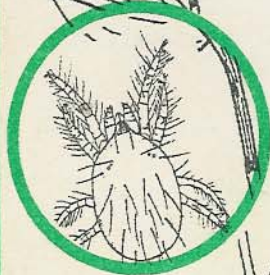
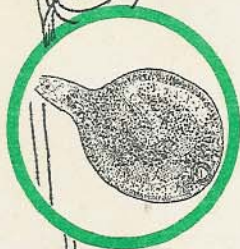


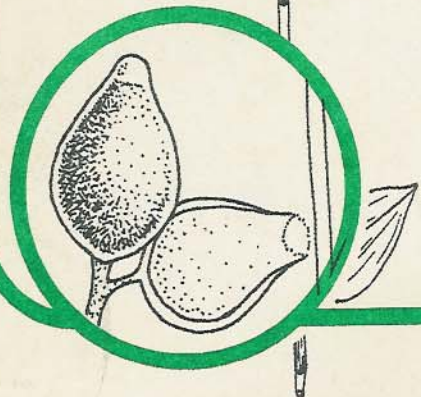
**Primer registro en Cuba de la pudrición de la vaina del arroz por *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams & Hawks.**



**Evaluación del impacto del cambio climático sobre el comportamiento de *Thrips tabaci* Lind (Thysanoptera: Thripidae) en el cultivo del ajo en Cuba**



**Estudios preliminares en la obtención de cebos para el combate de caracoles**



**Desorción de plaguicidas en suelo**

**Estudios de preparados biológicos para el control de áfidos y aleuródidos en cítricos**

# Contenido

## • DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO

- Aplicación de la técnica ELISA indirecto para el diagnóstico de tobamovirus en semillas de tomate en Cuba 3  
Ana L. Echemendía, Gloria González, Caridad Font y Yadira Alfonso
- Primer registro en Cuba de la pudrición de la vaina del arroz por *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams & Hawks. 7  
Ileana Sandoval, María O. López, Tania Bonilla y Yoelkis Tomás
- ## • ECOLOGÍA
- Listado de plantas hospedantes de la mosca blanca (*Bemisia* spp) (Homoptera: Aleyrodidae) asociadas con el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en agroecosistemas del Valle del Cauto 13  
María A. Fonseca, J. Machado, J. Pérez, Diana Bruqueta, C. Tornés, A. Verdecia, Carmen Guerrero y María I. Castellá
- Evaluación de la capacidad alelopática del mastuerzo (*Lepidium virginicum* Lin.) sobre lechuga y arroz 17  
R.C. García, E. Paredes y F. La O
- Consumo de alimento de *Heliothis virescens* (F) en el cultivo del tabaco en condiciones de laboratorio 23  
Felicia Piedra y M. Moliner
- Evaluación del impacto del cambio climático sobre el comportamiento de *Thrips tabaci* Lind. (Thysanoptera: Thripidae) en el cultivo del ajo en Cuba 27  
S. F. Jiménez, Ángela Porras y J. Cortiñas
- Preferencia alimentaria de *Diaphania hyalipalata* (Linn.) (Lepidoptera: Pyralidae) sobre plantas de la familia Cucurbitaceae 31  
E. Pozo
- ## • CONTROL QUÍMICO
- Determinación de acrilonitrilo y tetracloruro de carbono en sus formulaciones 35  
Rafaela Batista, A. Bécquer y Lidia Ferrer
- Lixiviación y adsorción de clorpirifos e iprobenfos en los suelos ferralítico rojo y oscuro plástico 39  
Maribel García, Pura Moreno y G. Dierksmeier
- Estudios preliminares en la obtención de cebos para el combate de caracoles 43  
Zoila G. Trujillo, Estervis Bell, Alina Sigarrosa, R.P. Pérez, C. Murguido y J. A. Barquín
- Desorción de plaguicidas en suelo 49  
G. Dierksmeier
- ## • CONTROL BIOLÓGICO
- Estudios de preparados biológicos para el control de áfidos y aleuródidos en cítricos 53  
E. Peña y Nancy González
- Determinación del tiempo de duplicación de diferentes aislados de *Bacillus thuringiensis* 59  
Orietta Fernández-Larrea y Alina Díaz
- ## • RESEÑA
- Análisis de los resultados concernientes a la genética poblacional de *Phytophthora infestans* 63  
Tania García y Berta L. Muiño
- ## • COMUNICACIONES CORTAS
- Obtención de anticuerpos policlonales a partir de bandas de proteínas separadas por electroforesis en geles de poliacrilamida 71  
Ana L. Echemendía, Gloria González, Yadira Alfonso y P. B. Suárez
- Detección de atrazina y simazina en discos de extracción en fase sólida empuje c<sub>18</sub> 73  
B. Suárez, Caridad Ricardo y María N. Llanes
- Nueva técnica para el diagnóstico de especies de la familia Pseudococcidae (Homoptera) 75  
Amelia Mateo y Diamela Rodríguez

# Contens

<b>• PHYTOSANITARY DIAGNOSTIC</b>	
Application of indirect Elisa technique for tobamovirus diagnostic on tomato seeds in Cuba Ana L. Echemendía, Gloria González, Caridad Font and Yadira Alfonso	3
First Cuban record of <i>Sarocladium orysae</i> (Sawada) Gams & Hawks. Ileana Sandoval, María O. López, Tania Bonilla and Yoelkis Tomás	7
<b>• ECOLOGY</b>	
Record of white fly ( <i>Bemisia</i> spp) (Homoptera: Aleyrodidae) host plants related with tomato ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.) in Valle del Cauto agroecosystems María A. Fonseca, J. Machado, J. Pérez, Diana Bruqueta, C. Tornés, A. Verdecia, Carmen Guerrero and María I. Castellá	13
Evaluation of pepperwort ( <i>Lepidium virginicum</i> Lin.) allelopathic capacity on lettuce and rice R.C. García, E. Paredes and F. La O	17
Food consumption of <i>Heliothis virescens</i> (F) in tobacco crop under laboratory consitions Felicia Piedra and M. Moliner	23
Evaluation of climatic change impact on Thrips tabaci Lind. (Thysanoptera: thripidae) behavior in garlic crop in Cuba S. F. Jiménez, Ángela Porras and J. Cortiñas	27
Feeding preference of <i>Diaphorinan hyalianata</i> (Linn) (Leiodoptera: Pyralidae) on Cucurbitaceae family plants E. Pozo	31
<b>• CHEMICAL CONTROL</b>	
Determination of acrilonitrile and carbon tetrachloride in their formulations Rafaela Batista, A. Bécquer y Lidia Ferrer	35
Lixiviation and absortion of chlopiprphos and iprobenphos in Red ferralilitic and Dork plastic soils Maribel García, Pura Moreno y G. Dierksmeier	39
Preliminary studies in obtaining baits to combat earthly snails Zoila G. Trujillo, Estervis Bell, Alina Sigarroa, R.P. Pérez, C. Murguido and J. A. Barquín	43
Soil desortion of pesticides G. Dierksmeier	49
<b>• BIOLOGICAL CONTROL</b>	
Effectivity studies of biological substances to control aphids and aleurodides in citrus E. Peña and Nancy González	53
Duplication time determination of different <i>Bacillus thuringiensis</i> isolates Orietta Fernández-Larrea and Alina Díaz	59
<b>• DESCRIPTION</b>	
Analysis of results about <i>Phytophthora infestans</i> population genetic Tania García and Berta L. Muiño	63
<b>• SHORT NOTES</b>	
Obtention of monoclonal antibodies from protein bands separated by poliacrilamide gel electrophoresis Ana L. Echemendía, Gloria González, Yadira Alfonso and P. B. Suárez	71
Atrazine and simazine detection in solid phase extraction disks empore C18 B. Suárez, Caridad Ricardo and María N. Llanes	73
A new tecnique for diagnostic of Pseudococcidae (Homoptera) Amelia Mateo y Diamela Rodríguez	75

## APLICACIÓN DE LA TÉCNICA ELISA INDIRECTO PARA EL DIAGNÓSTICO DE TOBAMOVIRUS EN SEMILLAS DE TOMATE EN CUBA

Ana L. Echemendía, Gloria González, Caridad Font y Yadira Alfonso

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 Cuba las enfermedades virales ocupan un lugar importante en cuanto a la afectación que ocasionan en diferentes cultivos. En estas los tobamovirus son un grupo que posee un rango muy amplio de hospederos, por lo que tiene gran importancia un sistema diagnóstico eficaz para su detección. En este trabajo se estandarizó la técnica ELISA indirecto para el diagnóstico de tobamovirus en semillas de tomate. Se probaron 71 muestras por ELISA, comparándose 62 por plantas indicadoras para determinar la sensibilidad, coincidencia y especificidad de la técnica. Fueron ensayadas distintas diluciones del inmunosuero y del conjugado, así como distintos tiempos de incubación del sustrato para la puesta a punto de la técnica por primera vez en Cuba, lo que es importante para garantizar la fitosanidad del cultivo.

Palabras claves: diagnóstico, ELISA, *Lycopersicon esculentum*, semillas, tomate, Tobamovirus, virus del mosaico del tabaco, Cuba

### ABSTRACT

Indirect ELISA was standardized for Tobamovirus diagnosis on tomato seeds. 71 samples were assayed, comparing the results from 62 with indexing plants to determine sensitivity, specificity and coincidence of the method. Several dilutions the both serum and conjugate and different incubation times for the substrate were tested in order to optimize the technique, which were used for the first time in Cuba, and which have great significance to maintain a health status of tomato crops.

Key words: Diagnosis, ELISA, seeds, *Lycopersicon esculentum*, tomato, Tobamovirus, Tobacco Mosaic Virus, Cuba

### INTRODUCCIÓN

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) es considerado como una de las hortalizas más importantes desde el punto de vista económico y comercial, debido al valor alimenticio e industrial de los frutos. En la actualidad se realizan en Cuba esfuerzos para lograr mayores producciones agrícolas, siendo uno de los cultivos más extendidos en condiciones de hidropónicos y plantaciones en el ámbito nacional.

Este cultivo es sensible a numerosas enfermedades virales pertenecientes a diferentes grupos de virus [Kassanis, 1970]. De ellos, unos de los más importantes son los tobamovirus, donde están incluidos el virus del mosaico del tabaco (TMV) y el virus del mosaico del tomate (ToMV) [Zaitlin, 1975; Hollings y Huttinga, 1976], transmitidos fácilmente de forma mecánica y a través de semillas infectadas, lo que representa un reservorio natural de infección desde edades tempranas

en las plantaciones [Taylor, 1961; Broadbert, 1965 y Ahoonmanesh *et al.*, 1992].

Estudios anteriormente realizados en Cuba por González *et al.* (1990) señalan la presencia de estos virus en alrededor de 600 muestras analizadas en un total de 900, y aunque su incidencia ha disminuido mediante la desinfección por métodos químicos, todavía se detectan muestras con presencia de estos virus al realizar análisis fitosanitario.

Otros estudios recientemente realizados por Amat *et al.* (1995) demostraron que más del 50% de las muestras de semillas analizadas por técnicas serológicas estaban infectadas con estos virus. Resultados similares fueron reportados por Cicek *et al.* (1991), con un 98% de semillas de tomate infectadas con el TMV.

Hasta el momento el diagnóstico de ambos virus se ha realizado por plantas indicadoras, inmunoelectrofore-

sis [Mildestain, 1988] y microscopía electrónica [González *et al.*, 1990], siendo muy útil el ensayo de otros métodos más sensibles, rápidos y confiables que garanticen la utilización de semillas libres de virus. Con este objetivo se estandarizó la técnica ELISA indirecto para el diagnóstico de estas patologías en semillas de tomate.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron 71 muestras de semilla de tomate pertenecientes a variedades comerciales, precomerciales e híbridas. De cada una de ellas se tomó un gramo y se embebieron en tampón de recubrimiento pH 9,6 durante una hora, realizándose diluciones desde 1/5 hasta 1/50.

El inmunosuero utilizado fue obtenido mediante la inmunización a conejos con purificaciones del virus del mosaico del tabaco a una concentración de 12 mg/mL, y la anti-IgG probada fue conjugada con fosfatasa alcalina según Clark y Adams (1977). En ambos casos se analizaron distintas diluciones, desde 1/50 hasta 1/1 000, y desde 1/500 hasta 1/4 000 respectivamente.

La técnica ELISA indirecto fue realizada en placas de poliestireno recubiertas con las muestras por analizar, las que se incubaron toda la noche a 4°C. Al siguiente día, después de los lavados con PBS-T, se realizó el bloqueo con BSA (Albúmina de Suero Bovino) al 3%, manteniéndose a 37 °C durante una hora.

Posteriormente se añadió el inmunosuero diluido durante dos horas a 37 °C, y después de este tiempo se adicionó el conjugado y se mantuvo una hora a la misma temperatura. Finalmente se adicionó el sustrato (p-nitrofenilfosfato) a razón de 1 mg/mL, incubándose en la oscuridad a temperatura ambiente hasta el desarrollo del color, deteniéndose la reacción con hidróxido de sodio 3N.

Los resultados se obtuvieron mediante lecturas realizadas en un lector SUMAL PE a una absorbancia de 405 nm. Se consideraron positivas aquellas muestras cuyo valor obtenido fue 2,5 veces mayor que la media de los valores negativos.

Durante el estudio realizado se determinó la sensibilidad de la técnica a partir de diluciones de la purificación o curva de dosificación, así como también se determinó el tiempo óptimo de incubación del sustrato.

La sensibilidad, especificidad y coincidencia se calcularon mediante comparaciones de los resultados obtenidos en el ELISA indirecto con las observaciones, después de inocular plantas indicadores hipersensibles como son *Nicotiana tabacum* L., variedad *Xhanty*, y *Nicotiana glutinosa*.

Para determinar la presencia de muestras infectadas con TMV o ToMV se inoculó *N. tabacum* L., variedad Corojo, como plantas diferenciales.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El método de preparación de las muestras resultó satisfactorio, ya que los patógenos analizados se encuentran situados en la parte externa de la semilla, por lo que no es necesario triturarlas [Broadbert, 1965].

Durante el estudio realizado se comprobó que la mejor dilución de la muestra era 1/10, ya que con menores diluciones no fue posible tomar el volumen necesario para sensibilizar la placa, y con mayores diluciones los valores medios obtenidos para las muestras positivas no fueron buenos. Los mejores resultados se obtuvieron al utilizar las diluciones de 1/500 para el inmunosuero, y de 1/2 000 para el conjugado (Tabla 1).

Tabla 1. Muestra representativa de valores de densidad óptica (D.O.) de algunas diluciones probadas

Dil. muestras	1/10		1/20		1/50		Dil. conjug.
Muestras	0,030	0,034	0,025	0,030	0,030	0,022	1/1 000
Sanas	0,050	0,040	0,047	0,047	0,025	0,029	1/2 000
Muestras	0,019	0,146	0,124	0,107	0,073	0,078	1/1 000
Infectadas	0,400	0,295	0,197	0,163	0,131	0,136	1/2 000
Dil. inunos.	1/500	1/1 000	1/500	1/1 000	1/500	1/1 000	

PBS-T: Sus valores de D.O. no difieren considerablemente de los de la muestra sana.

En todos los casos se refiere a la media de los valores de D. O. de todas las réplicas realizadas para cada variante.

La variación de los valores de densidad óptica durante los diferentes tiempos de incubación del sustrato en el caso de las muestras infectadas observa una respuesta notable a partir de los 15 minutos de hidrólisis, incrementándose la intensidad de la coloración de forma

rápida, a diferencia de las muestras sanas que se mantienen con valores inferiores a 0,1 de densidad óptica en el transcurso de la incubación. El tiempo óptimo fue a los 50 minutos, a partir del cual los valores de las muestras sanas se hacen mayores (Fig. 1). La mayoría de los autores consideran que este debe ser determinado experimentalmente, aunque los períodos de una a dos horas permiten obtener buenos resultados a temperatura ambiente [Peralta y Frías, 1987].

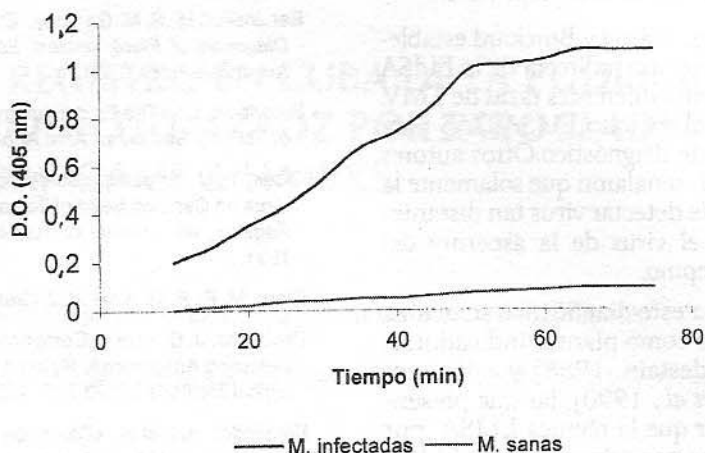


Figura 1. Tiempo óptimo de incubación del sustrato.

La sensibilidad de la técnica representada mediante la curva de dosificación evidencia que ella puede detectar una concentración viral de hasta 1,2 ng/mL (Fig. 2). Este valor está en correspondencia con el grado de sensibilidad de la ELISA, que oscila de 1-10 ng [Bar Joseph y Garnsey, 1981], y superior a los obtenidos por

Fernández *et al.* (1987) por el método ELISA-DAS, empleando como enzima la peroxidasa para la detección de este virus en extractos vegetales, donde obtienen un límite de detección de proteína viral de 27 mg/mL, valor muy alejado de los reportados para su sensibilidad.

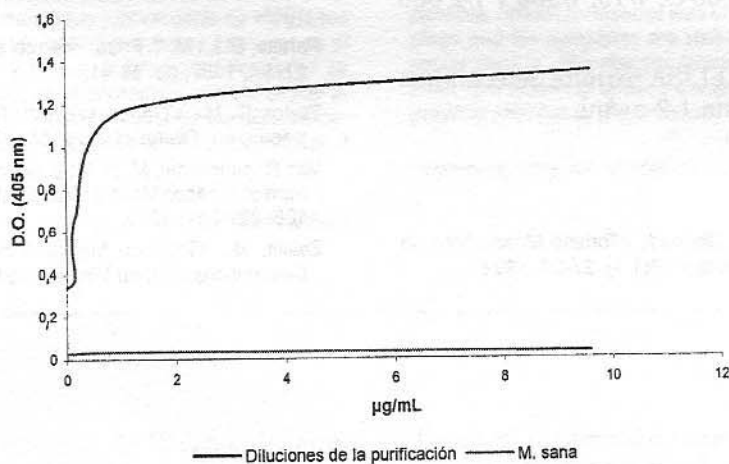


Figura 2. Curva de dosificación determinada para el TMV.

Los valores obtenidos en este trabajo para la sensibilidad y coincidencias comparadas de esta técnica fueron de 100 y 90,3 % respectivamente (Tabla 2).

Mediante los resultados obtenidos al inocular plantas indicadoras diferenciales, pudimos confirmar que es posible la detección tanto de TMV y de ToMV a través

Tabla 2. Muestras sanas e infectadas analizadas de forma comparada por ambas técnicas

ELISA	Plantas indicadoras	
	M. infectadas	M. sanas
M. infectadas	29	6
M. sanas	0	27

Total de muestras comparadas: 62.

de la ELISA indirecto, lo que posibilita la aplicación de medidas de control independientemente de la presencia de uno de ellos o en forma de complejo viral.

Por otra parte, en 1980 Regenmortel y Burckard establecieron la superioridad de la forma indirecta de la ELISA para distinguir serológicamente diferentes razas de TMV, considerándolo mejor que el método ELISA-DAS para realizar estudios rutinarios de diagnóstico. Otros autores como Deverge *et al.* en 1981, señalaron que solamente la ELISA indirecto fue capaz de detectar virus tan distantes relacionados como el virus de la aspermy del tomate y del mosaico del pepino.

Hasta el momento en Cuba este diagnóstico se realiza por medio de otras técnicas como plantas indicadoras, inmunoelectroforesis [Mildestain, 1988] y microscopía electrónica [González *et al.*, 1990], las que presentan una sensibilidad menor que la técnica ELISA, por lo que este trabajo establece por primera vez la ELISA indirecto para nuestras condiciones, siendo muy útil el ensayo de otros métodos más sensibles, rápidos y confiables que garanticen el empleo de semillas libres de virus en nuestras plantaciones.

## CONCLUSIONES

- La técnica ELISA indirecto para el diagnóstico de tobamovirus en semillas de tomate mostró los mejores resultados al utilizar diluciones de las muestras, del inmunosuero y del conjugado de 1/10, 1/500 y 1/2 000 respectivamente.
- El método indirecto del ELISA permite detectar una concentración viral de hasta 1,2 ng/mL.

## REFERENCIAS

Ahoonmanesh, A.; M. Bahar; C. Ghobadi: «Tomato Mosaic Virus in Iran», en *Journal of Plant Pathology* 28(1-4): 27-29, 1992.

Amat, Z. *et al.*: «Sistema diagnóstico de patógenos en semillas de cultivos hortícolas», resúmenes del X Forum de Ciencia y Técnica, INISAV, La Habana, 1995.

Bar Joseph M., S. M. Garnsey: *ELISA: Principles and Applications for Diagnosis of Plant Viruses. Ecology of Plant Viruses*, New York, Academic Press, 1981.

Broadbert, L.: «The Epidemiology of Tomato Mosaic. XI Transmission of TMV by Seed», en *Ann. Appl. Biol.* 56: 177-205, 1965.

Cicek, Y.; U. Yorganci: «Studies on the Incidence of Tobacco Mosaic Virus on Certified Seed of Tomato, Pepper and Eggplant in Aegean Region», en *Journal of Turkish Phytopathology* 20 (2-3): 57-68, 1991.

Clark, M. F.; A. N. Adams: *J. Gen. Virol.* 34: 435-483, 1977.

Devergne, J. C. *et al.*: «Comparation of Direct and Indirect ELISA for Detecting Antigenically Related Cucumoviruses», en *Journal of Virological Methods* 3: 193-200, 1981.

Fernández, A. I. *et al.*: «Detección del virus del mosaico del tabaco por el método ELISA, utilizando la enzima peroxidasa», en *Ciencia y Técnica en la Agricultura. Protección de Plantas*, La Habana, 10 (3): 7-17, 1987.

González, G.; J. Mejías: «Tobamovirus en semillas comerciales de tomate», en *Protección de Plantas*, La Habana, 13 (3): 7-13, 1990.

Hollings, M.; H. Huttinga: «Tomato Mosaic Virus», en *CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses* (156), 1976.

Kassanis, B.: «Tobacco Necrosis Virus», en *CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses* (14), 1970.

Mildestain, A.: «Diagnóstico del virus del mosaico del tabaco en semillas de tomate por inmunoelectroforesis», proyecto de grado, 1988.

Peralta, E. L.; M. T. Frías: *Manual sobre la técnica inmunoenzimática ELISA*, 1987, pp. 38-41.

Taylor, R. H.: «Transmission of Tobacco Mosaic Virus on Tomato Seed», en *Phytopathology* 51: 837-842, 1961.

Van Regenmortel, M. H. V.; J. Burckard: «Detection of a Wide Spectrum of Tobacco Mosaic Virus Strains by Indirect ELISA», en *Virology* 106: 327-334, 1980.

Zaitlin, M.: «Tobacco Mosaic Virus (Type Strain)», en *CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses* (151), 1975.

## PRIMER REGISTRO EN CUBA DE LA PUDRICIÓN DE LA VAINA DEL ARROZ POR SAROCLADIUM ORYZAE (SAWADA) GAMS & HAWKS.

Ileana Sandoval, María O. López, Tania Bonilla 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 pudrición de la vaina del arroz causada por el patógeno fúngico *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams & Hawks. se presenta por primera vez de forma epidémica en septiembre de 1997 en diferentes localidades de las provincias de La Habana (Empresa de Semilla de Nueva Paz, Madruga) y Pinar del Río (CAI Arroceros Los Palacios), con afectación de las variedades Perla, J 104, IAC 14, Amistad 82 y Bolito. Este patógeno se encontró asociado con el ácaro *Steneotarsonemus spinki* Smiley en el cultivo, provocando graves pérdidas en los rendimientos, principalmente por el manchado y el vaneado de los granos de las panículas. Los síntomas de la enfermedad se observan en el momento de la paniculación, por lo que la intensidad de ataque se acentúa después de los 90 días en la plantación. Se comprobó la efectividad en la transmisión de *S. oryzae* a partir de semillas procedentes de plantas afectadas, cuyos registros pueden oscilar desde 2 a 96%.

Palabras claves: arroz, pudrición, vainas, panículas, *Sarocladium oryzae*

### INTRODUCCIÓN

La enfermedad de la pudrición de la vaina del arroz por *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams & Hawks. se ha convertido en los últimos años en una enfermedad importante. Este problema se ha registrado en numerosos países de Asia como China, Japón, Taiwán, Tailandia, Filipinas, India, Indonesia [Shajaban *et al.*, 1977; Yulianto, 1984; Ou, 1985; Milagrosa, 1987], África [Imolehin, 1989] y numerosos países de la América como Estados Unidos, México, Colombia y Argentina [Far *et al.*, 1995; Hernández, 1977; Mazzanti y Gutiérrez, 1993].

Los síntomas de la enfermedad se observan cuando las plantas alcanzan el estado de maduración, presentándose una necrosis pardo rojiza en la porción superior de la vaina de la hoja que envuelve a la panícula. Estas manchas pueden coalescer y necrosar toda la vaina.

### ABSTRACT

Sheath rot disease of rice caused by *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams & Hawks. was registered in september of 1997 at Havana province ( Nueva Paz Seed Rice Enterprise and in Madruga locality) and in Pinar del Río province ( Los Palacios Rice Enterprise) affecting Perla de Cuba, IAC 14, J104, Amistad 82 and Bolito varieties. The presence of *S. oryzae* was associated with the rice mite *Steneotarsonemus spinki* Smiley in the rice crop and both agents were capable to reduce the yield, because of the rotted and empty grains in the panicles. Sheath rot disease was observed when plants reach maturity stage and the symptoms are visible in the leaf sheath enclosing the young panicle. The disease intensity become to increase after 90 days. The effectivity of seed transmission was tested in the grains of panicles affected by the pathogen with values between 2 to 96%.

Key words: rice, rot, sheath, panicles, *Sarocladium oryzae*

Desde el momento en que comienza la aparición del síntoma, la joven panícula se enferma, y como resultado los granos se arrugan y presentan diversas tonalidades que varían desde una decoloración parda hasta el pardo oscuro casi negro [Agarwal *et al.*, 1989].

Los daños que causa esta enfermedad han sido importantes, por lo que los registros han podido oscilar desde el 3 al 20 %, e incluso hasta valores del 85% en Taiwán [Chien y Huang, 1979] e India [Muralidharan y Venkata, 1980]. En Filipinas se han estimado pérdidas del 52,8 %. La esterilidad de las semillas, su vaneado y decoloración como resultado de la infección ha contribuido a las pérdidas en los rendimientos.

Bajo severas condiciones de infección, la hoja bandera puede observarse seca, por lo que la translocación de los nutrientes desde el follaje a los granos se reduce por

esta situación. La necrosis de la vaina provoca además un bloqueo en la emergencia de la panícula [Chakravarty y Biswas, 1992]. Se ha registrado además estrecha relación entre la severidad y la incidencia de la enfermedad ( $R^2 = 0,93$ ) y entre la severidad y los rendimientos ( $R^2 = 0,63$ ) [Surin *et al.*, 1992].

La transmisión más importante de este patógeno lo constituye la semilla [Agarwal *et al.*, 1989; Singh y Mathur, 1992], aunque se ha notificado en algunos países del sudeste de Asia, como en la India, que las plantas dañadas por el bórer muestran severos ataques de *S. oryzae* [Amin *et al.*, 1974].

Se ha encontrado además asociación de la enfermedad por *Sarocladium* con la presencia de la chinche *Leptocoris acuta* [Laksmanam *et al.*, 1992], así como con los ácaros *Steneotarsonemus madecassus* y *S. spinki* en Taiwán y China [Hsieh *et al.*, 1977; Chieng y Huang, 1979] y registrado además que el problema de la esterilidad en Taiwán se le atribuye a la presencia de *Sarocladium* en asociación con *S. spinki* [Ou, 1985].

Para las condiciones de Cuba se presenta por primera vez en septiembre de 1997 una explosión epidémica de la enfermedad «pudrición de la vaina del arroz», y conjuntamente se registra por primera vez la presencia del ácaro *Steneotarsonemus spinki* con altas poblaciones en diferentes estados fenológicos del cultivo, por lo que este complejo ácaro-hongo ha provocado pérdidas de las cosechas en las regiones donde se han presentado, debido a las fuertes afectaciones provocadas, principalmente en el vaneó de los granos de las panículas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En septiembre se visitaron diferentes localidades de las provincias de La Habana (Empresa de Semilla de Nueva Paz, Madruga) y Pinar del Río (CAI Arrocero Los Palacios, granjas Cubanacán y Caribe), y se procesaron las variedades Perla, J 104, IAC 14, Amistad 82 y Bolito, afectadas por el ácaro *S. spinki*. Asociado con esta plaga se realizó el diagnóstico de la especie fúngica presente en las plantas de arroz afectadas. Se describió el síntoma y se realizaron los aislamientos correspondientes en agar papa dextrosa y agar de malta para la caracterización de las colonias y del agente causal. Se determinó además la temperatura más favorable para el crecimiento de las colonias en agar de papa dextrosa, así como la intensidad de germinación de los conidios a las 24 y 48 horas de incubación, preparando una suspensión y colocando en dos portaobjetos por temperaturas cuatro gotas de la suspensión. Se registró en 50 conidios por gotas la intensidad de la germinación.

A todas las muestras que resultaron afectadas por la pudrición de la vaina se les realizó el análisis fitopatológico de las semillas, según lo recomendado por Pupo *et al.* (1990).

La intensidad de ataque de la enfermedad fue analizada en las variedades afectadas tomando para ello 20 vainas y 20 panículas por variedad, y se estableció una escala de evaluación propuesta en este sentido, tanto para medir la intensidad de la enfermedad en las vainas y el manchado de la panícula, cuyas características son las siguientes:

- 0 ..... Vaina o panícula sana.
- 1 ..... Afectación hasta el 10% de la vaina o la panícula.
- 2 ..... Afectación hasta el 25% de la vaina o panícula.
- 3 ..... Afectación hasta el 50% de la vaina o panícula.
- 4 ..... Más del 50% del panícula o vaina afectada.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Diagnóstico del patógeno fúngico asociado a la presencia del ácaro *S. spinki*

El síntoma inicial observado en las plantas paniculadas correspondió con la presencia de puntos necróticos color marrón agrupados principalmente en el extremo superior de la vaina de la hoja bandera. Estos puntos se unieron en forma de un parche alargado, color rojo, más bien irregular, y con una zona central poco definida de color pardo sucio. Pudo apreciarse conjuntamente la diseminación y coalescencia de puntos necróticos color marrón en diferentes zonas de la vaina. En casos donde la intensidad de ataque era muy elevada, se observó que la necrosis del extremo superior de la vaina se extendía, lo que daba lugar a una necrosis total y completa de color rojo vináceo. Este síntoma predominó en la mayoría de las muestras analizadas, todas en fase de paniculación, y no fue observado en las plantas en fase de ahijamiento activo.

Las panículas procedentes de vainas necrosadas presentaban granos decolorados, arrugados y con manchas en forma de punto de color pardo rojizo, hasta la necrosis completa, color pardo sucio a pardo oscuro. Pudo observarse además en algunas muestras el llamado *atragantamiento* de la panícula en el momento de su salida.

Las observaciones de vainas y granos afectados en cámaras húmedas confirmó la presencia del hongo *S. oryzae*, agente causal de la enfermedad «pudrición de la vaina del arroz». Presenta células conidiógenas filídicas originadas de un conidióforo o directamente de la hifa, de 25 a 30  $\mu\text{m}$  de largo, conidios cilíndricos, con extremos redondeados, hialinos, lisos unicelulares, en masas como goticas sobre las células conidiógenas, de 3,5-7,5 x 1  $\mu\text{m}$ , lo cual coincide con los criterios de Brady (1980) en cuanto a las características diagnósticas.

Se obtuvo además el crecimiento del cultivo puro del hongo en sustrato agar papa dextrosa y agar de malta.

### Primer registro en Cuba de la pudrición de la vaina...

Las colonias son blanco algodonosas con un ligero tono rosáceo a salmón por su reverso. Los cultivos tienen la característica de crecer lentamente en el sustrato, por lo que las colonias alcanzan un diámetro de 8-10 mm en

agar papa dextrosa a los cinco días, entre 25-35 °C (Fig. 1). Los conidios pueden alcanzar a las veinticuatro horas alrededor del 98% de germinación a temperatura de 27 a 30 °C (Fig. 2).

Crecimiento de la colonia (mm)

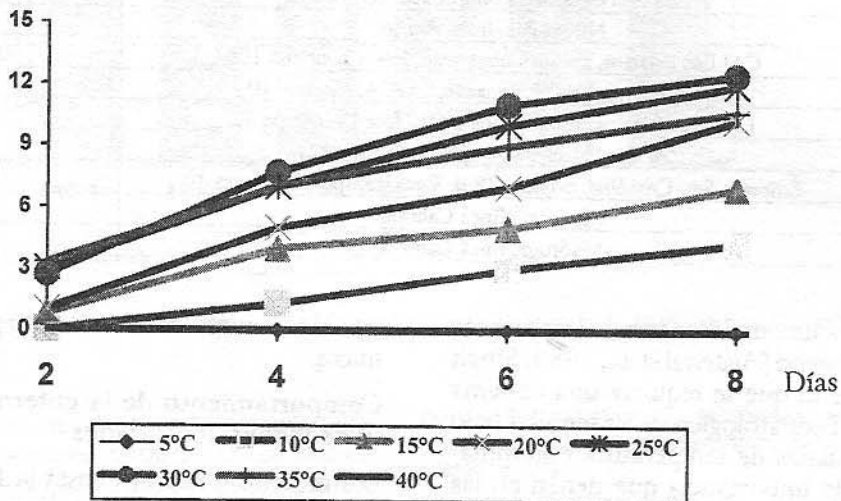


Figura 1. Influencia de las temperaturas sobre el crecimiento de *Sarocladium oryzae*.

