actualidad se reconocen 34 serovares que incluyen 27 grupos y siete subgrupos, mediante el empleo de diferentes métodos serológicos, enzimáticos y moleculares. Las dimensiones de las esporas y cristales producidos por esta especie se utilizaron como criterio de diferenciación de cuatro cepas. El estudio se realizó por medición al microscopio electrónico de las imágenes fotográficas. Se encontró que la medición más estable fue el ancho de la espora, y que este carácter resultó independiente de la variedad y el serotipo.

Palabras claves: *Bacillus thuringiensis*, identificación, dimensiones de esporas y cristales

ABSTRACT

One of the main problem of *Bacillus thuringiensis* species is about its classification. Just to now, we know 34 serovars that included 27 groups and sub-groups, by using different serological, enzymatical and molecular methods. The dimensions of spores and crystal that are produced by this species have been used as criteria for the separation of the different strains. In this paper we reported the separation of four *B. thuringiensis* strain by the measure of crystal and spores image by using a electronic microscope. We have obtained that the spores width was the most stable measure and haven't relation with serotype.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, identification, measure of spores and crystals

INTRODUCCIÓN

Entre las bacterias entomopatógenas, *Bacillus thuringiensis* es la especie más conocida y utilizada en el control biológico de plagas [Enwistle, 1993]. Uno de los aspectos más debatidos de esta especie es lo concerniente a su clasificación.

En 1985 Lysenko definió 20 variedades y 19 serotipos basándose en un conjunto de propiedades bioquímicas, morfológicas y antigénicas, esta última determinada por la respuesta a los antígenos flagelares.

Posteriormente se han incluido otros criterios de clasificación como son los patrones de estearasas, de ácidos grasos, la serología de la proteína cristal y más recientemente la determinación de los genes específicos para las delta endotoxinas [Siegel *et al.*, 1993; Federici, 1993].

En 1990 De Barjac y Franchon empleando diversos métodos reconocieron 34 serovares que incluyen 27 grupos y siete subgrupos. Por otra parte, las dimensiones de las esporas se utiliza como criterio de clasificación en

los grupos de bacterias esporógenas del género *Bacillus* [Bergey's, 1874].

Otros autores han descrito que para la especie *Bacillus thuringiensis* la forma y tamaño del cristal se correlaciona con la virulencia y especificidad de su acción tóxica [Yamamoto, 1983; Imusuki y Yamamoto, 1984; Michio, 1986; Li *et al.*, 1991; Attathom *et al.*, 1995].

En este trabajo se determinaron las dimensiones de las esporas y cristales de cuatro cepas de *Bacillus thuringiensis* mediante el uso de la microscopía electrónica para conocer su valor en la diferenciación de cepas de esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron dos cepas de *Bacillus thuringiensis* pertenecientes al serotipo H3 (LBT-1, LBT-3), una perteneciente al serotipo H1 (LBT-5) y otra al H4 (LBT-4).

Las cepas se mantuvieron en forma de cultivos esporulados sobre cuñas de agar nutriente a 4 °C durante el transcurso de los experimentos.

Las muestras consistieron en suspensiones de esporas y cristales obtenidas por arrastre de los cultivos con solución salina de NaCl al 0,85% estéril. Las muestras fueron montadas sobre rejillas metálicas con membranas de formvar y contrastadas con acetato de uranilo.

Las dimensiones de las esporas y cristales se obtuvieron por medición de las imágenes fotográficas tomadas al microscopio electrónico EM V-100LM (URSS) con aumento de 4 515 x. La dispersión de las mediciones se

determinó mediante análisis de varianza para un intervalo de confianza del 95%. Los valores medios del ancho de la espora se sometieron a una prueba de Duncan para comparación de medias con un 95% de confiabilidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La *Tabla 1* muestra los valores de dispersión para las dimensiones de esporas y cristales en la cepa LBT-1. Estos resultados demostraron que la anchura de la espora fue el carácter menos variable, y por tanto el que permite detectar diferencias significativas con el menor número de mediciones.

Tabla 1. Dimensiones en milímetros de las imágenes de las esporas y cristales de la cepa LBT-1 y parámetros que caracterizan su dispersión

Parámetros	X	S	S'	IC	No. mín.
L	18,2	2,39	5,72	0,46	90
A	9,4	0,77	0,59	0,15	10
CR	13,7	4,20	17,66	0,85	277
CC	8,15	1,87	3,50	0,61	55

Leyenda

- X: Media
- S: Desviación estándar
- S': Varianza
- IC: Intervalo de confianza (95% confiabilidad)
- No. mín.: Número mínimo de mediciones
- L: Longitud de la espora
- A: Anchura de la espora
- CR: Longitud de los cristales rómbicos
- CC: Longitud del lado de los cristales

Como se observa, la longitud de los cristales resultó la medida más variable, lo cual ha sido señalado por varios autores, cuando se refieren a la influencia de las condi-

ciones del cultivo en las variaciones que se observan en el tamaño de los cristales aún dentro de una misma cepa [Hidetaka *et al.*, 1993; Li Wei y Baijop, 1991; Salontsov y Ludina, 1996].

Para las cuatro cepas estudiadas (*Tabla 2*) se pueden apreciar diferencias en cuanto a la anchura de la espora. Las cepas LBT-1 y LBT-4 resultaron más estrechas, y difieren significativamente de la LBT-3 y LBT-5, entre las cuales no se observó diferencia. La anchura de la espora resultó un carácter independiente de la variedad y el serotipo, ya que las cepas LBT-1 y LBT-3 que pertenecen a la variedad kurstaki, grupo antigénico H3, resultaron significativamente diferentes.

Tabla 2. Comparación de la anchura de las esporas de cuatro cepas de *Bacillus thuringiensis*

Cepa	Anchura de las esporas en micra
LBT-5	2,09 ^a
LBT-3	2,08 ^a
LBT-4	1,96 ^b
LBT-1	1,92

CONCLUSIONES

Los resultados permiten plantear que las dimensiones del ancho de las esporas puede ser considerado como un

elemento más en la diferenciación de cepas pertenecientes a la especie *Bacillus thuringiensis*.

REFERENCIAS

- Attathon, T.; W. W. Chanpaisang; J. Singer. «Morphological Diversity and Toxicity of Delta Endotoxin Produced by Various Strains of *Bacillus thuringiensis*», en *Bull. Entomol.* 85 (2): 165-175, 1996.
- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8a. ed., Baltimore.
- De Batjac, M.; T. Franchon: «Classification of *Bacillus thuringiensis*», en *Entomophaga*, 35: 233-240, 1990.
- Enwistle, J.: *Bacillus thuringiensis: an Environmental Biopesticide, Theory and Practice*, Wiley Ed. Officer, 1993.
- Federici, B. A.: *Bacillus thuringiensis: Biology, Application and Prospect for Future Development*, Proc. Of the 2nd. Canberra Meeting on Bt., 1994, pp. 1-15.
- Hidetaka, H.; O. Katsutoishi; M. Msayoshi: «A Novel *Bacillus thuringiensis* Specific to Scarabids», Proc. Of the 2nd. Canberra Meeting on Bt., 1993, pp. 53-58.
- Imusuki, T.; H. Yamamoto: «Relation Between Crystal form and Serotypes of *Bacillus thuringiensis* Strains», en *J. Agric. Fac., Hakhaido Univ.*, 62: 98, 1984.
- Li, J.; J. Carrol, D. Elars: «Crystal Structures of Insecticidal Delta Endotoxin from *B. thuringiensis* at 2,5 Å Resolution», en *Nature* 353: 815-821, 1991.
- Li Wei, A.; R. Bajjop: «A Modified Growth Media for *Bacillus thuringiensis*», en *Biotechnol. Prog.* 11 (5): 589-591, 1995.
- Lysenko, O.: «Taxonomía y diagnóstico de *Bacillus thuringiensis*», en *Information Bulletin, EPS, IOBC.* 13: 7-17, 1985.
- Michio, O.: «Insect Toxicity of *Bacillus thuringiensis* Isolated from Soils of Japan», en *J. Inv. Pathol.* 47: 12, 1986.
- Salontsov, K.; G. Iudina: «Scanning Tunneling and Electron Microscopy of Parasporal Crystal in *Bacillus thuringiensis*», en *Mikrobiologiya* 65 (2): 235-240, 1996.
- Siegel, J. P.; A. R. Smith; J. V. Maddox: «Use of Cellular Fatty Acids Analysis to Characterize Comercial *Bacillus thuringiensis*», en *Journal of the America Control Association* 9 (3): 330-334, 1993.
- Yamamoto, H.: «Relation Between Type of Crystal Delta Endotoxin and Serotype of *Bacillus thuringiensis*», en *Entomology and Zoology* 18 (4): 486, 1983.

FRECUENCIA DE APARICIÓN DE DOS ESPECIES DE NEURÓPTEROS EN LA PROVINCIA DE LA HABANA

Esperanza Rijo, Nidia Acosta y D. Calvo

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

RESUMEN

El trabajo se realizó en un campo de toronja (*Citrus paradisi* Osbeck, variedad Valencia) en un área de tres hectáreas en la finca 2-19 en Ceiba del Agua, provincia de La Habana. En el período de agosto de 1994 a julio de 1995 se realizaron colectas mensuales en 12 plantas escogidas al azar, durante dos horas. Los resultados de las colectas mostraron que las especies presentes en esta área fueron *Chrysopa habana* Navás (1922) y *Nodita dimidia* Navás (1925), esta última con una mayor incidencia. En el período comprendido desde inicio de noviembre hasta finales de enero, sólo se encontraron pupas de ambas especies. Los imágos de *N. dimidia* alcanzaron una mayor frecuencia de aparición en junio y *C. habana* en julio. La mayor incidencia de huevos fue en agosto, y de las larvas en septiembre.

