

Regionalización del comportamiento de *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) en la provincia de La Habana

Sensibilidad de especies de hongos fitopatógenos a los inhibidores de la biosíntesis de Ergosterol (IBE)

Biocontrol de *Serocladium oryzae* con *Bacillus subtilis*

Diagnóstico de virus y bacterias en el sistema de micropropagación del cultivo del plátano en Cuba

Generalización en Cuba del programa de manejo integrado de ácaro rojo *Tetranychus tumidus* en plátano

Contenido

DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO

Aplicación del diagnóstico fitoviroológico en cultivos hortícolas 5
Ana L. Echemendía, Surey Valdés, S. Jiménez, Gloria González y J. Fernández

Detección en semillas de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, agente causal del cáncer bacteriano del tomate 9
A. Miguel, A. García, Zenaida Amat e Irina Pérez

ECOLOGÍA Y EPIFITOTIOLOGÍA

Evaluación del comportamiento del ácaro *Steneotarsonemus pinki* (Acari: Tarsonemidae) en los estudios de regionalización desarrollados en Cuba 15

Lérida Almaguel, J. Hernández, P. de la Torre, A. Santos, R.I. Cabrera, A. García L.E. Rivero, Liudmila Báez, Idalia Cáceres y A. Ginarte

Especies hospedantes de *Mycena citricolor* (Berk., et Curt.) Sacc. en plantaciones de cafeto (*Coffea arabica* L.) 21
Denia de la Iglesia y L. Cascaret

El Cedro (*Cedrela odorata*), nuevo hospedante de *Pseudomonas cichorii* 23
Neyda Arencibia

Estudio del efecto inhibitorio de *Fusarium moniliforme* Sheldon sobre la germinación de la semilla agámica de la caña de azúcar (*Saccharum* sp. Híbrida) 29

Danay López y María O. López

Epifitología de las enfermedades fúngicas presentes en la fase de viveros en el cultivo de la piña en Cuba 33

A. Hernández, Berta L. Muiño y A. Martín

CONTROL QUÍMICO

Determinación de phthalide por espectrofotometría UV-visible 39

Rafaela Batista

Estudio preliminar de dos extractos vegetales para el control *in vitro* del hongo *Corynespora cassiicola* (Berk & Curt) Wei 43

Wendolyn Pérez, Blanca Bernal, Ana Martín y C. Romeu

Uso de la higuera (*Ricinus communis*, L) en el control de roedores 47

N. Suárez, H. Sánchez, P. P. Mora y María E. Rodríguez

CONTROL BIOLÓGICO

Influencia de la interacción de *Trichoderma* y el herbicida Simazina en la micorrización de *Pinus caribaea* Morelet subespecie *caribaea* Barret et. Golfari 53

Ángela Duarte, H. Cruz, M. A. Betancourt, A. Fernández, Anairad Ferrer y J. M. Montalvo

Compatibilidad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* con endosulfan 50 % C.E. en condiciones de laboratorio 57

Noris B. Padrón, Cecilia Toledo, L. A. Rodríguez, D. Núñez e Irina Pérez

Actividad biológica de la cepa LBT-25 de *Bacillus thuringiensis* sobre ootecas de *Meloidogyne incognita* 63

L. A. Torres, O. Fernández-Larrea y M. Escobar

Control de *Rhizoctonia* sp en albahaca blanca (*Ocimum basilicum* L) con *Trichoderma harzianum* cepa 34 67

Marlene M. Veitía, V. García, Deysi Izquierdo, Ángela Porras y Wendy Wong

Utilización del hongo *Hirsutella thompsonii* y el saneamiento a las plantaciones como método de lucha contra el ácaro del cocotero *Eriophyes guerrenonis* 71

Aurora Suárez, E. Ordúñez y Lérida Almaguel

Alternativas para el control biológico del pulgón pardo de los cítricos (*Toxoptera citricidus* Kirkaldy) (*Homoptera: Aphididae*) 75

E. Peña, L. Villazón, S. Jiménez, L. Vázquez y L. Licor

Efectividad biológica de aislados de *Bacillus thuringiensis* sobre *Cylas formicarius elegantulus* 79