Germinación (%)

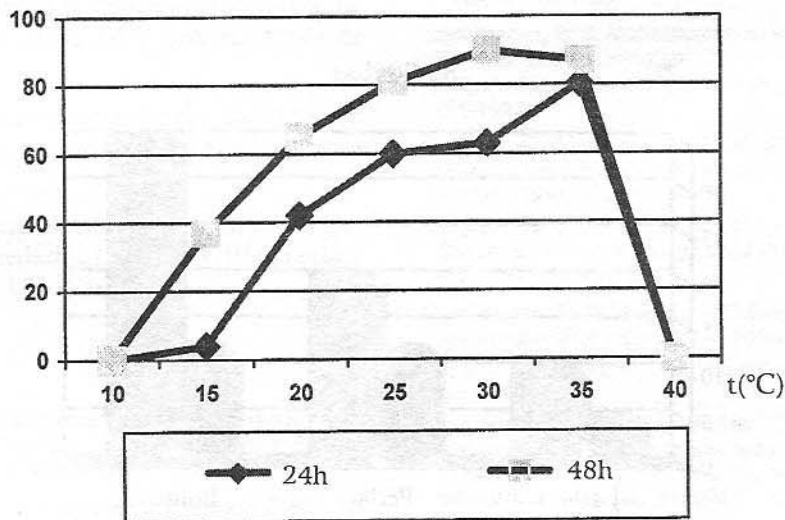


Figura 2. Intensidad de la germinación de los conidios de *S. oryzae* a diferentes temperaturas.

### Trasmisión de *S.oryzae* a través de las semillas

Los registros obtenidos de semillas procedentes de panículas afectadas demuestran la trasmisión del hongo a través de esta vía, en mayor o menor grado y en dependencia del nivel de daño en la vaina, y sobre todo

en el nivel de ennegrecimiento de los granos afectados por el patógeno. La incidencia en la variedad Perla ha oscilado entre 17-96%; en la IAC14 entre 6-96%; Amistad 82 entre 12-85%, y J 104 alrededor del dos por

ciento, todas procedentes de muestras de Nueva Paz, CAI Los Palacios (granja Cubanacán), Empresa

San Cristóbal y en fincas particulares de Madruga, así como de las localidades antes mencionadas (Tabla).

Registro de la incidencia de *S. oryzae* a partir de semillas procedentes de panículas afectadas por la pudrición de la vaina

Variedad	Localidad	Incidencia de <i>S. oryzae</i> (%)
Perla	Empresa de Semilla Nueva Paz, campo 2	96
IAC 14	Empresa de Semilla Nueva Paz, campo 19	6
IAC 14	Empresa de Semilla Nueva Paz, campo 17	21
IAC 14	Nueva Paz, finca Ajicón	96
IAC 14	CAI Los Palacios, granja Cubanacán, lote 10, campo 106	3
IAC 14	Los Palacios, granja Cubanacán, lote 14, campo 110	63
Perla	CAI Los Palacios, granja Cubanacán, lote 12, campo 92	17
Amistad 82	CAI Los Palacios (campesino colindante)	12
J 104	Empresa San Cristóbal, brigada 38 B. Roca, campo 10, terraza 10	2
Perla	Madruga, finca Cabrera	85
Amistad 82	Madruga, finca Cabrera	45

Se plantea que esta es una de las vías más importante de transmisión del patógeno [Agarwal *et al.*, 1989, Singh y Mathur, 1992], por lo que se requiere una extrema vigilancia del análisis fitopatológico de las semillas bajo las condiciones adecuadas de temperatura e iluminación. Cabe destacar la importancia que tienen en las áreas de semillas y fincas de pequeños agricultores la toma de medidas de saneamiento en cuanto a la siembra de semillas libres del patógeno, tratamiento de semillas, aplicación de fungicidas al inicio de la paniculación y eliminación adecuada de los restos de cosecha, lo que indudablemente contribuyen a la disminu-

ción de la enfermedad, evitando por tanto focos epidémicos.

#### Comportamiento de la enfermedad en diferentes variedades y localidades

Los registros obtenidos hasta la fecha han demostrado que cuando las plantas tienen entre 80-90 días, la intensidad de ataque en las vainas puede estar entre el 10-20 %, y del 2-20 % en panículas (Fig. 3); sin embargo, cuando pasa ese período y se acerca a los 120 días, se incrementan los registros con valores del 60-86% en las vainas y del 70-100% en las panículas (Fig. 4).

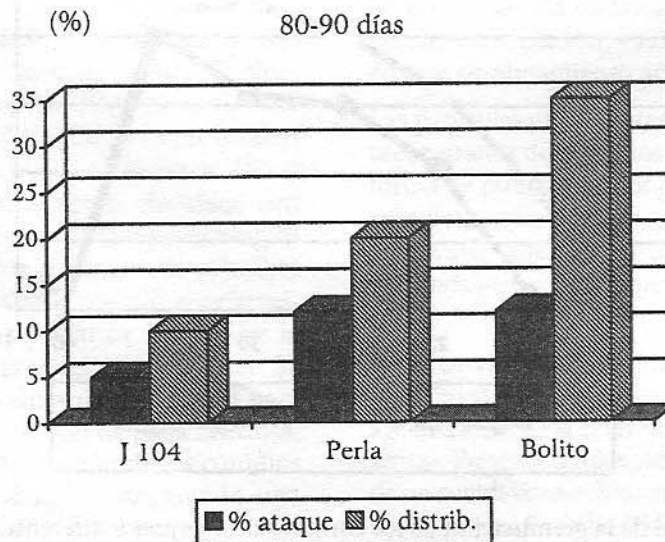


Figura 3. Intensidad y distribución de la enfermedad de la pudrición de la vaina por *S. oryzae*.

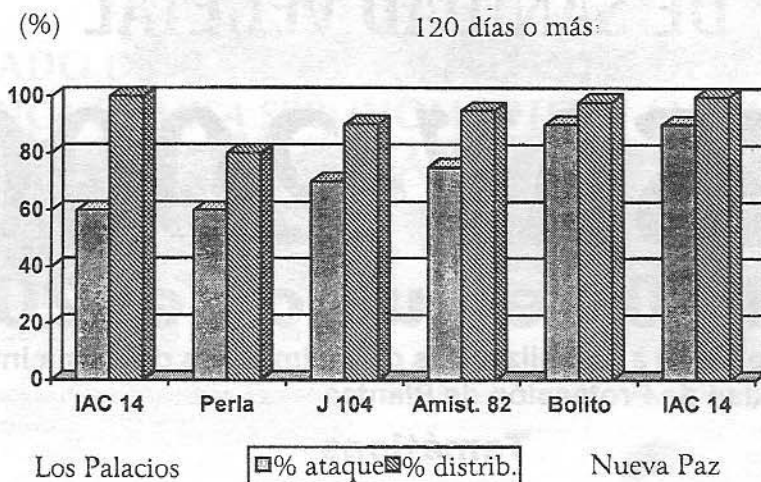


Figura 4. Intensidad y distribución de la enfermedad de la pudrición de la vaina por *S. oryzae*.

Es importante señalar que las muestras analizadas han estado afectadas tanto por este patógeno como por el ácaro, de manera que los registros del ennegrecimiento y vaneo de las panículas están en dependencia de uno u otro agente. Las investigaciones que se realicen en este sentido podrán definir el rol que juega cada uno de ellos en esta asociación.

## CONCLUSIONES

- Se registra la presencia de *S. oryzae* agente causal de la pudrición de la vaina del arroz en plantaciones de arroz.
- Se comprobó una elevada transmisión del patógeno en las variedades estudiadas y principalmente en los granos más ennegrecidos.
- Se registró una alta incidencia e intensidad de ataque por *S. oryzae* en las variedades IAC 14, J 104, Perla y Bolito en las plantas de 120 días o más.

## REFERENCIAS

Agarwal, P.C; Carmen Nieves Mortensen; S.B. Mathur: «Seed Borne Diseases and Seed Health Testing of Rice», en *Technical Bulletin. Phytopathological Papers* (30): 36-42, 1989.

Amin, K.S; B.D. Sharma; C.R. Das: «Occurrence in India of Sheath Rot of Rice Caused by *Acrocyndrium*», en *Plant Disease* (58): 358-360, 1974.

Brady, B.L.K.: «*Sarocladium oryzae*», en *CMI Descriptions* (673), 1980.

Chakravarty, D.C; S. Biswas: «Estimation of Yield Loss in Rice Affected by Sheath Rot», en *Plant Disease* 62: 226-227, 1978.

Chen, M.J.: «Studies on Sheath Rot of Rice Plant», en *Journal of Agriculture and Forestry, Taiwán* 6: 84-102, 1957.

Chiang, C.C; C.H. Huang: «The Relation Between Sheath Rot and the Sterility of Rice Plant», en *Journal of Agricultural Research of China*, 28: 7-16, 1979.

Estrada, B.A; C.Q.Torres; J. M. Bonnan: «Effect of Sheath Rot on Some Yield Components», en *International Rice Research Newsletter* 9: 14, 1984.

Farr, D.F *et al.*: *Fungi on Plant Products in the United States*, 2a. ed. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, 1995. p. 413-414

Hernández, J.: «Manchado del grano del arroz», III Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal, I Taller Internacional de Uso de Plaguicidas (Programas), La Habana, junio, 1997.

Imolehin, E.D.: «Rice Diseases in the Southern Guinea Sannah Zone of Niger State Nigeria», en *International Rice Research Newsletter*, 14 (3): 37-38, 1989.

Lakshmanan, P; S. Mohankumar; A. Velusamy: «The Relationship of Earhead Bug to Infection of Rice by *Sarocladium oryzae*», en *Zeitschrift fuer Pflanzenkrankheiten un Pflanzenschutz* 99 (2): 218-219, 1992.

Mazzanti de Castañón, M.A; S.A. Gutiérrez: «Sheath Rot of Rice (*Sarocladium oryzae*)», en *Research Report of the Plant diseases for 1982/1983*, 106-110, 1984.

Milagrosa, Sergia: *Transmission of Sarocladium oryzae (Sawada) W. Gams and Hawksw. Trough seed*, Philippines: Ph.D. Thesis, University of the Philippines.

Muralidharan, K; G. Venkata: «Outbreak of Sheath Rot of Rice», en *International Rice Research Newsletter*, 5: 7, Filipinas, 1980.

Ou, S.R.: *Rice Disease*. CAB. International Mycological Institute, Inglaterra, 1985.

Pupo, Elsie; G. García; M. Milanés: «Uso de nuevos parámetros de temperatura, período de incubación y exposición a la luz en el análisis fitopatológico de semillas de arroz, maíz y frijol para la detección de organismos fúngicos», INISAV, La Habana, 1990 (inédito).

Singh, K; S.B. Mathur: «Further Evidence of Transmission of *Sarocladium oryzae* Through Seeds and its Quarantine Significance», en *Indian Phytopathology*, 45(4): 454-456, 1992.

Surin, A. *et al.*: «Rice Yield Loss to Sheath Rot», en *International Rice Research Newsletter*, 13(6): 34-35, Filipinas, 1989.

Shajaban, A.K; Z. Harahap; M.C. Rush: «Sheath Rot of Rice Caused by *Acrocyndrium oryzae* in Louisiana», en *Plant Disease* 61 (4): 307-310, 1977.

Yulianto, S.: «Evaluation on the Resistance of Rice Varieties Against Sheath rot (*Sarocladium oryzae*)», en *Research Report of the Plant Disease Research Group for 1982/1983*, 106-110, 1984.

# LISTADO DE PLANTAS HOSPEDANTES DE LA MOSCA BLANCA (*BEMISA* SPP) (HOMOPTERA: ALEYRODIDAE) ASOCIADAS CON EL TOMATE (*LICOPERSICON ESCULENTUM* MILL.) EN AGROECOSISTEMAS DEL VALLE DEL CAUTO

María A. Fonseca, J. Machado, J. Pérez, Diana Bruqueta, C. Tornés, A. Verdecia, Carmen Guerrero y María I. Castellá

Instituto de Investigaciones Agropecuarias Jorge Dimitrov. Carretera Bayamo-Manzanillo, Km 16, GP 2140, Bayamo, Granma

## RESUMEN

Se colectaron plantas silvestres para determinar la presencia de la mosca blanca (*Bemisia spp*) en cinco localidades del Valle del Cauto, donde se cultiva tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Se determinó el índice de presencia por familia. Se encontraron 42 especies de plantas hospedantes de la plaga. Las familias con mayor índice de presencia fueron Fabaceae, Asteraceae, Euphorbiaceae y Amaranthaceae.

Palabras claves: *Bemisia spp*, plantas hospedantes, tomate

## ABSTRACT

In five localities of the Valle del Cauto where tomato crop is cultivated, wild plants were collected to determinate *Bemisia spp* presence by family. Fourty two host species of this pest were founded. The family with the highest preference index for the pest were: Asteraceae, Fabaceae, Euphorbiaceae y Amaranthaceae.

Key words: *Bemisia spp*, host plants, tomatoe

## INTRODUCCIÓN

Las moscas blancas son consideradas insectos de importancia económica, pues además de sus daños como fitófagos en diferentes plantas cultivadas, algunas especies son vectoras de enfermedades causadas por virus [Vázquez, 1995].

La diversidad de plantas que hospedan estos insectos es alta, representadas por cultivos agrícolas, silvícolas, industriales, frutales, ornamentales, así como la vegetación indeseable y plantas silvestres en general, la mayoría angiospermas [Moud y Halsey, 1978]. Mundialmente esta plaga se asocia con al menos 500 especies en 74 familias, predominando Leguminosae, Compositae, Malveaceae, Solanaceae y Euphorbiaceae [Greated, 1986 y Alpizar, 1993]. Anderson (1992) y Alpizar (1993) destacan la importancia del conocimiento del rango de plantas hospedantes en los programas de manejo de especies que afectan plantas económicas.

Este estudio tiene como objetivo realizar un inventario de las plantas hospedantes de la mosca blanca (*Bemisia spp*) en agroecosistemas donde se cultiva tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en la región del Valle del Cauto.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron muestreos mensuales durante 1997 y 1998, en las siguientes localidades:

Jucaibama, Estación Agrícola del I.I.A. Jorge Dimitrov. Los Cayos, E.C.V. Veguitas. Sabanilla, área de autoconsumo de la Universidad de Granma. Cautillo, E. C. V. Cautillo. Cauto-Cristo, E.C.V. Mártires de Artemisa.

Se colectaron, al azar, plantas presentes en el área en cada mes del año en campos sembrados de tomate. En el laboratorio se clasificaron por familia, y se determinó con un microscopio estereoscopio la presencia de la mosca blanca en cada planta colectada que se clasificaron por especie, si presentaron el estadio pupal o cápsulas pupales de la plaga. La identificación de las especies se realizó según Roig (1965), Acuña (1974) y Sánchez y Uranga (1993). Se determinó el índice de presencia (I.P.) por familia en cada una de las localidades:

$$I.P. = n/N \times 100$$

n: número de plantas con *Bemisia spp* por familia

N: total de plantas muestreadas con presencia de *Bemisia spp*

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinaron 42 especies de plantas indeseables hospedantes de *Bemisia* spp pertenecientes a 14 familias

(dicotiledoneas), distribuidas en las cinco localidades estudiadas (*Tabla*), lo cual confirma la polifagia de este insecto y la preferencia por ciertas familias [Greathead, 1986].

### Listado de plantas hospedantes de *Bemisia* spp en cinco agroecosistemas del Valle del Caucho

#### Cauto Cristo

Nombre científico	Nombre vulgar	Familia
<i>Amaranthus dubius</i> Mart.	Bledo	Amaranthaceae
<i>Boerhaavia erecta</i> L.	Tostón	Nyctaginaceae
<i>Cleome gynandra</i> L.	Uña de gato	Capparidaceae
<i>Croton glandulosus</i> Lin.	Túa túa	Euphorbiaceae
<i>Cucurbita pepo</i> L.	Calabaza	Cucurbitaceae
<i>Kalstroemia maxima</i> (L.) Wring Arn	Abrojo terrestre	Vitaceae
<i>Parthenium hysterophorus</i> L.	Escoba amarga	Asteraceae
<i>Piper aduncum</i> Lin.	Platanillo de Cuba	Piperaceae
<i>Portulaca oleraceae</i> Lin.	Verdolaga	Portulacaceae

#### Cautillo

Nombre científico	Nombre vulgar	Familia
<i>Amaranthus crassipes</i> Schlecht	Bledo blanco	Amaranthaceae
<i>Ageranthus conyzoides</i> Lin.	Celestina azul	Asteraceae
<i>Chamaesyce hirta</i> (Lin.) Millsp	Lechero	Euphorbiaceae
<i>Chamaesyce hyssopifolia</i> L.	Lechero	Euphorbiaceae
<i>Croton lobatus</i> L.	Frailecillo	Euphorbiaceae
<i>Cucumis anguria</i> L.	Pepinillo	Cucurbitaceae
<i>Emilia sonchifolia</i> (L.) D.C.	Clavel chino	Asteraceae
<i>Gaya occidentalis</i>	-	Malvaceae
<i>Macroptilium lathyroides</i> (L.) Urb.	Pico de aura	Papilionaceae
<i>Malachra alceifolia</i> Jacq	Malva peluda	Malvaceae
<i>Parthenium hysterophorus</i> L.	Escoba amarga	Asteraceae
<i>Phyllanthus scaberrima</i> (A.C. Juss) Moldenke	Orozuz	-
<i>Phyllanthus amarus</i>	-	Euphorbiaceae
<i>Physalis angulata</i> Lin.	Huevo de gato	Solanaceae
<i>Rynchosia minima</i> (L.) P.D.C.	Bejuco de cangrejo	Fabaceae

#### Jucaibama

Nombre científico	Nombre vulgar	Familia
<i>Aeschynomene americana</i> Lin.	Tamarindillo	Fabaceae
<i>Amaranthus viridis</i> Lin.	Bledo verde	Amaranthaceae
<i>Caperonia palustris</i> (L.) St. Hil	Caperonia	Euphorbiaceae
<i>Cassia obtusifolia</i> Lin.	Guanina	Fabaceae
<i>Cleome gynandra</i> L.	Uña de gato	Capparidaceae
<i>Eclipta prostrata</i> (L.) L.	Eclipta blanca	Asteraceae
<i>Emilia sonchifolia</i> L. D.C.	Clavel chino	Asteraceae
<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	Hierba lechosa	Euphorbiaceae
<i>Ipomoea trifida</i> (H.B.K.) D. Don	Aguinaldo	Convolvulaceae
<i>Ipomoea heptaphylla</i> Griseb	Yucatán	Convolvulaceae
<i>Kalstroemia maxima</i> (L.) Wring Arn	Abrojo terrestre	Vitaceae
<i>Malachra alceifolia</i> Jacq	Malva mulata	Malvaceae
<i>Malachra capitata</i> Lin.	Malva mulata	Malvaceae
<i>Melanthera deltoidea</i> Michx	Botón de plata	Asteraceae
<i>Parthenium hysterophorus</i> L.	Escoba amarga	Asteraceae
<i>Rynchosia minima</i> (L.) P.D.C.	Bejuco de cangrejo	Fabaceae
<i>Sida cordifolia</i> L.	Malva blanca	Malvaceae
<i>Sida urens</i> L.	Malva peluda	Malvaceae
<i>Sesbania sesban</i>	Palisandro	Fabaceae
<i>Xanthium strumarium</i> L.	Guizado de caballo	Asteraceae

### Los Cayos

Nombre científico	Nombre vulgar	Familia
<i>Amaranthus spinosus</i> Lin.	Bledo espinoso	Amaranthaceae
<i>Achyranthes aspera</i> Lin.	Rabo de gato	Amaranthaceae
<i>Bidens pilosus</i> Lin.	Romerillo blanco	Asteraceae
<i>Cassia obtusifolia</i> Lin.	Guanina	Fabaceae
<i>Chamaesyce hirta</i> (Lin.) Millsp	Lechera	Euphorbiaceae
<i>Cleome gynandra</i> L.	Uña de gato	Capparidaceae
<i>Croton lobatus</i> L.	Frailecillo	Euphorbiaceae
<i>Cucumis anguria</i> Lin.	Pepinillo	Cucurbitaceae
<i>Eclipta prostrata</i> (L.) L.	Eclipta blanca	Asteraceae
<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	Hierba lechera	Euphorbiaceae
<i>Ipomoea trifida</i> (H.B.K.) D. Don	Aguinaldo	Convolvulaceae
<i>Kalstroemia maxima</i> (L.), Wring Arn	Abrojo terrestre	Vitaceae
<i>Melanthera deltoideae</i> Michx	Botón de plata	Asteraceae
<i>Partenium hysterophorus</i> L.	Escoba amarga	Asteraceae
<i>Solanum nodiflorum</i> Jacq	Hierba mora	Solanaceae

### Sabanilla

Nombre científico	Nombre vulgar	Familia
<i>Achyranthes aspera</i> Lin.	Rabo de gato	Amaranthaceae
<i>Ageranthus conyzoides</i> Lin.	Celestina azul	Asteraceae
<i>Althernanthera polygonoides</i> R. Br.	Sanguinaria	Euphorbiaceae
<i>Cassia obtusifolia</i> Lin.	Guanina	Fabaceae
<i>Chamaesyce</i> sp S. F. Gray	Lechosa	Euphorbiaceae
<i>Cleome gynandra</i> L.	Uña de gato	Capparidaceae
<i>Croton lobatus</i> L.	Frailecillo cimarrón	Euphorbiaceae
<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	Hierba lechera	Euphorbiaceae
<i>Kalstroemia maxima</i> (L.), Wring Arn	Abrojo terrestre	Vitaceae
<i>Melanthera deltoidea</i> Michx	Botón de plata	Asteraceae
<i>Merremia umbelata</i> (L.) Hall. F.	Aguinaldo amarillo	Convolvulaceae
<i>Sida acuta</i> Burm. F.	Malva de caballo	Malvaceae
<i>Sida rhombifolia</i> L.	Malva de cochino	Malvaceae

Las familias con mayor índice de presencia de plantas hospedantes fueron Fabaceae, Asteraceae, Euphorbiaceae y Amaranthaceae, con valores de 31, 27, 27 y 24% respectivamente, siendo también las de mayor distribución, pues se presentaron en las tres localidades estudiadas. Hilje (1995) determinó que las familias con mayor preferencia fueron Asteraceae, Solanaceae, Cucurbitaceae, Malvaceae y Fabaceae, y señala que en América Central y el Caribe los registros de plantas hospedantes son inciertos, con al menos 70 especies en El Salvador [Serrano *et al.*, 1993] y casi 100 en Nicaragua [Bustillo, 1995].

Al comparar este resultado con el listado de 119 plantas hospederas de *Bemisia tabaci* en Cuba dado por Vázquez (1997), se encuentra coincidencia con 20 especies de plantas. Las colectas realizadas por este autor pertenecen a agroecosistemas más diversos.

### CONCLUSIONES

- Las plantas asociadas con el cultivo del tomate en agroecosistemas del Valle del Cauto constituyen un

reservorio natural de plantas hospederas de la mosca blanca (*Bemisia* spp).

### REFERENCIAS

- Acuña, J. G.: *Plantas indeseables de los cultivos cubanos*, Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1974.
- Anderson, P.: «Un modelo para la investigación en mosca blanca (*Bemisia tabaci*)», I Taller Centroamericano y del Caribe sobre moscas blancas, Memorias, Costa Rica, 1992, pp. 27-33.
- Alpizar, D. M.: *Aspectos básicos sobre la mosca blanca con énfasis en Bemisia tabaci y Trialeurodes vaporariorum*, Ministerio de la Agricultura y Ganadería, Costa Rica, 1993.
- Bustillo, J.: *Informe de las labores del Programa de la Mosca Blanca*, Centro Experimental del Algodón, Nicaragua, 1995.
- Hilje, L.: «Aspectos bioecológicos de *Bemisia tabaci* en mesoamérica», en *Manejo Integrado de Plagas*, Costa Rica 35: 46-54, 1995.
- Greated, A. H.: «Host Plants», en *Bemisia tabaci*. Commonwealth Agriculture Bureau, 1986, pp.17-25.
- Moud, L. A.; S. H. Halsey: *Whitefly of the World*. British Museum Natural History. Chichester, 1978.
- Roig, J. T.: *Diccionario botánico de nombres vulgares*, t. I y II, Ed. del Consejo Nacional de Universidades, La Habana, 1965.

Sánchez, P. y H. Uranga. *Plantas indeseables de importancia económica en los cultivos tropicales*. Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1993.

Serrano, L.; J. M. Sermeño, J. F. Larios: «Las moscas blancas en El Salvador», en *Las Moscas Blancas en América Central y el Caribe*, CATIE, Costa Rica, 1993, pp. 42-49.

Vázquez, L.: «Sistema de diagnóstico, inventario y plantas hospederas de las moscas blancas en Cuba», INISAV, La Habana, 1995, resumen de tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas.

—: «Plantas hospederas de *Bemisia tabaci* en Cuba», en *Revista de Biología Tropical* 44(3) / 45(1): 143-148, 1996-1997.

# CIDISAV

CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN  
DE SANIDAD VEGETAL

A  
N  
J  
E

Nos encantaría establecer intercambio con instituciones que desarrollen temas afines a la Sanidad Vegetal. Para ello contamos con las siguientes publicaciones:

- REVISTA FITOSANIDAD •
- BOLETÍN TÉCNICO •
- MEMORIA ANUAL •
- FOLLETOS •
- PLEGABLES •

**CONTACTE CONE**

Ing. Nery Hernández Pérez

Gaveta 634 CP 11300, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba.

Teléfs.: (537) 22 3720 / 22 2510

E-mail: [inisav@ceniai.inf.cu](mailto:inisav@ceniai.inf.cu) / <http://www.cuba.cu/ciencia/inisav>

## EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ALELOPÁTICA DEL MASTUERZO (*LEPIDIUM VIRGINICUM* LIN.) SOBRE LECHUGA Y ARROZ

R. C. García, E. Paredes 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

Se evaluó la capacidad alelopática de *Lepidium virginicum* por medio de extractos acuosos de follaje y raíces a 0; 0,5; 1,0; 2,0 y 5,0% (p/v) y la mezcla de material vegetal fresco con suelo ferralítico rojo a cinco por ciento (p/p), sobre semillas de lechuga y arroz como plantas de prueba. Se encontró que el extracto de follaje estimuló la germinación y la longitud de radícula de lechuga, mientras las concentraciones mayores de raíces deprimieron ligeramente su germinación, así como todas las de follaje lo hicieron sobre la longitud radicular. En arroz, sólo las concentraciones más altas disminuyeron ambos parámetros. Cuando el material vegetal se mezcló con suelo, hubo un ligero estímulo de la germinación de lechuga en la siembra inmediata, mientras que el crecimiento de ambas plantas de prueba fue afectado negativamente. En la siembra, a los nueve días de la incorporación, se observó una disminución de la emergencia y el desarrollo de ambos cultivos. Esta inhibición fue más intensa con el tiempo, y al sembrar 34 días después de la mezcla con suelo se deprimieron fuertemente los parámetros de crecimiento. Estos resultados demuestran la importancia de la alelopatía de los residuos vegetales en descomposición para el cultivo siguiente.

Palabras claves: alelopatía, *Lepidium virginicum*, lechuga, arroz

### ABSTRACT

The allelopathic behavior of *Lepidium virginicum* was evaluated by the effects of 0; 0.5; 1.0; 2.0 and 5.0% (w/v) foliage and roots aqueous extracts and with fresh plant material mixed with Red Ferralitic soil at 5% (w/w) over lettuce and rice seeds. It was found that foliage extracts stimulated lettuce seeds germination and the growth of their roots, higher root extracts concentrations lightly depressed their germination and all foliage extracts depressed lettuce growth too. With rice, only higher both foliage and root extracts concentrations decreased germination and root growth. Germination was stimulated when lettuce seeds were sowed immediately after mixing plant material with soil, but growth of both test plants was injured. Emergence and root growth inhibition was observed when sowing was done nine days after mixing plant material with soil. Inhibition was higher in time because plant growth was strongly depressed when it was sowed 34 days later. This results show the importance of allelopathic decaying plant materials to next crop.

Key words: allelopathy, *Lepidium virginicum*, lettuce, rice

### INTRODUCCIÓN

Cuando las malezas asociadas a los cultivos no son debidamente controladas, pueden ocasionar grandes pérdidas a los cultivos con los que conviven, e incluso a los subsiguientes. La práctica común de mantener los campos libres de enyerbamientos durante los períodos críticos de competencia que, en la mayoría de los cultivos anuales se circunscribe al primer tercio de su ciclo, trae como consecuencia que, al cosechar, quedan cubiertos de malezas que serán incorporadas al suelo durante la preparación para la próxima campaña.

Desde hace algún tiempo se tiene conocimiento de los efectos alelopáticos de algunos residuos de cosecha y malezas sobre la posible afectación del desarrollo inicial de los cultivos siguientes, y sus consecuencias indirectas sobre los rendimientos. Rice (1974) señala que las sus-

tancias fitotóxicas de las plantas alelopáticas pueden afectar el desarrollo de otras al difundirse en el suelo los productos volátiles y lixiviados liberados por la descomposición de las partes muertas.

En este sentido, Menges (1987) observó que los residuos vegetales de *Amaranthus palmeri* S. Wats. redujeron el crecimiento de zanahoria y cebolla en 49 y 68% respectivamente, y además el efecto inhibitorio permaneció por 16 semanas después de la incorporación. También Ben-Hammouda *et al.* (1995) informaron que los residuos en suelo de algunos híbridos de millo (sorgo) pueden influir negativamente sobre el crecimiento del trigo sembrado posteriormente. Sin embargo, estos aspectos alelopáticos de inhibición a mediano y largo plazo no se consideran con la debida importancia.

Al emplearse herbicidas de preemergencia, generalmente quedan algunas especies no susceptibles al control químico, lo que da lugar a la sustitución de los enmalezamientos producto de una selección artificial, la cual provoca que pasen a ser dominantes aquellas especies resistentes. Tal es el caso de las áreas repetidamente tratadas con herbicidas del grupo de las dinitroanilinas, a cuya acción se escapan malezas tales como *Parthenium hysterophorus* L., *Datura stramonium* L. y *Lepidium virginicum* L. [Labrada, 1970]. Esta última, aunque no está considerada entre las malezas problemáticas para Cuba [La O *et al.*, 1996], puede infestar rápidamente un campo por su alta producción de semillas viables [Rodríguez *et al.*, 1985]; sin embargo, posee fuertes características alelopáticas, pues sus extractos acuosos pueden inhibir la germinación de varias especies vegetales, incluso por encima de *Sorghum halepense* L. Pers [Bieber y Hoveland, 1968].

Nuestro trabajo consistió en el estudio de la capacidad alelopática de esta maleza, empleando como plantas de prueba la lechuga y el arroz.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron plantas jóvenes, sin florecer, de *L. virginicum*, y después de lavadas con agua corriente se separó el follaje de las raíces. Ambas partes se picaron finamente y se tomaron porciones individuales que se extrajeron con agua destilada por cinco minutos en batidora. Con cada extracto se prepararon soluciones al cinco por ciento (p/v) y, después de homogeneizar, se filtraron por tela de gasa doble. Del filtrado se prepararon soluciones al 2,0; 1,0 y 0,5% que, conjuntamente con la inicial al cinco por ciento, se utilizaron para las pruebas en placas de Petri, donde se colocaron 50 semillas de lechuga y 50 de arroz como plantas indicadoras sobre papel de filtro humedecido con las soluciones de trabajo. Los testigos se humedecieron con agua destilada.

A los seis días se evaluó la germinación por placa y la longitud de la radícula a diez plántulas de cada una. Cada variante se replicó cuatro veces, y los valores graficados corresponden a los promedios de las evaluaciones.

Para el estudio del efecto de la incorporación de material vegetal al suelo se utilizaron plantas completas finamente picadas, las que se mezclaron con suelo ferralítico rojo tamizado a razón de cinco por ciento (p/p). Con esta mezcla se llenaron bandejas de 25 x 20 x 7 cm, en las que se sembraron 50 semillas de lechuga y 50 de arroz en cada una. Al cabo de seis días se evaluó la emergencia total y la altura de diez plántulas por bandeja. Esta prueba se realizó en tres momentos: una siembra inmediatamente después de la preparación de la mezcla, otra a los nueve días y una tercera al cabo de 34 días de incorporar el material vegetal al suelo. En esta última se

evaluó el peso fresco, el peso seco, la altura y el área foliar de la primera hoja verdadera de diez plantas por variante. Cada prueba se replicó cuatro veces, y los valores graficados corresponden a los promedios de las evaluaciones.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las pruebas en placas de Petri se observó un comportamiento variado en la acción de los extractos acuosos sobre las semillas de lechuga y arroz. El follaje de *L. virginicum* provocó un ligero incremento en la germinación de las semillas de lechuga a todas las concentraciones estudiadas, así como los extractos menos concentrados de las raíces (0,5-1,0%), mientras que los de mayor concentración de esta parte de la planta deprimieron ligeramente su germinación (Fig. 1). El arroz respondió de manera diferente, pues sólo los extractos de follaje menos concentrados produjeron un ligero estímulo, y los más concentrados inhibieron discretamente este parámetro. Otros autores también han encontrado estímulos en unos casos e inhibición en otros, como respuesta de diferentes plantas a los extractos de especies alelopáticas [Sherma y Nathawat, 1987; Labrada y Font, 1990 y García, 1995]; sin embargo, Bieber y Hoveland (1968) observaron una fuerte acción inhibitoria de todas las partes de esta maleza sobre la germinación de semillas de *Coronilla varia* L., lo que demuestra que todas las especies vegetales no se comportan de igual forma frente a estas sustancias del metabolismo secundario.