Palabras claves: *Chrysopa habana*, *Nodita dimidia*, *Citrus paradisi*

ABSTRACT

The work was done in a field planted of grapefruit (*Citrus paradisi* Osbeck, variety Valencia), on 3 ha area, of farm 2-19 in Ceiba del Agua, Havana province during the period from August 1994 to July 1995. Monthly collects were made from 12 plants select at random, for two hours each. The results of these collections showed that the species present in this area were: *Chrysopa habana* Navás (1922) and *Nodita dimidia* Navás (1925), the latter with the greater incidence. In the period from early November to late January, only pupae of both species were found. Imágos of *N. dimidia* reached a higher frequency of appearance in June and *C. habana*, in July. Most incidence of eggs was in August and of the larvae, was in September.

Key words: *Chrysopa habana*, *Nodita dimidia*, *Citrus paradisi*

INTRODUCCIÓN

Entre las familias que pertenecen al orden *Neuroptera* se encuentra *Chrysopidae* que en Cuba está representado por 28 géneros de los cuales *Chrysopa* y *Nodita* se caracterizan por depredar insectos de cuerpo blando como áfidos, ácaros, mosca blanca, coccidos, fundamentalmente [Arroyo y Ortiz, 1996; Rijo y Acosta, 1997], por lo que pueden ser encontrados en casi todos los cultivos agrícolas y ornamentales.

La frecuencia de aparición de *Nodita dimidia* en el cultivo de cítricos en Cuba fue registrada por Mora e Incháustegui (1991); posteriormente Souza *et al.* (1995) señalaron para el cultivo de los cítricos que las especies *Chrysopa externa* y *C. habana* presentaron un aumento poblacional a partir de mayo y alcanzaron un pico en septiembre.

En campos de cítricos fueron encontrados por Junqueira *et al.* (1995) gran número de individuos de *Ceraecochrysa*

everes (*Neuroptera: Chrysopidae*), durante los meses de mayo a junio y la menor cantidad de individuos fue detectada de octubre a noviembre.

El objetivo de este trabajo fue determinar los crisópodos que se encontraban presentes en el cultivo de la toronja, y los meses de mayor o menor incidencia, para lo cual se realizaron muestreos con el fin de conocer la frecuencia de aparición de la población de los mencionados entomófagos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se llevó a cabo en un período comprendido de agosto de 1994 a julio de 1995, en un campo de toronja (*Citrus paradisi* Osbeck, variedad Valencia) de 3 ha en la Finca 2-19 en Ceiba del Agua, provincia de La Habana.

Los muestreos se hicieron una vez al mes, durante dos horas, en 12 plantas escogidas al azar. Se registraron los estados de huevos, larvas, pupas y adultos presentes en el área. Con los datos obtenidos se confeccionó una gráfica para conocer de forma general la incidencia de la familia, y otra gráfica para representar el comportamiento poblacional de las especies presentes en el cultivo, a través de la determinación de los imagos, los que se clasificaron según la clave de coloración del pronotum, cabeza, escapo y genitalias [Alayo, 1968].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las especies presentes en el cultivo de la toronja fueron *C. habana* y *N. dimidia*, y se corroboró lo planteado por Mora e Incháustegui (1991) en cuanto a que el género *Nodita* forma parte del complejo de entomófagos que pululan en los cítricos de Cuba.

Los adultos de estas especies no aparecieron en el período comprendido de noviembre a febrero y no fue hasta mayo, junio y julio, y junio, julio y agosto que las especies *N. dimidia* y *C. habana*, respectivamente alcanzaron las mayores incidencias, y ambas especies estuvieron presentes en junio y julio (Fig. 1). En julio y hasta principios de septiembre ambas especies presentaron similar frecuencia de aparición, y se observó cierta estabilidad en la población de imagos. Es durante septiembre que comienza su disminución en el cultivo, y no se observó la presencia de adultos de estas especies en los muestreos que fueron realizados durante noviembre, diciembre y enero. Registros similares de la especie *C. everes* realizados por Junqueira *et al.* (1995) en campos de cítricos en Taquaritinga, Brasil, al coleccionar el mayor número de individuos en mayo y junio, y no así en octubre y noviembre.

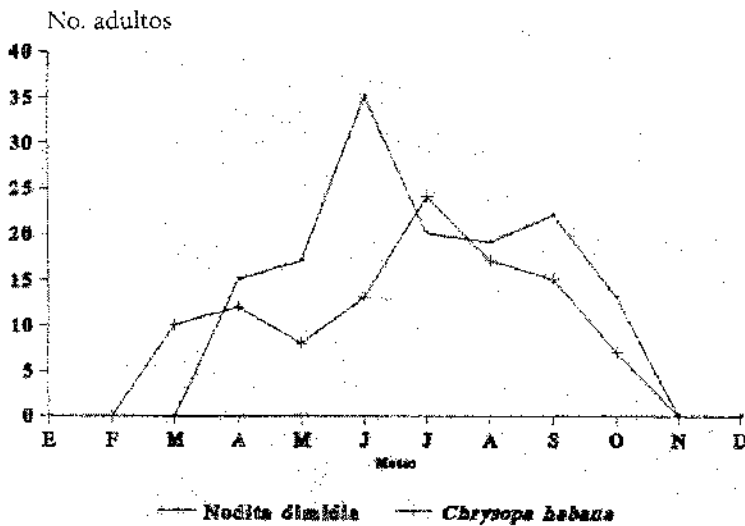


Figura 1. Dinámica poblacional de adultos de crisópidos en toronja (Ceiba del Agua, La Habana)

En la Fig. 2 se puede observar que para el estado embrionario existe un pico de frecuencia de aparición de huevos en condiciones normales en agosto, lo cual se debió a un incremento en la oviposición durante julio, lo que se corresponde con las poblaciones de imagos de *N. dimidia* y *C. habana* que desde comienzos de mayo y junio, respectivamente (Fig. 1) se detectó el aumento paulatino de sus poblaciones en el ecosistema de toronja en Ceiba del Agua. Este aumento de la oviposición permitió la existencia de altos índices de eclosión de ellos, y conllevó a la aparición de mayores cantidades de larvas en el mes siguiente (septiembre), así como una disminución progresiva de huevos hasta finales de diciembre. Esta reducción de las puestas se corresponden con los presentados por Kolaib *et al.* (1990) para *C. carnea*, la cual mostró las mayores mortalidades na-

turales del estado embrionario del crisópido mencionado bajo condiciones invernales en la India. Esta conducta similar entre los depredadores objeto de estudio y *C. carnea*, se puede haber debido a la semejanza geográfica de ambos territorios, dado la latitud en los que ellos se encuentran. La recuperación poblacional del estado larval de los crisópidos inició lentamente desde marzo por el aumento de las poblaciones de adultos de *Ch. habana* a partir del febrero (Figs. 1-2). Esto indica que las especies sobrevivieron en cocones, fundamentalmente durante los meses invernales, dada la mayor resistencia a las variaciones ambientales que les posibilita a los insectos esta estructura.

En general los valores correspondientes al número de huevos y larvas en la zona muestreada siguieron un comportamiento ascendente de marzo a agosto, no así de

septiembre en adelante, donde se produjo una disminución paulatina de los adultos de ambas especies de crisópidos.

En la Fig. 2 se puede observar que durante todo el período evaluado, incluso en los meses de noviembre,

diciembre y enero, se mantuvo estable la detección de pupas a pesar de lo engorroso de su búsqueda, lo que nos permite inferir que en este estado les fue posible sobrevivir a ambas especies el período invernal.

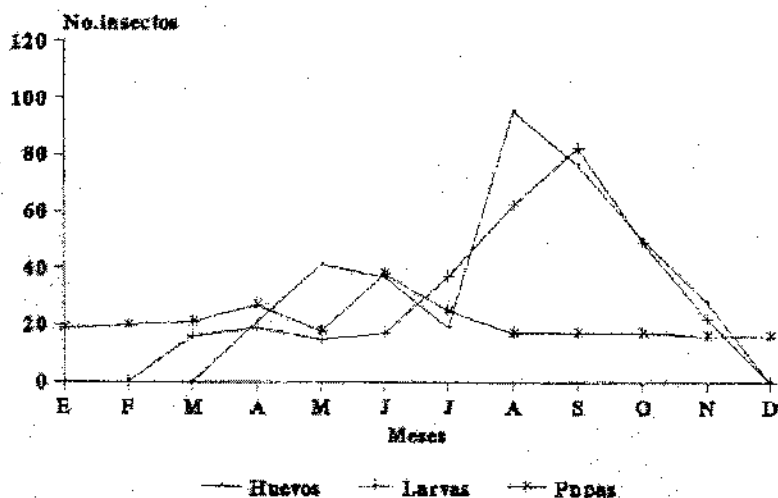


Figura 2. Dinámica poblacional de estados preimaginales de crisópidos en toronja (Ceiba del Agua, La Habana)

CONCLUSIONES

Las dos especies de crisópidos encontradas en campo de toronja (*C. paradisi*) fueron *C. habana* y *N. dimidia*; esta última apareció en mayor proporción y tuvo dos picos poblacionales fundamentales en junio y septiembre, y *C. habana* en julio.

La principal incidencia de huevos y larvas de crisópidos en el cultivo de toronja (*C. paradisi*) fue registrado en agosto y septiembre, respectivamente.

La frecuencia de aparición del estado pupal de crisópidos en el cultivo de toronja (*C. paradisi*) se mantuvo estable durante el año, incluso en noviembre, diciembre y enero.

REFERENCIAS

Alayo, P. P.: *Los neurópteros de Cuba*. Poeyana, Serie B. no. 2, Instituto de Biología, ACC, 1968.

Arroyo Najer, J.M.; M. Ortiz Catón: «Duración del ciclo biológico y depredación sobre mosquita blanca y pulgones de una especie de crisopa de cuerpo», XIV Congreso Nacional Control Biológico, Memoria, 1996, pp. 56-58.