En relación con el efecto sobre el crecimiento de la radícula de lechuga (Fig. 2), los extractos de follaje causaron una ligera inhibición, mientras que en arroz esta alcanzó hasta un 10% con la dosis más concentrada. Sin embargo, todos los extractos de raíces estimularon el crecimiento de la radícula de lechuga, indicando la presencia de esta clase de sustancias en esta parte de la planta. En arroz el efecto varió de ligeramente estimulante con las menos concentradas, a levemente inhibitorio con las de mayor concentración.

Las pruebas de incorporación al suelo ofrecieron las respuestas más interesantes, pues cuando se sembró inmediatamente después de mezclar con suelo el material vegetal, la emergencia de lechuga presentó un incremento ligero y la de arroz no mostró efecto, mientras que la altura de ambas fue levemente inhibida. Sin embargo, al cabo de nueve días de incorporar el material vegetal (Fig. 3) las sustancias alelopáticas producidas por la descomposición y lixiviación manifestaron una persistencia del carácter inhibitorio de la emergencia, que en lechuga alcanzó hasta un 40%, así como del crecimiento de las plántulas de ambos cultivos donde fue de 20 y 30% para arroz y lechuga respectivamente (Fig. 4).

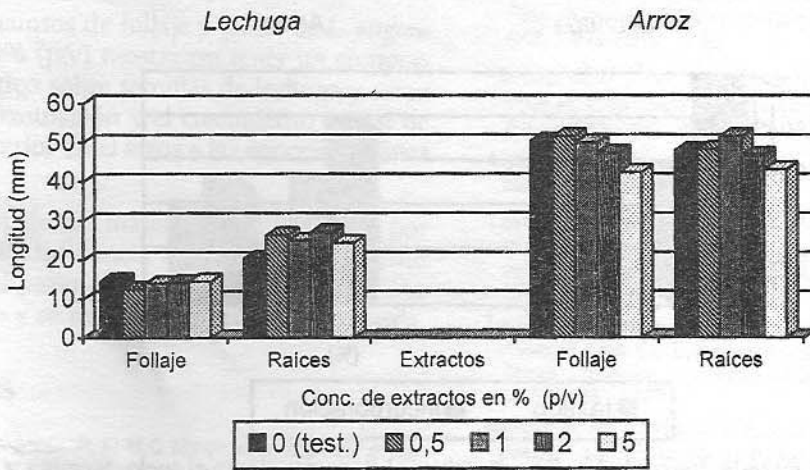


Figura 1. Extractos acuosos de *Lipidium virginicum* sobre la germinación. Evaluación a los seis días.

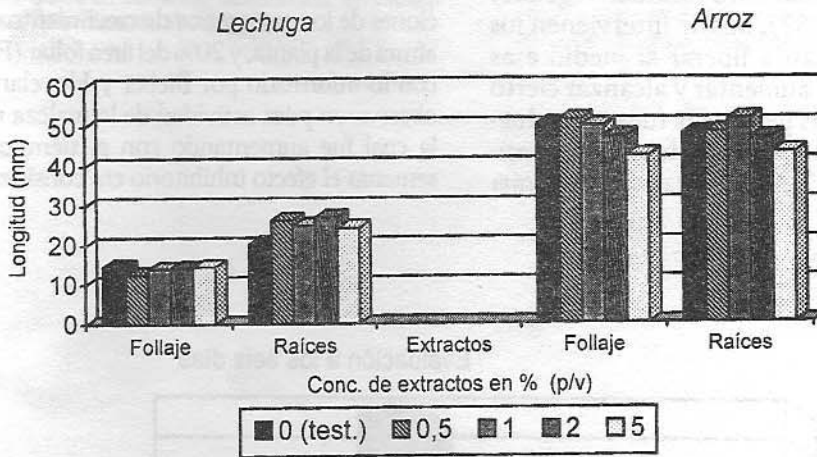


Figura 2. Extractos acuosos de *Lipidium virginicum* sobre la longitud de la radícula. Evaluación a los seis días.

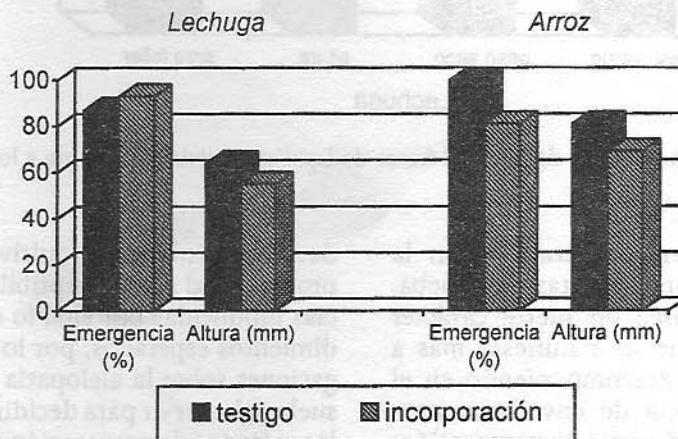


Figura 3. Incorporación de material fresco de *Lipidium virginicum* al cinco por ciento al suelo. Siembra inmediata.

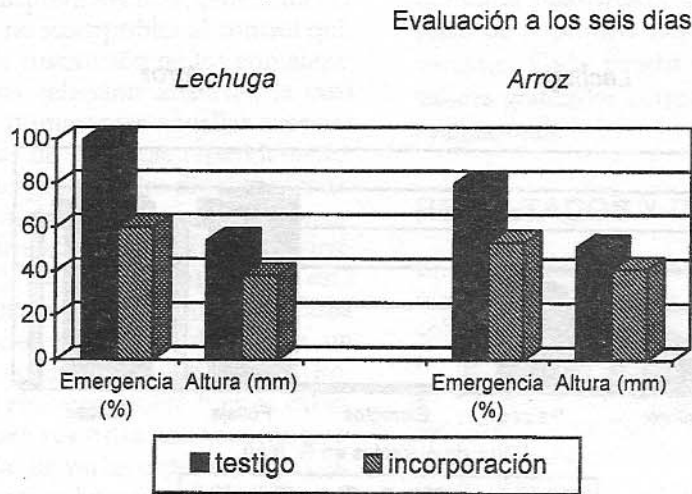


Figura 4. Incorporación de material fresco de *Lipidium virginicum* al cinco por ciento al suelo. Siembra a los nueve días.

Una de las formas comunes de manifestarse los fenómenos alelopáticos es a través de la descomposición y lixiviación acuosa de las plantas o residuos vegetales en el suelo (De la Cruz, 1987), donde intervienen los microorganismos que ayudan a liberar al medio esas sustancias, las que pueden aumentar y alcanzar cierto grado de actividad mientras persista la fuente productora, comportándose como algunos herbicidas residuales (Guenzi *et al.*, 1967). La maleza *L. virginicum*

actuó de forma similar, ya que después de 34 días de mezclado el material vegetal con el suelo persistía una acción inhibitoria del desarrollo de plántulas de lechuga, con reducciones de los parámetros de crecimiento de hasta 30% en la altura de la planta, y 20% del área foliar (Fig. 5). Esto coincide con lo informado por Bieber y Hoveland (1968), quienes observaron poca actividad de la maleza recién incorporada, la cual fue aumentando con el tiempo, y aún a las diez semanas el efecto inhibitorio era considerablemente alto.

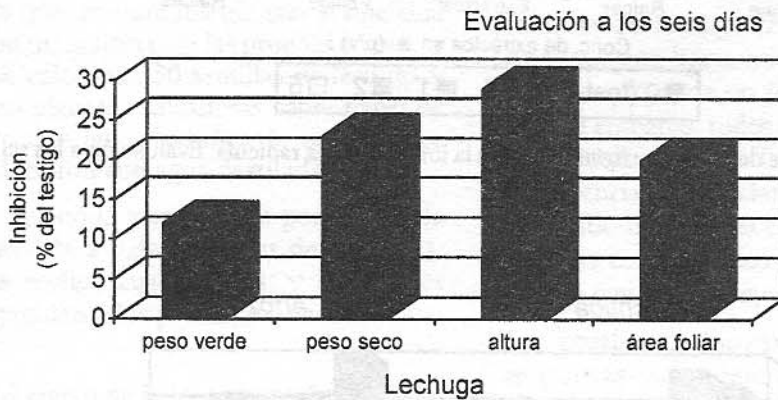


Figura 5. Incorporación al suelo de material fresco de *Lipidium virginicum*. Siembra a los 34 días.

Los resultados observados en este trabajo con la lechuga y el arroz usadas como plantas de prueba, indican que esta maleza posee un fuerte carácter alelopático de inhibición, que se manifiesta más a medida que la planta se va descomponiendo en el suelo, por lo que la presencia de enyerbamientos dominantes de esta maleza durante la preparación, podría incidir negativamente sobre la germinación y

desarrollo inicial del cultivo por sembrar de forma proporcional a la susceptibilidad de este a las sustancias producidas por ella, lo cual perjudicaría los rendimientos esperados, por lo que este tipo de investigaciones sobre la aleopatía de residuos vegetales en suelo debe servir para decidir el sistema de rotaciones, los métodos de preparación de suelo y el tiempo entre labores.

## CONCLUSIONES

• Los extractos acuosos de follaje y raíces de *L. virginicum* entre 0,5-5,0% (p/v) mostraron tener un comportamiento alelopático sobre semillas de lechuga y arroz al estimular la germinación y el crecimiento inicial de la lechuga, e inhibirlos en el arroz a las concentraciones mayores.

• La mezcla con suelo del material vegetal al cinco por ciento mostró poca influencia al inicio, pero se tornó muy inhibitoria al pasar el tiempo mientras avanzaba la descomposición y se mantenía aún 34 días después.

## REFERENCIAS

- Ben-Hammouda, M.; Kremer, R.J.; H.C Minor: «Phytotoxicity of Extracts from Sorghum Plant Components», en *Crop Science*, 35(6): 1652-1656, 1995.
- Bieber, G.L.; C.S. Hoveland: «Phytotoxicity of Plant Materials and Seed Germination of Crownvetch (*Coronilla varia* L.)», en *Agron. Journal* 60: 185-188, mar.- apr., 1968.
- Cruz, R. de la: «La alelopatía en el manejo de malezas», en *Manejo Integrado de Plagas*, Costa Rica, 6: 36-43; dic. 1987.
- García, R. C.: «Un estudio preliminar de la capacidad alelopática de la verdolaga (*Portulaca oleracea* L.)», memorias del evento Plaguicidas Biológicos de Origen Botánico, 26-28 de abril, INIFAT, La Habana, 1995.
- Guenzi, W. D.; T. M. McCalla; F. A. Norstadt: «Presence and Persistence of Phytotoxic Substances in Wheat, Oat and Sorghum Residues», en *Agron. Journal* 59: 163-165, 1967.
- Labrada, R.: *Manual de herbicidas*, Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1970.
- Labrada, R.; Caridad Font: «Efecto de extractos de raíces de *Parthenium hysterophorus* L. sobre la germinación de semillas de plantas cultivables», en *Revista de Protección Vegetal*, La Habana, 5 (1-3): 17-20, 1990.
- La O, F.; Tamara Mateos; Liliam Otero: «Clasificación de semillas de malezas para Cuba en función de su nocividad», en *Resúmenes. Tercer Seminario Internacional de Sanidad Vegetal*, 23-27 de junio. La Habana, 1997.
- Menges R. M.: «Allelopathic Effects of Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*) and Other Plants Residues in Soil», en *Weed Sci.* 35(3): 339-347, 1987.
- Rice, E. L.: *Allelopathy*, New York, 1974.
- Rodríguez, S.; J. I. Rodríguez; O. Alfonso: *Manual de malezas de la caña de azúcar en Cuba*, ICI-MINAZ-UCV, La Habana, 1985.
- Sharma, V.; G. S. Nathawat: «Allelopathic Effects of *Argemone mexicana* on Species of *Triticum*, *Brassica*, *Raphanus* and *Penisetum*», en *Current Science*, India, 56(9): 427-428, 1987.

## CONSUMO DE ALIMENTO DE *HELIOTHIS VIRESCENS* (F) EN EL CULTIVO DEL TABACO EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Felicia Piedra y M. Moliner

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

### RESUMEN

Bajo condiciones de laboratorio fue estudiado el consumo de alimento del cogollero del tabaco (*Heliothis virescens* (F)), así como el desarrollo biológico de acuerdo con los estadios larvales, en diferentes condiciones climáticas. Los datos fueron sometidos a análisis de regresión y a diferentes modelos matemáticos para mejor ajuste. En los resultados las larvas de primer día de nacida consumieron 0,05 g, aumentando de forma progresiva para alcanzar el mayor consumo a partir del tercer estadio. Se observó una disminución en el consumo cuando la larva realiza la muda hasta que se recupera. Similar comportamiento realiza la prepupa hasta que cesa de ingerir en el estado pupal. A los 20 °C se aprecia en la ecuación de mejor ajuste un polinomio de grado quinto, con un coeficiente de regresión de 0,83 y el de determinación 0,70. A los 25 °C la ecuación resultó un polinomio de grado cuarto, siendo el coeficiente de regresión de 0,75, y el de determinación de 0,56; en las condiciones variables de temperaturas (26,5 °C) de laboratorio resultó un polinomio de grado quinto con un coeficiente de regresión de 0,89, y el de determinación 0,19. El consumo de alimento resultó mayor a los 20 °C que a las restantes temperaturas estudiadas. El cogollero pasó alimentándose por siete estadios larvales. El consumo de alimento a las diferentes temperaturas de exposición resultó de 1,42g; 1,13g y 1,02-1,07g respectivamente.

Palabras claves: nocividad, *Heliothis virescens* (F) tabaco, consumo de alimento

### ABSTRACT

Under laboratory conditions the consumption of food of the (Tobacco budworm) of the tobacco was studied (*Heliothis virescens* (F)), as well as the biological development according to the larval stadiums, under different climatic conditions. The data were subjected regression analysis and different mathematical models for better adjustment. In the obtained results the larvae of first day of having been born 0.05 g consumed increasing in a progressive way to reach the biggest consumption starting from the third stadium. A decrease was observed in the consumption when the larva carries out the change until she recovers, similar behavior carries out the pre-pustule until it ceases of ingesting in the state pupal. At the 20 °C the equation of better adjustment a polynomial of degree fifth is appreciated, with a coefficient of regression of 0.83 and that of determination 0.70. To the 25 °C the equation was a polynomial of quarter degree, being the coefficient of regression of 0.75 and that of determination of 0.56; under the variable conditions of temperatures (26.5 °C) of laboratory it was degree recruit's polynomial with a the coefficient of regression of 0.89 and that of determination 0.19. The food consumption was bigger at the 20 °C that to the remaining studied temperatures. The (tobacco budworm) went by 7 larval stadiums feeding. The food consumption to the different exhibition temperatures was of 1.42g; 1.13g and 1.02-1.07g respectively.

Key words: nocividad, *Heliothis virescens* (F), tabaco, l Consummate of food

### INTRODUCCIÓN

La agricultura de todos los países sufre grandes pérdidas a causa de los insectos nocivos. Anualmente la producción agrícola mundial disminuye del 10-15% por los daños de los insectos. En la actualidad es imposible obtener rendimientos satisfactorios en muchos de los cultivos agrícolas sin la aplicación de medidas especiales de protección de las plantas contra los insectos.

El cultivo del tabaco es atacado por defoliadores que causan pérdidas considerables, siendo el *H. virescens* el más importante. De esta plaga existe una amplia infor-

mación sobre su ciclo biológico, método de lucha, plantas hospedantes, influencia de la temperatura, crías de laboratorios y otros [Bruner y Scaramuzza, 1936 y Piedra, 1980]. Sin embargo, acerca de su nocividad se carece de información.

De los estudios realizados, Tanskii *et al.* (1979) determinaron que la voracidad general de las larvas expresada en peso verde consumido determina la influencia de la plaga sobre las plantas afectadas.

El efecto de selectividad de los insectos de seleccionar es lo que hace que en algunos cultivos resulten más

dañados por fuertes ataque de las plagas [Piedra y Zubkov, 1992], mientras que López (1994) planteó que existen algunas variedades de cultivos que poseen en sus tejidos compuestos químicos que tienen el efecto de control en los herbívoros, y esto hace que no se vean atacados por ciertas especies de insectos.

El objetivo del experimento fue determinar el consumo de alimento del cogollero del tabaco en sus diferentes estadios larvales, para poder predecir las pérdidas que causan en condiciones de campo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Este experimento se llevó a cabo en los laboratorios de entomología de la Estación Experimental Delicias Grandes, en Alquizar, provincia de La Habana.

Se utilizó un diseño experimental bloque al azar con cuatro réplicas y tres variantes (temperatura de exposición 20 °C, 25 °C y temperatura ambiental de laboratorio 26,5 °C) con un total de 60 individuos por tratamientos.

Para el establecimiento de la crías se partió de colectas de campo de tabaco, donde se recogieron larvas del cogollero de diferentes estadios que se llevaron al laboratorio, continuando su desarrollo hasta la fase adulta. En la fase de pupa estas fueron sexadas y colocadas en parejas en recipiente adecuado, hasta la emergencia del adulto.

Los adultos se alimentaron con una solución acuosa de miel al 10% impregnada en una de algodón, y se les colocó un papel encerado en forma de acordeón para la

oviposición. Estos eran retirados diariamente hasta que eclosionaron, retirándose las larvas de un día de nacida, que eran colocadas de forma individual en cápsulas de Petri de 10,5 x 1,5 cm, con un papel de filtro en su interior, y se les puso una porción de hoja de tabaco que eran pesadas previamente, en gramo, en una balanza analítica Metter H8, y diariamente el alimento era sustituido, y retirada la parte no consumida. Ambas eran pesadas nuevamente y se calculaba por diferencia la parte devorada, con el testigo sin larvas, que también era sometido al mismo tratamiento para determinar la pérdida de agua de las hojas.

Se registró la duración en días de cada estadio larval por medio de la Ley de Dyar (1960), midiéndose también el tiempo en días de prepupa y pupa hasta la emergencia del adulto, y registrándose la temperatura del laboratorio por medio de un higrotermógrafo. Los datos del consumo diario de las larvas con su edad en días y del consumo acumulado por días vividos se sometieron al análisis de regresión con diferentes modelos matemáticos para un mejor ajuste.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados en relación con el consumo de alimento a las diferentes temperaturas estudiadas (*Tabla 1*), muestran que las larvas en el primer estadio consumieron 0,05g como promedio a la temperatura de 20°C, aumentando su voracidad de forma progresiva para alcanzar el mayor consumo a partir del tercer estadio. Se observó también una disminución en el consumo cuando la larva realiza la muda hasta que se recupera.

Tabla 1. Consumo de alimento por *Heliothis virescens* (F) en diferentes temperaturas

Temperatura	Consumo de alimento (g) / Estadios larvales							Total (g)
	1ro.	2do.	3ro.	4to.	5to.	6to.	7mo.	
20°C	0,05	0,11	0,13	0,24	0,35	0,20	-	1,08
25°C	0,04	0,05	0,16	0,23	0,26	0,23	0,16	1,13
26°C	0,04	0,08	0,17	0,20	0,30	0,15	-	0,94

Los estadios fueron medidos por medio de la cápsula cefálica, y se observó un crecimiento de forma geométrica Dyar (1960), disminuyendo la ingestión en la fase prepupa

En la *Tabla 2* se observaron los resultados acerca de la biología del cogollero alimentada con tabaco a las diferentes temperaturas de exposición, apreciándose que entre los 25 y 26,5 °C (temperatura ambiental), no existió diferencias entre los estadios larvales. A los 20 °C resultó más prolongado el desarrollo en todas las fases, con una duración de 27 días hasta la emergencia del

adulto. Estos resultados son similares a los de Bulter *et al.* (1971) y Guerra *et al.* (1979), quienes plantearon que la diferencia entre las temperaturas controladas de laboratorios refleja un índice de las fluctuaciones que pueden presentarse en el campo en las plantas hospedantes, pudiendo predecir el desarrollo poblacional.

Es necesario destacar que durante el estudio, un dos por ciento de los ejemplares a las temperaturas estudiadas lograron siete estadios larvales. Mendoza (1977), en su estudio con temperaturas controladas, registró siete estadios, lo que planteó que para algunos lepidopteros

Tabla 2. Ciclo de vida de *Heliothis virescens* (F) en diferentes temperaturas constantes

Tiempo de exposición	No. de ejemplares estudiados	Por ciento de ejemplares que llegaron a adultos	Período de incubación (días)	Desarrollo larval por estadios (días)						Tiempo de prepupa (días)	Pupa (días)	Total de días	Consumo de alimento
				1	2	3	4	5	6				
20°C	60	33,3	4	4	5	3	6	8	8	4	27	69	1,42
25°C	60	41,0	3	2	3	5	4	6	6	2	11	42	1,12
26,5°C	60	66,6	3	2	3	5	6	6	7	2	10	43	1,02-1,07

a temperatura superior a los 25°C pueden alcanzarse más estadios larvales resultando el mayor consumo de alimento registrado a los 20 °C. Esto pudo estar dado por la demora de la fase larval.

En las Figs. 1, 2 y 3 se muestran los consumos de alimento diarios en gramos a diferentes temperaturas de exposición. A los 20°C resultó la ecuación de mejor ajuste un polinomio de grado quinto:

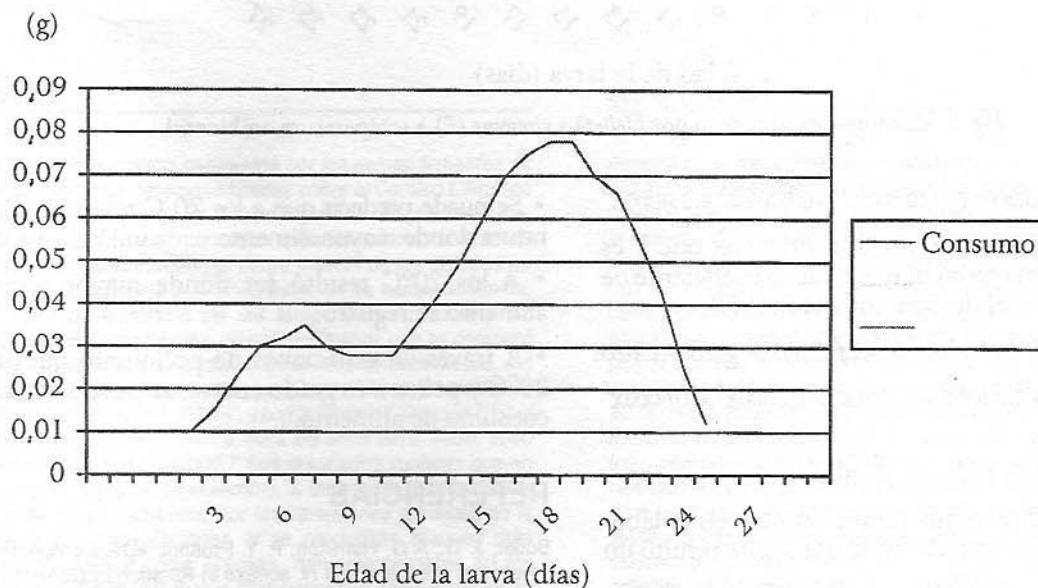


Fig. 1. Consumo de alimento por *Heliothis virescens* (F) a temperatura de 20°C.

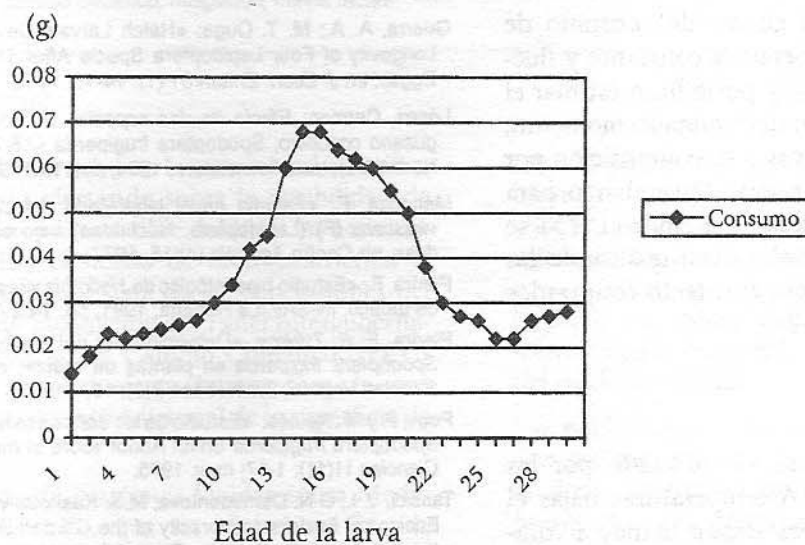


Fig. 2. Consumo de alimento de *Heliothis virescens* (F) a temperatura de 25°C.

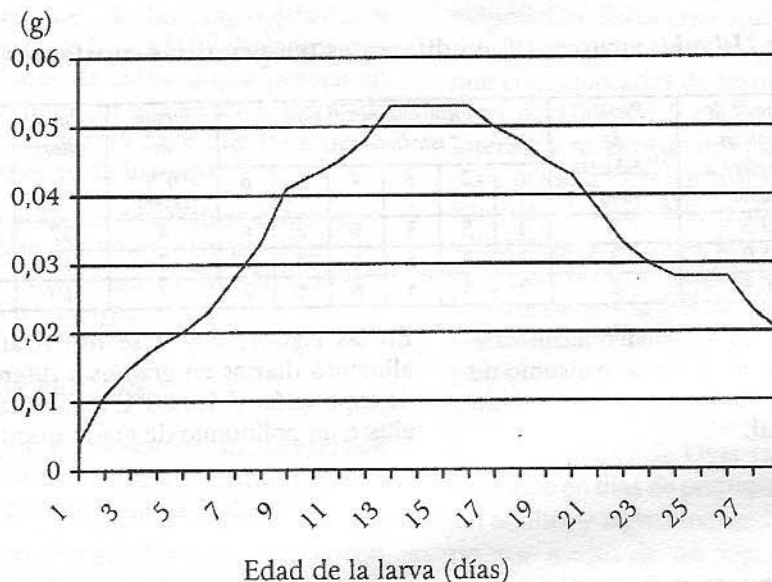


Fig. 3. Consumo de alimento por *Heliothis virescens* (F) a temperatura ambiental.

$$Y = 0,078 + 0,0015X + 0,0000X^2 + 10,0000X^3 - 0,0001X^4 + 2,0000X^5$$

donde X son los días transcurridos, mientras que Y es el consumo de alimento en días, siendo el coeficiente de regresión de 0,83 y el de determinación 0,70.

A los 25 °C la ecuación resultó un polinomio de grado cuarto:

$$Y = 0,0286 - 0,0074X + 0,0013X^2 - 0,0001X^3 + 0,0000X^4 + 0,0000X^5$$

$$r = 0,75 \quad r^2 = 0,56$$

En las condiciones de temperatura variable en el laboratorio (26,5 °C), la ecuación de mejor ajuste resultó un polinomio de grado quinto:

$$Y = -0,0106 + 0,0251X - 0,0052X^2 + 0,0004X^3 + 0,0001X^4 + 0,0000X^5$$

$$r = 0,83 \quad r^2 = 0,19$$

Estos modelos describen las curvas de consumo de alimento del cogollero a temperatura constante y fluctuante durante su fase nociva, y posibilitan estimar el daño en peso o área foliar en determinado momento, si se conoce el número de larvas y su composición por edades en cierta superficie del campo. Sin embargo, para determinar la fase nociva, Papov y Reinés (1975) se basaron en el sistema de coordenadas, realizando las curvas de daños producidas por el insecto conjugados con los factores climáticos.

## CONCLUSIONES

- El consumo de alimento se vio afectado por las temperaturas de exposición. A temperaturas bajas el desarrollo es más lento, manifestándose la mayor voracidad a partir del tercer estadio a todas las temperaturas estudiadas.

- Se puede predecir que a los 20 °C resultó ser la temperatura donde mayor alimento consumió el cogollero.

- A los 20 °C resultó ser donde mayor consumo de alimento se registró.

- A través de ecuaciones de polinomio quintica a los 20 °C y polinomio grado cuatro, se puede determinar el consumo de alimento.

## REFERENCIAS

- Butler, J. D.; A G. Hamilton; F. Y. Proshol: «Developmental Times of *Heliothis virescens* and *H. sulfexa* in Relation to Constant Temperature», en *Annals of Ent. Soc. of American* 72(2): 63, 1979.
- Bruner, S.C.; R.C. Scaramuzza: *Reseña de insectos del tabaco en Cuba*. Circular 80, Estación Experimental Agronómica, Santiago de las Vegas; 1936, p. 57.
- Guerra, A. A.; M. T. Ouge: «Hatch Larvals Development and Adult Longevity of Four Lepidoptera Specie After Thermal Treatment of Eggs», en *J. Econ. Entom.* 61 (1); 14-16, 1968.
- López, Carmen: *Efecto de dos especies de Zea en la biología del gusano cogollero, Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)*, tesis licenciatura, 1994, pp.115-116.
- Mendoza, F.: «Estudio en el laboratorio del ciclo biológico de *H. virescens* (F) (Lepidoptera, Noctuidae) bajo condiciones controladas», en *Centro Agrícola* (4):16, 1977.
- Piedra, F.: «Estudio bioecológico de *Heliothis virescens* (F) en el cultivo de tabaco, INISAV, La Habana, 1981, pp. 1-62 (inédito).
- Piedra, F; A. Zubkov: «Determinación del efecto de selectividad de *Spodoptera frugiperda* en plantas de maíz», en *Actualidades de Sanidad Vegetal*, La Habana 2(3): 16, 1992.
- Popv, P. y M. Reinés: «Estudio de los daños ocasionado por el gusano *Spodoptera frugiperda* Smith Abbot sobre el maíz (*Zea mayz*)», en *Ciencias* 11(11): 1-17; may. 1975.
- Tanskii, V. I.; G.N. Dermidontova; M.S. Kusnetsova: «Effects of Nome Ecological Factors on Voracity of the Garden Webworn Caterpillars (*Loxostege sticticalis*, L.)». *Proceedings of the All-Union Research Institute of Plant Protection. Injuriousness of Insect Pest and Diseases of Agricultural Crop* 85:(5): 47-54, 1979.

# EVALUACIÓN DEL IMPACTO DEL CAMBIO CLIMÁTICO SOBRE EL COMPORTAMIENTO DE *TRIPS TABACI* LIND. (THYSANOPTERA: THRIPIDAE) EN EL CULTIVO DEL AJO EN CUBA

S. F. Jiménez, Ángela Porras y J. Cortiñas

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

## RESUMEN

A tenor con los compromisos contraídos por los países firmantes de la Convención Marco de Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (IUCC, 1992), en este trabajo se evaluó, mediante un modelo matemático el impacto del cambio climático sobre el comportamiento de *Thrips tabaci* Lind., la fundamental plaga insectil de las liliáceas en Cuba. Para ello se estableció la línea base de su comportamiento, según los registros históricos de las temperaturas medias y las precipitaciones correspondientes de octubre a abril, que se comparó con las líneas resultantes de evaluar, en el modelo matemático, los cambios climáticos previstos según un Escenario de Emisión de Gases de Efecto Invernadero IS92A, y como Modelo Climático Global el HADCM2 con sensibilidad media, para los años 2010, 2030, 2050 y 2100 desarrollado por el INSMET. Los resultados sugieren que en la medida en que se produzca el cambio, *T. tabaci* resultará cada vez más favorecida en su desarrollo por las variaciones previstas en la temperatura y las precipitaciones, y se producirán ataques más intensos sobre el ajo y otras liliáceas, fundamentalmente en los primeros meses del año, por lo que será necesario analizar variantes en el calendario de siembra con el objetivo de mitigar en lo posible la agresividad de esta plaga.

Palabras claves: ajo, cambio climático, mitigación, *Thrips tabaci*

## ABSTRACT

According to the agreements established by the signing countries within the Convention Framework of the United Nations on the Global Change (IUCC, 1992) the impact of this phenomenon was assessed in this work for *T. tabaci*, the most important insect pest of Liliaceae in Cuba. A base-line was established for the behaviour of the pest taking into account the historical data for mean temperature and rains corresponding to the months from October to April. Resulting lines obtained by means of a mathematical model and considering the global changes foreseen according to the scenarios IS92A and HADCM2 as global climatic model with a mean sensitivity for the years 2010, 2030, 2050 and 2100 developed by the Cuban Meteorological Institute, were compared with the base line. Results suggest that as the global occurs the conditions for *T. tabaci* development will be more favourable due to the variations expected in temperature and rains. As a consequence, more severe attacks will occur in garlic and other liliaceous crops, mainly during the first months of the year so other variants are to be analysed as for the sowing calendar in order to mitigate the aggressiveness of this pest.

Key words: garlic, global change, mitigation, *T. tabaci*

## INTRODUCCIÓN

Desde la década del ochenta la comunidad científica mundial ha estado alertando sobre la posibilidad de un cambio climático irreversible debido a las actividades humanas. Hoy el hecho de estar ocurriendo el cambio es una realidad. Una de las conclusiones del Primer Informe de Evaluación del Panel Intergubernamental de Expertos sobre Cambio Climático (IPCC) indica un aumento del efecto invernadero, lo que produce un calentamiento adicional de la superficie de la tierra.

En la Conferencia de Naciones Unidas sobre Medio Ambiente y Desarrollo, que se celebró en Río de Janeiro en 1992, el IPCC presentó una actualización de su primer informe, reafirmando lo expresado en él, y fue la ocasión escogida para la firma, por parte de

los 155 países incluyendo a Cuba, de la Convención Marco de Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (IUCC, 1992). En el artículo 4 dedicado a los compromisos que asumen las partes, se estableció, entre otros, que se debían emplear métodos para la evaluación del impacto con miras a reducir al mínimo los efectos adversos en la economía, la salud pública y la calidad del medio ambiente.

Las poblaciones de hongos, bacterias, virus, nemátodos, insectos, malezas y los enemigos naturales, varían en dependencia de múltiples factores, entre los que el hombre juega un papel primordial. No obstante, existe una influencia de los efectos biosféricos sobre hospederos y los patógenos, una interrelación entre ambos y una respuesta del ecosistema a la interrelación y los

efectos directos e indirectos que tanto los patógenos como hospederos producen en ellos [Wagner, 1990]. Según Szentkirályi *et al.* (1996), los insectos son bioindicadores apropiados de las fluctuaciones de las variables climáticas.

El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar con métodos científicos el impacto del cambio climático sobre el comportamiento de *Thrips tabaci* Lind., especie de insecto que representa la principal plaga del ajo y otras liliáceas en Cuba, y contribuir al compromiso contraído en la Convención Marco de Naciones Unidas sobre el Cambio Climático.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El método utilizado en la realización de este trabajo fue el indicado por el manual sobre Métodos para la Evaluación del Impacto del Cambio Climático y Estrategia de Adaptación (UNEP, 1996). Se siguieron las indicaciones generales al tratar la temática de la protección de las plantas, debido a la posibilidad de utilización de modelos empírico-estadísticos y de regresión múltiple para evaluar el impacto del cambio, sobre plagas y enfermedades, en futuros escenarios climáticos importantes en el ámbito nacional y mundial.

Se seleccionó un modelo estadístico (ecuación de regresión múltiple) obtenido por Cortiñas *et al.* (en preparación) a partir de estudios de la dinámica de población de *T. tabaci* realizados durante tres años consecutivos en el área experimental del INISAV en el municipio de Alquizar, que forma parte de las principales zonas

productoras del cultivo en la provincia de La Habana [Jiménez *et al.*, 1999]. Dicho modelo describe las variaciones de la población en función de las temperaturas medias y las precipitaciones, e involucra la fenología del cultivo:

$$\text{Log}(Pt) = 0,05 F + 0,92 \text{Log}(35 - Tx) - 0,013 Pp \quad R^2 = 0,94$$

donde:

*Pt*: población total

*F*: fenología

*Tx*: temperatura media

*Pp*: precipitaciones

Utilizando este modelo se estableció una línea base para lo cual se trabajó con los registros históricos de las temperaturas medias y las precipitaciones, teniendo en cuenta sólo los meses de octubre a abril, que corresponden al período en que se desarrolla el cultivo del ajo en Cuba. Los datos meteorológicos utilizados fueron medias históricas de variables climáticas registradas por la Estación Meteorológica de La Pepilla en Güira de Melena, de la red de estaciones del INSMET.

Se trabajó con el Escenario de Emisión de Gases de Efecto Invernadero IS92A', y como Modelo Climático Global el HADCM2 con sensibilidad media, para los años 2010, 2030, 2050 y 2100 [Centellas, 1998]. Debido a que el ajo se planta en el período poco lluvioso (invierno), las variaciones de las variables meteorológicas con los cuales se trabajó corresponden solamente a los meses de octubre, noviembre, diciembre, enero, febrero, marzo y abril (*Tabla*).

Valores de las variaciones de las variables meteorológicas mensuales utilizadas en el estudio con el Escenario de Emisión de Gases de Efecto Invernadero IS92A' y el Modelo Climático Global HADCM2 con sensibilidad media. Localización: 22,50 lat./-82,50 lon.

Cambio: 2010							
Variables	Meses						
	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	Oct.	Nov.	Dic.
<i>T.med.</i>	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,5	0,4
<i>Precip.</i>	-1,3	-4,2	-6,7	-0,7	1,9	5,0	1,2
Cambio: 2030							
Variables	Meses						
	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	Oct.	Nov.	Dic.
<i>T.med.</i>	0,6	0,6	0,7	0,8	0,9	0,9	0,7
<i>Precip.</i>	-2,6	-8,1	-12,8	-1,4	3,7	9,6	2,2
Cambio: 2050							
Variables	Meses						
	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	Oct.	Nov.	Dic.
<i>T.med.</i>	0,9	0,9	1,0	1,2	1,4	1,4	1,1
<i>Precip.</i>	-3,9	-12,5	-19,6	-2,2	5,6	14,7	3,4
Cambio: 2100							
Variables	Meses						
	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	Oct.	Nov.	Dic.
<i>T.med.</i>	1,6	1,6	1,9	2,2	2,5	2,5	2,1
<i>Precip.</i>	-7,2	-22,8	-35,7	-4,0	10,3	26,8	6,2

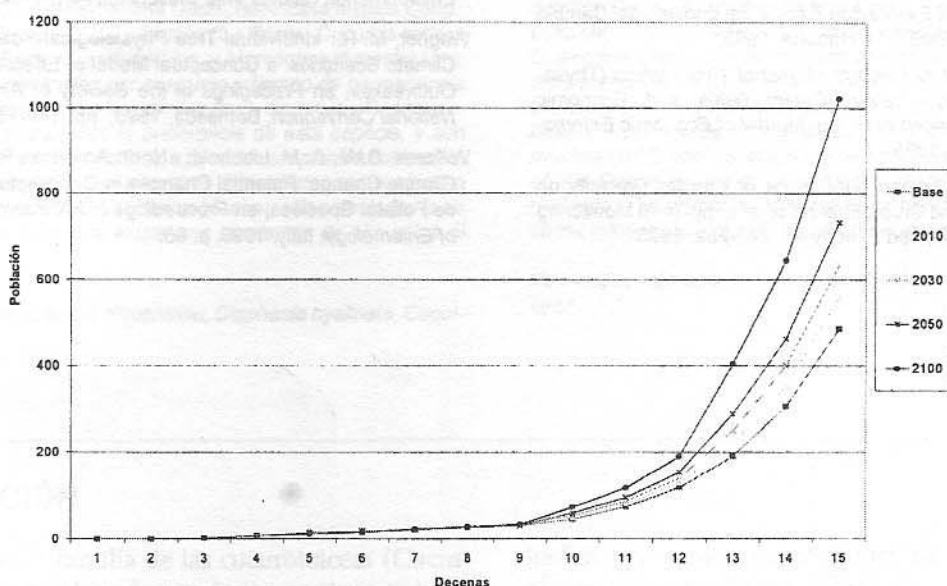
Se realizó un análisis comparativo de la línea base calculada con los resultados que se obtuvieron, sustituyendo en el modelo estadístico (ecuación de regresión múltiple) las variaciones de temperatura y precipitaciones previstas en los escenarios, así como la evaluación del impacto sobre cada uno de ellos, y las consecuencias que dichos cambios provocarán en el comportamiento futuro de la plaga.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El modelo de regresión utilizado para evaluar el impacto en los diferentes escenarios tiene implícita la relación directa entre el crecimiento de las poblaciones de trips y la temperatura media del aire, así como la relación inversa entre dicho crecimiento y las precipitaciones. Esto explica que, al comparar el comportamiento de la especie que describe la línea base con los obtenidos según las variaciones previstas de estas variables climáticas (Fig.), las principales diferencias se obtengan a

partir de enero en los cuatro escenarios (2010, 2030, 2050 y 2100), debido a que los meses finales del año presentarán, en todos ellos, aumentos de la temperatura media y de las precipitaciones. Sin embargo, a partir de enero y hasta abril las temperaturas, aunque en menor cuantía, crecerán, pero las precipitaciones mostrarán una disminución considerable sobre todo en febrero y marzo, a lo cual se adiciona la participación que en el modelo de regresión utilizado tiene la edad de las plantas.

De tal manera que las plantaciones de ajo resultarán más perjudicadas por el ataque de *T. tabaci* como consecuencia del cambio climático, y esto implicará la necesidad de incrementar la protección fitosanitaria en virtud de lograr rendimientos adecuados del cultivo, toda vez que los mayores incrementos de la plaga se producirán fundamentalmente a partir del primer tercio de su período de desarrollo, y en adelante, coincidiendo con la etapa fenológica en que se desarrollan los bulbos.



Comparación entre la línea base y los diferentes escenarios para *Thrips tabaci* en ajo.

El incremento de las poblaciones de *T. tabaci* cuando las temperaturas son altas y las precipitaciones escasas ha sido reconocido por numerosos autores [Lewis, 1973; Silveira y Guimarães, 1984; Kosciak, 1985; Lorini *et al.*, 1986; Ali *et al.*, 1993; Fournier *et al.*, 1995].

Consideramos que una situación semejante se producirá en relación con otras especies de insectos y ácaros, plagas de cultivos agrícolas, cuyo calendario de siembra coincide con el del ajo, y que además posean una dependencia similar de los factores climáticos que más se modificarán como consecuencia del cambio. Tal es el caso de las moscas blancas en el tomate o los áfidos en la papa.

Estudios sobre el efecto de cambios en el clima sobre los patrones de fluctuación temporal y espacial de polillas [Leskó *et al.*, 1996] y sobre la influencia de las fluctuaciones del clima sobre los patrones de diversidad de insectos [Szentkirályi *et al.*, 1996] demuestran las variaciones que se han estado produciendo en diversas regiones del mundo.

Algunos estudios sobre predicción del impacto del cambio climático también se han conocido recientemente, como es el caso de los incrementos previstos por Jahn *et al.* (1996) en la infestación por áfidos en cereales y escarabajos de la papa, y los cambios potenciales en la distribución geográfica de especies de insectos defoliadores [Williams y Liebhold, 1996].

## CONCLUSIONES

• En la medida en que se produzca el cambio climático, *T. tabaci* resultará cada vez más favorecido en su desarrollo, y se producirán ataques más intensos de esta plaga en el ajo, sobre todo en los primeros meses del año. Será conveniente, por ende, analizar variantes en el calendario de siembra con el objetivo de mitigar en lo posible su agresividad, profundizar en la selección de las variedades de ajo que han de utilizarse (tipo de ciclo, características de resistencia y otros), y mantener el monitoreo de los trips y sus enemigos naturales con vistas a detectar las nuevas relaciones que se establecerán entre ellos y ajustar las medidas que permitan su manejo.

## REFERENCIAS

- Ali, A.; M. Ahmad; K. Jawad: «Role of Weather in Fluctuating the Population of *Amrasca devastans* (Dist.) and *Thrips tabaci* (Lind.)», en *Proc. Pakistan Congr. Zool.* 13: 133-139, 1993.
- Centella, A. et al.: «Climatic Change Scenarios for Impact Assessment in Cuba», II Taller sobre Evaluación Rápida del Impacto del Cambio Climático en Cuba, INSMET, La Habana, 1998.
- Fournier, F.; G. Boivin; R.K. Stewart: «Effect of *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) on Yellow Onion Yields and Economic Thresholds for Its Management», en *Journal of Economic Entomology* 88(5): 1401-1407, 1995.
- Jahn, M.; E. Kluge; S. Enzian: «Influence of Climate Diversity on Fungal Diseases of Field Crops-Evaluation of Long-Term Monitoring Data», en *Aspects of Applied Biology* 45: 247-252, 1996.
- Jiménez S. F.; et al.: «Dinámica de población de *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera:Thripidae) en ajo (*Allium sativum* L.)», en *Fitosanidad* (La Habana) 3 (1), 1999.
- Koscik, B.: «*Thrips tabaci* Lind. (Thysanoptera) on Tobacco Fields of the Middle Roztocze Region», en *Pol. Pismo Entomol.* 55(2): 413-424, 1985.
- Lesko, K.; F. Szentkirályi; F. Kádár: «Temporal and Spatial Fluctuation Patterns of Moths Under Climatic Change in Hungary», en *Proceedings of XX International Congress of Entomology*, 1996, Italy, p. 87.
- Lewis, T.: *Thrips, Their Biology, Ecology and Economic Importance*, Academic Press, New York, 1973.
- Lorini I., L. Torres y D. R. Guimarães: «Fluctuação populacional de Trips na cultura da cebola». Empasac, 1986. Pesquisa em Andamento no. 62, 1986.
- Silveira, E.R.; D. R. Guimarães: «Incidência e danos de trips em cultivares de cebola recomendadas para Santa Catarina». Empasac, 1984. Pesquisa em Andamento no. 27.
- Szentkirályi, F.; K. Lesko; F. Kádár: «Influences of Climate Fluctuations on Insect Diversity Patterns Detected by Long-Term Light Trapping», en *Proceedings of XX International Congress of Entomology*, Italy, 1996, p. 86.
- UNEP: Handbook on Methods for Climate Change Impact Assessment and Adaptation Strategies. DRAFT (Version 1.3.), UNEP, Institute for Environmental Studies Vrije Universiteit Amsterdam, 1996.
- Wagner, M. R.: «Individual Tree Physiological Responses to Global Climate Scenarios: a Conceptual Model of Effects on Forest Insect Outbreaks», en *Proceedings of the Society of American Foresters National Convention*, Bethesda, 1990, pp. 148-155.
- Williams, D.W.; A. M. Liebhold: «North American Forest Insects and Climate Change: Potential Changes in Geographical Distribution of de Foliator Species», en *Proceedings of XX International Congress of Entomology*, Italy, 1996, p. 86.

## PREFERENCIA ALIMENTARIA DE *DIAPHANIA HYALINATA* (LINN.) (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) SOBRE PLANTAS DE LA FAMILIA CUCURBITACEAE

E. Pozo

Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP). Universidad Central de Las Villas, Km 5½, Santa Clara, Villa Clara, CP 54830

### RESUMEN

Se realizó un estudio de la preferencia alimentaria de *Diaphania hyalinata* (Linn.) (Lepidoptera: Pyralidae) con ocho especies de plantas hospedantes: *Cucurbita maxima* Duch., *Benincasa hispida* Cong., *Citrullus vulgaris* Schrad., *Luffa cylindrica* (L.) Roem., *Cucumis sativus* Linn., *C. dipsacus* Ehrh., *C. anguria* Linn. y *Momordica charantia* Linn. Se midieron las preferencias por consumo y tiempo de permanencia de las larvas L4. Resultó que las plantas de *C. dipsacus* y *C. anguria*, ambas silvestres, encabezan la preferencia de esta especie, y son seguidas por *C. maxima* y *C. sativus*, a pesar de ser plantas cultivadas. Las especies de Cucurbitaceae silvestres demostraron ser un efectivo reservorio para *D. hyalinata*. La especie *M. charantia* no sólo fue la de menos preferencia, sino que existe una repelencia de ella sobre el pirálido.

Palabras claves: preferencia alimentaria, *Diaphania hyalinata*, Cucurbitaceae

### ABSTRACT

A study of the alimentary preference of *Diaphania hyalinata* (Linn.) (Lepidoptera; Pyralidae) with 8 species of host plants: *Cucurbita maxima* Duch., *Benincasa hispida* Cong., *Citrullus vulgaris* Schrad., *Luffa cylindrica* (L.) Roem., *Cucumis sativus* Linn., *C. dipsacus* Ehrh., *C. anguria* Linn., and *Momordica charantia* Linn. The preferences were measured by consumption and time of permanency of the larvae L4. It was that the plants of *C. dipsacus* and *C. anguria*, both wild ones head the preference of this species and they are continued by *C. maxima* and *C. sativus*, in spite of being cultivated plants. The species of wild Cucurbitaceae demonstrated to be an effective source for *D. hyalinata*. The species *M. charantia* was not only that of less preference but rather a repulse of her exists it has more than enough the piralid.

Key words: alimentary preference, *Diaphania hyalinata*, Cucurbitaceae

### INTRODUCCIÓN

Las plantas de la familia de las cucurbitáceas (Cucurbitaceae) que son cultivadas: melones, pepinos, calabaza china y calabazas, han sido atacadas por diferentes plagas en los últimos años, como los gusanos de los melones y pepinos *Diaphania hyalinata* (Linn.) y *D. nitidalis* Stoll. De ellas la primera ha resultado la de mayor afectación, burlando los controles de la entomofauna beneficiosa que poseen estos cultivares [Grillo y Pozo, 1998].

*D. hyalinata* se alimenta de estas plantas y de las cucurbitáceas silvestres, en las cuales encuentra un reservorio natural consumiendo su follaje [Wolcott, 1948; Bruner y Valdés, 1953; Metcalf y Flint, 1975; Mendoza y Gómez, 1982; King y Saunders, 1984]. Además es reportado por Zayas (1989), atacando al chayote, y Martínez y Lindo (1986) refieren que los primeros instares son raspadores, y a partir del tercero son desfo-

liadores, y consumen secciones de tallo y fruto si el alimento escasea [Pozo, 1994].

Las complejas relaciones insecto plaga-planta hospedante, así como su grado de preferencia, permite una acertada evaluación de estos reservorios y su eliminación en épocas de no cosecha. Nuestro trabajo tiene como objetivo el estudio de la preferencia alimentaria de *D. hyalinata* en las diferentes especies de cucurbitáceas sobre las cuales ha sido reportada.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización del presente se utilizaron larvas de *Diaphania hyalinata* (Linn.) (Lepidoptera: Pyralidae) procedente de la cría artificial del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP), según la tecnología de cría de este pirálido [Pozo, 1998].

Las especies de cucurbitáceas fueron: calabaza común (*Cucurbita maxima* Duch.), calabaza china (*Benincasa hispida* Cong.), melón de agua (*Citrullus vulgaris* Schrad.), pepino (*Cucumis sativus* Linn.), estropajo (*Luffa cylindrica* (L.) Roem.), pepino cimarrón (*Cucumis dipsacus* Ehrh.), meloncillo cimarrón (*Cucumis anguria* Linn.) y cundeamor (*Momordica charantia* Linn.).

Para evitar cualquier enfermedad o microorganismo asociado a estas plantas se sembraron de semillas en cepellones, en umbráculos, y luego de aptas para el experimento se procedió a utilizarlas. Las larvas escogidas fueron del III instar y puestas a consumir en dietas naturales hasta que arribaron al IV instar, comprobándose por la medición del casquete cefálico [Pozo, 1994]. Se seleccionó el IV instar por ser, según Martínez y Lindo (1986) y Pozo (1994), el más voraz que presenta la especie.

Las plantas se cortaron en secciones de 100 mm<sup>2</sup>, y una vez puestas sobre la bandeja se colocaron las larvas en bandejas circulares de 175 mm de diámetro. Las ocho especies de plantas de la familia Cucurbitaceae se situaron equidistantes unas de otras, y se variaron según

la disposición con respecto a los puntos cardinales y a las especies.

Se procedió a la anotación de cada uno de los movimientos de las larvas en los siguientes tiempos: 1, 2, 3, 5, 8, 10, 14, 18, 22, 25, 30, 35, 40, 50 y 60 minutos, y luego en cada cuarto de hora hasta completar un total de treinta horas. Se realizó con 40 réplicas.

Se calculó y promedió la cantidad de alimentos totales consumidos por larvas y el promedio de ellas, así como la cantidad de tiempo en cada uno. Se analizaron las variaciones estadísticas por el Programa SPSS (ver 8.0 para Windows NT).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las larvas de *D. hyalinata* (Linn.) mostraron una preferencia por las plantas silvestres *Cucumis dipsacus* y *C. anguria* con un consumo de 100 mm<sup>2</sup> y 98,25 mm<sup>2</sup> respectivamente, por encima de especies cultivadas como *Cucurbita maxima* y *Cucumis sativus*, con un consumo de 95,75 mm<sup>2</sup> y 85,05 mm<sup>2</sup> respectivamente (Fig. 1), aunque no existen diferencias significativas entre ellas.

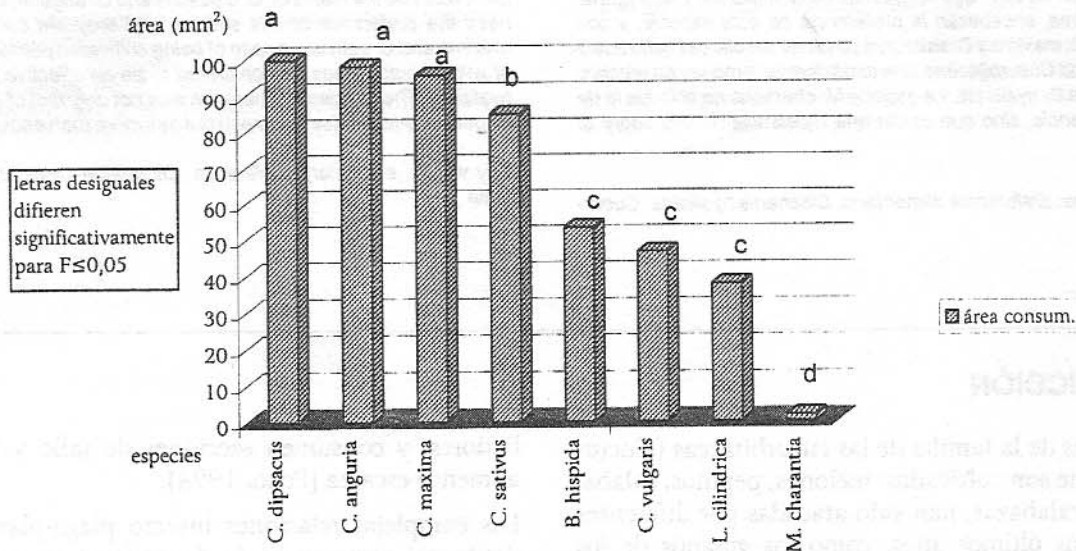


Figura 1. Promedio de área consumida por las larvas de *D. hyalinata* en las diferentes plantas hospedantes.

Las demás especies estudiadas que incluyen silvestres y cultivadas decrecieron en preferencia en el siguiente orden: *B. hispida*, *C. vulgaris*, *L. cilindrica*, y por último, con un consumo sólo de 1,8 mm<sup>2</sup>, *M. charantia*.

En la Fig. 2, en cuanto al tiempo de estancia sobre la planta hospedante, resultó similar a la Fig. 1, pero con las variaciones de orden entre *C. dipsacus* y *C. maxima*, las demás especies se mantienen en ese mismo orden de preferencia, siendo en este caso *M. charantia* la de menor frecuencia de tiempo, con sólo 2,41 horas.

Estos resultados nos brindan una clara idea, además de aportar al conocimiento científico de las relaciones y preferencias tróficas de una especie, como se establecen en la naturaleza con sus plantas hospedantes silvestres, que son el reservorio natural en el tiempo en que no se encuentran presentes los cultivos útiles para el hombre en las extensas áreas que ellos ocupan.

Los enemigos naturales actúan sobre esta especie de modo natural y a un bajo coeficiente de reproducción, por lo que, llegado el tiempo de establecerse como una

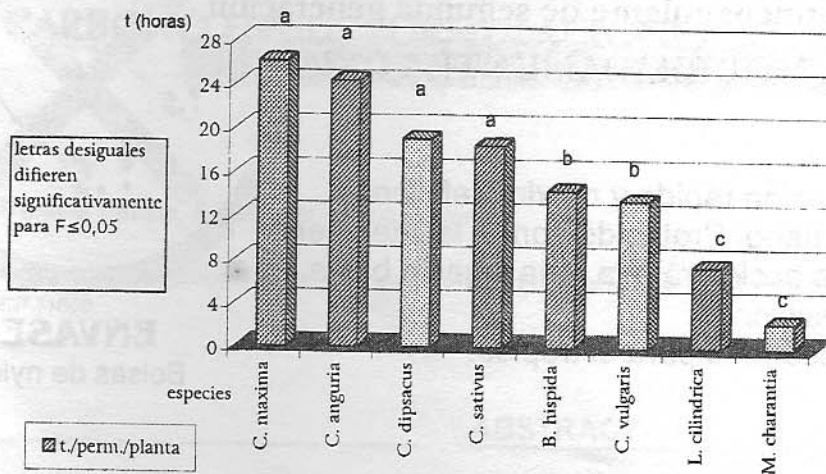


Figura 2. Tiempo de permanencia de las larvas de *D. hyalinata* en las diferentes plantas hospedantes.

plaga en los cultivos, estos no cuentan con un número adecuado para mantener a niveles bajos la presencia de la plaga en el cultivar [Pozo *et al.*, 1997].

De ello se desprende que la limpieza de estas plantas en áreas de cultivo y sus áreas colindantes es fundamental, pues se evitaría el pronto flujo de aparición de la plaga que encuentra en estos amplios cultivares el alimento necesario y sin restricción para su reproducción acelerada.

## CONCLUSIONES

- La preferencia de *D. hyalinata* sobre las cucurbitáceas estudiadas fue en el siguiente orden de acuerdo con el alimento consumido: *C. dipsacus*, *C. anguria*, *C. maxima*, *C. sativus*, *B. hispida*, *C. vulgaris*, *L. cilíndrica* y *M. charantia*.
- El tiempo de permanencia sobre el alimento fue similar con el cambio de *C. dipsacus* por *C. maxima*.
- Las especies de cucurbitáceas silvestres constituyen un refugio seguro para esta plaga en épocas donde no existen cultivares de cucurbitáceas comerciales.
- La especie *M. charantia* no sólo fue la de menor preferencia, sino que las larvas mostraron un rechazo hacia ella.

## REFERENCIAS

- Bruner, S. C.; F. Valdés: *Medios para combatir los principales insectos que atacan las hortalizas*, La Habana, 1953, p. 85.
- Grillo, R. H.; E. Pozo: «Complejo de enemigos naturales de *Diaphania hyalinata* (Linn) (Lepidoptera: Pyralidae) en la región central de Cuba», en *Rev. Centro Agrícola* 25(1): 22-24, ene.-abr., 1998.
- King, A. B. S.; J. L. Saunders: *Las plagas de invertebrados a los cultivos anuales en la América Central*, Londres: ADE-ODA, 1984, p. 52.
- Martínez, P. P.; G. Lindo: «Ciclo biológico y comportamiento de *Diaphania hyalinata* en zapallo y melón», en *Rev. Peruana de Entomología*, 29: 113-115, dic., 1986.
- Mendoza H. M.; J. Gómez: *Principales insectos que atacan a las plantas económicas de Cuba*, Ed. Pueblo y Educación, La Habana, 1982, p. 173.
- Metcalfe, C. L.; W. P. Flint: *Insectos destructivos e insectos útiles*, 2a. ed., La Habana, 1975, pp. 720-1208.
- Pozo, V.E.: «Biología de *Diaphania hyalinata* (Linn.) (Lepidoptera: Pyralidae) bajo condiciones ambientales», en *Rev. Centro Agrícola* 21(1): 46-49, ene.-abr. 1994.
- : «Tecnología para la cría artificial de *Diaphania hyalinata* (Linn.) (Lepidoptera: Pyralidae)», en *Rev. Centro Agrícola* 25(1): 37-40, ene.-abr., 1998.
- Pozo, V. E.; Adria González y G. Dávila: Comportamiento de los enemigos naturales de *Diaphania hyalinata* (Linn.) (Lepidoptera: Pyralidae) en la Estación Experimental Alvaro Barba Machado, Carta Informativa *Cocuyo*, no. 6, mayo, 1997.
- Wolcott, G. N.: «The Insects of Puerto Rico», en *Journ. Agric. Univ. Puerto Rico*, 1948.

## DETERMINACIÓN DE ACRILONITRILLO Y TETRACLORURO DE CARBONO EN SUS FORMULACIONES

Rafaela Batista, A. Bécquer y Lidia Ferrer

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

### RESUMEN

Se desarrolló un método para determinar el contenido de acrilonitrilo en sus formulados utilizando la cromatografía gas-líquido con detector FID, hallándose el contenido de tetracloruro de carbono por diferencia. Estas sustancias pueden ser analizadas por un método de valoración por retroceso con hidróxido de sodio, el cual implica un consumo grande de varios reactivos, así como de tiempo. Con el desarrollo de este nuevo método pudimos obtener resultados muy buenos, además del ahorro de reactivos y de tiempo. El procedimiento consistió en realizar 15 determinaciones, obteniéndose una desviación típica de 0,54 y un coeficiente de variación de 1,57 % para el acrilonitrilo, y 0,83% para el tetracloruro de carbono, por lo que el método resultó ser confiable y preciso.

Palabras claves: acrilonitrilo, tetracloruro de carbono, cromatografía gas-líquido

### ABSTRACT

A method was developed to determine the acrylonitrile content in its formulations using the gas-liquid chromatography with detecting FID, being the content of carbon tetrachloride for difference. These substances can be analyzed by a method of valuation by setback with Sodium Hydroxide, which implies a big consumption of several reagents as well as of time. With the development of this new technique we could obtain very good results, besides the saving of reagents and time. The procedure consisted on carrying out 15 determinations being obtained a typical deviation of  $\pm 0.54$  and a coefficient of variation of 1.57% for the acrylonitrile and 0,83 % for the carbon tetrachloride, for what the method was to be reliable and I specify

Key words: acrylonitrile, carbon tetrachloride, gas-liquid chromatography

### INTRODUCCIÓN

El acrilonitrilo es un fumigante efectivo, potente y altamente inflamable, y por eso en su formulación requiere de una sustancia que sea capaz de reducir este fenómeno y que usualmente es el tetracloruro de carbono [Registro Central de Plaguicidas, 1997].

La formulación de acrilonitrilo + tetracloruro de carbono se utiliza en nuestro país fundamentalmente para la fumigación de tabaco e instalaciones, específicamente contra *Lasioderma serricorne*, *Sitophilus oryzae* y otras plagas [Registro Central de Plaguicidas, 1988]. Los métodos recomendados para la determinación del acrilonitrilo y tetracloruro de carbono son [Vettorazzi, 1977]:

- Midiendo la densidad a 25 °C por el método del picnómetro.
- Destilación de la mezcla midiendo la diferencia de peso destilado y temperatura de destilación.
- Método de valoración por retroceso con NaOH.

Estos métodos son técnicas que conducen a un grado de mayor complejidad y de tiempo, así como más gasto de reactivos en el caso de la valoración con NaOH. Por esta razón desarrollamos un nuevo método por cromatografía gaseosa que nos permitiera, en poco tiempo, determinar la composición del acrilonitrilo, y luego, por diferencia, la del tetracloruro de carbono.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Principio del método:

El método se basa en la determinación del acrilonitrilo en su formulación por cromatografía gaseosa, usando un relleno Sepharon BO con la utilización de un detector de ionización por llama. El tetracloruro de carbono es determinado por diferencia.

Condiciones cromatográficas:

- Columna de vidrio de tres metros de largo y dos milímetros de diámetro interno relleno con Sepharon BO.

- Temperatura de la columna: 210 °C.
- Temperatura del inyector: 280 °C.
- Temperatura del detector: 280 °C.
- Presión de nitrógeno: 70 kPa.
- Presión del aire: 50 kPa.
- Presión de hidrógeno: 40 kPa.

#### Técnica operatoria:

*Preparación del estándar interno:* Se pesan alrededor de 2 000 mg de butanol puro en un volumétrico de 200 mL. Se disuelve y enrasa con metanol.

*Preparación del patrón:* Se pesa alrededor de 100 mg de patrón de acrilonitrilo en un volumétrico de 10 mL. Luego se agita y se enrasa con 10 mL (tomados con pipeta aforada de 10 mL) de la solución de estándar interno.

*Preparación de la muestra:* Se pesa entre 280-300 mg de muestra en un volumétrico de 10 mL. Luego se agita y se enrasa con 10 mL (tomados con pipeta aforada de 10 mL) de la solución de estándar interno.

Se inyectan dos microlitros del patrón e igual cantidad de muestra por duplicado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizaron 15 determinaciones, y los valores obtenidos se procesaron estadísticamente, determinándose la desviación típica y el coeficiente de variación.

Como se muestra en la *Tabla 1*, los valores del contenido de ingrediente activo de acrilonitrilo por el método de cromatografía gaseosa oscilaron entre 33,67 y 35,53% p/v, mientras que para el tetracloruro de carbono que estuvieron comprendidos, en el rango de 64,47 y 66,33% p/v. Comparando estos valores anteriores con las concentraciones reportadas por el fabricante del producto para cada uno de ellos ( $35 \pm 2$ ) % p/v para el acrilonitrilo y ( $65 \pm 2$ ) % p/v en el caso del tetracloruro de carbono [Acrizell, Zellchemie, 1997], nos demuestra la capacidad de esta técnica para determinar, de manera eficiente, los contenidos de estos ingredientes activos dentro de la formulación, lo que da una medida de la exactitud de la técnica analítica propuesta.

En la *Tabla 2* se puede observar que la desviación típica para el método fue de  $\pm 0,5446$  y el coeficiente de variación de 1,57 % para el acrilonitrilo, y 0,83 % para el  $\text{CCl}_4$ , por lo que se puede deducir que este método presenta una aceptable precisión.

Tabla 1. Resultados obtenidos por análisis

No.	Peso de muestra (g)	Por ciento p/p de acrilonitrilo	Por ciento p/p de $\text{CCl}_4$	Por ciento v/v de acrilonitrilo	Por ciento v/v de $\text{CCl}_4$	$V_{nv}$ total	Por ciento v/v en formulado acrilonitrilo	Por ciento v/v en formulado de $\text{CCl}_4$
1	0,3070	21,06	78,94	26,00	49,58	75,58	34,40	65,60
2	0,2870	21,68	78,32	26,76	49,19	75,95	35,23	64,77
3	0,3570	20,53	79,47	25,34	49,91	75,25	33,67	66,33
4	0,3210	21,15	78,85	26,11	49,52	75,63	34,52	65,48
5	0,3110	21,60	78,40	26,66	49,24	75,90	35,12	64,88
6	0,2836	21,33	78,67	26,33	49,41	75,74	34,76	65,24
7	0,3190	21,20	78,80	26,17	49,49	75,66	34,58	65,42
8	0,3050	21,91	78,09	27,04	49,05	76,09	35,53	64,47
9	0,2987	21,21	78,09	27,04	49,49	75,67	34,59	65,41
10	0,2970	21,03	78,97	25,96	49,60	75,56	34,35	65,65
11	0,3200	21,23	78,77	26,20	49,47	75,67	34,62	65,38
12	0,2910	20,63	79,37	25,46	49,85	75,31	33,80	66,20
13	0,3120	21,83	78,17	26,95	49,10	76,05	35,43	64,57
14	0,3000	21,08	78,92	26,02	49,57	75,59	34,42	65,58
15	0,2910	20,84	79,15	25,72	49,71	75,43	34,09	65,91

Tabla 2. Resultados estadísticos

Parámetro estadístico	Acrilonitrilo	Tetracloruro de carbono
Valor promedio (X)	34,60	65,40
Desviación Típica (D.T.)	0,5446	0,5446
Coficiente de variación	1,57 %	0,83 %

## CONCLUSIONES

• El método de cromatografía gaseosa desarrollado es adecuado, pues presentó una desviación típica  $\pm 0,5446$ , así como un coeficiente de variación de 1,57%, lo cual conlleva a una aceptable precisión.