Junqueira, C.H.; S. Freitas; Ana Luiza de Queiroz: «Fluctuação populacional de *Ceraecocrysa everes* (Neuroptera: Chrysopidae) em pomar de citrus em Taquaritinga», XV Congreso Brasileiro de Entomología. ESAL. Resúmenes, 1995, p. 267.

Kolaib, M.O.; M.N. Abdella; E.T. Darwish: «Natural Mortality of Aphid Lion (*Chrysopa vulgaris*) Eggs», en *Indian Journal of Agricultural Sciences* 60(11): 751-752, 1990.

Mora, M.; R. Inchaustegui: «*Nodita* y *Leucochrysa*, dos géneros de la familia Chrysopidae presentes en los cítricos de Cuba», en *Centro Agrícola* 18(2): 83-84, 1991.

Rijo Camacho, Esperanza y Nidia Acosta Amador: «Biología de cuatro especies de la familia Chrysopidae en Cuba», Resúmenes, Tercer Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal, Palacio de Convenciones, Ciudad de La Habana, Cuba, 23-27 junio de 1997, p. 177.

Souza, Brígida Lenida V; Santa-Cecilia Costa; Freire, C.: «Dinámica populacional de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) em cítricos na região de Lavras-M. G.», XV Congreso Brasileiro de Entomología, ESAL, Resúmenes, 1995, p. 336.

CONDICIONES DE PRODUCCIÓN DE UN METABOLITO ACTIVO POR UNA BACTERIA AISLADA DEL SUELO

Orietta Fernández-Larrea, Bertha Carreras y María E. Márquez

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

RESUMEN

Se estudiaron las condiciones de producción de un metabolito activo por una bacteria aislada del suelo perteneciente a la especie *Bacillus megaterium* sobre el hongo *Dreschlera* spp. Se determinó la influencia de la melaza de caña a diferentes concentraciones, así como la relación entre el consumo de azúcares reductores, la cinética de crecimiento y la producción del metabolito activo. El efecto de la melaza demostró que entre uno y cinco por ciento se detectaba actividad antifúngica; sin embargo, a concentraciones superiores no se detectó. La cinética de consumo de azúcares reductores estuvo asociada a la producción de metabolito activo; y se correspondió la máxima producción con la fase logarítmica final y un mayor consumo de azúcares reductores del medio. Entre los valores de pH estudiados no apareció diferencia en cuanto al desarrollo de la bacteria; valores cercanos a la neutralidad no inhibieron su desarrollo. Una relación de volumen 1/5 (oxígeno 3-4mg/L) resultó la más adecuada para el desarrollo de la bacteria.

Palabras claves: melaza de caña, metabolitos, bacterias de suelo, antagonistas

ABSTRACT

It was studied the production's conditions of an active metabolite by a bacterium isolated belonging to *Bacillus megaterium* specie from soil on fungus *Dreschlera* spp. It was determined the influence of sugarcane molasses to different concentrations and the relationship between the consumption of reducing sugars, growth kinetic and metabolite's production. The sugarcane molasses's effect showed that between 1-5% was detected antifungal activity, however, to more higher sugarcane molasses's concentration it was not detected. The kinetic of consumption of reducing sugars had associated to active metabolite production and there was a relation between the maximum production with the end logarithmic phase and a more bigger consumption of reducing sugars from medium. Between the values of pH studied didn't appear differences in bacterium development, the values near to the neutrality didn't inhibit it. One volume relationship 1/5 (oxygen 3-4mg/L) resulted best adequate for bacterium development.

Key words : sugarcane molasses, metabolite, antagonist, soil bacteria

INTRODUCCIÓN

El control biológico de enfermedades que afectan cultivos de interés, ha tenido un marcado incremento en las últimas décadas. Los microorganismos como eficientes supresores de las plagas por mecanismos antagónicos que incluyen la competencia por nutrientes, el hiperparasitismo y la antibiosis, esta última mediante la excreción de antibióticos y metabolitos bioactivos, ha abierto un nuevo campo de trabajo en la biotecnología agrícola [Hender, 1984; Pirijanova, 1986].

Entre los microorganismos con potencialidades para el control de patógenos de plantas, se han reportado algunas bacterias, principalmente de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas*, las cuales pueden producir sustancias biológicamente activas que se obtienen en los caldos de cultivos [Bullot, 1965].

El estudio de las condiciones de reproducción y producción de un metabolito activo contra hongos de suelos a

partir de una bacteria aislada por el Instituto de Cítricos y Frutales perteneciente a la especie *Bacillus megaterium*, fue el objetivo de trabajo de esta investigación.

MATERIALES Y MÉTODOS

La cepa bacteriana denominada B₂ fue aislada de suelos cubanos y cultivada en medio agar nutriente enriquecido con 0,3% de extracto de levadura y dos por ciento de glucosa (MS). Después de cuatro días de incubación a 28°C se mantuvo a 4°C durante los experimentos.

Las suspensiones del cultivo se realizaron por arrastre de las células crecidas en el medio agarizado con solución salina de NaCl 0,85% estéril. Las concentraciones fueron ajustadas a 10⁸ cel/mL.

Para los cultivos líquidos agitados se emplearon frascos erlenmeyers de 500 mL con 100 mL de medio, los cuales

después de inoculados a una concentración inicial de 10^8 cel/mL fueron agitados durante 48 h en una zaranda orbital entre 80 y 100 golpes/min. La temperatura se mantuvo entre 26 y 28°C.

Para el ajuste inicial de los medios de cultivos se utilizó un diseño de optimización por rectángulos ortogonales latinos [Biriukov, 1968], y se empleó una matriz 3 x 4

(Tabla 1). Para todas las variantes se tuvo en cuenta la relación carbono-nitrógeno, por la influencia que tiene en la producción de metabolitos [Vanek y Meruik, 1977; Halmberg y Suvanem, 1990]. Los resultados se compararon con un medio de referencia (MR), compuesto por glucosa 10 g/L, peptona 8 g/L y extracto de levadura 5 g/L.

Tabla 1. Matriz experimental de optimización de la fuente de nitrógeno. Relación C/N

Variante	Licor de maíz g/L	H. soya g/L	Torula g/L	C/N
1	5	0	5	1,6
2	5	5	0	0,27
3	5	10	20	1,15
4	5	20	10	3,67
5	10	5	10	3,35
6	10	0	20	0,97
7	10	20	0	0,62
8	10	10	5	2,02
9	20	20	0	1,10
10	20	10	5	2,77
11	20	0	10	3,45
12	20	5	20	1,37
13	0	20	20	1,32
14	0	10	10	3,25
15	0	15	5	1,62
16	0	0	0	0

Fuente de carbono: Glucosa 10g/L

Se determinó la influencia de la melaza de caña a diferentes concentraciones, así como la relación entre el consumo de glucosa, la cinética de crecimiento y la producción del metabolito. El crecimiento de la bacteria se determinó por conteo en cámara de Neubauer empleando un microscopio de contraste de fase con 200X aumento. Las muestras se tomaron durante veinticuatro horas cada dos horas en los cultivos agitados. El consumo de glucosa se determinó mediante la técnica del ácido 3, 5 dinitro salicílico.

La actividad biológica se determinó en el caldo fermentado, para lo cual se centrifugó el cultivo después de 24 h a 1 500 rpm. El sobrenadante se sometió a 110 °C en autoclave durante 20 min, con la finalidad de inactivar las células.

Las diferentes concentraciones de los caldos tratados se probaron añadiendo una gota sobre un porta objeto excavado, conjuntamente con una gota de una suspensión de 10^6 conidios/mL del hongo *Dreschlera* spp., y se

determinó la inhibición sobre la germinación de los conidios del hongo por efecto del caldo de cultivo de la bacteria. La observación de los conidios se realizó mediante microscopio de contraste de fase a 200X.

Entre los parámetros estudiados se determinó la influencia del valor del pH entre cinco y ocho sobre el desarrollo de la bacteria, para lo cual se empleó el medio MR con diferentes pH inicial.

La temperatura se fijó entre 27-30 °C, teniendo en cuenta que es el rango de temperatura al que generalmente se desarrollan las bacterias pertenecientes al género *Bacillus*.

Mediante la variación de la relación entre el volumen de medio y el volumen del frasco, se determinó la influencia del oxígeno en la producción del metabolito.

En todos los casos el inóculo consistió en una suspensión de 10^8 cel/mL obtenidas en cultivo agitado sobre el mismo medio de fermentación, y 18-20 h de cultivo.

La cinética de producción del metabolito fue determinada por su actividad biológica contra *Dreshtera* spp. a diferentes tiempos del cultivo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los resultados de la optimización de la fuente de nitrógeno (Tabla 2) se encontró que la levadura torula

a una concentración de 10 g/L resultó la mas favorable en el desarrollo de la bacteria. En un segundo experimento, en el cual se sustituyó la glucosa por la melaza y sacarosa a concentraciones de 10 g/L, se determinó que en los medios con melaza no aparecía diferencia en relación con el crecimiento del microorganismo (Tabla 3).

Tabla 2. Influencia de la fuente de nitrógeno. Efecto de concentraciones

<i>Licor de maíz</i>			
0/-2,5	5/+1,39	10/+1,5	20/-0,38
<i>Harina de soya</i>			
0/-1,95	5/+1,6	10/-0,7	20/-0,27
<i>Torula</i>			
0/-0,83	5/+0,48	10/+2,12	20/+0,49

Tabla 3. Comparación de efecto de la fuente de carbohidratos en el desarrollo de la bacteria

<i>Medio</i>	<i>Cel/mL 24 h de cultivo</i>	<i>Halo de inhibición</i>
M1 Levadura 10 g/L Melaza 15 g/L	$1,2 \times 10^9$ (endosporas)	12 mm
M2 Levadura 10 g/L Glucosa 15 g/L	$1,3 \times 10^9$ (endosporas y esporas)	14 mm

La comprobación del efecto de la melaza en la producción del metabolito a diferentes concentraciones (Tabla 4) demostró que entre uno y cinco por ciento se detectaba la actividad antifúngica; sin embargo a concentraciones superiores no se detectó. Los valores máximos correspondieron a concentraciones entre dos y cinco por ciento, lo que corresponde a una relación carbono/nitrógeno del medio empleado (torula 10 g/L y melaza a diferentes concentraciones) de 0,63 y 0,95 respectivamente. En el medio de referencia MR la relación carbono-nitrógeno es de 0,30 y el valor promedio de halo de inhibición es de 15 mm. En el medio con melaza se obtiene un 27% menos de actividad biológica, lo que puede estar dado no sólo por la relación carbono/nitrógeno, sino también por otras sustancias que pueden influir en la producción del metabolito de forma inhibitoria, aunque no en el crecimiento de la bacteria. Esta influencia negativa de algunos nutrientes en la producción de metabolitos ha sido reportada para otros microorganismos [Gause, 1965; Demain, 1966; Fernández-Larrea, 1981; Levinson *et al.*, 1990].

Cuando se estudió el consumo de glucosa en el medio MR se determinó que entre 8-10 h de cultivo se había consumido el 40%, correspondiendo con la fase loga-

Tabla 4. Efecto de la concentración de melaza sobre la actividad biológica del caldo fermentado

<i>Melaza (%)</i>	<i>Halo de inhibición (mm)</i>
1	8
2	11
3	10
4	8
5	7
10	-
15	-
20	-
25	-
M2 (glucosa)	15

rítmica de crecimiento. A partir de este tiempo hasta las veinticuatro horas, continúa el consumo hasta un 63% del total. La actividad biológica se empieza a incrementar a partir de las seis horas y a las diez horas se obtiene

un valor máximo, lo que concuerda con el final de la fase logarítmica. Es a partir del mayor consumo de glucosa que se produce el máximo del metabolito, lo que indica que se trata de un metabolito secundario, tal como se describe en otros procesos por otros autores [Blands, 1977; Egorov *et al.* 1977; Fernández-Larrea, 1981]. Entre los valores de pH estudiados no apareció diferencia alguna en cuanto al desarrollo de la bacteria y en todos los casos se obtuvo un valor máximo del metabolito entre 10 y 12 horas del cultivo; esto indica que valores cercanos a la neutralidad no inhiben el desarrollo de la bacteria. Durante el proceso de crecimiento se determinó que coincidiendo con un mayor consumo de glucosa a las 8-10 horas se observó una disminución del pH en el medio, que alcanzó valores mínimos de 5,5, lo cual tampoco resultó inhibitorio. A partir del agotamiento de la fuente de carbohidratos ocurrió un aumento del pH en el medio y después de 24 horas se alcanzaron valores cercanos a siete, lo cual coincidió con la fase de esporogénesis (*Gráfica*).

Cuando se empleó melaza los títulos máximos de actividad biológica se detectaron a las veinticuatro horas de cultivo (*Tabla 5*), lo cual concuerda con la fase final logarítmica. Estos resultados indican la necesidad de trabajar en la prolongación de esta fase para obtener una máxima acumulación de metabolito en el medio.

Tabla 5. Actividad biológica en el medio con melaza (M1) a diferentes tiempos de cultivo

Tiempo cultivo (h)	Halo de inhibición (mm)
10	6
16	6,5
20	8,5
24	10
48	7

En lo relativo a la demanda de oxígeno en el proceso (*Tabla 6*) se determinó que una relación de volumen de 1/5 que se corresponde en la zaranda empleada con 3-4 mg/L resultó la más adecuada para el desarrollo de la bacteria, ya que en el medio melaza la fase logarítmica final se alcanzó entre las 18-20 h, aún cuando no fue ensayada la actividad biológica.

CONCLUSIONES

Para la obtención del metabolito bioactivo por la cepa B₂ de la bacteria estudiada, las condiciones de cultivo más apropiadas son:

Medio: Melaza 10g/L
Torula 15g/L
Relación C/N entre 0,60-0,75
Temperatura: 28 - 30°C
Tiempo del proceso: 20-24h
Fase final logarítmica
Relación volumen 1/5 (oxígeno 3-4 mg/L)

La cinética de consumo de carbohidratos está asociada a la producción del metabolito activo, y se corresponde a la producción máxima con la fase final logarítmica y un mayor consumo de glucosa en el medio.

Tabla 6. Influencia del volumen de medio en el desarrollo de la bacteria en cultivo agitado. Medio M1

Relación vol.medio-vol.frasco	Concentración cel/mL 24 h
2-5	8 x 10 ⁸ b
1-5	2,5 x 10 ⁹ a
0,5-5	1,3 x 10 ⁹ ab

CV: 26%

REFERENCIAS

- Biriukov, V.: *Planificación de experimentos mediante métodos matemáticos por rectángulos ortogonales latinos*, Ed. Ministerio de Ciencias Médicas de Moscú, 1968, pp. 57-63.
- Bland S.: «Microbial Growth and Production of Antibiotic». en *Folia Microb.* 23, 208, 1977.
- Bullock J. D.: *The Biosynthesis of Natural Compounds. An Introduction to Secondary Metabolism*, Mc Grow Hill Publishing, Londres, 1965, p. 48.
- Demain A. L.: «Industrial Fermentation and this Relation to Regularity Mechanisms», en *Adv. Appl. Microb.* 8(1):1-26, 1966.
- Egorov N. S., T.P. Udalova: «Sporeulation and Production of Gramicidin by *B. brevis*», en *Antibiotiki.* 220 (4): 307, 1977.
- Fernández-Larrea O.: *Biología del Bacillus licheniformis productor del antibiótico bacitracina*, Tesis Dr. en Ciencias Biológicas, ACC, 1981, p. 207.
- Gause G.F.: *Conferencia sobre antibióticos*, Ed. Universitaria, La Habana, 1965, pp. 20-132.
- Hender K.: «Procedimientos para la preparación de productos pesticidas para el control de hongos fitopatógenos por vía biosintética», en *Pat.* 850,1954, España, 1984.
- Holmberg, A.; T. Suvarnem: «Fermentation of *B. thuringiensis* for Exotoxins Productions. Analysis Study», en *Biotechnology and Bioengineering* 2:2 170-174, 1990.
- Levinson B. L.; K.J. Kasian; S. S. Chim: «Identification of Beta Exotoxins and a New Exotoxins of *B. thuringiensis*», en *J. of Bacteriology* 172 (6): 3172-3179, 1990.
- Pirijanova, A.: Comunicación personal, 1986.
- Vanek Z.; K. Merulík: «Microbial Growths and the Production of Antibiotics», en *Folia Microb.* 23, 304, 1977.

DAÑOS, DISTRIBUCIÓN Y ENEMIGOS NATURALES DE LA CHINCHE DE ENCAJE DEL AGUACATE *PSEUDACYSTA PERSEAE* (HEIDEMANN) (HEMIPTERA: TINGIDAE)

P. de la Torre,¹ L. Almaguel¹ y E. Blanco²

¹ Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

² Centro Nacional de Sanidad Vegetal (subdirección de Cuarentena Vegetal). Calle Ayuntamiento 231 e/ Lombillo y San Pedro, Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana

RESUMEN

Pseudacysta perseae (Heidemann), plaga de reciente introducción en Cuba, provocó serias afectaciones en nuestros aguacateros. Sus daños en Ciudad de La Habana en 1997 fueron de un 25% en ligero, 38% en medio y 37% en intenso. Se evaluó la incidencia de la plaga en diferentes clones del cultivo procedentes de la Estación de Frutales de Alquizar y del INIFAT, los cuales se mostraron igualmente susceptibles al ataque del insecto. Los enemigos naturales encontrados incluyen crisópidos, coccinélidos, míridos, ácaros y arañas; de ellos las crisopas y las arañas son las más eficientes.

Palabra claves: aguacate, *Pseudacysta perseae*, distribución, daños y enemigos naturales

ABSTRACT

Pseudacysta perseae (Heidemann) a recently introduced pest in Cuba caused serious affection in our avocado tree. Its damages in Havana City in 1997 were 25% in light, 38% in medium and 37% intense. The incidence of the pest in different varieties coming from the Fruit Station of Alquizar and from the INIFAT was evaluated. The varieties were equally susceptible to the attack of the insect. The found natural enemies include lacewings, ladybirds, plant bugs mites and spider. Spider and lacewings were the more efficient.

Key words: avocado, *Pseudacysta perseae*, distribution, damage and natural enemies

INTRODUCCIÓN

Pseudacysta perseae (Heidemann) (Hemiptera: Tingidae) constituye una plaga recién señalada para el aguacatero (*Persea americana* L.) en Cuba [Blanco *et al.*, 1997]. Su presencia se señala hasta ahora en el sur de Estados Unidos, México, Bermuda, Puerto Rico y República Dominicana [Mead y Peña, 1991]. Las afectaciones que ocasiona este insecto a las plantas son apreciables tanto en la fase de vivero, fomento, como plantaciones de producción.

Esta chinche realiza sus daños en el envés de las hojas, donde se alimenta de la savia y produce la destrucción gradual de los tejidos, lo que deviene en la formación de áreas cloróticas fácilmente visibles por el haz de la hoja, y que se corresponde con la ubicación de la colonia que forma el insecto en el envés. Todo parece confirmar lo planteado por Mead y Peña (1991) en relación con la posibilidad de que *P. perseae* contribuya a la proliferación del hongo *Colletotricum gloeosporioides* Penz., al producir daños físicos en la epidermis de la hoja durante el

proceso de succión de savia, aunque no se han realizado investigaciones en este sentido.

En las condiciones específicas de la provincia de Ciudad de La Habana, donde el aguacatero está confinado a huertos particulares o plantaciones periféricas, y su producción se destina fundamentalmente al consumo interno de la población, las áreas han sido severamente afectadas desde la aparición de la plaga.