• El método es una alternativa para analizar acrilonitrilo y tetracloruro de carbono en sus formulaciones de una forma rápida y precisa.

## REFERENCIAS

- Handbook of Chemistry and Physics*, 49 ed., 1968-1969.  
Registro Central de Plaguicidas. *Expediente de Acrizell (acrilonitrilo) para el registro en Cuba*, ZellChemie, 1997.  
*Registro Central de Plaguicidas. Lista oficial de plaguicidas autorizados*, Cuba, 1988, p. 13.  
Vettorazzi. «Toxicology of Miscellaneous Pesticides», en *Residue Review*, 66: 157-158, New York, 1977.

*una publicación  
electrónica*

ÁMBITO FITOSANITARIO  
[www.cuba.cu/ciencia/inisav](http://www.cuba.cu/ciencia/inisav)

--	--	--	--

ÁMBITO 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.

TEMÁTICA  
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](mailto:inisav@ceniai.inf.cu)

# LIXIVIACIÓN Y ADSORCIÓN DE CLORPIRIFOS E IPROBENFOS EN LOS SUELOS FERRALÍTICO ROJO Y OSCURO PLÁSTICO

Maribel García, Pura Moreno y G. Dierksmeier

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 realizaron experimentos con vistas a determinar la lixiviación y adsorción de clorpirifos e iprobenfos, plaguicidas de mucho uso en el cultivo del arroz, en los suelos ferralítico rojo y oscuro plástico. Para la lixiviación se utilizaron columnas plásticas de 30 cm de altura y cinco centímetros de diámetro interno. Se investigaron cuatro regímenes de precipitación (50, 100, 150 y 200 mm de lluvia), añadiéndose un máximo de 50 mm por día. La dosis utilizada en los experimentos para los insecticidas fue equivalente a 3,5 kg i.a./ha. La distribución de los plaguicidas se determinó analizando cada segmento de suelo, y mediante cromatografía gaseosa con detector termiónico se evaluó su cantidad en cada perfil, determinándose el porcentaje que representan del total encontrado en todos los niveles. La adsorción de cada plaguicida se determinó luego que este alcanzara el equilibrio en el sistema agua-suelo en ambas fases. Transcurrido este tiempo se determinó cuantitativamente por cromatografía gaseosa la concentración de clorpirifos e iprobenfos en el agua. La determinación de la constante específica de adsorción fue llevada a cabo a través de la expresión de Freundlich. Los resultados de la lixiviación permitieron conocer que el clorpirifos no lixivia en ninguno de los suelos estudiados bajo las condiciones del experimento, sin embargo el iprobenfos manifestó un mayor movimiento en el suelo ferralítico rojo, llegando hasta 15 cm. Con respecto a la adsorción, el clorpirifos presentó una constante específica alta en ambos suelos, mientras que la constante del iprobenfos fue pequeña, siendo ligeramente mayor en el suelo oscuro plástico.

Palabras claves: lixiviación, clorpirifos, iprobenfos, suelos

## ABSTRACT

They were carried out experiments with a view to determining the leaching behavior of chlorpyrifos and iprobenfos, pesticides of a lot of use in the cultivation of the rice, in the soil Red Ferralitic and Brown Plastic. For the leaching experiments, plastic columns of 30 cm of height and 5 cm of internal diameter were used. Four regimens of precipitation was investigated: 50, 100, 150 and 200 mm of rain, being added a maximum of 50 mm per day. The dose used in the experiments for the insecticides went equivalent to 3.5 kg ai/ ha. The distribution of the pesticides was determined analyzing each soil segments and by means of GLC and NPD detection, the quantity was evaluated of these in each profile, being determined the percentage they represent of the total found in all the levels. The results obtained of the leaching allowed to know that the chlorpyrifos doesn't leach in none of the soil studied under the conditions of the experiment, however the iprobenfos manifested a bigger movement in the soil Red Ferralitic, arriving up to 15 cm.

Key words: leaching, chlorpyrifos, iprobenfos, soil

## INTRODUCCIÓN

Con el desarrollo de la civilización se han originado diversos residuos industriales que pueden ser orgánicos, inorgánicos, gases de combustión, cenizas, etc., constituidos por materiales indeseables, la mayoría perjudicial para el hombre y todo el medio donde vive. Tal contaminación ambiental ha logrado que los hombres se preocupen en cómo combatirla, tratando de que cada día haya menos residuos industriales en el planeta que afecten la vida de todos sus habitantes.

Exactamente no se trata de eliminar dicha contaminación, sino de reducir su dimensión, los riesgos; y las

medidas que sea necesario tomar es lo recomendable para reducir al mínimo las consecuencias.

Entre las contaminaciones más frecuentes que pueden presentarse en la actualidad se encuentran las de cadmio, plomo, desechos orgánicos, derrames de petróleo, productos de la combustión de combustibles fósiles y plaguicidas.

La contaminación por plaguicidas bajo nuestras condiciones no constituye hasta el momento un problema crítico; sin embargo, es necesario realizar estudios ten-

dentados a conocer el comportamiento de los plaguicidas en el medio debido a que los residuos de estos compuestos provocan un riesgo para la vida del hombre, animales y plantas.

Con el objetivo de reducir el impacto de los residuos de plaguicidas en el ambiente, se realizan en nuestro laboratorio diversas investigaciones para determinar el comportamiento de estos agroquímicos en agua, suelo y cultivos fundamentalmente. Tal es el caso de los trabajos que se realizan para estudiar la lixiviación, que es el movimiento del plaguicida hacia las capas profundas del suelo, y que tiene gran importancia práctica, puesto que ella influye sobre la persistencia de estos compuestos en un perfil dado, y da una idea del riesgo de contaminación del manto freático [Dierksmeier, 1994].

Para realizar nuestro experimento se seleccionaron dos plaguicidas de uso en el cultivo del arroz [Worthing, 1987] y que no habían sido previamente investigados. Como se sabe, el cultivo del arroz, desde el punto de vista ambiental, constituye un riesgo debido a los canales de drenaje y cercanías a zonas costeras.

El objetivo de esta investigación es determinar la lixiviación y adsorción del clorpirifos e iprobenfos en el perfil arable de los suelos oscuro plástico y ferralítico rojo a escala de laboratorio, expuestos a las condiciones naturales de temperatura y humedad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para llevar a cabo la lixiviación en el suelo oscuro plástico (pH en suspensión acuosa 1/10 de 7,8, y 4,5% de materia orgánica) y ferralítico rojo (pH en suspensión acuosa 1/10 de 6,5, y 2,4% de materia orgánica) se utilizaron ocho tubos plásticos de 30 cm de altura y cinco de diámetro interno (cuatro tubos para cada suelo). A cada tubo se le practicó un corte lateral de modo de producir una abertura de dos centímetros de sector y 20 centímetros de longitud (Fig. 1). Al segmento faltante para completar el cilindro se le fijó una cinta adhesiva, y al borde inferior de los tubos se les ató fuertemente un pedazo de gasa de modo que el suelo con que se llenaran los tubos no saliera.

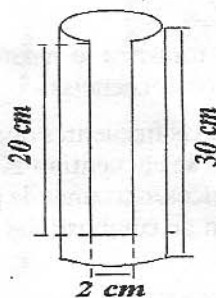


Figura 1. Tubo plástico con abertura lateral.

A continuación se cargaron los tubos con el suelo correspondiente, seco y tamizado, a través de una malla de dos milímetros. Por vibraciones mecánicas se compactó el contenido del tubo hasta que el nivel del suelo no descendiera más. Después se cubrió el suelo con papel de filtro y se hizo llegar gota a gota la cantidad suficiente de agua, de modo que el exceso filtrara libremente por el borde inferior. En ese momento se detuvo la adición de agua y se esperó hasta que no drenara más, se retiró el papel de filtro y se realizó entonces la aplicación del plaguicida, contaminando superficialmente con 700 g de clorpirifos e iprobenfos, cantidad que corresponde a una dosis superficial de 3,5 kg de i.a./ha.

Se analizaron cuatro regímenes de precipitación: 50, 100, 150, 200 mm de lluvia, añadiéndose un máximo de 50 mm por día. Terminado el experimento, los tubos se dejaron reposar durante cuatro horas con el objetivo de que toda el agua libre haya percolado. A continuación se retiró la lista lateral, y el suelo se dividió en cinco perfiles: 0-5, 5-10, 10-15, 15-20 y más de 20 cm. La determinación del clorpirifos e iprobenfos se realizó mediante la siguiente técnica:

Se secaron al aire las porciones de suelo proveniente de los tubos, se homogeneizaron y se tomó la mitad, se agitó en zaranda una hora con 150 mL de acetona pasándose a través de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro a balón de 250 mL, se concentró en evaporador rotatorio a 40°C, se diluyó el extracto en acetona y se inyectaron 2  $\mu\text{L}$  en el cromatógrafo gaseoso provisto de un detector termoiónico bajo las siguientes condiciones:

### Condiciones cromatográficas:

Columna de vidrio 1,5 m x 4 mm rellena con OV-101 al 5% sobre Chromosorb W DMCS 80-100 mallas.

Temperatura:      horno: 220°C  
                           inyector: 260°C  
                           detector: 220°C

Gas portador:       $\text{N}_2$  50 mL/min  
 Gases auxiliares:     $\text{H}_2$ : 40 mL/min  
                           aire: 150 mL/min

Para evaluar los plaguicidas investigados se determinó su cantidad en cada perfil, y el porcentaje que representa del total encontrado en todos los perfiles, con un límite de detección de 0,1 mg/kg.

Para llevar a cabo la adsorción se usaron tubos de ensayos de 60 mL de capacidad. Se trabajó como mínimo con cuatro concentraciones de plaguicidas en solución acuosa. Con cada concentración se prepararon cuatro tubos de ensayo, a los cuales se les añadió 50 mL de solución de plaguicida. A dos de los tubos se les añadió 5 g de suelo, y los otros dos se utilizaron como blanco analítico. Los tubos así preparados se agitaron durante un minuto y después se colocaron en incubadora a 30°C, durante 16 horas. Al cabo de ese tiempo

se tomó un alícuota del sobrenadante de cada tubo y se determinó la concentración del plaguicida, expresándose esta en mg/mL. Con los resultados analíticos para una misma concentración de plaguicida, de los tubos con suelo y sin suelo, se calculó la cantidad X (g) de cada plaguicida adsorbido en los 5 g de suelo.

La ecuación de Freundlich en cada caso particular se obtuvo graficando los valores  $\log x/m$  contra  $\log c$  (logaritmo de la concentración de equilibrio). En ambos casos se utilizó un formulado comercial de concentración conocida (determinada analíticamente). Las concentraciones utilizadas para la obtención de las isotermas correspondientes fueron 25, 50, 100 y 200 g/mL.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados de la Fig. 2, se puede observar que el clorpirifos prácticamente no se mueve en ninguno de los dos suelos investigados; aún para 200 mm de precipitación permanece el 99% de la dosis aplicada en los primeros 5 cm de la capa de suelo. Este comportamiento obedece a que el clorpirifos se retiene fuertemente en ambos suelos; su adsorción es alta, resultado que se comprueba con la constante de adsorción de este compuesto para ambos suelos -28,70  $\mu\text{g/g}$  para el suelo oscuro plástico, y 10,75  $\mu\text{g/g}$  para el ferralítico rojo-, valores que coinciden con los trabajos realizados por otros autores [Gustafson, 1989; Vollner and Klotz, 1997].

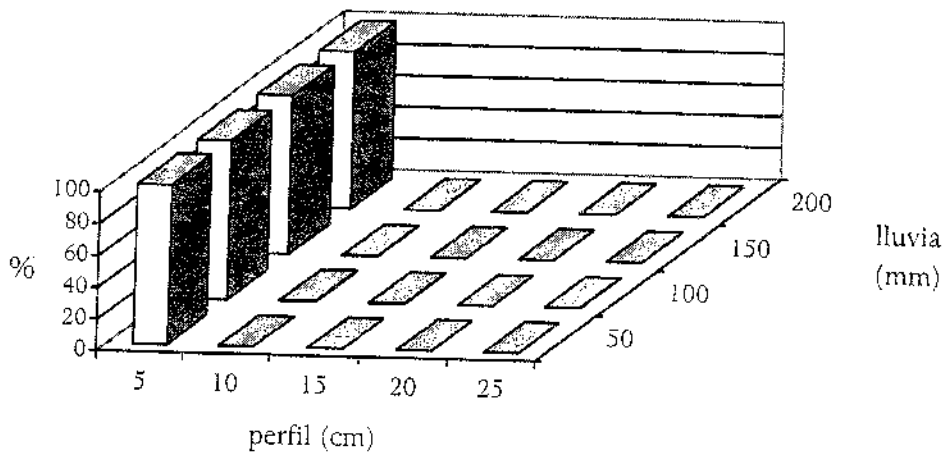


Figura 2. Lixiviación de clorpirifos en los suelos ferralítico rojo y oscuro plástico.

El iprobenfos mostró una ligera tendencia a moverse hacia las capas más profundas estudiadas, llegando el 76,5 % de la dosis aplicada hasta el perfil comprendido entre 5-10 cm en el suelo ferralítico rojo (Fig. 3). Este

resultado demuestra que el insecticida tiene poca afinidad por los coloides del suelo, y se ve desplazado en el proceso de competencia de los centros activos por las moléculas del agua.

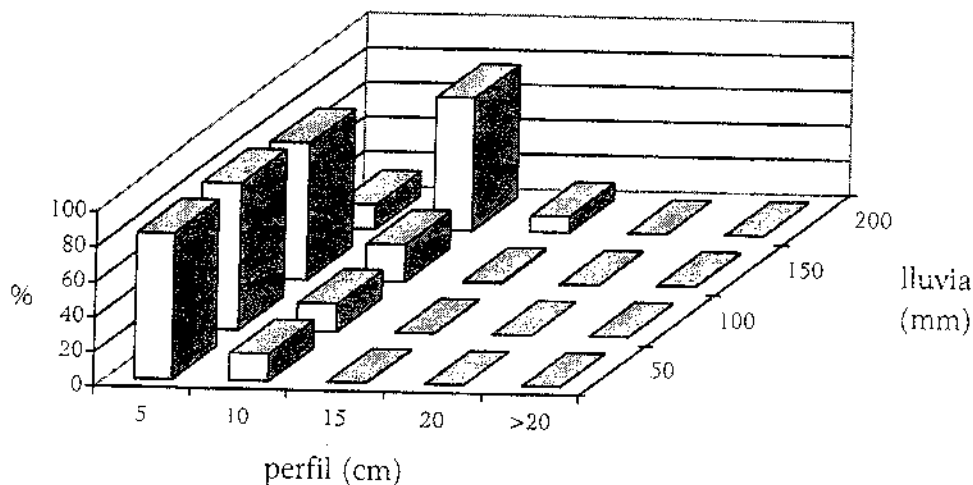


Figura 3. Lixiviación de iprobenfos en suelo ferralítico rojo.

En el suelo oscuro plástico el iprobenfos tuvo una lixiviación más limitada, ya que solamente el 1,2% llegó al perfil comprendido entre 5-10 cm (Fig. 4). Entre las causas que

justifican este comportamiento se encuentra el contenido de materia orgánica de este suelo (4,5%), siendo mayor que la del suelo ferralítico rojo (2,4%).

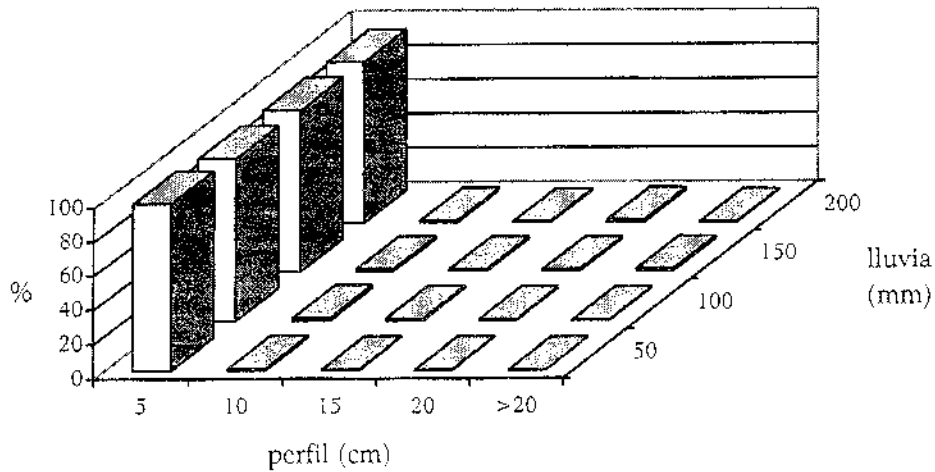


Figura 4. Lixiviación de iprobenfos en suelo oscuro plástico.

## CONCLUSIONES

- Clorpirifos no lixivia por debajo de los 5 cm de profundidad en ninguno de los suelos estudiados (oscuro plástico y ferralítico rojo), aun cuando las precipitaciones alcanzan el nivel de 200 mm.
- La lixiviación de iprobenfos depende del tipo de suelo. En el ferralítico rojo más del 70 % de la dosis aplicada se mueve hacia el perfil comprendido entre 5-10 cm de profundidad cuando ocurre un nivel de precipitación de 200 mm; sin embargo, si se encuentra en el suelo

oscuro plástico menos del dos por ciento, llega al perfil antes mencionado para el mismo nivel de precipitación.

## REFERENCIAS

- Dierksmeier, G.: *Plaguicidas, residuos. Efectos y presencia en el medio*, Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1994.
- Gustafson, D. I.: *Environmental Toxicology and Chemistry*, t. 8, 1989, pp. 339-357.
- Vollner, L.; D. Klotz.: *Environmental Behaviour of Crop Protection Chemicals*, 1997, pp. 187-213.
- Worthing Charles. R.: *The Pesticide Manual*, 8a. ed., 1987. op. 483-3050.

## ESTUDIOS PRELIMINARES EN LA OBTENCIÓN DE CEBOS PARA EL COMBATE DE CARACOLES

Zoila G. Trujillo, Estervis Bell, Alina Sigarroa, R.P. Pérez, C. Murguido y J.A. Barquín

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 realizaron estudios con el objetivo de formular cebos para el combate de los caracoles. Se valoraron portadores, atrayentes e ingredientes activos en su confección, los cuales fueron evaluados en condiciones de laboratorio y de campo. El estándar utilizado fue el molusquicida Alimet. Los estudios en la alimentación selectiva condujeron a la selección de los portadores C1 y S1 con partículas menores de 0,8 micras, y la sustancia SZ como atrayente. Fueron utilizados como ingredientes activos los insecticidas químicos carbaryl y carbofuran al cinco por ciento. Con estos componentes se confeccionaron los cebos. Los mejores resultados se obtuvieron con los cebos elaborados con los portadores C1 y S1, utilizando los insecticidas carbofuran y carbaryl, que mostraron efectividades sobre los caracoles similares al estándar Alimet.

Palabras claves: caracoles, cebo, portadores

### ABSTRACT

Research was made to formulate baits to fight snails. Many carriers attractive and active ingredients were considered when making them. They were evaluated in laboratory and field conditions. (baits Alimet was used as standard. Studies on selective feeding made us choose C1 and S1 carriers with particles lesser than 0.8 microns and SZ substance as (attractive). Chemical insecticides Carbaryl and Carbofuran were used as active ingredients. Baits were made out of these components. The best results were obtained when using baits made of C1 and S1 carriers, utilizing Carbofuran and Carbaryl as insecticides that showed they were effective on snails alike Alimet standard

Key words: snails, bait, particles

### INTRODUCCIÓN

Las babosas y caracoles terrestres (*Molusca: Gasteropoda*) son plagas de importancia económica, y constituyen un problema para la agricultura en todo el mundo, por las depredaciones que realizan en jardines, huertos, viveros, invernaderos, macizos de hongos comestibles, cafetales, plantaciones de cacao y áreas dedicadas a la producción de hortalizas [Fernández, 1982].

Además pueden ser huésped intermediario de parásitos de animales domésticos y del hombre, y pueden intervenir como transmisores de enfermedades entre las plantas [Berg, 1998].

Las babosas y caracoles son animales que atacan a las plantaciones a la caída de la tarde y durante la noche, pues el sol y la sequía les hacen mucho daño; en horas de alta humedad relativa (86 %) las hace completamente activas, y se favorece la incubación y eclosión de los huevos [Palazzo, 1988].

En Cuba no se habían reportados ataques importantes hasta hace algunos años en que, al parecer, por el auge

que han tomado los organopónicos, hidropónicos y jardines, se han creado las condiciones para el surgimiento de un incremento de esta plaga, preocupante ya para los productores.

Para el combate de esta plaga se han utilizado sustancias como el arsénico y el metaldehído. Poco después se introdujo el molusquicida methiocarb, que brindó buenos resultados en el combate de estas plagas y aun mejores cuando se incorporó a un cebo atrayente, lo cual, según Bayer (1978), aumenta su efectividad, disminuye los riesgos tóxicos y facilita el esparcimiento del formulado. Actualmente en el mercado se encuentran numerosos molusquicidas, pero para Cuba ha sido difícil la obtención de estos productos por su elevado costo, por lo que se han utilizado otras sustancias tales como la cal y el insecticida carbaryl, pero con muy poca efectividad.

Por todo lo antes expuesto, nuestro trabajo estuvo encaminado a la obtención de un cebo efectivo para el

combate de las babosas y caracoles, cuya formulación se pueda realizar en el país.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los estudios de laboratorios se realizaron en el Departamento de Toxicología perteneciente al Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV) del Ministerio de la Agricultura.

Las especies de caracoles utilizadas fueron: *Bradybaena similaris*, *Zachrysis spp.*, *Praticolella guanensis* y *Subulina octona*. Todas se evaluaron en conjunto por coincidir al unísono su incidencia, las que se colectaron en dos organopónicos de la provincia de La Habana.

Para la confección de los cebos se ejecutaron dos fases. En la primera se estudió por separado la aceptabilidad por esta plaga de cada uno de los componentes que formaron los cebos, y en la segunda fase los formulados elaborados, como se describe a continuación:

### Fase 1

#### Portadores:

Se evaluaron tres portadores clasificados como S, C y H. Se utilizó como estándar el afrecho de trigo.

Los portadores se pasaron por tamices de 1,41 y 0,8 micras, separando las partículas mayores de 1,41 mallas (sólo para el portador C), lo que dio origen a la evaluación de ocho variantes (C1, C2, C3, S1, S2, H1, H2 y el estándar).

Se realizó una prueba de alimentación selectiva, para lo cual se utilizaron cajas de madera de 35 cm de ancho por 34,5 cm de largo y 5,5 cm de alto, con divisiones interiores equidistantes de 6 cm de ancho, en las cuales se depositó un gramo de cada portador, replicado tres veces. Se efectuaron evaluaciones diarias durante cinco días, pesando el residuo seco y colocando alimento nuevo cada día.

#### Atrayentes:

Se evaluó la atractibilidad de diferentes sustancias atrayentes frente a los moluscos, tales como SZ y los extractos de acelga, col, culantro y lechuga.

Los extractos fueron mezclados con el afrecho de trigo (portador) para su valoración, y en el caso de la SZ, con el resto de los portadores.

Los estudios de atractibilidad se realizaron en placas Petri con cinco ejemplares de la plaga, en las que se colocó un gramo de los atrayentes y se replicaron cinco veces. Se obtuvo el peso del residuo seco diariamente.

#### Ingredientes activos:

Fueron sometidos a ensayos los insecticidas carbaryl 85 % P.H. y carbofuran 5 % G. Fueron evaluados

mediante tratamientos por inmersión de los moluscos durante 20 segundos a una concentración del cinco por ciento. Posteriormente los caracoles se confinaron en número de cinco ejemplares por variantes, y estas se replicaron cinco veces. Se crearon las condiciones de un ambiente húmedo y se le proporcionaron hojas de lechuga como alimento.

Los conteos de mortalidad se realizaron a las 24, 48 y 72 horas, y a los siete días, con los que se calcularon los porcentajes de mortalidad y se utilizó la fórmula de Abbot [Ciba-Geygi, 1985].

### Fase 2

#### Formulación de los cebos en polvo:

Los componentes utilizados en la formulación fueron los que brindaron mejores resultados en la Fase 1. El método para la confección del cebo consistió en mezclar con un agitador cada uno de los componentes seleccionados, según la siguiente fórmula base:

Portadores	85 %
Atrayente	10 %
Ingrediente activo	5 %
Agua	50 mL

Luego de mezclados los componentes se extendieron sobre un papel kraft y se dejaron secar en un local a temperatura ambiente por espacio de 20 horas, y se procedió a su envase en cartuchos de papel debidamente rotulados.

Para evaluar la efectividad de los cebos se colocaron cinco ejemplares de la plaga en cada placa Petri, y 500 mg del cebo en estudio. Se crearon las condiciones de un ambiente húmedo y se efectuaron observaciones a las 24, 48 y 72 horas. Los porcentajes de mortalidad se calcularon con el uso de la fórmula de Abbot [Ciba-Geygi, 1985].

Las mejores variantes (seis) se evaluaron en condiciones de campo, en el organopónico ubicado en la DAAFAR, en Ciudad de La Habana. Se utilizó un diseño de bloque al azar con ocho variantes, incluyendo el testigo y el estándar Alimet, replicados tres veces.

Se realizaron chequeos previos a la aplicación para determinar la densidad poblacional de la plaga por metros cuadrados en cada una de las variantes. Los cebos se aplicaron en forma de banda a razón de 2-5 g/m<sup>2</sup> en horas del atardecer.

La efectividad técnica se calculó por la fórmula de Henderson y Tilton [Ciba Geygi, 1985].

Todos los datos fueron transformados a arcoseno  $\sqrt{x}$  y se procesaron estadísticamente utilizando ANOVA, y las diferencias significativas se determinaron mediante la prueba de Newman-Keuls con un cinco por ciento de error.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la alimentación selectiva, los portadores C1 y S1 con partículas menores de 0,8 micras fueron los que mejores resultados mostraron, con medias de consumo de 0,30 y 0,28 g respectivamente, no reflejando dife-

rencias significativas con el estándar, y sí con el resto de los portadores evaluados. Esto se debe a que las partículas menores son más fáciles de consumir por estos animales. Los portadores menos consumidos por esta plaga fueron el S2, H1, H2 y C3, las cuales no difirieron entre sí (Tabla 1).

Tabla 1. Valoración de la alimentación selectiva de los portadores sobre especies de caracoles

Variantes	Media de consumo (g)	Significación
Afrecho de trigo (estándar)	0,31	a
C1 con partículas < 0,8 micras	0,30	a
S1 con partículas < 0,8 micras	0,28	a
C2 con partículas > 0,8 micras	0,23	b
S2 con partículas > 0,8 micras	0,18	c
H1 con partículas < 0,8 micras	0,18	c
C3 con partículas > 1,41 micras	0,16	c
H2 con partículas > 0,8 micras	0,16	c

Es importante destacar que las diferentes especies de caracoles mostraron gran actividad desde el primer día en que se les suministró el alimento y su aceptabilidad, ya que se acercaban con rapidez, lo reconocían y al poco tiempo se observaron comiendo y dejando rastros de sus mucos sobre los portadores.

Estos resultados nos indicaron que los portadores S1 y C1, de producción nacional, pueden sustituir al afrecho de trigo en la confección de cebos (Tabla 1).

De las sustancias evaluadas como atrayente, el SZ resultó ser la única atractiva para los caracoles. Al hacer el análisis de los portadores con atrayente y sin él, se pudo observar que con el atrayente las medias de consumo fueron significativamente superiores a sus similares sin el atrayente; esto corrobora los resultados obtenidos por otros autores, que citan a dicho atrayente como efectivo para los caracoles [Andrews, 1985] (Tabla 2).

Tabla 2. Evaluación del atrayente SZ sobre especies de caracoles

Portadores y atrayente	Media de consumo (g)	Significación
C1 con partículas < 0,8 micras + SZ	0,33	a
S1 con partículas < 0,8 micras + SZ	0,32	a
C2 con partículas > 0,8 micras + SZ	0,26	b
S2 con partículas > 0,8 micras + SZ	0,24	b

Con la incorporación de los extractos naturales de lechuga, col, acelga y culantro mezclados con el afrecho de trigo, pudimos observar que las medias de consumo

fueron inferiores a los obtenidos con el afrecho de trigo, por lo que no podemos afirmar que dichos extractos no resultaron atractivos hacia los moluscos evaluados (Tabla 3).

Tabla 3. Evaluación de la atractibilidad de los extractos vegetales sobre especies de caracoles

Variantes	Media de consumo (g)
Afrecho de trigo - Extracto de lechuga	0,17
Afrecho de trigo + Extracto de col	0,18
Afrecho de trigo + Extracto de acelga	0,15
Afrecho de trigo - Extracto de culantro	0,17
Afrecho de trigo (Estándar)	0,20

No se corresponde esto con lo planteado por varios autores, quienes afirman que los vegetales son altamente atrayentes para los gasterópodos terrestres [Bayer, 1978; Malgouod, 1986; Pelazzo, 1987 y Berg, 1977]. Esto puede explicarse, ya que estos autores utilizaron vegetales frescos y no sus extractos, pues durante el proceso de obtención pueden perderse sustancias y propiedades que podrían resultar las verdaderamente atrayentes.

Ambos insecticidas químicos mostraron elevados índices de efectividad, sin diferencias significativas a los

cinco días, y sí con respecto al testigo sin tratamiento, obteniendo para ambos compuestos un ciento por ciento de mortalidad. Tales resultados coinciden con lo obtenido por Prystupa y col. (1987), quienes informaron buenos resultados con estos carbamatos, aunque los índices de mortalidad obtenidos por ellos fueron inferiores a los nuestros. Esto pudo estar motivado por la diferencia entre las especies evaluadas (Tabla 4).

Tabla 4. Efectividad de los insecticidas carbofuran y carbaryl sobre especies de caracoles

Variantes	Conc.	Efectividad técnica (%)							
		24 horas	Sign.	48 horas	Sign.	72 horas	Sign.	5 días	Sign.
Carbofuran	5 %	69	a	100	a	100	a	100	a
Carbaryl	5 %	56	a	98,6	a	100	a	100	a
Testigo	-	0	b	0	b	0	b	0	b

Las efectividades técnicas de los cebos en condiciones de laboratorio no mostraron diferencias significativas entre ellos, y sí con el testigo sin tratamiento. Sin embargo, los resultados a las 48 horas con los formulados S1 y C1 con los ingredientes activos

carbaryl y carbofuran fueron de 74 y 67 % respectivamente, con resultados similares al estándar Alimet. A las 72 horas posteriores al tratamiento las variantes S1, S2 y C1 alcanzaron el ciento por ciento de efectividad (Tabla 5).

Tabla 5. Evaluación de la efectividad de cebos en condiciones de laboratorio para el combate de los caracoles

Variantes (cebos)	Efectividad técnica (%)					
	24 horas	Sign.	48 horas	Sign.	72 horas	Sign.
S1 + carbofuran	15	a	71,66	a	100	a
C1 + carbofuran	20	a	91,6	a	100	a
S2 + carbofuran	40	a	73,33	a	100	a
S1 + carbaryl	20	a	70	a	91,66	a
C2 + carbaryl	13,33	a	50	a	91,66	a
S2 + carbaryl	13,33	a	70	a	75	a
Alimet (estándar)	40	a	73,33	a	100	a
Testigo	0	a	0	b	0	b

En condiciones de campo los mejores resultados se obtuvieron con los cebo formulado a base de S1 y C1

con los ingredientes activos carbofuran y carbaryl, los cuales no difirieron con el estándar Alimet (Tabla 6).

Tabla 6. Evaluación de la efectividad de los cebos en condiciones de campo para el combate de caracoles

Variantes (cebos)	Efectividad técnica (%)	
	5 días	Significación
S1 con partículas < 0,8 micras + carbofuran	74	a
C1 con partículas < 0,8 micras + carbaryl	67	ab
S2 con partículas > 0,8 micras + carbaryl	66	ab
S2 con partículas > 0,8 micras + carbofuran	57	ab
C2 con partículas > 0,8 micras + carbaryl	53	ab
Alimet (estándar)	70,89	ab
Testigo	0	c

Los resultados coinciden con los informados por Andrews (1985a), quien señaló que el carbaryl y el carbofuran son efectivos para el combate de los caracoles, pero este último presenta la desventaja de ser muy tóxico, pues presenta una DL-50 por vía oral de 13 a 18 mg/kg, superior al estándar Alimet, que tiene como ingrediente activo al metaldehído, producto que es fácilmente degradado por el sol y la humedad, y además los individuos son capaces de recuperarse de su efecto nocivo, mientras que los carbamatos presentan el efecto contrario, es decir, su nocividad aumenta bajo condiciones de humedad, por lo que resultan mejores en nuestras condiciones.

## CONCLUSIONES

- Los portadores C1 y S1 con partículas menores de 0,8 micras resultaron las mejores variantes, con medias de consumo de 0,30 y 0,28 g respectivamente.
  - El atrayente SZ resultó atractivo para las especies de caracoles evaluadas, no así los extractos vegetales.
  - Los insecticidas químicos carbofuran y carbaryl fueron efectivos para el combate de las especies de caracoles evaluadas.
- Los cebos formulados resultaron efectivos para el combate de las especies de caracoles *Bradybaena similis*, *Zachrysis spp*, *Praticolella guanensis* y *Subulina octona*, sin diferencias significativas con el estándar Alimet.

## REFERENCIAS

- Andrews, K.L.: «Control químico», en *Ceiba* 26(1): 90-100, 1985a.
- Andrews, K.L., V.H. Valverde; O. Ramírez: «Preferencia alimentaria de la babosa *Sarasinula plebeia* (Fisher)», en *Ceiba* 26(1): 59-65, 1985.
- Bayer: «Hueilas de baba», en *Correo Agroquímico*, 1978.
- Berg, G. H.: *Caracoles y babosas de importancia cuarentenaria agrícola y médica para América Latina y el Caribe*. Impresos Maya, San Salvador, El Salvador, 1997. p. 7.
- Ciba-Geygi: *Manual para ensayos de campo en protección vegetal*, Basilea, Suiza, 1985.
- Fernández, V. Julieta: «Contribución al conocimiento de las babosas y siete cuernos que causan daños a la agricultura en Venezuela», en *Revista Fac. de Agronomía (Maracay)* 3(3-4): 353-386, 1982.
- Malgood, P.: Food Plant Preferences by Slug and Snails: A Simple Method to Evaluate the Relative Palatability of the Food Plants», en *Biochemical Systematics and Ecology* 14(1): 113-121, 1986.
- Palazzo, Miriam: *Manual para la criação de caracóis*, 1988.
- Prystupa, B.D.; N. J. Holliday; G.R.B. Webster: «Molluscicide Efficacy Against the Marsh Slugs, *Derocera laevis* (*Stylommatophora: Limacidae*) on Strawberries in Manitoba», en *J. Economic Entomology*, 1987, pp. 936-943.

## DESORCIÓN DE PLAGUICIDAS EN SUELO

G. Dierksmeier

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 llevaron a cabo experimentos para determinar la desorción de la ametrina, prometrina, simazina, atrazina, bromacil, etilpirimifos y carbofuran en los suelos ferralítico rojo (1,9%-2,2% de materia orgánica y pH 6,4-6,8) y oscuro plástico con 5,1-5,4% de materia orgánica y pH 8,0-8,2. Para ello, los suelos previamente contaminados se sometieron a tres etapas sucesivas de desorción en medio acuoso. La magnitud del fenómeno se determinó mediante la cantidad total de plaguicida desorbido. Los análisis se realizaron por cromatografía gaseosa. Acorde con los resultados experimentales, la desorción en suelo ferralítico rojo aumenta en la secuencia etilpirimifos, prometrina, bromacil, carbofuran, ametrina, atrazina, simazina, mientras que en suelo oscuro plástico el comportamiento fue etil-pirimifos, carbofuran, bromacil, atrazina, simazina, prometrina, ametrina.

Palabras claves: plaguicidas, desorción, suelo, comportamiento ambiental

### ABSTRACT

Experiments were conducted to assess the desorption of ametryn, prometryn, simazine, atrazine, bromacil, pirimiphos-ethyl and carbofuran in a Red Ferralitic soil (1,9% organic matter and pH 6,4-6,8) and a Brown Plastic soil with 5,1-5,4 % organic matter and pH 8,0-8,2. For this purpose, the soils, previously spiked with the pesticides, were submitted to three successive desorption steps in aqueous media. The extension of desorption was determined by the total quantity of each pesticide in the water phase. The analysis were carried out by gas chromatography. Accordingly with the experimental results, the desorption in the Red Ferralitic soil increases in the sequence: pirimiphos-ethyl, prometryn, bromacil, carbofuran, ametryn, atrazine, simazine, while the behaviour in the brown plastic soil was: pirimiphos-ethyl, carbofuran, bromacil, atrazine, simazine, prometryn, ametryn.

Key words: pesticides, desorption, soil, environmental behaviour

### INTRODUCCIÓN

Un número considerable de plaguicidas se aplica directamente al suelo [FAO, 1996], mientras que otros, en mayor o menor extensión, alcanzan ese medio tanto debido a prácticas agrícolas o con otros fines.

El comportamiento de los plaguicidas en el suelo es por tanto de interés general, y su investigación es de utilidad científico-práctica.

La mayoría de los fenómenos a los cuales está expuesto un plaguicida en el suelo están relacionados muy estrechamente con su adsorción en ese medio [Lichtenstein, 1980; Gan, 1994]. Fenómenos como la fotólisis [Peacock, 1994], la degradación microbiana [Avidov, 1990], la volatilización [Fritz, 1992], la lixiviación [Edwards, 1996], el efecto sobre los cultivos, particularmente el de los herbicidas, dependen en gran medida de la fuerza con que el plaguicida esté retenido en el suelo [Stougard, 1990].

La desorción como fenómeno opuesto a la adsorción depende casi de los mismos factores que condicionan la magnitud de la primera en el suelo, pero de forma inversa. Fenómenos tales como la lixiviación y el ascenso capilar están muy relacionados con la desorción.

Por otra parte, el arrastre superficial de los plaguicidas se produce cuando las precipitaciones ocurridas en un lapso dado superan la capacidad de infiltración del suelo [Norris, 1981]. Cuando el agua comienza a moverse superficialmente, desorbe los plaguicidas presentes en ese medio.

Los fenómenos de desorción y arrastre están relacionados con la disminución de plaguicidas en áreas tratadas, y con la contaminación potencial de zonas más bajas, incluidas fuentes de agua [Sigleo, 1990], de ahí la importancia que tiene conocer cómo se desorben algunos de los principales plaguicidas de uso directo en el suelo.

Puesto que el fenómeno de la desorción depende, además de las características físico-químicas del plaguicida y de las condiciones ambientales, de la naturaleza del suelo [Adams, 1973], en el presente artículo se informan los resultados con los plaguicidas ametrina, prometrina, simazina, atrazina, bromacil, etilpirimifos y carbofuran en los suelos ferralítico rojo y oscuro plástico, que difieren en su contenido de materia orgánica y pH, entre otros parámetros de interés.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos de desorción se realizaron con los suelos ferralítico rojo y oscuro plástico. Las características fundamentales de estos suelos fueron, para el ferralítico rojo: pH 6,4 a 6,8 (suspensión acuosa 1/10); materia orgánica 1,9 % a 2,2 %. Los valores correspondientes del suelo oscuro plástico fueron: 8,0 a 8,2 y 5,1 % a 5,4 %. Estas determinaciones se realizaron por métodos establecidos [Pequeño *et al.*, 1965].

Para llevar a cabo cada experimento se tomó suelo seco y se tamizó a través de una malla de un milímetro. Con posterioridad se contaminó con uno de los plaguicidas objeto de investigación. Para ello se utilizó una solución acetónica de 1 000  $\mu$ /mL. La concentración final en suelo fue de 100  $\mu$ /g. Después de homogeneizado el suelo contaminado, se colocó por cuadruplicado un gramo de este en sendos tubos de centrifuga de 50 mL. A cada tubo se añadió 25 mL de agua destilada. Los tubos se taparon y colocaron en zaranda durante tres horas. Pasado ese tiempo se centrifugó a 5 000 rpm y se decantó el sobrenadante. En este se determinó la concentración del plaguicida.

El sedimento de cada tubo fue sometido dos veces más al procedimiento, pero en estas ocasiones con duración de agitación en zaranda de dos horas [Bowman *et al.*, 1982].

Los análisis de cada plaguicida en la fase acuosa se realizaron por los métodos recomendados de cromatografía gaseosa, previa extracción de estos con diclorometano de ese medio [NRAG, 1979; Jarczyk, 1975; NRAG, 1981].

Como medida de la desorción se tomó la cantidad total de cada plaguicida presente en las tres etapas de desorción consecutivas. Las tres etapas de desorción llevadas a cabo con cada plaguicida y con los dos suelos se repitieron dos veces.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la *Tabla 1* se han resumido los resultados de los experimentos de desorción realizados con el suelo ferralítico rojo. Se indican en ella los porcentajes de plaguicida desorbidos por etapa de lavado y la cantidad total desorbida. Esta última se tomó como índice de desorción con vistas a establecer comparación entre los diferentes plaguicidas investigados. Los resultados son lógicos y están bastante relacionados, especialmente en el caso de las triazinas, con sus respectivas propiedades químicas. En efecto, en este suelo las dos clorotriazinas fueron las más desorbidas, mientras que las metiltio, con alguna diferencia entre ellas —explicada por los valores de constante de adsorción específica— le siguieron en ese orden. El bromacil, el carbofuran y el etilpirimifos se comportaron también acorde con sus características de sorción en el suelo ferralítico rojo.

Tabla 1. Desorción de ametrina, atrazina, simazina, prometrina, bromacil, etilpirimifos y carbofuran en suelo ferralítico

Plaguicida	Porcentaje de plaguicida por etapa de lavado*			Porcentaje total desorbido
	1º	2º	3º	
Simazina	68,52	4,04	0,78	73,34
Atrazina	57,00	4,30	1,00	62,30
Ametrina	52,55	5,94	1,65	60,14
Prometrina	37,78	6,11	1,28	45,17
Bromacil	47,42	4,02	0,54	51,98
Carbofuran	56,42	—	—	56,42
Etilpirimifos	12,78	5,64	3,67	22,09

\*Promedio de cuatro réplicas por etapa y de dos experimentos en momentos diferentes.

Es notable el comportamiento del carbofuran, pues se lavó en la primera etapa de desorción y no fue detectado en las subsiguientes, en ninguno de los experimentos realizados. Esto pudo deberse a dos causas: la primera, a la baja adsorción en el suelo ferralítico rojo, puesta de manifiesto por su constante pequeña de adsorción en ese medio, y segundo, por su elevada solubilidad en

agua. Por este comportamiento es sin duda el carbofuran el de mayor riesgo de contaminación por arrastre de todos los plaguicidas investigados.

Por su parte, el etilpirimifos fue el plaguicida menos desorbido, y el que menos afectará su entorno por desorción y arrastre. Este resultado concuerda con la característica del etilpirimifos de fijarse al suelo, puesta

de manifiesto por su constante grande de adsorción específica.

En la *Tabla 2* se han resumido los resultados de desorción de los mismos plaguicidas ya discutidos, pero esta vez en el suelo oscuro plástico, cuyas características son diferentes a las del suelo ferralítico rojo. En efecto, el suelo utilizado posee un pH alrededor de ocho (es un suelo ligeramente alcalino) y un con-

tenido de materia orgánica superior a cinco por ciento. Los resultados, a primera vista, no parecen lógicos. Si se exceptúa la desorción de la simazina y etilpirimifos, la del resto de los plaguicidas es superior a los valores correspondientes obtenidos con el suelo ferralítico rojo. Además, el orden de desorción de las triazinas en este caso es inverso al obtenido en los experimentos con este suelo.

Tabla 2. Desorción de ametrina, atrazina, simazina, prometrina, bromacil, carbofuran y etilpirimifos en suelo oscuro plástico

Plaguicida	Porcentaje de plaguicida por etapa de lavado*			Porcentaje total desorbido
	1º	2º	3º	
Ametrina	63,67	6,23	2,22	75,45
Prometrina	58,15	9,69	3,29	71,13
Simazina	57,18	8,96	2,16	68,30
Atrazina	62,82	5,11	-	67,93
Bromacil	60,30	5,86	0,84	67,0
Carbofuran	62,25	-	-	62,25
Etilpirimifos	10,48	6,23	3,85	20,56

\* Promedio de cuatro réplicas por etapa y de dos experimentos en momentos diferentes.

Una discusión físico-química del fenómeno nos permite interpretar mejor los resultados. En efecto, las constantes *ka*, o mejor los valores *pka* de las clorotriazinas, son de aproximadamente dos, mientras que para el resto de las triazinas —y específicamente en nuestro caso, las metiltiotriazinas—, el valor correspondiente está alrededor de cuatro.

Aunque todas las triazinas pueden considerarse como bases muy débiles —Battista, 1988—, hay diferencias entre ellas. Un cálculo simple, basado en sus *pka*, nos permite conocer que las metiltiotriazinas son unas cien veces más básicas que las clorotriazinas ( $kb \cdot 10^{-12}$  para las clorotriazinas).

Como es lógico, la interacción de las metiltiotriazinas con un suelo ligeramente básico como el oscuro plástico debe ser, al menos bajo las condiciones en que se realizaron los experimentos de desorción, menor que la correspondiente a las clorotriazinas. Los resultados de la *Tabla 2* reflejan lo expuesto.

No puede negarse la importancia que tiene la materia orgánica en la adsorción de los plaguicidas, pero la forma en que se realizaron los experimentos de adsorción y de desorción no permite una comparación rigurosa de los efectos de esta sobre los fenómenos medidos en cada caso. En la desorción la duración de las diferentes etapas de lavado fue corta; las dos fases se mantuvieron siempre en agitación mecánica, mientras que en la adsorción el período de equilibrio es grande y en reposo. Por lo expuesto, consideramos que la interacción ácido-base puede haber sido la causa del comportamiento observado.

También en este suelo el carbofuran se lavó en una sola etapa, mientras que la atrazina lo hizo en dos. El etilpirimifos fue el plaguicida menos desorbido de todos los investigados en el suelo oscuro plástico.

## CONCLUSIONES

- En suelo ferralítico rojo los plaguicidas investigados se desorben en el orden siguiente: simazina>atrazina>ametrina>carbofuran>bromacil>prometrina>etilpirimifos.
- En el suelo oscuro plástico los plaguicidas desorben decrecientemente en el orden ametrina>prometrina>simazina>atrazina ≈ bromacil ≈ carbofuran>etilpirimifos.
- Por la forma en que se lleva a cabo la desorción del carbofuran, este insecticida es el que mayor riesgo de contaminación por arrastre presenta de todos los plaguicidas investigados, al menos para los suelos ferralítico rojo y oscuro plástico.
- El etilpirimifos ofrece muy poco riesgo de contaminación por arrastre.

## REFERENCIAS

- Adams R.S.: «Factors Influencing Soil Adsorption and Bioactivity of Pesticides», en *Res. Reviews* 47:1-57, 1973.
- Avidov, E., N. Aharonson; J. Katon: Involvement of Soil Microorganisms in the Accelerated Degradation of Diphenamid», en *Weed Science* 38:186-193, 1990
- Battista M., A. Dicordia and M. Marchetti: «High Performance Liquid Chromatographic Method for Determining Triazine Herbicide Residues in Soil», en *J. of Chromatog.* 454: 233-242, 1988.

- Bowman B.J.; W.W Sans: «Influence of Methods of Pesticide Application on Subsequent Desorption from Soil», en *J. Agr. Food Chem.* 30(1): 147-150, 1982.
- Edwards C.A. et al.: «Use of Microcosms in Assessing the Effects of Pesticides on Soil Ecosystems», proceedings International Symposium on the use of nuclear and related techniques for studying environmental behaviour of crop protection chemicals. Vienna, 1996.
- FAO: *Anuario Estadístico*, Roma, 1996.
- Fritz R.; E. Kersting; K.H. Kuck: «Volatilization Behaviour of Pesticides in Field Trials», en *Brighton Crop Protection Conference Proceedings*. Brighton, 1992, pp. 829-834.
- Gan S.: «Sorption and Desorption of Imazethapyr and 5 Hydroximizethapyr in Minnesota Soils», en *Weed Science* 42: 92-97, 1994
- Jarczyk H.J.: «Method for Gaschromatographic Determination of Bromacil Residues in Plant Materials, Soil and Water Using a Nitrogen-Specific Detector», en *Pflanzenschutz Bayer* 28(3):319, 1975.
- Lichtenstein E.F.: «Bound Residues in Soil and Transfer of Soil Residues in Crops», en *Res. Reviews* 76: 147-153, 1980.
- Norris, L. A.: «Movement, Persistence and Fate of Phenoxyherbicides and TCDD in Forest», en *Res. Reviews* 80: 61-135, 1981.
- NRAG 275: *Triazinas. Método de análisis para determinar residuos en suelo por cromatografía gaseosa*, MINAGRI, Cuba, 1979.
- NRAG 463: *Plaguicidas organofosforados. Determinación de residuos*, MINAGRI, 1981.
- Peacock, G.A.; G. Riches; S. Wood: «A Novel Method for Evaluating the Photostability of Crop Protection Compounds», proceedings 8th IUPAC, Int. Congress of Pesticide Chemistry, Washington, 1994.
- Pequeño J.; A. López: *Agroquímica*. t. 2, La Habana, 1965.
- Sigleo A. C.; J.C.: «Means: Organic and Inorganic Compounds in Estuarine Colloids. Implications for Sorption and Transport of Pollutants», en *Environ. Contam. and Toxicol* 12: 123-147, 1990.
- Stougaard, R.N.; P.I Shea; A.R. Martin: «Effects of Soil Type and pH on Adsorption, Mobility and Efficacy of Imazaquin and Imazothapyr», en *Weed Science* 38: 67-73, 1990.

## ESTUDIOS DE PREPARADOS BIOLÓGICOS PARA EL CONTROL DE ÁFIDOS Y ALEURÓDIDOS EN CÍTRICOS

E. Peña<sup>1</sup> y Nancy González<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical. Avenida 397 y 188, Santiago de las Vegas, Boyeros, Ciudad de La Habana

### RESUMEN

Se realizaron ensayos de laboratorio y campo para determinar la efectividad de diferentes cepas de hongos entomopatógenos y tabaquina en el control de los áfidos y moscas blancas en cítricos. Se evaluó el efecto nocivo de esta sustancia natural sobre el parasitoide de la mosca prieta de los cítricos. En experimentos de campo se alcanzó hasta 64% de reducción de las colonias del pulgón pardo *Toxoptera citricidus* Kirk. con *V. lecanii* a  $10^8$  esp/ml. La ampliación del experimento se realizó en la provincia de Guantánamo, donde las condiciones climáticas no fueron favorables para el desarrollo de hongos entomopatógenos, no obstante se obtuvo 52,7% de reducción de colonias de *T. citricidus* Kirk. y 62,8% de *Aphis spiraeicola* con la cepa LBVL-5 y 66,6% de reducción de colonias de *T. aurantii* con la cepa LBVL-3. La tabaquina controló a *T. aurantii* Boy y los adultos de la mosca blanca *Dialeurodes kirkaldy* Kotinsky, pero tuvo baja efectividad sobre las ninfas de este insecto. Su utilización resultó muy nociva para *Encarsia smithii* Silv., parasitoide de la mosca prieta de los cítricos.

Palabras claves: áfidos, pulgón pardo de los cítricos, *Toxoptera citricidus*, hongos entomopatógenos, *Verticillium lecanii*, parasitoides, *Encarsia smithii*, mosca blanca, *Dialeurodes kirkaldy*, cítricos, Cuba

### ABSTRACT

Was carry out different laboratory and field trials to determinate the effective of different entomopathogen fungus strains and tobacco nicotine extract to control the aphids and whiteflies in citrus crop. Was evaluated the noxious effect of this natural pesticide on the blackfly citrus parasite. In the fields experiment reduced to 64% of brown citrus aphid colonies *Toxoptera citricidus* Kirkaldy with *Verticillium lecanii* Zimm to  $10^8$  esp/ml. The extension of field assay was achieved in Guantánamo province where the climate conditions was not favourable to entomopathogen fungi development, nevertheless the LBVL 5 strain reduced to 52.7% mortality the *T. citricidus* and *Aphis spiraeicola* Patch colonies, and LBVL 3 strain obtained 66.6% effectiveness against *Toxoptera aurantii* Boy. The tobacco nicotine extract reduced to *T. aurantii* colonies and the whitefly adults *Dialeurodes kirkaldy* Kotinsky, but it had low effectiveness on nymphs, your used result very harmful to blackfly parasite *Encarsia smithii* Silv.

Key words: aphids, brown citrus aphid, *Toxoptera citricidus*, entomopathogen fungus, *Verticillium lecanii*, parasite, *Encarsia smithii*, whitefly, *Dialeurodes kirkaldy*, citrus, Cuba

### INTRODUCCIÓN

Nguyen *et al.* (1993) plantean que las moscas blancas son consideradas plagas importantes en el cultivo de los cítricos. En Cuba se refieren cinco especies comunes y dañinas de aleuródidos en los cítricos [Bruner *et al.*, 1975; Mendoza y Gómez, 1982; Zayas, 1988]: *Aleurocanthus woglumi* Ashby, *Aleurothrixus floccosus* (Maskell), *Dialeurodes citrifolii* (Morgan), *D. kirkaldy* Kotinsky y *Trialeurodes floridensis* (Quaintance).

Estos diminutos insectos se alimentan exclusivamente de las hojas de las plantas [Llorens y Garrido, 1992], involucrando su relación con las plantas atacadas a varios factores, en esencia el porte o la estructura de dichas plantas, las características de la superficie de sus hojas y la composición química de la savia, entre otros [Mora, 1985]. Por supuesto, en todo esto juega un papel importante las características del estado adulto y el aparato bucal principalmente [Gill, 1990; Llorens y

Garrido, 1992]. Estas moscas, hasta el momento, son bastante controladas por el hongo entomopatógeno *Aschersonia* spp, aunque en determinados lugares pueden adquirir características de plaga. Otras como la mosca prieta *A. woglumi* Ashby es regulada por varios parasitoides, principalmente el himenóptero *Encarsia smithii* Silv., especie que ha desplazado a su control original, la avispa de la India, en algunas regiones del país, por lo cual se han confrontado dificultades con el control de esta plaga.

Los áfidos son también considerados una de las plagas importantes en este cultivo [Holman, 1974]. En Cuba, hasta 1993, se habían señalado para los cítricos la presencia de seis especies de áfidos: *Aphis spiraeicola* Patch, *Toxoptera aurantii* Boy de F., *Aphis frangulae* gossypii Glover, *Aphis craccivora* Koch, *Aphis nerii* B. de F. y *Myzus persicae* Sulzer, siendo las dos primeras relacio-

nadas las de mayor distribución y abundancia en este cultivo [Anónimo, 1993]. Su daño se caracteriza por producir malformaciones en los brotes jóvenes atacados, y se considera que con 10% de estos infestados se produce retardo en el crecimiento de las plantas y afectación en los rendimientos del cultivo [Holman, 1974].

En 1993 fue detectado en Cuba el pulgón pardo de los cítricos *Toxoptera citricidus* Kirkaldy, que se introdujo por el extremo oriental del país [FAO, 1993]. Esta plaga es originaria de Asia, y se ha distribuido por muchas regiones del mundo [Yokomi *et al.*, 1994 y Roistacher *et al.*, 1991]. Según Lee *et al.* (1992), el daño que provoca en los brotes es un enrollamiento de las hojas que causa serias malformaciones, sobre todo en plantaciones jóvenes, y produce retardo en su crecimiento. Su importancia fundamental radica en ser el principal vector del virus de la tristeza de los cítricos, enfermedad que está presente en el país.

En Venezuela resultó efectivo para el control de este áfido el empleo del hongo *V. lecanii* Zimm, el cual penetra en el cuerpo del insecto a través de la cutícula; allí prolifera e invade los tejidos con gran cantidad de hifas, emitiendo sus conidioforos al exterior donde desarrollan los cuerpos fructíferos, y capacitan al patógeno para hacer contacto con nuevos huéspedes [Rondón *et al.*, 1980].

El control con insecticidas químicos resulta muy costoso, y además es necesario un gran número de tratamientos que afectan el ecosistema natural. El objetivo de este trabajo fue buscar insecticidas biológicos capaces de combatir estas plagas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En el Laboratorio de Sanidad Vegetal de la provincia de Guantánamo se desarrolló un ensayo donde se determinó el efecto de 10 cepas del hongo entomopatógeno *V. lecanii* Zimm, y dos cepas de *Paecilomyces fumosorroseus* Wise sobre *Toxoptera citricidus* Kirkaldy. A cada cepa desarrollada en un tubo de ensayo se le añadió 10 mL de agua destilada, se tomó un mililitro de esta solución que poseía una concentración de  $4 \times 10^7$  esp/mL, y con esta se humedeció el papel de filtro, que fue puesto en una placa Petri con el alimento. Se colocaron por separado 10 ninfas, 10 adultos ápteros y cinco adultos alados por réplicas, en cada una de las variantes; se trabajó con cinco réplicas además de un testigo que no fue tratado. Se realizaron conteos a las 24, 48, 72 y 96 horas respectivamente.

Con las cepas de mayor efectividad y factibilidad de producción se realizaron dos experimentos de campo, el primero en febrero y el segundo en julio de 1993, en la Granja 1, UBP-2, Finca 3 y Campo 47 perteneciente a la Empresa de Cítricos de Vilorio, Guantánamo, sobre *Citrus sinensis* Osbeck variedad Valencia de más de 20 años de edad, injertada sobre patrón agrio *Citrus aurantium* Lin. Para la aplicación se utilizó una mochila de mano GN-16, con un suministro de 200 cc. De cada uno de los biopreparados, a la concentración de  $4,1 \times 10^8$  esp/mL. La aplicación se realizó sobre ramas atacadas con colonias de grado ligero, medio e intenso, según la escala para evaluar áfidos en cítricos [González *et al.*, 1979]; se utilizaron cinco réplicas por cada variante y un testigo sin tratamiento; se evaluó la efectividad a las 24, 48 y 72 horas, cuatro y cinco días posteriores a la aplicación, y se determinó el porcentaje de reducción de las colonias.

$$\text{Reducción de colonias} = \frac{\text{No. de colonias antes} - \text{No. de colonias después}}{\text{No. de colonias antes}} \times 100$$

En abril de 1994 en Guantánamo se repitió el experimento, utilizando las cepas más efectivas de *V. lecanii* Zimm a una concentración de  $7,1 \times 10^8$  esp/mL. La aplicación se realizó con una máquina de arrastre en un área de una hectárea. La evaluación se efectuó sobre 20 ramas marcadas atacadas por colonias de los áfidos *T. citricidus* Kirk., *A. spiraeicola* Patch y *T. aurantii* Boy, con la misma escala de grados de ataque para áfidos que el experimento anterior. Se realizó un conteo previo y se evaluó la efectividad a los ocho días de la aplicación, calculando al igual que en las pruebas anteriores sobre ramas atacadas el grado de infestación por la fórmula de Townsend y Heurberger [Ciba-Geigy, 1981], y el porcentaje de reducción de colonias por la siguiente fórmula [González *et al.*, 1979]:

Escala para evaluar la infestación de áfidos en cítricos

Grado	Descripción
0	Sin infestación

- 1 De 1-25 pulgones (ligero)
- 2 De 26-100 pulgones (medio)
- 3 Más de 100 pulgones (fuerte)

Para evaluar el efecto de la tabaquina sobre el pulgón negro *T. aurantii* Boy y la mosca blanca de los cítricos *Dialeurodes kirkaldy* Kotinsky (adultos y ninfas), se utilizó el método de la célula de Munger o célula Huffaker [Munger, 1942; Huffaker, 1948], con 20 ejemplares en cuatro réplicas para el pulgón, con alimento tratado (brotes tiernos de cítricos) por inmersión en la solución insecticida, y 10 ejemplares adultos o ninfas de mosca blanca en cuatro réplicas, los adultos colocados en frascos de cristal con tapa de malla y alimento tratado, y las ninfas tratadas por aspersión de la hoja con la solución insecticida. La evaluación de la mortalidad se realizó diariamente (24 y 48 horas).

Para determinar la nocividad de la tabaquina sobre *Encarsia smithii* Silv. -parasitoide de la mosca prieta de los cítricos-, se seleccionaron cinco colonias de este enemigo natural replicadas cuatro veces. Se utilizó un diseño de bloques al azar, cada colonia con no menos de tres pupas sin eclosionar, las que fueron tratadas por inmersión en la solución insecticida. Se empleó además un testigo con agua. Las hojas con las colonias se colocaron en placas de Petri pequeñas con papel de filtro en el fondo, y cada cinco días se evaluó la emersión de los adultos hasta que no hubo más salidas de parasitoides.

Todos los porcentajes se transformaron en  $\arcsen \sqrt{x}$ , y los promedios en  $\sqrt{x+1}$  para someterlos a un análisis de varianza de clasificación simple. Las medias fueron comparadas por la prueba de Duncan para  $p \leq 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 10 cepas de *V. lecanii* y dos de *P. fumosorroseus* evaluadas en el ensayo preliminar para determinar su efecto sobre *T. citricidus* Kirk., fueron seleccionadas tres,

por su efectividad y factibilidad de reproducción a nivel nacional. Ellas fueron la LBVI-3, LBVI-5 y LBVI-7, las que mostraron efectividades superiores al 80%, lo cual demuestra su elevada capacidad patogénica (Tabla 1). Resultados similares fueron obtenidos por Nagaich (1973) con otras especies de áfidos como *Myzus persicae* Sulzer, *Aphis craccivora* Koch, *A. rumicis* Linn., *Brevicoryne brassicae* (Linn.) y *Macrosiphonella sanborni* (Gill), donde encontró que el porcentaje de mortalidad era de 94%. Con las tres cepas seleccionadas se realizaron los experimentos de campo, cuyos resultados se observan en la Tabla 2. Se puede apreciar que con la cepa LBVI-3 se obtuvo un mayor efecto en la reducción de las colonias de *T. citricidus*, tanto en febrero como en julio, alcanzando valores superiores al 60% de efectividad a los cinco días posteriores a la aplicación. Las otras dos cepas restantes mostraron también efectividad sobre la plaga, pero en niveles por debajo del 50 % en ambas épocas del año. Si comparamos los resultados en ambos meses, podemos apreciar que prácticamente los porcentajes de reducción de las colonias de las cepas evaluadas en febrero coinciden con los obtenidos en julio.

Tabla 1. Efecto de varias cepas de los hongos entomopatógenos *V. lecanii* Zimm y *P. fumosorroseus* Wise ante el pulgón pardo de los cítricos *T. citricidus* Kirk.

Variantes	Concentración (esp/mL)	Porcentaje de mortalidad (%)			
		24 h	48 h	72 h	96 h
LBVI-7	6,5 x-10 <sup>7</sup>	35,0	53,3	71,3	81,4
LBVI-5	7,4 x-10 <sup>7</sup>	29,0	44,0	75,0	83,0
LBVI-3	9,0 x-10 <sup>7</sup>	41,0	63,0	85,0	91,8
LBVI-12	7,6 x-10 <sup>7</sup>	26,0	33,0	41,3	70,2
LBVI-2	1,5 x-10 <sup>7</sup>	12,0	23,2	41,8	50,2
LBVI-6	9,5 x-10 <sup>7</sup>	4,8	28,6	31,0	39,4
LBVI-8	6,5 x-10 <sup>7</sup>	9,3	12,6	29,2	41,4
LBVI-9	1,6 x-10 <sup>7</sup>	15,2	18,3	37,0	53,7
LBVI-10	8,1 x-10 <sup>7</sup>	18,1	23,3	35,0	48,2
LBVI-1	6,6 x-10 <sup>7</sup>	21,0	39,1	48,2	63,3
P. f (INISAV)	7,3 x-10 <sup>7</sup>	3,1	16,0	27,1	33,3
P. f (Guantánamo)	1,4 x-10 <sup>7</sup>	4,7	21,2	33,0	42,1
Testigo	-	-	1,3	2,8	12,3

Tabla 2. Porcentaje de reducción de colonias de *T. citricidus* Kirk. con *V. lecanii* Zimm (Guantánamo, 1993)

Variantes	Porcentaje de reducción de colonias (%) (5 días)	
	Febrero	Julio
LBVI-3	62,5 a	64,3 a
LBVI-5	38,4 b	47,5 b
LBVI-7	45,8 b	50,0 b
Testigo	0,00 c	-0,00 c
C. V. (%)	5,2	3,8

En las Tablas 3 y 4 se muestran los resultados de la ampliación. Para el primer caso se puede observar que no existen diferencias significativas en el grado de ataque de las especies *T. citricidus* Kirk. y *A. spiraeicola* Patch entre la variante testigo y las dos cepas de *V. lecanii* evaluadas -LBVI-5 y LBVI-3-, a los ocho días de la aplicación. Estos resultados se explican al analizar la

figura, donde se presenta el comportamiento de dos de los principales factores climáticos (humedad relativa y temperatura) en un período de varios años en la provincia de Guantánamo. Según Palenzuela (1982), la humedad relativa es muy baja. Sólo en septiembre, octubre y noviembre sobrepasan los valores de 70%, y las precipitaciones son muy escasas.

Tabla 3. Efecto de *V. lecanii* Zimm sobre la intensidad del ataque de los pulgones en una plantación de naranja Valencia (Guantánamo, 1994)

Variantes	Promedio grado de ataque (8 días)	
	<i>T. citricidus</i>	<i>A. spiraeicola</i>
Testigo	1,52 a	1,56 a
LBVI-5	1,05 a	1,65 a
LBVI-3	1,00 a	1,26 a
C. V. (%)	29,67	28,90

Tabla 4. Porcentaje de reducción de colonias de áfidos con *V. lecanii* Zimm (Guantánamo, 1994)

Variantes	Porcentaje de reducción de colonias (%)		
	<i>T. citricidus</i>	<i>A. spiraeicola</i>	<i>T. aurantii</i>
LBVI-5	52,7	62,8	50,0
LBVI-3	33,3	40,9	66,6
Testigo	0,00	0,00	0,00

El comportamiento de los factores climáticos en el momento del experimento (Fig.) fueron de humedad relativa de 70% y sin lluvias. Esta poca humedad es un elemento que puede determinar este resultado. Hagen *et al.* (1968) señalan a las temperaturas óptimas entre 18-24°C, así como alta humedad relativa, como requisitos para la esporulación y germinación de las esporas de hongos entomopatógenos como *V. lecanii* Zimm, demostrando que la pluviosidad es un factor importante para provocar altas infestaciones o epifitotias. No obstante la reducción de las colonias de las tres especies de áfidos evaluadas (Tabla 4), alcanzó valores de 52,7% con la cepa LBVI-5 para *T. citricidus*, y 62,8% para *A. spiraeicola*, mientras que la cepa LBVI-3 resultó más efectiva para *T. aurantii*. De los áfidos muertos tomados del campo a los ocho días de la aplicación, fue reaislado el mismo hongo inoculado, lo cual demuestra la efectividad de *V. lecanii* sobre estos insectos plagas de los cítricos. Además, se ha comprobado que la acción de este hongo no sólo está limitada para el control de áfidos en cítricos, sino que también se puede emplear en el combate de cóccidos, donde Brady (1979) ha obtenido buenos resultados en varias regiones del mundo como Antillas, Rusia, Brasil, Puerto Rico y la India.