Nuestro propósito es dar una valoración de los daños ocasionados por este insecto, su comportamiento en distintas variedades así como los enemigos naturales asociados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una encuesta durante 1997 sobre la situación fitosanitaria del cultivo del aguacate en la provincia de Ciudad de La Habana.

La incidencia de la chinche se determinó atendiendo al área foliar afectada: ligero (menos del 10 % del área foliar afectada), medio (más del 10% y hasta un 50% del área foliar afectada) e intenso (más de un 50 % del área foliar afectada).

En evaluaciones realizadas a diferentes variedades de aguacate en la Estación de Frutales de Alquizar y en el INIFAT, se determinó el nivel de afectaciones producidas por la plaga en cada una de ellas. Se tomaron 20 hojas por árbol, y como indicador de comparación se utilizaron las poblaciones del insecto, empleándose la siguiente escala:

- 0: Sana
- 1: Con presencia de huevos
- 2: Hasta cinco insectos por hoja
- 3: De seis a diez insectos por hoja
- 4: De 11 a 20 insectos por hoja
- 5: Más de 20 insectos por hoja

estimándose el grado medio de población con la fórmula $GMP = \sum nxv/N$, donde n : número de plantas por grado, v : grado de población por planta, y N : total de hojas muestreadas.

Los enemigos naturales presentes en el cultivo fueron colectados en viales y observados en el laboratorio para su determinación.

Para el procesamiento de los resultados se hizo un análisis de varianza, y para la comparación de medias, el test de Newman-Keuls con un cinco por ciento de nivel de significación, todo esto realizado con la ayuda del programa estadístico STATITCF.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se registraron 99,3 ha con ataque ligero de *P. perseae*, mientras que 150,3 ha y 147,6 ha mostraron afectaciones medias e intensas respectivamente. De un total de 22 558 posturas que había en existencia en los principales viveros, la totalidad resultó afectada.

Con posterioridad al señalamiento de *P. perseae* en Ciudad de La Habana, la plaga ha logrado expandirse a otras regiones del país y hasta el momento se registra también en las provincias de La Habana, Pinar del Río, Cienfuegos, Ciego de Ávila y Guantánamo.

El grado medio poblacional observado en las 18 variedades no difirió de forma significativa, aunque se observó que las del grupo Antillano en general mostraron un mayor índice de población por hoja (Tabla 1).

Tabla 1. Grado medio de población de *Pseudacysta perseae* (Heidemann) en diferentes clones de aguacatero

No.	Variedad	Grado medio población	Grupo ecológico
1	Duque (Duq*)	0,3	Mexicano
2	Suardia (Sua*)	0,56	Guatemalteco
3	California (Cif*)	0,53	Guatemalteco
4	Choquette (Cho*)	0,6	Guatemalteco
5	Lula (Lul*)	0,83	Guatemalteco
6	Chavao # 3 (Cha 3*)	0,23	Guatemalteco
7	Pedro Luis (P.L*)	0,86	Guatemalteco
8	Monroe Estación (Mon*)	0,53	Guatemalteco
9	Amado Gómez (A.G*)	0,73	Guatemalteco
10	Itzamná (Itz*)	1,0	Guatemalteco
11	CHI # 3 (CH3*)	0,63	Guatemalteco
12	José Antonio (J.A*)	1,0	Antillano
13	Casimiro Soledad (Cas*)	1,66	Antillano
14	Catalina (Cat*)	0,7	Antillano
15	Wilson (Wil*)	1,26	Antillano
16	Jaruco # 1 (Jar*)	0,96	Antillano
17	Los Moros (Mor*)	0,36	Antillano
18	Sicilia # 6 (Sic*)	0,23	Antillano
D.E. = 0,49			

En condiciones similares en una colección de variedades del Instituto de Investigaciones de Agricultura Tropical (INIFAT), se evaluó la incidencia de la plaga en un total de 14 variedades, incluidos indistintamente en los grupos Antillano y Guatemalteco. De igual forma se detectó la presencia de la plaga en todas las variedades. No obstante se observó en las variedades Quijano e Ideal

menor afectación por la plaga; además, la caída de las hojas no alcanzó niveles tan elevados como los observados en las otras variedades.

Se han encontrado varias especies de enemigos naturales asociadas a *P. perseae* (Tabla 2), pero sólo se confirma la actividad depredadora de las larvas de crisopas y arañas de la familia Theridiidae.

Tabla 2. Enemigos naturales asociados a *Pseudacysta perseae* (Heidemann) en Cuba

Grupo zoológico	Familia	Especie
Insectos	Chrysopidae	<i>Chrysopa exterior</i> Navas
		<i>Nodita vegana</i> Navas
		<i>Nodita cerverai</i> Navas
	Coccinellidae	<i>Psyllobora nana</i> Mulsant
		<i>Cycloneda sanguinea</i> L.
		<i>Paracarnus cubanus</i> Brunner
Ácaros	Phytoseiidae	<i>Euseius hibisci</i> Chant
	Cunaxidae	<i>Cunaxa</i> sp.
Arañas	Salticidae	<i>Lyssomanes</i> sp.
	Theridiidae	<i>Theridula</i> sp.

CONCLUSIONES

La provincia de Ciudad de La Habana se ha visto duramente afectada en su mayor parte por el ataque de este insecto, el cual se ha diseminado a lo largo de todo el país.

Todos los clones de aguacate son igualmente susceptibles al ataque de *Pseudacysta perseae*.

Se encuentran asociados a *P. perseae* especies de insectos de la familia *Chrysopidae* (*Chrysopa exterior* Navas, *Nodita cerverai* Navas, *Nodita vegana* Navas); *Coccinellidae* (*Cycloneda sanguinea* L., *Psyllobora nana* Muls.), *Miridae* (*Paracarnus cubanus* Brun.); ácaros de la familia *Phytoseiidae* (*Euseius hibisci* Chant) y *Cunaxidae* (*Cunaxa* sp), así como dos especies de arañas (*Lyssomanes* sp. y *Theridula* sp.).

Las especies de Crisopas y las arañas del género *Theridula* (*Theridiidae*) se encontraron depredando a *P. perseae*.

El control biológico de *P. perseae* parece constituir un elemento importante en la disminución de los efectos nocivos de esta chinche, a juzgar por los resultados que

existen en cuanto a la acción depredadora de algunos neurópteros [Rijo, E. *et al.*, 1997] y la patogenicidad que muestran algunos microorganismos al insecto. [Almaguel *et al.*, 1997].

REFERENCIAS

- Almaguel, Lérída *et al.*: «Control de la chinche del aguacate *Pseudacysta perseae* (Heidemann) en Ciudad de La Habana», P. 43, p. 179. Tercer Seminario Científico internacional de Sanidad Vegetal, 23-27 junio 1997, Palacio de las Convenciones, Ciudad de La Habana, Cuba.
- Blanco, E. *et al.*: «La chinche del aguacate [*Pseudacysta perseae* (Heidemann)] en Cuba». Resumen, P. 34, p. 174. Tercer Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal, 23-27 junio 1997, Palacio de Convenciones, Ciudad de La Habana, Cuba.
- Mead, F. W.; J. E. Peña: *Avocado Lace Bug, Pseudacysta perseae* (Hemiptera: Tingidae), Entomology Circular no. 346, Florida, Dept. Agric. & Consumer Services, Division of Plant Industry.
- Rijo, Esperanza; Nidia Acosta: *Nodita firmiini* Navas (Neuroptera: Chrysopidae) depredador eficiente de estados juveniles de *Pseudacysta perseae*, Resumen P. 16, p. 165, trabajo presentado en el Tercer Simposio de Sanidad Vegetal, Ciudad de La Habana, Cuba.

CONTROL DE LA CHINCHE DEL AGUACATE (*PSEUDACYSTA PERSEAE* (HEIDEMANN)) EN CIUDAD DE LA HABANA

Lérida Almaguel,¹ E. Blanco,¹ P. Suárez,² P. de la Torre,¹ Idalia Cáceres,¹ Carmen Nieves,¹ María E. Márquez¹ y Lourdes Blanco¹

¹ Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a.B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

² Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de La Habana. Calle 27 no. 22816 e/ 228 y 234, La Coronela, La Lisa, Ciudad de La Habana

RESUMEN

Pseudacysta perseae (Heidemann) (Hemiptera: Tingidae), constituye una plaga recién señalada en Cuba; provoca la caída masiva del follaje del aguacate (*Persea americana* L.), en fase de vivero, fomento y plantaciones en producción. En las condiciones específicas de Ciudad de La Habana, donde este frutal está confinado a huertos particulares y plantaciones penféricas, su producción fue severamente afectada durante 1996. Desde febrero a mayo de 1997 se realizaron ensayos de laboratorio para el control con medios biológicos (*Bacillus thuringiensis*, cepas LBT-5, 9, 12, 13, 16, 17, 19, 20 y 25, así como con cuatro especies de hongos entomopatógenos). Además, en campo se probaron diferentes alternativas: en plantaciones de vivero, dos especies de hongos, (100 g p.c./L de agua), disulfoton (0,5 a 1 g i.a. por planta), dimetoato (0,04% i.a.), diazinon (0,06% i.a.), tabaquina (1g/l) e hidróxido de cal (4g/L) y las más efectivas se aplicaron en áreas de fomento de un año, y en plantas de más de 30 años se trataron con disulfoton de 1-3 g i.a./m de altura de la planta, enterrado a cinco centímetros en la zona de goteo de la copa, dimetoato, diazinon y metamidofos, todos a razón de 50 mL p.c./planta, aplicados por un sistema de inyección al tallo principal del árbol. Todos los medios de lucha utilizados disminuyeron las poblaciones del insecto con respecto al testigo, aunque se destacaron por su efectividad las cepas LBT-9, 13, 19 y 25, así como tres de los hongos probados con más de 50% de reducción de la población total. De las formulaciones químicas evaluadas, disulfoton controló al ciento por ciento la población de la chinche a los 21 días de aplicado en vivero y más del 80% en plantaciones en producción, con resultados semejantes de metamidofos por el sistema de inyección. También resultaron efectivos dimetoato y tabaquina, pero sólo aplicados al follaje.