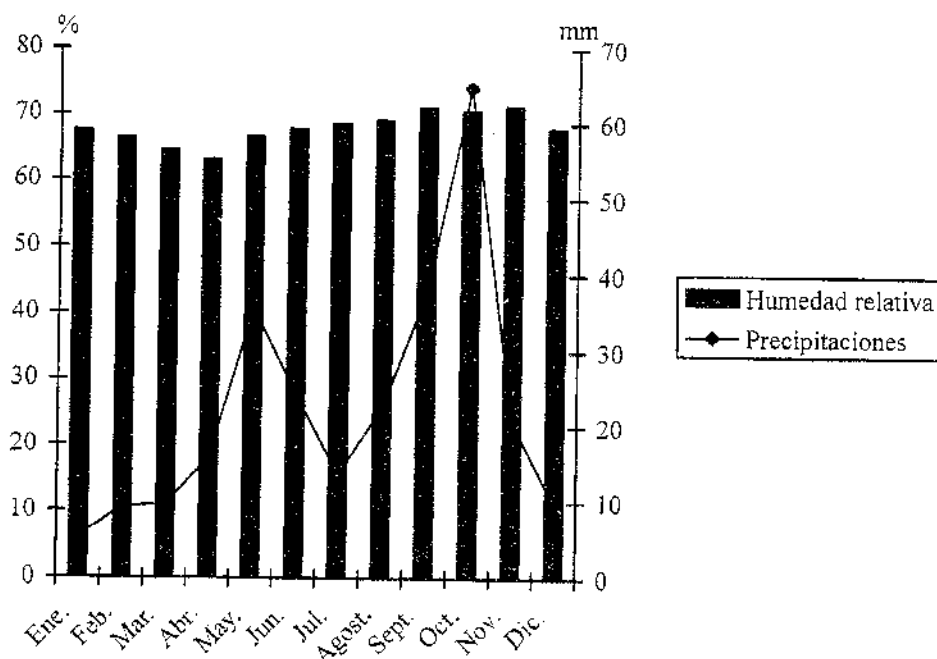
En la Tabla 5 se aprecia cómo la tabaquina resultó efectiva para el control de *T. aurantii* Boy a las 48 horas

de aplicada, en ambas dosis, así como también para los adultos de la mosca blanca, sin controlar los estadios ninfales de este último. Resultados similares obtuvo González *et al.* (1994), donde utilizaron la tabaquina para el combate de *Aphis craccivora* en caupí, mostrando una efectividad biológica entre 88 y 92%. Además, Chiesa (1965) considera este producto de específico por excelencia contra los pulgones, moscas blancas de los cítricos, algodónero, hortalizas, etc., contra cochinillas sin escudos, y en los estadios antes de la forma adulta de las chinches de las hortalizas y cicádidos. Agrega que el poder letal de este producto será tanto mayor cuanto más fácilmente se volatilice la nicotina libre. Por esta razón la tabaquina es de efectos más rápidos y eficaces en verano, y cuando la temperatura es más alta. Según Herce (1945), en tiempo seco la nicotina se volatiliza en unas tres horas después de pulverizada.

Se comprobó además el efecto nocivo de este producto sobre el parasitoide de la mosca prieta *Encarsia smithii* Silv., aun a la menor dosis (Tabla 6), por lo que lo hace indeseable para su empleo en el cultivo de los cítricos, por los problemas que puede ocasionar, ya que en el caso particular de nuestras áreas cítricas, en las que desde hace años se viene aplicando un programa fitosanitario de manejo integrado, con una alta recuperación de los biorreguladores de plagas, el empleo de este

producto tendría un efecto negativo inmediato. En relación con esto, Chiesa (1965) refiere que la nicotina es uno de los alcaloides más tóxicos que se conocen, no sólo por su acción contra los biorreguladores de plagas, sino también para el ser humano. Oliva *et al.* (1994) realizaron ensayos de compatibilidad de la tabaquina con hongos y bacterias ento-

mopatógenas, donde comprobaron que existía una inhibición del desarrollo de las colonias de *Bacillus thuringiensis* Berliner, bacteria considerada muy importante para los cítricos en Cuba, por estar incluido su uso como una de las estrategias de control de plagas dentro del Programa de Manejo Integrado para este cultivo.



Comportamiento histórico de la humedad relativa y las precipitaciones en la provincia de Guantánamo.

Tabla 5. Efectividad de la tabaquina a diferentes dosis contra plagas de los cítricos

Producto	Dosis (g/L de agua)	Tiempo de evaluación (horas)	Efectividad sobre las plagas(%)		
			<i>T. aurantii</i>	<i>D. kirkaldy</i> (adul.)	<i>D. kirkaldy</i> (ninf.)
Tabaquina	225	24	50,0	62,0	2,0
		48	100,0	98,0	12,0
	125	24	45,0	51,0	0,0
		48	85,0	91,0	25,0

Tabla 6. Emersión de los adultos de *Encarsia smithii* Silv.

Variante	Dosis g/L agua	Emersión (#)
Tabaquina	125	0,0 b
Testigo	-	36,0 a
C. V. (%)		11,2

## CONCLUSIONES

- Las cepas seleccionadas en el ensayo preliminar resultaron ser LBVI-3, LBVI-5 y LBVI-7 por sus altas efectividades y factibilidades de reproducción a nivel nacional.

- En los experimentos de campo, la cepa LBVI-3 de *V. lecanii* Zimm ocasionó un 60 % de reducción de las colonias de *T. citricidus* Kirk., y un alto porcentaje de mortalidad y reducción de colonias de *T. aurantii* Boy.

- En el experimento de ampliación no se encontraron diferencias significativas entre el testigo y las cepas analizadas –LBVI-3 y LBVI-5–, en cuanto a la reducción de la intensidad del grado de ataque de los áfidos, con la cepa LBVI-5 de *V. lecanii*; redujo el porcentaje de brotes con colonias de *T. citricidus* Kirk. y *A. spiraeicola* Patch en las condiciones de la provincia de Guantánamo.

- La tabaquina a la dosis de 225 y 125 g/L controló a las 48 horas de aplicada a la especie *T. aurantii* Boy y a los adultos de la mosca blanca *D. kirkaldy* Kotinsky, pero resultó nociva para el parasitoide *E. smithii* Silv., por lo que no se recomienda su empleo de este cultivo.

- Se recomendó un programa de defensa contra *T. citricidus* Kirk. para todas las áreas citrícolas del país, donde se utilizará como una opción el hongo *Verticillium lecanii* Zimm, en plantaciones, en forma de tratamientos inundativos e inoculativos.

## REFERENCIAS

Anónimo: *Informe sobre la tristeza de los cítricos y su vector Toxoptera citricidus Kirkaldy*, La Habana, INISAV- CNSV, Instituto de Cítricos y otros Frutales. 1993.

Brady, B. L. K.: «*Verticillium lecanii*. Descriptions of Pathogenic Fungi on Bacteria no. 610, Commonwealth Mycological Institute, Inglaterra, 1979.

Bruner, S. C.; L. C. Scaramuzza; A. R. Otero: «Catálogo de los insectos que atacan a las plantas económicas de Cuba», en *Boletín*, La Habana, (63):1-246, 1975.

Chiesa, O. Molinari: *Terapéutica vegetal*, Colección Agrícola Salvat, 2a. ed., Barcelona, 1965, pp. 61-77.

Ciba-Geigy: 1981. *Manual para ensayos de campo en protección vegetal*, 1981.

FAO: «Nuevos focos de enfermedades y plagas», en *Boletín Fitosanitario* 41(2): 121-132, 1993.

Gill, R. J.: «The morphology of whiteflies», en *Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management*, Hampshire: Intercept., 1990, pp. 13-44.

González, Nancy et al.: *Metodología para la señalización de las principales plagas de los cítricos*, t. 1, II Reunión Nacional Metodológica sobre la Señalización y Pronóstico, La Habana, 1979, p. 12.

González, B. M.; S. Elizabeth Concepción: «Algunas alternativas de lucha contra áfidos en el caupí», resúmenes del IX Forum de Ciencia y Técnica, II Encuentro Nacional de Bioplaguicidas y II Expo-CREE, La Habana, INISAV, 1994. p.46.

Herce, P.: *Análisis de insecticidas*, Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas, Madrid, 1945.

Holman, J.: *Los áfidos de Cuba*, Editorial Organismos, Instituto Cubano del Libro, La Habana, 1974.

Huffaker, C. B.: «An Improved Cage for Work with Small Insects», en *Journal of Economical Entomology* 59: 875-877, 1948.

Lee, R. F. et al.: «Presence of *Toxoptera citricidus* in Central America: A threat to citrus in Florida and the United States», en *Citrus Industry*, June, 1992.

Llorens, J. M.: A. Garrido: *Homoptera III. Moscas blancas y su control biológico*, Alicante, Pisa. 1992.

Mendoza, F.; J. Gómez: *Principales insectos que atacan a las plantas económicas de Cuba*, Ed. Pueblo y Educación, La Habana. 1982.

Mora, J.: «Distribución de los enemigos naturales de las moscas blancas de los cítricos (primera parte)», en *Agrotecnia de Cuba*, La Habana, 17(2):15-25, 1985.

Munger, F.: «A Method for Rearing Citrus Thrips in the Laboratory», en *Journal of Economical Entomology* 35: 373-375, 1942.

Nagaich, B. B.: «*Verticillium* Species Pathogenic on Aphids», en *Indian Phytopathology* (26): 163-165, 1973.

Nagen, K. S.; R. Van Den Bosch: «Impact of Pathogens, Parasites and Predator on Aphids», en *Annual Review of Entomology*, 13, 325-384, 1968.

Nguyen, R.; R. J. Sailer; A. B. Hamon: «Catalog of Aleyrodidae on Citrus and Their Natural Enemies (Homoptera:Aleyrodidae)», en *Occasional Papers of the Florida State Collection of Arthropods*, Florida Department of Agriculture and Consumer Service, Florida 8: 1-57, 1993.

Oliva, L. R.; E. D. Nuñez; L. A. Viltres: «Algunas alternativas de lucha contra áfidos en el caupí», resúmenes del IX Forum de Ciencia y Técnica, II Encuentro Nacional de Bioplaguicidas y II Expo-CREE, INISAV, La Habana. 1994. p. 39.

Palenzuela, E.: *Guía climática abreviada para los especialistas de la agricultura*, Instituto de Meteorología, La Habana, 1982.

Roistacher, C. N. et al.: «The Threat of "Citrus Killer"», en *Citrograph*, Florida 76 (10): 4-12, 1991.

Rondón, A.; G. E. Arnal; F. Godoy: «Comportamiento del *Verticillium lecanii* (Zimm) Viegas, patógeno del áfido *Toxoptera citricidus* (Kirk.)», en *Agronomía Tropical*, Maracay 30(1-6), 1980.

Yokomi, R. K. et al.: «Establishment of the Brown Citrus Aphid (Homoptera:Aphididae) in Central America and the Caribbean Basin and Transmission of Citrus Tristeza Virus», en *Journal of Economic Entomology*, Estados Unidos. 87(4):1078-1085, 1994.

Zayas, F. de: *Entomofauna cubana. Superorden Hemipteroidea (Ordenes Homoptera y Heteroptera)*, t. 7, Editorial Científico-Técnica, La Habana, 1988, pp. 58 -65.

# DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE DUPLICACIÓN DE DIFERENTES AISLADOS DE *BACILLUS THURINGIENSIS*

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

La velocidad de crecimiento de los microorganismos que se emplean en las producciones microbiológicas es un factor importante que debe tenerse en cuenta cuando se desea seleccionar una cepa para una producción a gran escala. Este indicador además puede ser utilizado como un criterio para la diferenciación entre aislados de esta especie. En este trabajo se determinó la velocidad de crecimiento en medio caldo nutriente y en condiciones de cultivo agitado en zaranda a 16 aislados de *Bacillus thuringiensis*. El tiempo de duplicación osciló entre 57 y 168 minutos, y no se encontró relación con la variedad o serotipo a los cuales pertenecían los aislados estudiados.

Palabras claves: *Bacillus thuringiensis*, crecimiento

## ABSTRACT

The growth velocity of microorganisms which are used in microbiology production is an important factor for strain selection to scale up process. This factor also can be used as criteria to separate between different strains belongs to *Bacillus thuringiensis*. In this work we have determined the growth velocity in nutrient broth under submerged conditions growth, for 16 *Bacillus thuringiensis* isolated. The duplication time fluctuated between 57 and 168 minutes and wasn't relation with the variety and serotype of the isolated that was studied.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, growth

## INTRODUCCIÓN

La velocidad de crecimiento de una bacteria se mide por el tiempo que demora en duplicar su población, y este tiempo depende en gran medida de la composición del medio y de los parámetros de cultivo, tales como la temperatura y condiciones de multiplicación, entre otros.

La velocidad de crecimiento en un medio de composición conocida y bajo parámetros definidos puede resultar muy útil para la selección de una cepa determinada en su producción a escala industrial, ya que altas velocidades de crecimiento y tiempos de duplicación más cortos conducen a producciones más eficiente y económicas al disminuirse el tiempo del proceso [Dulmage, 1971; Golberg, 1980; Vanderkar y Dulmage, 1983; Bernhard y Utz, 1993].

En la industria microbiológica el trabajo con cepas que resultan capaces de multiplicarse más rápidamente constituye una garantía para el éxito de los procesos relacionados con la obtención de biomasa, como es el caso de las producciones de proteínas a partir de levaduras y la de microorganismos entomopatógenos, y de las producciones a partir de *Bacillus thuringiensis* [Li-

chfield, 1977; Kennedy *et al.*, 1994; Capalbo, 1995; Ibarra, 1997]. Fue objetivo de este trabajo conocer la velocidad de crecimiento de un grupo de aislados de *Bacillus thuringiensis* promisorios para la producción de bioplaguicidas, por lo que se determinó el tiempo de duplicación bajo condiciones de agitación en un medio de cultivo de composición definida.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las 16 cepas de la especie *Bacillus thuringiensis* utilizadas pertenecen al cepario del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, y fueron mantenidas en cuñas de agar nutriente en forma de cultivos esporulados conservados a 4°C.

Los cultivos se realizaron en medio caldo nutriente Oxoid, y se emplearon frascos erlenmeyers de 500mL de capacidad, a los cuales se añadió 100 mL de medio de cultivo. Después de esterilizados a 121°C durante 20 minutos, fueron inoculados con un mililitro de una suspensión de esporas obtenidas por arrastre de cultivos esporulados sobre agar nutriente, con una solución de

NaCl 0,85% estéril, ajustando la concentración a  $2 \times 10^8$  esporas/mL. Los frascos inoculados se colocaron en una zaranda orbital con 140 rpm y 28-30°C.

Se tomaron alicuotas de un mililitro a las 0, 4, 6, 8 y 12 horas durante el cultivo, y a cada muestra se realizó tinción de Gram y observación al microscopio óptico a 1 000 x; además se realizaron conteos en Cámara de Neubauer, para lo cual se empleó un microscopio de contraste de fase con aumento de 400 x.

Cada cepa se replicó dos veces y se promediaron los valores de los conteos obtenidos a seis horas del cultivo para determinar la velocidad de crecimiento mediante la fórmula

$$V = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2(t - t_0)}$$

donde:

$N$ : conteo de células a 6 horas

$N_0$ : conteo de células a 0 horas

$t$ : 6 horas

$t_0$ : 0 horas

El tiempo de duplicación se determinó por la fórmula

$$\frac{1}{V} \times 60.$$

Las características de los cultivos se determinaron por observación al microscopio óptico a 1 000 x de una tinción simple con violeta cristal al 0,5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Varios autores han reportado que para la especie *Bacillus thuringiensis* la fase de máximo crecimiento y multiplicación se caracteriza por la presencia de células vegetativas en forma de bacilos cortos que se agrupan en cadenas de dos a tres, y que responden positivamente a la tinción de Gram [Vanderkar y Dulmage, 1983; Bernhard y Utz, 1993; Medrano y Galán 1996].

En las cepas estudiadas por nosotros estas características se observaron en cultivos entre cuatro y ocho horas, por lo que se fijó el tiempo de seis horas como valor  $t$  o tiempo máximo de multiplicación, y este valor se utilizó para determinar la velocidad de crecimiento y el tiempo de duplicación.

Los resultados obtenidos (Tabla) demostraron que entre las cepas estudiadas aparecen diferentes velocidades de crecimiento, lo cual no tuvo relación con los serotipos a los cuales pertenecían; mostraron una mayor velocidad de crecimiento las cepas LBT-3 y LBT-4 pertenecientes a los serotipos H3 y H4 respectivamente, mientras que la LBT-5, LBT-6, LBT-9, LBT-11 y LBT-24, que responden a los serotipos H1 y H3, presentaron una velocidad de crecimiento menor, y por tanto un tiempo de duplicación más largo.

Velocidad de crecimiento, tiempo de duplicación de cepas de *Bacillus thuringiensis* pertenecientes a diferentes serotipos flagelares

Cepa	Serotipo	Velocidad de crecimiento	Tiempo de duplicación
LBT-1	H3	0,8576	1h 10min
LBT-2	H3	0,8955	1h 8min
LBT-3	H3	0,9523	57min 16 s
LBT-4	H4	0,8333	1h 12min
LBT-5	H1	0,4195	2h 23min 54 s
LBT-6	H3	0,4316	2h 19min 35s
LBT-7	H4	0,5940	1h 41min
LBT-8	H3	0,625	1h 36min 33s
LBT-9	H1	0,4877	2h 3min 11s
LBT-10	H3	0,7142	1h 24min 12s
LBT-11	H3	0,4054	2h 28 min
LBT-12	H1	0,8571	1h 10min 54s
LBT-13	-	0,8955	1h 7min 40 s
LBT-14	H3	0,5555	1h 2 min 48s
LBT-21	H3	0,9230	58min 7 s
LBT-24	H3	0,4776	2h 6 min 32 s

Como promedio, el tiempo de duplicación fue de 95 minutos 36 segundos, lo que concuerda con lo reportado por varios autores para cepas de esta especie, quienes encontraron tiempos de duplicación entre 55 y 120 minutos en dependencia de la composición del medio de cultivo, los parámetros y la cepa de la cual se

trata [Golberg *et al.*, 1980; Vanderkar y Dulmage, 1982, Bernhard y Utz, 1993; Ibarra, 1997].

Aún cuando en nuestros experimentos sólo empleamos medio caldo nutriente (Oxoid), los resultados son útiles para la selección de la cepa de producción a gran escala, así como para tener en cuenta el ajuste de

parámetros y optimización de los medios en aquellas cepas, como la LBT-24, que presenta un tiempo de duplicación largo, pero con actividad biológica contra especies de spodópteras que generalmente resultan resistentes al Bt [Pérez *et al.*, 1992], para lo cual es conveniente establecer variantes durante el proceso de producción que aumenten la velocidad de crecimiento.

## CONCLUSIONES

- Podemos concluir que los tiempos de duplicación en medio caldo nutriente en condiciones de agitación de las cepas de *Bacillus thuringiensis* estudiadas oscilaron entre 57 y 168 minutos, y que las diferencias encontradas no estuvieron relacionadas con los serotipos a los cuales pertenecen.
- Las cepas LBT-3 y LBT-4 presentaron una mayor velocidad de crecimiento, y las cepas LBT-5, LBT-6, LBT-9, LBT-11 y LBT-24, mostraron una multiplicación más lenta.

## REFERENCIAS

- Berthard K.; R. Utz: *The Production of B. thuringiensis and Commercial Uses. An Environmental Biopesticides Theory and Practice*, Ed. Entwistle, 1993, pp. 225-231.
- Capalbo, D.M.: «*Bacillus thuringiensis* Fermentation Process and Risk Assesment. A Short Review», en *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro* 90(1): 135-138, 1995.
- Dulmage H. T.: «Production of Delta Endotoxins by Eighteen Isolates of *Bacillus thuringiensis* Serotype 3, Fementation Media», en *Journal of Invertebrate Pathology* 18: 353-358, 1971.
- Goldberg I, B. Sneh; D. Battat: «Optimization of a Medium for High Yield Production of Spores-Crystal Preparation of *Bacillus thuringiensis* Effective Against the Egyptian Cotton Leaf Worm», en *Biotech. Letters* 2(10): 419-426, 1980.
- Ibarra J.: «Producción, control de calidad y uso de *Bacillus thuringiensis*», en *Memoria, II Curso Taller de Producción Nacional de Agentes de Control Microbiano*, México, 1997, pp. 86-96.
- Kennedy M. J.; S. L. Reader; E. Julian: «The Kinetics of Developing Fermentation Media», en *Process Biochem* 29: 529-534, 1994.
- Lichfield J.H.: «Comparative Technical and Economics Aspects of Single Cells Processes», en *Adv. Appl. Microbiology* 22: 263-305, 1977.
- Medrano, H.; W.J. Galán: «Bioingeniería y biotecnología de la producción de bioinsecticidas», en *Avances recientes en la biotecnología de biopesticidas*, Univ. Cuernavaca-Univ. nuevo León, Monterrey, México, 1996, pp. 116-135.
- Pérez E.; F. Piedra; E. Blanco: «Manejo Integrado de spodóptera frugiperda», en *Boletín Técnico*, La Habana, (2):19-20, 1992.

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS CONCERNIENTES A LA GENÉTICA POBLACIONAL DE *PHYTOPHTHORA INFESTANS*

Tania García y Berta L. Muiño

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 tizón tardío de la papa, causado por *Phytophthora infestans*, es la enfermedad más destructiva de este cultivo y la que mayores problemas económicos ha ocasionado durante muchos años. A través del análisis de isoenzimas y del DNA nuclear y mitocondrial, se ha demostrado la amplia diversidad en la estructura genética de las poblaciones de *P. infestans*, así como las variaciones que en ellas han ocurrido. Además, utilizando técnicas modernas de biología molecular, han sido puestos en evidencia caracteres específicos de las poblaciones del hongo. En Cuba han sido detectados los dos tipos de compatibilidad (A1 y A2), y se han observado además diferentes rangos de resistencia al metalaxyl, evidenciando diversidad fenotípica en las poblaciones del hongo. En este trabajo se resumen los aspectos más característicos de las poblaciones de *P. infestans* en los países donde ha sido estudiado, como un primer paso para comprender la estructura genética de este microorganismo, y así poder ser analizados en un futuro sus caracteres genéticos en nuestro país.

Palabras claves: *Phytophthora infestans*, resistencia a fungicidas, biología molecular, metalaxyl

### ABSTRACTS

The late blight of the potato, caused by *Phytophthora infestans*, is the most destructive disease of this cultivation and greater the one which economic problems has caused during many years. Through analysis of isoenzymes and of the nuclear DNA and mitochondrial, it has been demonstrated the wide diversity in the genetic structure of the populations of *P. infestans*, as well as the variations that they have occurred in these. Furthermore, using modern techniques of molecular biology have been put in evidence specific characters of the populations of the fungi. In Cuba have been detected the two types of compatibility (A1 and A2) and they have been observed furthermore, different resistance ranges to the metalaxyl, evidencing phenotypic diversity in *P. infestans* populations. In this work, is summary the most characteristic aspects of the populations of *P. infestans* in the countries where it has been studied, as a first step to understand the genetic structure of this microorganism and thus be able to be analyzed their genetic characters, in a future in our country.

Key words: *Phytophthora infestans*, resistant fungicides, molecular biology, metalaxyl

### INTRODUCCIÓN

Conocer la estructura genética de las poblaciones de hongos patógenos a plantas es necesario para lograr una estrategia de control efectiva, debido a que las poblaciones pueden evolucionar y adaptarse constantemente a los cambios ambientales para sobrevivir.

En los ecosistemas agrícolas los cambios ambientales pueden incluir variedades de plantas resistentes, las aplicaciones de productos químicos contra plagas y enfermedades, la aplicación de fertilizantes, las irrigaciones y las rotaciones de cosechas. Por tanto, es evidente que los sistemas agrícolas han impuesto una selección direccional fuerte sobre las distintas poblaciones de hongos [McDonald, 1997]. Así, los patólogos vegetales deben dirigir sus esfuerzos para comprender la genética de las poblaciones, y de este modo conocer cómo estas podrían evolucionar en respuesta a las

diferentes estrategias de control empleadas en los cultivos.

En *Phytophthora infestans* la resistencia a fungicidas específicos como el metalaxyl ha limitado su uso en varias regiones del mundo. Unido a ello, la existencia de muchos factores de virulencia específicos en las poblaciones de este hongo ha restringido el uso de genes para resistencia específica, la cual es una estrategia de manejo importante para las enfermedades a plantas [Goodwin, 1997]. Por todo lo anterior, el conocimiento de la genética poblacional de *P. infestans* contribuiría al desarrollo de estrategias de control de la enfermedad más adecuadas.

Los análisis genéticos en el género *Phytophthora* fueron impedidos hasta hace poco debido a diversos factores, como la disponibilidad limitada de ambos tipos de

compatibilidad para el caso de las especies heterotálicas, el escaso conocimiento de marcadores genéticos y/o bioquímicos, la pobre germinación de las oosporas, etc.

En 1989 los marcadores disponibles para identificar aislados de *P. infestans* eran muy limitados; más bien eran marcadores biológicos significativos, como son la virulencia y la resistencia al metalaxyl. Mas los marcadores fenotípicos se encuentran bajo una fuerte presión de selección en los sistemas agrícolas.

A mediados de 1980 fueron aplicados, para el análisis de las poblaciones de *P. infestans*, los marcadores bioquímicos [Tooley *et al.*, 1985]. Durante la década del noventa han ocurrido progresos acelerados respecto al uso de marcadores basados en el ADN y sus aplicaciones en el estudio de la estructura genética de las poblaciones.

En esta reseña tenemos como objetivo resumir las características poblacionales principales de *P. infestans* a través de los distintos marcadores utilizados actualmente, por ser este microorganismo de gran importancia económica, y por ser el organismo tipo del género *Phytophthora*.

#### Bases generales de la biología de *P. infestans*

Las especies de *Phytophthora* pertenecen a la clase Oomycetes, orden Peronosporales, familia Phytiaceae. Estas poseen un ciclo sexual que resulta en la producción de oosporas, las cuales son usualmente de pared gruesa y resistentes a cambios ambientales. Las oosporas pueden sobrevivir al menos por meses y probablemente por años en el suelo [Drenth *et al.*, 1995]. De este modo ellas proveen de una fuente de inóculo de larga duración que puede permitir al patógeno sobrevivir fuera de su hospedero.

Se ha demostrado que la presencia de la reproducción sexual en esta especie ha dado como resultado el incremento en la diversidad de la virulencia, la aparición de nuevos factores de virulencia, el incremento dramático en la diversidad genética como un todo y la posibilidad de una rápida adaptación a cambios ambientales [Drenth *et al.*, 1994].

*P. infestans* es una especie heterotálica, es decir, que requiere la presencia de dos tipos de compatibilidad cercanos para que ocurra un cruce, y se forme por consiguiente la oospora sexual. Estos han sido denominados tipo A1 y tipo A2.

Además de las oosporas sexuales, los propágulos asexuales de las especies de *Phytophthora* son producidos abundantemente en el tejido del hospedero. A partir de los esporangios, y bajo determinadas condiciones, son liberadas de los esporangios las zoosporas biflageladas. Estas zoosporas son quimotácticas, por lo cual detectan activamente al hospedero disponible [Hardham *et al.*, 1991].

#### Estructura genética de las poblaciones de *P. infestans*

Para estudiar la genética de las poblaciones se debe primeramente conocer la estructura genética de la población, la cual se refiere a la cantidad y distribución de variaciones genéticas dentro y entre las poblaciones. Esta refleja la historia evolutiva y el potencial de la población para evolucionar, el cual es proporcional a la diversidad genética de la población [McDonald, 1997].

#### Análisis de isoenzimas

El análisis de isoenzimas en el género *Phytophthora* ha estado dirigido hacia cuestiones de estructura y discriminación geográfica de las especies. En *P. infestans*, particularmente, estos estudios han permitido hipotetizar el origen y las migraciones del hongo a través del mundo, y además ha permitido conocer las distintas líneas clonales y la principal forma de reproducción que ha desarrollado esta especie.

Esta técnica es ideal para la investigación de microorganismos, ya que puede realizarse con relativa facilidad, es estable, codominante y generalmente las enzimas analizadas se encuentran bajo control genético simple. Se lleva a cabo mediante electroforesis, y es un medio indirecto de conocer sobre la información genética. Para el tizón tardío de la papa, las electroforesis se han desarrollado sobre almidón [Spielman *et al.*, 1990]; pero más recientemente una técnica de mayor facilidad de ejecución y más económica basada en la electroforesis en acetato de celulosa ha sido descrita [Goodwin *et al.*, 1995a].

Las isoenzimas se definen como las variantes de una enzima, las cuales son codificadas por varios genes de un mismo organismo y comparten la misma función catalítica a pesar de poseer propiedades físico-químicas diferentes. Así, las aloenzimas se definen como aquellas isoenzimas cuyas variantes son codificadas en el mismo locus. Las aloenzimas son alélicas una de la otra, y son las más propicias para las investigaciones de poblaciones debido a que los mejores métodos analíticos dependen del conocimiento de frecuencias alélicas y distribuciones [Erwin and Ribeiro, 1996].

Para el caso de *Phytophthora infestans* se han utilizado dos aloenzimas para la caracterización de las poblaciones: glucosa 6-fosfato isomerasa (Gpi) y la peptidasa (Pep). Los genotipos de dichas aloenzimas están descritos en términos de la movilidad relativa de sus bandas de actividad en un campo eléctrico en gel de almidón. De este modo, al alelo más común le es asignada una movilidad de 100, y a los otros alelos les son asignados números basados sobre su movilidad relativa con respecto a este [Spielman *et al.*, 1991].

Las poblaciones de *P. infestans*, representativas de diferentes países en determinados períodos de años, se agrupan en dos categorías principales, cada una caracterizada por diferentes grupos de genes [Spielman *et al.*, 1991]:

1. Aquellas en las cuales sólo se encontró el tipo de compatibilidad A1, dos tipos de alelos Gpi (86 y 100) y dos tipos de alelos Pep (92 y 100). El genotipo dilocus más frecuente fue Gpi 86/100 Pep 92/100; no obstante, los aislados homocigóticos de cada alelo, pero no de ambos, también aparecieron.

2. Aquellas en las cuales estaban incluidos los dos tipos de compatibilidad A1 y A2. En esta colección los alelos Gpi 86 y Pep 92 fueron poco frecuentes o estaban ausentes, pero existían dos tipos de alelos adicionales Gpi 90 y Pep 83. Los genotipos dilocus más encontrados fueron Gpi 90/100 o Gpi 100/100 con Pep 83/100 o Pep 100/100. El tipo de compatibilidad estaba asociado fuertemente con un genotipo dado: A1 con Gpi 86/100, A2 con Gpi 100/100 y el genotipo dilocus más común para A2 fue Gpi 100/100 Pep 100/100.

Se han realizado numerosos estudios de la Gpi y Pep. Sin embargo, el número limitado de loci y el bajo nivel de variabilidad limita el uso del análisis de isoenzimas, ya que no se pueden detectar genotipos individuales, y por tanto, es necesario recurrir a otras técnicas [Shaw, 1991].

En Cuba han sido detectados los dos tipos de compatibilidad (A1 y A2) del hongo [Tomás y López, 1998], por lo cual puede haber ocurrido reproducción sexual, aunque esta aún no ha sido demostrada. Además, se han hecho estudios de resistencia al metalaxyl, comprobándose poblaciones resistentes y poblaciones sensibles [Muiño, 1997]. Sin embargo, el análisis de isoenzimas todavía no ha sido llevado a cabo, por lo que no se incluyen hasta el momento en ninguna de estas dos categorías descritas.

#### Análisis del DNA mitocondrial

El genoma mitocondrial tiene la particularidad que puede ofrecer una perspectiva independiente sobre la población genética de un hongo. Este es heredado independientemente del genoma nuclear, exhibe poca o ninguna recombinación y usualmente sólo es heredado de uno de los parentales. Como resultado, el genoma mitocondrial existe como una serie de línea clonal que puede ser usado para definir líneas de descendentes o vías de flujo de genes [McDonald, 1997]. Además, es útil para dilucidar eventos de migración [McDonald, 1997].

El DNA mitocondrial de *P. infestans* es una molécula de DNA circular de 36,2 Kb [Kimzack y Prell, 1984], y es polimórfico. Hasta el momento han sido identificados dos tipos de DNA mitocondrial de este hongo: el tipo A y el B [Goodwin, 1991]. El DNA mitocondrial tipo A se encuentra ampliamente distribuido en el mundo, mientras que el tipo B está restringido a aquellos lugares donde se ha encontrado el tipo de compatibilidad A2 [Goodwin, 1991].

En aquellos países donde se ha realizado el análisis del DNA mitocondrial, como Holanda [Drenth *et al.*,

1993] y el Reino Unido [Carter *et al.*, 1990], se ha observado una baja frecuencia de aislados con el tipo B, lo cual puede ser explicado por la introducción limitada de este tipo en las distintas regiones o por la selección negativa. En el centro de México el tipo B se ha encontrado sobre cultivos de papa y tomate, mientras que en otros sitios de ese país sólo se ha hallado sobre papa [Drenth *et al.*, 1993].

Sin embargo, el tipo B de DNA mitocondrial ha sido encontrado tanto en el tipo de compatibilidad A1 como en el A2 [Drenth *et al.*, 1993].

#### Análisis del DNA nuclear

El estudio del DNA nuclear en *P. infestans* se ha realizado a través del DNA fingerprint (huellas del DNA), utilizando para ello más comúnmente la técnica del RFLP y el RAPD.

El RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA –Polimorfismo de DNA Amplificado al Azar–) es una técnica que exhibe sólo dos alelos –amplificados o no– de cada locus amplificado. Aunque esto es ideal para mapeo genético, constituye una desventaja para medir la diversidad genética, ya que va a estar afectada por el número de alelos que componen un locus.

El RAPD es dominante, es decir, mediante él no se puede definir entre homocigótico y heterocigótico, lo cual constituye una desventaja para su uso con organismos diploides y poliploides, como son los Oomycetes [McDonald, 1997].