Palabras claves: *Pseudacysta perseae*, *Persea americana*, hongos entomopatógenos

ABSTRACT

Pseudacysta perseae (Heidemann) (Hemiptera: Tingidae), is a pest recently reported from Cuba. It causes mass defoliation of avocado (*Persea americana* L.) in nurseries, or in motion cropping areas and production fields. Under the specific conditions of the Havana City province where this fruit tree is confined to home gardens and peripheral plantations, its production has been severely affected since February-May 1997. Laboratory trials were made to control the pest with biological agents (*Bacillus thuringiensis* LBT-5, 9, 12, 13, 16, 17, 19, 20 and 25, as well as with 4 entomogenous species of fungi). Besides, in the field, different alternatives were tested in nurseries, with two species of fungi (100 g p.c/l of water), disulfoton (0,5 to 1 g a.i. per plant), dimethoate (0,04% a.i.), tobacco broth (1g/l) and lime hydroxide (4 g/l) and the most effective were applied one year in promotion cropping areas and to plants more than 30 years old disulfoton was applied at 1-3 g a.i. meter of plant height, buried 5 cm deep in the soil within foliage dropping zone, dimethoate, diazinon and metamidofos, all the rate of 50 mlcp per plant applied by a system of injection in the tree main stem. All the used means of control reduced the insect population as compared with the control. An outstanding activity was shown by the strains LBT-9, 13, 19 and 25 as well as 3 of the tested fungi with more than a 50% reduction of the total population. Among the evaluated chemical formulations, the disulfoton gave a 100% control of the population of bugs 21 days after its application in nursery and more than 80% in producing plantations, with similar results of the metamidofos by the injection system. Effective results were also given by dimethoate and tobacco broth but only when applied on foliage.

Key words: *Pseudacysta perseae*, *Persea americana*, entomopathogens fungi

INTRODUCCIÓN

La chinche de encaje del aguacate, *Pseudacysta perseae* (Heidemann), fue descrita primeramente como *Acysta perseae* en la Florida, Estados Unidos en 1908. Unos años más tarde, en 1926, Blatchley

describió el género *Pseudacysta* al cual fue transferido dicho insecto debido a su diferencia marcada con el género en el que había sido ubicado inicialmente.

Durante casi un siglo esta plaga estuvo limitada en su distribución fundamentalmente a la península de la Florida y México, donde siempre se catalogó como plaga de menor importancia en las plantaciones de aguacate. Hasta el momento se señala la presencia de *P. perseae* en el sur de Estados Unidos (1908), México [Brailovsky and Torre, 1985], Bermuda [Henry and Hibern, 1990] Puerto Rico [Medina-Gaud *et al.*, 1991] y República Dominicana [Abud Antun, 1991].

Moznette (1922) recomendó en la Florida sulfato de nicotina para el control de la chinche del aguacate. García Álvarez *et al.* (1967) en México utilizaron para-tion-metyl, malation, dimetoate y diazinon.

A partir de 1991, *P. perseae* comenzó a tomar importancia para los cultivadores del aguacatero en la Florida. De igual forma, en Puerto Rico y República Dominicana se señalan severas afectaciones de esta plaga [Abud Antun, 1991].

Pseudacysta perseae (Heidemann) (Hemiptera: Tingidae) constituye una plaga recién señalada en Cuba [Blanco *et al.*, 1997], y provoca la caída masiva del follaje del aguacate (*Persea americana* L.) en fase de vivero, fomento y plantaciones en producción. En las condiciones específicas de Ciudad de La Habana, este cultivo está confinado a huertos particulares y en la periferia de la ciudad, y su producción se destina al consumo interno de la población. Durante 1996 se produjeron severas afectaciones en los rendimientos, indicadas por algunos productores como superiores al 50% con respecto a cosechas normales. Actualmente mantiene altos niveles de población y se ha distribuido en otras localidades de la región occidental del país.

Las plantaciones de aguacate en producción no son tratadas con plaguicidas; en el caso de vivero y fomento se realizan tratamientos contra algunas enfermedades de importancia económica. El objetivo de este trabajo fue ofrecer medidas preliminares para la disminución de las poblaciones de esta plaga con la mínima afectación del entorno y, en particular, en las plantaciones establecidas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todas las pruebas de laboratorio se realizaron a partir de hojas tomadas de plantaciones con altos niveles de población de la chinche. Cada tratamiento constó de cuatro réplicas (espacio) a razón de una hoja por réplica; se contó la población de adultos y ninfas antes y a los tres, cinco y siete días después de la aplicación. Los tratamientos se realizaron con un aspersor manual y una solución final de 4 mL del preparado de cada agente biológico, utilizado en su máxima concentración. El cálculo de mortalidad se determinó a partir de la población inicial y la de los siete días.

Se utilizaron las cepas 5, 9, 12, 13, 16, 17, 19, 20 y 25 de *Bacillus thuringiensis* (Bt) producidas en caldo nutriente con una concentración de $3-4 \times 10^8$ UfC / mL en un solo ensayo del 25 de febrero al 5 de marzo de 1997.

Para los hongos el experimento se realizó con una cepa de *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* y dos cepas de *Verticillium lecanii* (1 y 2) y se aplicaron de $6-8 \times 10^8$ UfC/ mL, y se repitió tres veces, del 25 de febrero al 3 de marzo, del 8 al 17 de marzo, y del 24 al 31 de marzo de 1997.

El trabajo en plantaciones de vivero se llevó a cabo en la granja Wajay, Boyeros, de la Empresa de Cultivos Varios de Ciudad de La Habana, en la variedad Gato, injertada en enero, en un área de 60 m de largo con ocho canteros de tres hileras de bolsas cada uno (50 plantas/m de cantero).

Se montó un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas (210 plantas/parcelas) por variantes:

- Disulfoton G 10 a 1 y 2 g i.a./m de altura enterrado, y tapado a 5 cm de profundidad en el ruedo de la planta. La dosis más baja se combinó además con una aplicación foliar de *V. lecanii* a 100g/L
- *V. lecanii* a 100 g/L
- *B. bassiana* a 100 g/L
- Tabaquina a 0.8 g/L
- Dimetoato CE 38 a 0,04 % i.a.
- Hidróxido de cal a 10 g/L
- Tabaquina + cal (1+ 4 g/L)
- Diazinon CE 60 a 0,06% i.a.

Se realizaron dos aplicaciones (7 y 19 de marzo) a todas las variantes que no incluían al granulado. Las aplicaciones se realizaron con mochila manual a razón de un litro de solución final por parcela (réplica). Las evaluaciones semanales (7 de marzo al 3 de mayo) se realizaron sobre 20 plantas en el área central de las parcelas, y se elaboró la siguiente escala de índice de población y fórmula de evaluación del grado medio de población (GMP) de la chinche.

- 0 Plantas sin ninfas ni adultos.
- 1 Plantas con hasta cinco ninfas y adultos.
- 2 Plantas con 6-10 ninfas y adultos.
- 3 Plantas con 11-20 ninfas y adultos.
- 4 Plantas con más de 20 ninfas y adultos.

En fomento, el trabajo se desarrolló en las áreas cercanas al vivero en una plantación de un año, intercalada con vegetales y con riego por aspersión. Se montó un diseño de bloques al azar con cinco réplicas (una planta cada una) y seis variantes:

- *V. lecanii* a 100 g/L
- *B. bassiana* a 100 g/L
- Bt-5 a 100 mL/L
- Bt- 19 a 100 mL/L
- Dimetoato 38 CE a 0,04% i.a.
- Testigo sin tratamiento

Las aplicaciones se realizaron con mochila manual a razón de 0,5 L de solución final por planta.

Se realizó una evaluación inicial y a los 7, 15 y 30 días después de la aplicación, se calculó el GMP de la chinche por la escala antes señalada, pero sobre cinco hojas por plantas tomadas al azar. El porcentaje de disminución del GMP se calculó en todas las variantes con respecto al testigo.

En plantaciones en producción el ensayo se realizó en áreas de un pequeño productor del Rincón, Santiago de las Vegas (provincia de La Habana), en árboles de 12 a 20 m de altura y más de 30 años de edad. Las variantes se conformaron con tres plantas (para lograr uniformidad), y fueron las siguientes:

- Disulfoton G 10 a 1, 2 y 3 g i.a./m de altura
- Dimetoato 38 CE a 0,04% i.a.
- Diazinon CE 60 a 0,06% i.a.
- Metamidofos CS 60 a 0,03% i.a.
- Testigo sin tratamiento

Se muestrearon 20 hojas por árbol, y se evaluaron por la escala de índice de población, antes y después de la aplicación, cada siete días hasta 30 (14 de febrero a 14 de marzo), y se calculó GMP de la chinche.

En los ensayos de campo se calculó el grado medio de población (GMP) a partir de $\sum n(g)/N$, donde:

n : número de individuo en cada grado (g) de la escala;
 N : tamaño de la muestra.

Los análisis estadísticos se realizaron a partir de la normalización de los datos, ANAVAR y comparación de medias por la prueba de Newman-Keuls para $p = 5\%$, realizado con la ayuda del paquete estadístico STATITCE.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los ensayos de laboratorio con las cepas de *B. thuringiensis* para el control de la chinche del aguacate se obtuvieron niveles de mortalidad tanto en ninfas como adultos a partir de las 72 horas y máximos de cinco a siete días con 78,5 a 96,5 %, excepto la cepa Bt-9 con 52. A partir de los siete días se observó resurgimiento de población por la eclosión de los huevos no afectados por el preparado biológico. Las cepas Bt-19, 5, 13, 25 y 9 produjeron mortalidad por encima de 50 % a partir de los tres días de aplicado (Fig. 1).

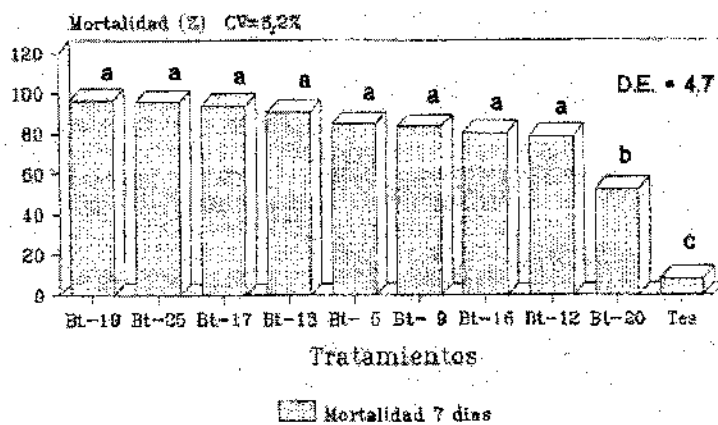


Figura 1. Mortalidad de la chinche del aguacate con diferentes cepas de *B. thuringiensis*

De las cepas en ensayo, sólo Bt-13 ha sido recomendada a la producción para el control de ácaros en papa (*Solanum tuberosum*, L.), cítricos (*Citrus* spp.) y en plátanos y bananos (*Musa* spp.) [Almaguel y col., 1994] el resto de las cepas se encuentran en fase de desarrollo. En Cuba actualmente se aplican diferentes productos biológicos a base de *B. thuringiensis* para el control de plagas insectiles en programas de manejo en tabaco, col, maíz y pastos, entre otros [Fernández-Larrea, 1996].

Todas las cepas y especies de hongos entomopatógenos utilizados para el control de *P. persae* en condiciones de laboratorio produjeron alto nivel de mortalidad con

presencia de micelio a partir de cuatro a cinco días de aplicado en *B. bassiana*. La cepa 2 de *V. lecanii* fue la menos efectiva y más variable en los tres ensayos realizados; el resto produjo reducción de población por encima de 88 % a los siete días de la aplicación (Fig. 2).

En general la afectación a la población de la chinche (ninfas y adultos) se inicia más rápido y puede ser superior para *B. thuringiensis* que en los hongos entomopatógenos, dado por las diferencias en el mecanismo de acción de estos microorganismos; sin embargo, la aparición de los síntomas y la verificación de estos es bien evidente para los últimos y muy precaria para la bacteria.

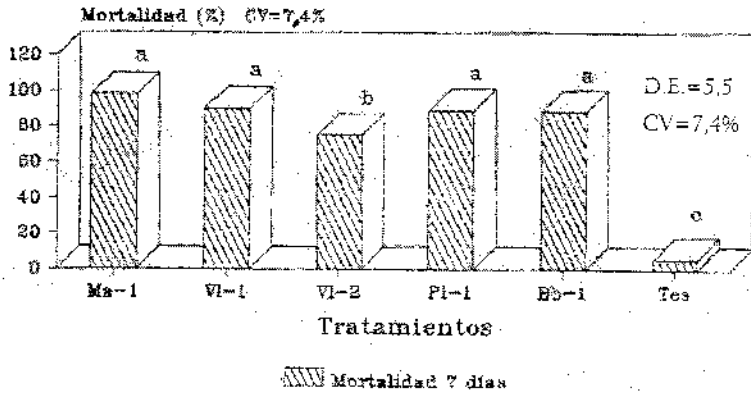


Figura 2. Mortalidad de *Pseudacysta perseae* con diferentes hongos entomopatógenos (ensayo de laboratorio, 1997)

En Cuba se reproducen y aplican micoinsecticidas a base de estos hongos para el control de plagas de coleópteros, lepidópteros y otros grupos de insectos, e incluso nematodos del género *Meloidogyne* spp. También se realiza control biológico de un hemíptero en arroz (*Oehalus insularis*) con preparados a base de *M. anisopliae* [López, 1996].

En la literatura internacional consultada no hay referencia del control microbiológico de esta chinche.

En las condiciones de vivero se realizó una sola aplicación en las variante con diferentes concentraciones de granulado sistémico (disulfoton), con ciento por ciento de control a partir de los siete días y sin resurgimiento de población hasta la ultima evaluación realizada (60 días). Para el resto fue necesario repetir la aplicación a los 12 días por incremento del índice de población con respecto a la evaluación anterior. En este resultado influyó también el lavado de los productos de contacto

por los riegos que se realizaron cada cuatro días, según la norma para esta fase de cultivo, y explican la mayor efectividad de dimetoato (sistémico) y la tabaquina (acción fumigante máxima en la primera hora de aplicado). *V. lecanii*, *B. bassiana* en ambas aplicaciones resultaron similares a diazinon y superior a la cal (Figs. 3 y 4).

Los productos químicos tradicionales presentaron la mayor reducción de población de la chinche a los cinco días de aplicados, los biológicos a los siete y disulfoton a los 15, y sólo en este químico no se observaron huevos viables en el resto de las evaluaciones realizadas.

En la plantación de fomento los índice de población fueron relativamente bajos, y a los 30 días de la aplicación habían descendido, incluyendo el de las plantas testigos (Tabla 1). La disminución del índice de población de la chinche fue máximo (95,4 %) con dimetoato a los siete días, seguido por *B. bassiana* y la cepa Bt-19 de *B. thuringiensis* (Tabla 2).

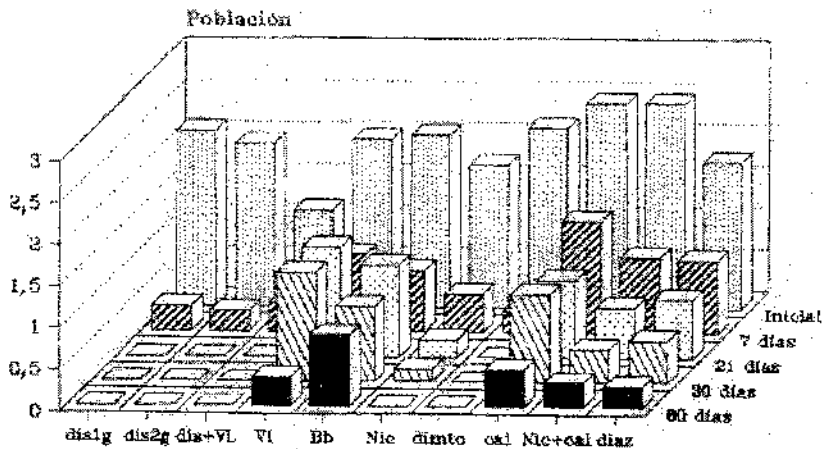


Figura 3. Índice de población de *P. perseae* en vivero con diferentes tratamientos (7/3 a 5/5 de 1996)

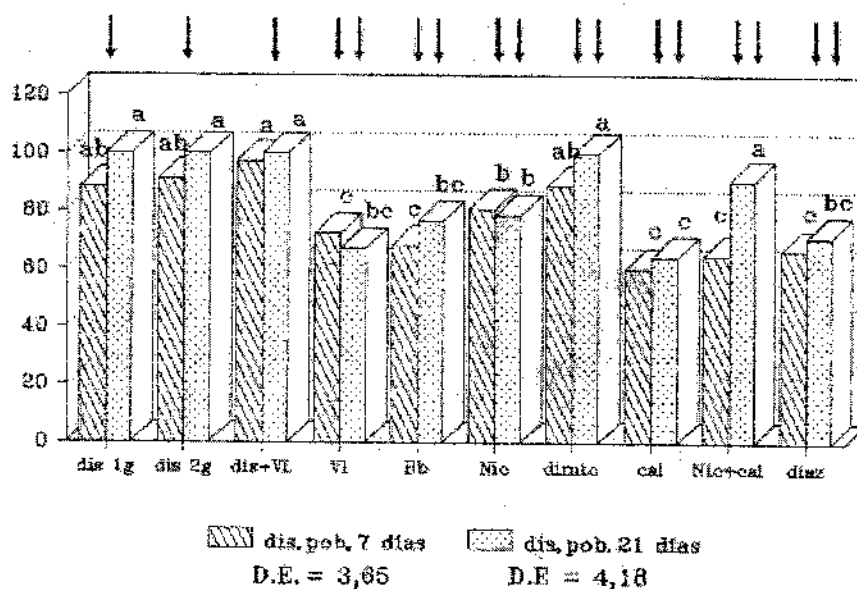


Figura 4. Disminución (%) del índice de *P. perseae* (plantas de vivero)

Tabla 1. Índice de la chinche en plantaciones de fomento antes y a las 30 días de la aplicación

Tratamientos	Inicial	30 días
<i>Verticillium lecanii</i> -1	1,0	0,29 a
<i>Beauveria bassiana</i> -1	0,9	0,45 a
<i>Bacillus thuringiensis</i> -1	1,4	0,33 a
<i>Bacillus thuringiensis</i> -5	0,9	0,33 a
Dimetoato	0,7	0,53 a
Testigo	1,5	0,48 a
D.E.	-	0,27
CV (%)	-	12,98

Tabla 2. Disminución (%) del GMP de la chinche en plantaciones de fomento después de la aplicación (7 días)

Tratamientos	Dosis	Disminución del GMP con respecto al testigo
<i>Verticillium lecanii</i> -1	100 g/L	56,2 cd
<i>Beauveria bassiana</i> -1	100 g/L	74,4 b
<i>Bacillus thuringiensis</i> -1	100 mL/L	62,4 c
<i>Bacillus thuringiensis</i> -5	100 mL/L	52,0 d
Dimetoato 38 CE	0,04% i.a.	95,4 a
D.E.	-	6,0
CV (%)	-	8,9

En las plantaciones de producción, metamidofos redujo en 95,6 % el índice de población a los siete días después de la aplicación, similar a disulfoton a 3g i.a. / m, con poco control de diazinon y dimetoato. A los 30 días de

la aplicación los índices de plaga habían descendido significativamente en metamidofos y disulfoton a 1,2,3g i.a./m. El resto de los tratamientos fueron similares al testigo sin tratamiento (Tabla 3).