EL RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism –Polimorfismo de la Longitud de los Fragmentos de Restricción–) posee como principal ventaja que son codominantes, y exhiben un número ilimitado de alelos por locus [Hulbert *et al.*, 1988]. Utilizando los marcadores de RFLP ha sido posible el estudio completo de mapas genéticos.

Para llevar a cabo los estudios de DNA fingerprint es necesario la disponibilidad de sondas marcadas. Esta debe revelar numerosos fragmentos con un alto grado de polimorfismo, los cuales no deben estar unidos en loci genéticos. Además, para un hongo, la secuencia clonada debe mostrar que los fragmentos patrones sean estables a través de la reproducción asexual.

Utilizando una librería genómica parcial de *P. infestans* fueron caracterizados varios clones seleccionados al azar, y de estos sólo dos sondas arrojaron resultados alentadores: la sonda RG-57 y la RG-7 [Goodwin *et al.*, 1992]. En el caso de la RG-7, sin embargo, se encontró un gran número de fragmentos unidos genéticamente en la segregación, lo cual impide una interpretación exacta de fragmentos muestras en aislados de campo, y por tanto limita la utilidad de esta sonda. La sonda RG-7 tiene utilidad sólo para identificar diferentes líneas clonales [Goodwin *et al.*, 1992].

La sonda RG-57 puede hibridizar al menos con 25 loci diferentes en *P. infestans*, muchos de los cuales no se

encuentran unidos genéticamente. Ella representa una secuencia de DNA nuclear moderadamente repetitiva, sus fragmentos patrones son estables somáticamente y son transmitidos a la progenie sexual en una segregación mendeliana [Goodwin *et al.*, 1992]. Como *P. infestans* contiene sólo nueve o diez cromosomas [Sansome y Brasier, 1973], es probable que muchos de ellos sean marcados con esta única sonda.

Debido a que la sonda RG-57 nos permite la obtención de datos de un gran número de loci simultáneamente, existe una baja probabilidad de que individuos no relacionados posean el mismo genotipo multilocus. De este modo, esta sonda puede ser muy útil para elucidar estructuras clonales de poblaciones y para estudiar el desarrollo de líneas clonales particulares durante el curso de una epidemia o en el período de un año a otro [Goodwin *et al.*, 1992].

Utilizando la sonda RG-57, en diferentes poblaciones de *P. infestans* se ha observado un aumento significativo en la diversidad de las poblaciones, comparando con los resultados de la diversidad mediante análisis de aloenzimas [Drenth *et al.*, 1993]. Así, en Holanda, mediante el análisis basado en el tipo de compatibilidad, la resistencia al metalaxyl y el genotipo de aloenzimas fueron identificados 17 genotipos diferentes entre 205 aislados [Fry *et al.*, 1991], mientras que por DNA fingerprint con la sonda RG-57 se revelaron 35 genotipos diferentes entre 153 aislados. Combinando todos los factores anteriores en el último análisis de diversidad genética, fueron encontrados 45 genotipos diferentes en los 153 aislados de *P. infestans* [Drenth *et al.*, 1993].

Es importante destacar que todos los fragmentos identificados en los aislados colectados en Holanda mediante la sonda RG-57 en DNA fingerprint se encontraron también en los aislados mexicanos. Además, en el centro de México —lugar de origen de *P. infestans*— aparecen fragmentos adicionales polimórficos a RG-57 en baja frecuencia [Goodwin *et al.*, 1992b].

#### Interacciones entre diferentes genotipos

Numerosas investigaciones se han llevado a cabo para dilucidar la posible unión entre el locus para la resistencia al metalaxyl y otros loci, como por ejemplo el tipo de compatibilidad A2, la adaptabilidad relativa más acentuada, la poliploidía y el complejo de genes de virulencia [Chang & Ko, 1990].

La resistencia al metalaxyl en aislados de *P. infestans* es condicionada por un simple gen cromosomal con dominancia incompleta [Shattock, 1988]. En estudios de cruces de un aislado tipo A1 sensible con otro tipo A2 resistente, a nivel de laboratorio, se obtuvieron en la progenie F1 individuos con resistencia intermedia. Estos aislados con resistencia intermedia han sido considerados heterocigóticos para el gen dominante de resistencia al metalaxyl. En una progenie F2 producto de un cruce entre dos individuos de la progenie F1, la propor-

ción resultante fue 1:2:1, es decir, sensible: intermedio: resistente. Esta segregación mendeliana refleja el control de un simple gen (monogénico) para la resistencia, y la dominancia incompleta ejercida por el gen en cuestión [Shattock, 1988].

Las investigaciones realizadas en Suiza, Francia y España para determinar la relación entre el tipo de compatibilidad y la resistencia al metalaxyl, han detectado altos niveles de aislados resistentes al metalaxyl, pero muy pocos o ningún aislado del tipo de compatibilidad A2 entre estos. Así, se ha observado que los aislados del tipo A2 tienden a ser menos frecuentes en años de altos niveles de resistencia, y que no existe relación entre los niveles de resistencia y la proporción de cualquier tipo de compatibilidad [Gisi & Cohen, 1996]. En Polonia [Therrien *et al.*, 1993], Alemania [Dagget *et al.*, 1993] y Holanda [Fry *et al.*, 1991] la distribución de la sensibilidad respecto a los tipos de compatibilidad fue 50%/50% de A1 sensible/A1 resistente y 80%/20% de A2 sensible/A2 resistente. Therrien *et al.*, en 1989 propusieron que la mutación inicial para la resistencia al metalaxyl en Holanda ocurrió en el tipo A1 y luego en el A2, ya sea espontáneamente o por la vía de recombinación con el tipo A1 resistente.

Respecto al nivel de poliploidía, tampoco ha sido detectada relación alguna entre este y el tipo de compatibilidad o la resistencia al metalaxyl [Therrien *et al.*, 1993].

En relación con las razas, se ha visto que la proporción de aislados resistentes a las fenilamidas es más baja en razas altamente complejas (poseen 7-8 factores de virulencia) que en razas menos complejas (5-6 factores de virulencia) [Gisi & Ohi, 1995]. Sin embargo, en Israel, la misma proporción de aislados resistentes (50%) fue encontrada en todas las razas [Gisi & Cohen, 1996]. Por tanto, es necesario profundizar en esta relación, pero hasta el momento ninguna unión ha sido observada entre el número o composición de genes de virulencia y el desarrollo de sensibilidad al metalaxyl.

#### Poblaciones de *Phytophthora infestans*

##### Linajes clonales

Un linaje clonal incluye todos los descendientes asexuales de un genotipo dado, de modo que cualquier variación dentro de un linaje tiene que ser debido a una mutación o una recombinación mitótica en caso de microorganismos diploides. Los miembros de un mismo linaje clonal deben ser idénticos y fáciles de distinguir de individuos pertenecientes a otros linajes [Anderson y Kohn, 1995].

La descripción inicial de un linaje clonal requiere un gran número de marcadores genéticos. Para describir los linajes clonales de *P. infestans* han sido empleados el tipo

de compatibilidad (A1 y A2), el genotipo de la aloenzima glucosa 6-fosfato isomerasa y el de la peptidasa, y el DNA fingerprint determinado con la sonda RG-57 del DNA nuclear [Masayasnkato *et al.*, 1997]. El patotipo, al ser un carácter de rápida evolución, tiene muy limitada aplicación en los estudios de genética poblacional [Goodwin *et al.*, 1995c].

Un ejemplo de un linaje clonal de *P. infestans* es el US-1, descrito por Goodwin *et al.* en 1994. Este linaje posee tipo de compatibilidad A1, el patrón de la aloenzima glucosa 6-fosfato isomerasa (Gpi) es 86/100 y el de la peptidasa (Pep) es 92/100. Su fingerprint es característico de 15 bandas y posee una banda patrón de RFLP definida con la sonda RG-57.

Los linajes clonales en *P. infestans* pueden diferir de otros en aspectos de importancia, entre los que se incluyen los factores de patogenicidad –preferencia de hospederos, virulencia específica, agresividad, sensibilidad a fungicidas– y los factores ecológicos –respuesta a factores físicos como la temperatura– [Kato *et al.*, 1997; Legard *et al.*, 1995; Goodwin *et al.*, 1995c]. Por ejemplo, el linaje clonal US-1 es altamente patógeno a papa y levemente a tomate [Goodwin *et al.*, 1994], el US-6 [Legard *et al.*, 1995] y el US-7 [Goodwin *et al.*, 1995b] son patógenos en igual medida a papa y tomate y el US-8 [Kato *et al.*, 1997], el cual actualmente es el más distribuido en Estados Unidos de América y el más problemático, es patógeno solamente a papa. Algunas de las características de linajes conocidos pueden verse en la *Tabla*.

Características generales de distintos linajes clonales de *P. infestans*

Linajes	Tipo de compatibilidad	Sensibilidad al metalaxyl	Patogenicidad	Gpi	Pep
US-1	A1	S	Papa y tomate	86/100	92/100
US-6	A1	R	Papa y tomate	100/100	92/100
US-7	A2	R	Papa y tomate	100/111	100/100
US-8	A2	R	Papa	100/111/122	100/100
US-11	A1	R	Papa y tomate	100/100/111	100/100
US-17	A1	R	Tomate	100/122	100/100

Las variantes dentro de un linaje clonal han sido identificadas poniendo un número detrás del linaje clonal al que corresponde, el cual indica el número de variante encontrada [Goodwin *et al.*, 1994]. Así, la US-1.3 es la tercera variante encontrada del linaje clonal US-1. Estas variantes son idénticas para el genotipo más común de su linaje, excepto para uno o dos aloenzimas o para cambios en el DNA fingerprint. Ejemplo de esto son US-1.5 y US-1.6, los cuales tienen una banda más en el DNA fingerprint comparado con el US-1 [Goodwin *et al.*, 1995b].

Una conclusión importante de los estudios de la genética poblacional de *P. infestans* es que antes de 1980, la población mundial de este patógeno fue dominada por un simple linaje clonal –US-1–, solamente o en mayor cuantía [Goodwin *et al.*, 1994]. De este mismo modo han sido aceptadas las migraciones de otros linajes debido, entre otras cosas, a la disponibilidad de marcadores para la identificación de linajes clonales.

Respecto a las poblaciones epidémicas del hongo, se ha observado en Estados Unidos y Canadá que estas están compuestas de un simple linaje clonal. Por ejemplo, en New York, en 1987, la epidemia del tizón tardío en la papa fue a causa del linaje US-1, mientras que en 1993 la epidemia de tizón tardío en tomate fue a causa del linaje US-7 [Fry and Goodwin, 1997]. Esta homogeneidad parece ser debida a la ausencia de reproducción sexual, ya sea porque las poblaciones locales consisten de un simple linaje clonal, o porque

las oosporas sexuales producidas se encuentren incapacitadas para germinar, como ocurre en Japón y Corea [Mosa *et al.*, 1993].

En contraste, en aquellos lugares donde existe diversidad de poblaciones y ha ocurrido reproducción sexual, las poblaciones epidémicas del hongo son heterogéneas, como es el caso de algunos sitios de Europa [Drenth *et al.*, 1995]. En el Valle de Toluca, en México, donde se piensa que la reproducción sexual existe hace mucho tiempo, se determinó que la mayoría de los aislados tenían genotipos únicos. Por tanto, se puede llegar a la conclusión de que la estructura poblacional de *P. infestans* puede diferir dramáticamente entre distintas localidades.

#### Fuentes de variación

Entre las fuentes potenciales de variación genética en las poblaciones de *P. infestans* se encuentran las mutaciones, las recombinaciones mitóticas, la parasexualidad [Leach and Rich, 1969] y la hibridización interespecífica [Main't Veld, 1996]. Sin embargo, estas dos últimas aún no han sido ampliamente confirmadas utilizando los métodos modernos de biología molecular, por lo cual no la abordaremos con profundidad.

#### Mutaciones

Los análisis de los linajes clonales han detectado numerosas mutaciones probables en el DNA mitocondrial y en el nuclear. Por ejemplo, muchos aislados pertenecientes al linaje clonal US-1 tienen DNA mi-

tocondrial haplotipo A, y este parece ser el haplotipo ancestral de este linaje [Goodwin, 1991]. Sin embargo, han sido detectadas tres variantes de DNA mitocondrial en lugares donde sólo existe el linaje clonal US-1: la forma C en Perú [Goodwin, 1991] y las formas E y F aisladas de Filipinas [Koh *et al.*, 1994], lo cual indica que han ocurrido mutaciones en el DNA mitocondrial de *P. infestans*. Estos cambios involucran deleciones e inserciones.

Los cambios genéticos se han detectado con mayor frecuencia en la virulencia. Así, US-1 probablemente fue el único genotipo presente en Europa de *P. infestans* hasta finales de 1970, y no obstante, se observó gran cantidad de variaciones en la virulencia en ese período, resultantes al parecer de mutaciones dentro de un mismo linaje clonal (US-1).

También han ocurrido mutaciones para la resistencia a fungicidas. La extrema sensibilidad al metalaxyl es atribuible al fenotipo del linaje clonal US-1. Sin embargo, en Filipinas, donde US-1 era el único linaje clonal detectado, se obtuvieron aislados resistentes al metalaxyl [Koh *et al.*, 1994].

El grado de mutaciones no tiene que ser excesivamente alto para poder explicar los cambios observados en la virulencia y la sensibilidad a fungicidas, ya que una simple lesión de *P. infestans* puede producir cientos de miles de esporangios, y un campo podría producir billones de esporangios [Legard *et al.*, 1995]. De este modo, con un número alto de propágulos y una fuerte selección impuesta por los genes de resistencia del hospedero y los fungicidas aplicados, un grado de mutación moderado podría ser suficiente para generar toda la variación observada en las poblaciones de *P. infestans*.

### Recombinación mitótica

Los cambios explicados en el acápite anterior involucran la aparición de nuevos alelos que podrían ser debido a mutaciones. Sin embargo, muchas de las variaciones dentro de linajes clonales de *P. infestans* no involucran nuevos alelos, pero sí cambios aparentes a homocigóticos en loci que fueron heterocigóticos [Goodwin *et al.*, 1994]. Estos cambios podrían ser causados por recombinación mitótica.

Aunque la recombinación mitótica no genera nuevas variaciones, esta podría revelar variaciones recesivas en genes que previamente fueron heterocigóticos para un carácter dado [Goodwin, 1997].

En *P. infestans* han sido detectadas las recombinaciones mitóticas más usualmente que las mutaciones. Todas las variaciones de las aloenzimas observadas dentro de linajes clonales involucran cambios de heterocigóticos a homocigóticos; por ejemplo, una variante del tipo US-6, peptidasa 92/100, tiene una variante US-6.1 peptidasa 92/92 [Goodwin *et al.*, 1994].

### REFERENCIAS

- Anderson, J.B.; L.M. Kohn: «Clonality in Soilborne, Plant Pathogenic Fungi», en *Annu. Rev. Phytopathol.* 33: 369-391, 1995.
- Carter, D.A. *et al.*: «Restriction Fragment Length Polymorphism of Mitochondrial DNA of *Phytophthora infestans*», en *Mycological Research* 94:1123-1128, 1990.
- Chang T.; W. Ko: «Effect of Metalaxyl on Mating Type of *Phytophthora infestans* and *Phytophthora parasitica*», en *Ann. Phytopath. Soc. Jpn.* 56: 194-198, 1990.
- Dagget, S.S.; E. Gotz; C.D. Therrien: «Phenotypic Changes in Populations of *Phytophthora infestans* from Eastern Germany», en *Phytopathology* 83: 319-323, 1993.
- Drenth, A. *et al.*: «Genotypic Diversity of *Phytophthora infestans* in The Netherlands Revealed by DNA Polymorphisms», en *Phytopathology* 83:1087-1092, 1993.
- Drenth, A., E.M. Janssen; F. Govers: «Formation and Survival of Oospores of *Phytophthora infestans* Under Natural Conditions», en *Plant Pathol.* 44:86-94, 1995.
- Drenth, A.; I.C.Q. Tas; F. Govers: «Acquisition of Sexual Reproduction and Rapid Evolution of *Phytophthora infestans*», en *European Journal of Plant Pathology*, 1994.
- Erwin, D.C.; O.K. Ribeiro: *Phytophthora Diseases Worldwide*, APS Press, Minnesota, 1996, pp. 42-96.
- Fry, W.E. *et al.*: «Population Genetic Structure of *Phytophthora infestans*», en *The Netherlands. Phytopathology* 81: 1330-1336, 1991.
- Fry, W.E.; S.B. Goodwin: «Re-emergence of Potato and Tomato Late Blight in the United States», en *Plant Disease* 81:1349-1357, 1997.
- Gisi, U.; Y. Cohen: «Resistance to Phenylamide Fungicides: a Case Study with *Phytophthora infestans* Involving Mating Type and Race Structure», en *Annu. Rev. Phytopathol.* 34: 549-572, 1996.
- Gisi, U.; L. Ohi: «Changes in Sensitivity to Fungicides and Epidemiological Behaviour of *Phytophthora infestans* Field Isolates», en *Phytophthora infestans 150 E APR*, Boole Press, Dublin, 1995.
- Goodwin, S. B.: *DNA Polymorphisms in Phytophthora infestans: The Cornell experience*, in *Phytophthora*, Cambridge University Press, 1991, pp. 256-271.
- : «The Population Genetics of *Phytophthora*», en *Phytopathology* 87: 462-473, 1997.
- Goodwin, S.B.; B.A. Cohen; W.E. Fry: «Panglobal Distribution of a Single Clonal Lineage of the Irish Potato Famine Fungus», en *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91: 11591-11595, 1994.
- Goodwin, S.B.; A. Drenth; W.E. Fry: «Cloning and Genetic Analyses of Two Highly Polymorphic, Moderately Repetitive Nuclear DNAs from *Phytophthora infestans*», en *Current Genetics* 22: 107-115, 1992.
- Goodwin, S.B.; R.E. Schneider; W.E. Fry: «Use of Cellulose-Acetate Electrophoresis for Rapid Identification of Allozyme Genotypes of *Phytophthora infestans*», en *Plant Disease* 79:1181-1185, 1995a.
- Goodwin, S.B. *et al.*: «Clonal Diversity and Genetic Differentiation of *Phytophthora infestans* Populations in Northern and Central Mexico», en *Phytopathology* 82:955-961, 1992b.
- : «Direct Detection of Gene Flow and Probable Sexual Reproduction of *Phytophthora infestans* in Northern North America», en *Phytopathology* 85: 473-479, 1995b.
- Goodwin, S.B.; L.S. Sujkowski; W.E. Fry: «Rapid Evolution of Pathogenicity Within Clonal Lineages of the Potato Late Blight Diseases Fungus», en *Phytopathology* 85: 669-676, 1995c.
- Hardham, A.R.; F. Gubler; J. Duniec: «Ultrastructural and Immunological Studies of Zoospores of *Phytophthora*», en *Phytophthora*, Cambridge University Press, 1991.

*Análisis de los resultados concernientes a la genética...*

- Hulbert, S.H.; R.W. Michelmore: «DNA Restriction Fragment Length Polymorphism and Somatic Variation in the Lettuce Downy Mildew Fungus, *Bremia lactucae*», en *Mol. Plant-Microbe Interact* 1: 17-24, 1988.
- Kato, M. et al.: «Sensitivity to Protectant Fungicides and Pathogenic Fitness of Clonal Lineages of *Phytophthora infestans* in the United States», en *Phytopathology* 87:973-978, 1997.
- Klimzack, L.J., H.H. Pref: «Isolation and Characterization of Mitochondrial DNA of the Oomycetous Fungus *Phytophthora infestans*», en *Current Genetics* 8: 323-326, 1984.
- Koh, Y. J. et al.: «Migrations and Displacements of *Phytophthora infestans* Populations in East Asian Countries», en *Phytopathology* 84:922-927, 1994.
- Leach, S.S.; A.E. Rich: «The Possible Role of Parasexuality and Cytoplasmic Variation in Race Differentiation in *Phytophthora infestans*», en *Phytopathology* 59: 1360-1365, 1969.
- Legard, D.E.; T.Y. Lee; W.E. Fry: «Pathogenic Specialization in *Phytophthora infestans*: Agressiveness on Tomato», en *Phytopathology* 85: 1356-1361, 1995.
- Main't Veld, W.A.: «Interspecific Hybridization Between *Phytophthora cactorum* and *P. nicotianae*», en *Annual Report* 73-80, 1996.
- Masayasnkato, E.S. et al.: «Sensitivity to Protectant Fungicides and Pathogenic Fitness of Clonal Lineage of *Phytophthora infestans* in the United States», en *Phytopathology* 87:973-978, 1997.
- McDonald, B.A.: «The Population Genetics of Fungi: tools and Techniques», en *Phytopathology* 87: 448-453, 1997.
- Mosa, A.A. et al.: «Isoenzyme Polymorphism and Segregation in Isolates of *Phytophthora infestans* from Japan», en *Plant Pathol.* 42: 26-34, 1993.
- Muñío, B.: *Manejo de la resistencia a las fenilamidas en especies de Oomycetes en Cuba*, tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, INISAV, La Habana, 1997.
- Sansome, E.; C.M. Brasier: «Diploidy and Chromosomal Structural Hybridity in *Phytophthora infestans*», en *Nature* 241:344-345, 1973.
- Shattock, R.C.: «Studies on the Inheritance of Resistance to Metalaxyl in *Phytophthora infestans*», en *Plant Pathol.* 37: 4-11, 1988.
- Shaw, D.S.: «Genetics», *Phytophthora infestans, the Cause of Late Blight of Potato. Advances in Plant Pathology*, vol. 7, Academic Press, Londres, 1991, pp. 131-170.
- Spielman, L.J. et al.: «A Second World-Wide Migration and Population Displacement of *Phytophthora infestans*», en *Plant Pathology* 40: 422-430, 1991.
- Therrien, C.D. et al.: «Nuclear DNA Content, Mating Type, and Metalaxyl Sensitivity of Eighty-Three Isolates of *Phytophthora infestans* from The Netherlands», en *Mycol. Res.* 92: 140-146, 1989.
- : «*Phytophthora infestans* in Poland from 1987-1989; nuclear DNA Content, Mating Type Distribution and Response to Metalaxyl», en *J. Phytopathol* 139: 68-80, 1993.
- Tomás, Y.: «Estudios sobre la sobrevivencia de las oosporas y variación en la composición de las poblaciones de *Phytophthora infestans* Mont de Bary», en *Fitosanidad*, La Habana, 1998 (en edición).
- Tooley, P.W.; W.E. Fry; M.J. Villareal: «Isozyme Characterization of Sexual and Asexual *Phytophthora infestans* Populations», en *J. Hered.* 76: 431-435, 1985.

## OBTENCIÓN DE ANTICUERPOS POLICLONALES A PARTIR DE BANDAS DE PROTEÍNAS SEPARADAS POR ELECTROFORESIS EN GELES DE POLIACRILAMIDA

Ana L. Echemendía, Gloria González, Yadira Alfonso y P. B. Suárez

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

La detección y diagnóstico de enfermedades virales en las plantas representa una necesidad muy importante para la agricultura en general. Durante décadas se han empleado las técnicas serológicas para garantizar la rápida identificación y clasificación de los virus. Estas constituyen una opción más económica para países en desarrollo, que no cuentan con recursos suficientes para establecer procedimientos moleculares en el diagnóstico rutinario de estos patógenos [Clark, 1981]. A partir de ahí la importancia de producir anticuerpos capaces de detectar diferentes virus fitopatógenos. Es conocido que existen varios métodos para la preparación de proteínas que serán empleados como antígenos. Entre estos se incluyen la solubilización de muestras de proteínas en soluciones buffer [Chase, 1967], la solubilización de membranas de nitrocelulosa en las cuales estas han sido absorbidas [Maurer y Callahan, 1980], y la emulsión de bandas proteicas separadas en geles de poliacrilamida [Knudsen, 1985]. Mediante este último procedimiento se han producido sueros y anticuerpos monoclonales a partir de conejos y ratones respectivamente [Garnsey *et al.*, 1979; Tracy *et al.*, 1983; Rincón-Castro *et al.*, 1997], siendo muy útil cuando se presentan inconvenientes para la purificación del virus, difícil extracción del vegetal o baja concentración del virus en las plantas. Teniendo en cuenta estos aspectos fue nuestro propósito ensayar la obtención de inmunosue-ros específicos para el diagnóstico a partir de bandas de proteína de la cápsida del virus del mosaico del tabaco (TMV), por ser este uno de los más estudiados mundialmente.

Se emplearon como muestras vegetales hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), variedad Corojo sanas e infectadas con el TMV, raza 0, las que fueron mantenidas en condiciones controladas a temperatura de 28-30° C. Se realizó una semipurificación del virus, y esta se preparó

para realizar la corrida electroforética en geles de poli- acrilamida al 12 % [Laemmli, 1970]. Como patrón de peso molecular se usó la Lysosima a razón de 1 mg/mL, y como control negativo las muestras de plantas sanas de tabaco. Para la obtención del anticuerpo se realizó la corrida con la semipurificación del virus, luego la banda de la proteína de la cápsida fue escindida del gel y homogenizada en una proporción de 1:1 con ady- vante completo e incompleto de Freud en dependencia del inóculo. La emulsión se aplicó por vía intraperito- nial, intraganglionar, en las cuatro patas e intravenosa respectivamente, cada 20 días una de otra, y utilizando en cada inyección un mililitro del emulsificado. Al culminar el protocolo de inmunización establecido se sacrificó el animal y se separó el suero que fue probado por doble inmunodifusión, inmunomicroscopía e inmu- noelectroforesis.

Podemos concluir que mediante la inmunización a conejos, utilizando como antígeno bandas de la proteí- na de la cápsida del TMV por la técnica SDS-PAGE, es factible producir inmunosue-ros de alta especificidad, en breve tiempo, y partiendo de menor cantidad de material vegetal que cuando se emplean métodos tra- dicionales. El anticuerpo policlonal obtenido se puede usar para la detección de plantas y/o semillas infectadas con el TMV por diferentes técnicas de diagnóstico, como la inmunodifusión, inmunoelectroforesis y la inmunomicroscopía.

### REFERENCIAS

- Clark, M. F.: «Immunoabsorbent Assays in Plant Pathology», en *Annual Review of Phytopatology* 19: 83-106, 1981.
- Chase, M.W.: *Production of Antiserum in Methods in Immunology and Immunochimistry*, vol. 1, Academies Press, New York, 1967.

- Garnsey, S. M.; D. González; D. E. Purcipull: «Rapid Diagnostic of Citrus Tristeza Virus Infection by SDS Immunodifusión Procedures», en *Phytopathology* 68: 88-95, 1979.
- Knudson, K. A.: «Proteins Transferred to Nitrocellulose for Use As Immunogens», en *Anal. Biochem.* 147: 285-388, 1985.
- Laemli, U. K.: «Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage», en *Nature* 227: 680-685, 1970.
- Maurer, P. H.; H. J. Callahan: «Proteins and Polypeptides as Antigens», en *Methods in Enzymology*, vol. 70 Academic, New York, 1980.
- Rincón-Castro, Ma. del C. *et al.*: «Expresión del gen de la proteína de la cápsida del virus huasteco del chile en un sistema de Baculovirus», en *Revista Mexicana de Fitopatología* 15( 2): 139-139, 1997.
- Tracy, R. P. *et al.*: «Development of Monoclonal Antibodies to Proteins Separated by Two Dimensional Gel Electrophoresis», en *J. Immunol. Meth.* 65: 97-107, 1983.

## DETECCIÓN DE ATRAZINA Y SIMAZINA EN DISCOS DE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA EMPORE C<sub>18</sub>

B. Suárez, Caridad Ricardo y María N. Llanes

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

El análisis de los residuos de plaguicidas reviste una gran importancia porque permite la cuantificación de estos compuestos dañinos a la salud humana en los distintos sustratos.

El análisis de los plaguicidas en agua hasta hace poco representaba un problema debido al volumen por procesar [Moreno, 1998], superado con la introducción de los discos de extracción en fase sólida, los cuales reducen a 100 mL la muestra para realizar un análisis [Martínez *et al.*, 1996].

En el presente trabajo se informan los resultados de los análisis realizados para detectar atrazina y simazina en los discos empore c<sub>18</sub> (J.T. Beaker, Deventer, Holland) de un ejercicio de intercomparación IAEA contaminados con los herbicidas antes mencionados como parte del proyecto «Distribución, destino y efecto de los plaguicidas sobre la biota en ambiente marino tropical, uso de radio trazadores».

Los herbicidas se extrajeron de los discos con cuatro porciones de 10 mL cada una de acetato de etilo, empleando un sistema de extracción en fase sólida (Supelco Inc.) al que se le aplicó un ligero vacío. Las muestras se concentraron en un evaporador rotatorio a

35 °C, y el extracto quedó listo para la determinación cromatográfica.

Se utilizó un cromatógrafo de gases Carlo Erba, Modelo Fractovap 2450 con detector selectivo NPD-80 (Milán, Italia), con una columna Megabore OV5 (Ohio Valley, E.U.), de 30 m de longitud x 0,53 mm de diámetro interior y 1,5 µm de espesor de película. Se empleó nitrógeno como gas portador a 1,5 cm<sup>3</sup>/min. La temperatura se programó desde 150°C hasta 220°C a una velocidad de ascenso de 5 °C/min.

En la *Tabla* se muestran los resultados del análisis de los herbicidas atrazina y simazina cuyos valores están expresados en mg L<sup>-1</sup>. Martínez y Barceló (1996) señalaron que las muestras en discos de extracción en fase sólida no mostraron evidencias de degradación a 20 °C por tres meses, y que también resultaron estables a 4°C por dos meses. En nuestro caso se observó una coincidencia total con los parámetros indicados por la IAEA [Dierksmeier, comunicación personal, 1998], a pesar de que las muestras sufrieron una transportación desde Europa, variación de la temperatura durante la travesía, y además se conservaron por tres meses a 4 °C. Esto corrobora la estabilidad de los plaguicidas adsorbidos en los discos de extracción en fase sólida empore c<sub>18</sub>.

Valores de los residuos de atrazina y simazina detectados en los discos de extracción en fase sólida empore c<sub>18</sub>

Herbicida	Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		Valor promedio
	Muestra 1	Muestra 2	
Atrazina	7,77	8,40	8,08
Simazina	6,87	7,12	7,00

### REFERENCIAS

Moreno, Pura: «Impacto del uso de los plaguicidas sobre los recursos hídricos en zonas agrícolas de explotación intensiva», comunicación personal, 1998.

Martínez, E.; D. Barceló: «The Stability of Selected Herbicides Preconcentrated from Estuarine River Waters on Solid-Phase Extraction Disks», en *Chromatographia* 42(1-2): 72-76, 1996.

## NUEVA TÉCNICA PARA EL DIAGNÓSTICO DE ESPECIES DE LA FAMILIA PSEUDOCOCCIDAE (HOMOPTERA)

Amelia Mateo y Diamela Rodríguez

Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Holguín. Prolongación de Carbó 40, Altura de Perera y Calle Holguín, Holguín

El diagnóstico de estos insectos se realiza por la observación de su cutícula a través del microscopio óptico. En esta se encuentran las características taxonómicas para la identificación de la especie, por lo que resulta de suma importancia realizar una buena preparación de ella.

En el mundo existen varios métodos para el aclarado y montaje de los cocoideos en general; entre estos se encuentran los descritos por Lambdin and Kosztarab (1973), Alayo (1976), Williams y Guillian (1998), y el de Rodríguez y Martínez (1992), este último en uso hasta ahora en los laboratorios provinciales de Sanidad Vegetal.

Todas estas técnicas son muy laboriosas e ineficientes, requieren el uso de varios productos químicos y en todos los casos hay que practicar una pequeña herida en la cutícula para extraer la hemolinfa y los huevos del interior del insecto. Estos inconvenientes motivaron la búsqueda de un método más rápido y preciso.

Por la experiencia adquirida en el trabajo con otros grupos de insectos, se probó y se comprobó que el cloralfenol tiene propiedades que permiten el aclarado de las especies de Pseudococcidos. Además, es efectivo para insectos de la familia Aphididae, Aleyrodidae y para las larvas de la familia Tephritidae. El método basado en el empleo de dicha sustancia se describe a continuación:

1. Se trasladan las chinches de la solución conservadora (AGA, alcohol al 70%) o muestra viva a tubos de ensayo pequeños (12 cm de largo x 1,2 cm de diámetro), que contengan cloralfenol (0,5 mL).
2. Se colocan los tubos en baño de María por espacio de 20 minutos o más, pues el tiempo está en dependencia de

la solución conservadora, fecha de colecta de la muestra y de la planta hospedante.

3. Después del aclarado se extraen los insectos y se realiza el montaje directamente en Berlese o Bálsamo de Canadá (no es necesario realizar la incisión al insecto); si se desea puede colorearse con Fuschina u otro colorante.

4. Se observa al microscopio óptico.

5. Si se desea conservar en la colección se rotula y posteriormente se coloca en la estufa a 40° C por tres días.

Con esta técnica se obtienen las siguientes ventajas:

1. Se logra un aclarado completo del insecto sin necesidad de perforarlo, lo que posibilita realizar un diagnóstico preciso.
2. Permite analizar mayor número de muestras en una jornada.
3. Uso mínimo de cristalería (portaobjetos y cubreobjetos).
4. Ahorro de productos químicos.
5. Menor costo por muestra (0,31 USD el método tradicional y 0,12 USD el nuevo método).

### REFERENCIAS

- Alayo, R.: *Técnica para el montaje de cocoideos*, Inst. de Zoología, Academia de Ciencias de Cuba, La Habana, 1976, pp. 5-6 (Serie Biológica; 161).
- D. J. Williams; W. Watson Guillian: *Los insectos de escamas de la región del Pacífico sur tropical. La chinches harinosas (Pseudococcidae)*, CAB Instituto Internacional de Entomología, 1998, parte 2.
- Lambdin and Kosztarab: *Método de aclarado y montaje para las especies de coccidos*, Hungría, 1973.
- Rodríguez y Martínez: *Técnica para el montaje de Pseudococcidos*, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, 1992.