Tabla 3. Control de la chinche en plantaciones de aguacate de más de 30 años

Tratamiento	Disminución (%) del GMP después de la aplicación		GMP de la chinche
	7 días	15 días	A los 30 días
Disulfoton 3 g i.a./m	88,40 ab	84,70 a	0,34 ba
Disulfoton 2 g i.a./m	83,90 b	85,00 a	0,38 ba
Disulfoton 1 g i.a./m	79,20 b	70,70 ab	0,44 ba
Dimetoato 500 mL/P	46,30 c	58,70 b	0,64 bc
Diazinon 500 mL/P	3 740 d	10,00 c	0,94 c
Metamidofos 500 mL/P	9 560 a	85,00 ab	0,04 a
Testigo sin aplicación	-	-	1,01 c
D.E.	4,50	8,60	0,18
CV (%)	6,26	2,5	4,75

P: planta

La baja acción de dimetoato utilizado en inyección al árbol debe estar relacionada con poco poder de traslocación en la planta, ya que en las plantaciones de vivero y fomento resultó uno de los químicos más efectivos. Diazinon es un producto de penetración, y su efecto sobre la plaga fue bajo, en vivero en contacto directo con la plaga y por ende mucho más bajo en el sistema de aplicación utilizado en plantaciones en producción.

Moznette (1922) recomendó en la Florida sulfato de nicotina para el control de la chinche del aguacate. García Álvarez y col. (1967) en México, utilizaron paration-metyl, malation, dimetoate y diazinon.

CONCLUSIONES

El mejor control de la chinche del aguacate *Pseudacysta perseae* (Heidemann) en condiciones de laboratorio se obtuvo con *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* y la cepa 1 de *Verticillium lecanii* aplicadas de $6-8 \times 10^8$ UfC/mL. En los ensayos preliminares, todas las cepas de *Bacillus thuringiensis* fueron efectivas, excepto Bt-9.

En plantaciones de vivero el control más efectivo se obtuvo con disulfoton G 10 a 0,5 y 1 g i.a./planta en una aplicación, y dimetoato 38 CE a 0,04% i.a. con dos aplicaciones en 21 días. Tabaquina fue efectiva en ambas aplicaciones con índices de población de la chinche muy bajos a partir de los 21 días de iniciadas las aplicaciones. *V. lecanii* y *B. bassiana* a 100g/L (10^8 UfC/mL) controlaron la plaga a más del 60% en cada aplicación, y fueron similares a diazinon CE 60 a 0,06% i.a. y algo superior a hidróxido de cal (4g/L).

En el ensayo de fomento el índice de población inicial de la chinche fue bajo. Se realizó una sola aplicación y a los 30 días se obtuvo una reducción de la infestación considerable en todas las variantes. El mejor control se obtuvo con dimetoato 38 CE a 0,04% i.a. seguido por *B. bassiana* a 100 g/L (10^8 UfC/mL).

En plantaciones en producción el control de la chinche fue efectivo con una aplicación por inyección al tallo principal del árbol con 50 mL p.c./árbol de metamido-

fos CS 60, y con disulfoton G 10 a 1, 2 y 3 g i.a./m de altura. Dimetoato 38 CE a 0,04% i.a. y diazinon CE 60 a 0,06% i.a. no fueron efectivos por el sistema de inyección al árbol.

REFERENCIAS

- Abud Antun, A. J.: «Presence of the Avocado Lace Bug, *Pseudacysta perseae* (Heidemann) (Hemiptera: Tingidae) in Dominican Republic», Primera Jornada de Protección Vegetal, University of Santo Domingo, Dominican Republic (Abstract, p.4).
- Almaguel, Lérica et al.: «Utilización de *Bacillus thuringiensis* (Bt-13) en programas de lucha contra ácaros en cítrico, plátano y papa», Inf. Final. INISAV, 1993.
- Blanco, E. et al.: «La chinche del aguacate [*Pseudacysta perseae* (Heidemann)] en Ciudad de La Habana», Resumen P. 43 p. 179, Tercer Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal, 23-27 junio 1997, Palacio de Convenciones, Ciudad de La Habana.
- Blatchley, W. S.: «Heteroptera or True Bugs of Eastern North América, with Special References to the Faunas of Indiana and Florida», en *Nat. Plu. Co.*, Indianapolis: 448-501.
- Brallovsky, H.; L. Torre: «Hemiptera-Heteroptera de México. XXXVI Revisión de la familia Tingidae La Porte», Anales de Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, 56 (1985), *Zoología* (3): 869-932.
- Fernández-Larrea, Orietta: «Microorganismos en el control fitosanitario en Cuba: tecnologías de producción», Conferencia Curso Internacional de Sanidad Vegetal CISAV 97, INISAV, Ciudad de La Habana, julio 1997.
- Heidemann, O.: «Two New Species of North American Tingidae», en *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 10 (1-2): 103-108.
- Henry, T. J.; D. J. Hibern: «An Annotated List of the True Bugs (Heteroptera) of Bermudas», en *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 92 (4): 675-684.
- López, Miriam: «Las producciones artesanales de medios biológicos en Cuba», Conferencia Curso Internacional de Sanidad Vegetal, CISAV 96, INISAV, Ciudad de La Habana, julio de 1996.
- Mead, F. W.; J. E. Peña: «Avocado Lace Bug, *Pseudacysta perseae* (Hemiptera: Tingidae)», Entomology Circular no. 346, Florida, Dept. Agric. & Consumer Services, Division of Plant Industry.
- Moznette, G. F.: «The Avocado, its Insect Enemies and How to Combat Them», U. S. Department of Agriculture Farmers, *Bulletin* 1261.
- Medina-Gaud, S.; A. E. Segarra-Carmona; A. Franqui: «The Avocado Lacewing Bug, *Pseudacysta perseae* (Heidemann) (Hemiptera: Tingidae)», en *Journal Agriculture of the University of Puerto Rico* 75 (2): 185-188.

SISTEMA DE PRONÓSTICO PARA EL TIZÓN TARDÍO DE LA PAPA CAUSADO POR *PHYTOPHTHORA INFESTANS* (MONT.) DE BARY EN CUBA

Guadalupe Gómez

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

El tizón tardío de la papa, causado por *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, es una de las enfermedades más importantes que afecta a ese cultivo en Cuba, fundamentalmente en el occidente del país, región con las mayores áreas plantadas y mejores condiciones climáticas. El hongo evoluciona adecuadamente en ambientes fríos (11-28 °C) y húmedos (60-100 % Hr), donde se presentan lluvias, lloviznas, neblinas y nieblas.

Fue necesario profundizar acerca de las relaciones del comportamiento de la enfermedad con el clima, la evaluación y validación de los métodos de pronóstico, así como la creación de un nuevo modelo, más eficaz, para las condiciones de Cuba.

La edad más susceptible de las plantaciones en áreas de producción para observar los primeros síntomas se determinó que es entre 30 y 60 días. El intervalo de tiempo óptimo en que estos aparecen es el mes de enero.

Los métodos de pronóstico Naumova modificado para predecir la aparición de los primeros síntomas y Umbral de lluvias, para el pronóstico de la ocurrencia de epifitotias fueron evaluados por primera vez en ocho localidades, durante 15 años y validados en dos de las tres provincias que más áreas le dedican al cultivo, detectándose la importancia de los períodos favorables y la cuantificación de la lluvia como bondades de ambos, respectivamente; así como los desaciertos, tener incluida la lluvia de forma cualitativa y un alto umbral crítico de la temperatura media, también respectivamente.

Se precisó la importancia de la correcta clasificación de los períodos favorables, la necesidad al menos de la ocurrencia de dos de ellos para que sean observados los primeros síntomas y la relación frente frío-período favorable-aparición de los primeros síntomas. Fueron estudiadas las correspondencias entre los tipos de frentes fríos y la ocurrencia de períodos favorables y se determinó que las mismas no satisfacen los requerimientos agrometeorológicos necesarios para ser utilizados en futuros pronósticos sinópticos. Aproximadamente, el 50% de los frentes fríos que llegan al país producen los períodos favorables para *P. infestans*.

Resultó novedosa la identificación de la relación entre las precipitaciones atípicas en enero, febrero y marzo en los años en que el evento meteorológico El Niño-Oscilación Sur (ENOS) influyó sobre Cuba y la incidencia de epifitotias de tizón tardío y su conocimiento contribuyó en 1994-95 y 1997-98 a disminuir las pérdidas por la enfermedad.

A partir de la integración de lo más positivo de los métodos de Naumova modificado y Umbral de lluvias se generó un nuevo modelo de pronóstico: el Índice de Riesgo del Tizón Tardío (IRTT), con el objetivo de hacer predicciones más confiables para la aparición de los primeros síntomas de la enfermedad y la incidencia de epifitotias. Con el cálculo de los valores diarios o semanales del IRTT se pueden hacer valoraciones acerca de la peligrosidad ante la cual se exponen las plantaciones del cultivo en los territorios.

Estos resultados han aumentado los conocimientos sobre las relaciones entre el patógeno y las condiciones climáticas, y han permitido la elaboración de un Sistema de Pronóstico para el Tizón Tardío de la Papa. A partir de la información meteorológica mensual y diaria es posible conocer con suficiente tiempo de antelación las

características epifitotológicas de la futura campaña, cuando deben aparecer los primeros síntomas y tomar las medidas adecuadas para disminuir el impacto de una situación de desastre en el cultivo, o disminuir el número de tratamientos químicos cuando no existan las condiciones favorables.