Eslinda Fernández, Orietta Fernández-Larrea, Felicia Piedra, M. Milán y Y. Díaz

MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS

Definición de parámetros de aplicación más efectivos para la lucha contra *Bemisia tabaci* y *Empoasca* spp. en el cultivo del frijol 83

C. Hernández, M. Delgado, Marlene Veitía y J. A. Díaz

INFORMES TÉCNICOS		
Blatisav-1: un cebo microbiológico contra cucarachas plaga		89
Ofelia Milán, E. O'Bourque, Mercedes Luján, Nivia Cueto, Flor A. Castillo, Ena Gaínza, Elina Massó, Nidia Acosta y Miriam Sánchez		
La resistencia genética de las variedades como elemento básico en el manejo integrado de plagas y preservación del medio ambiente en el cultivo del arroz		95
R. Alfonso, E. Suárez, A. Hernández, R. Pérez, J. Ávila, A. Ginarte, J. L. Hernández, P. Oreilana		
COMUNICACIONES CORTAS		
Cultivo de hongos entomopatógenos en un sustrato elaborado con sagú (<i>Maranta arundinacea</i>, L.)		101
María de los A. Fonseca, Carmen Guerro y Elsa Suárez		
Aspectos epidemiológicos del tizón por <i>Alternaria helianthi</i> (Hansf) Taub Nish en girasol		103
María I. Pueyo y Ana D. Pupo		
Actividad fungicida de triazoles y benzimidazoles sobre <i>Colletotrichum</i> spp. agente causal de la antracnosis en la fase de postcosecha de frutabomba (<i>Carica papaya</i> L.)		105
Alicia Batlle y Giselle Estrada		
Desarrollo de un método rápido y sencillo para el aislamiento de ADN de especies fúngicas que afectan al arroz y el tabaco		107
E. Miranda y Ileana Sandoval		
Estudios sobre el empleo de elicitores para la inhibición del virus del mosaico del tabaco en plantas de tomate		109
Ana L. Echemendía y G. González		
RESUMEN DE TESIS		
Contribución al estudio y diagnóstico de la micobiota patógena de la caña de azúcar (<i>Saccharum</i> sp. Híbrida) en Cuba		111
María O. López Mesa		

Contents

PHYTOSANITARY DIAGNOSIS

Application of phytovirological diagnosis in horticultural crops 5
Ana L. Echemendía, Surey Valdés, S. Jiménez, Gloria González and J. Fernández

Seed detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* causal agent of mich canker of tomato 9
A. Miguel, A. García, Zenaida Amat e Irina Pérez

ECOLOGY AND EPIDEMIOLOGY

Evaluation of behavior of *Steneotarsonemus spinki* mite in regionalization studies developed in Cuba 15
Lérica Almaguel, J. Hernández, P. de la Torre, A. Santos, R.I. Cabrera, A. García L.E. Rivero, Liudmila Báez, Idalia Cáceres and A. Ginarte

Host species of *Mycena citricolor* on coffee tree plantation 21
Denia de la Iglesia and L. Cascaret

Cedar (*Cedrela odorata*), new host of *Pseudomonas cichorii* 23
Neyda Arencibia

Study of inhibitory effect of *Fusarium moniliforme* Sheldon over germination of agámica seed of sugarcane (*Saccharum* sp. Híbrida) 29
Danay López y María O. López

Epifitology of fungal diseases presents in the phase of nursery tree of pineapple in Cuba 33
A. Hernández, Berta L. Muiño y A. Martín

CHEMICAL CONTROL

Determination of phthalide by UV-visible spectrophotometry 39
Rafaela Batista

Preliminary study of two extracts vegetables for *in vitro* control of *Corynespora cassicola* (Berk & Curt) Wei fungus 43
Wendolyn Pérez, Blanca Bernal, Ana Martín and Carlos Romeu

Use of castor-oil plant (*Ricinus communis* L) for rodents control 47
N. Suárez, H. Sánchez, P. P. Mora and María E. Rodríguez

BIOLOGICAL CONTROL

Influence of interaction between *Trichoderma* and herbicide Simazina in mycorrhization of *Pinus caribaea* Morelet sub species *caribaea* Barret et Golfari 53
Ángela Duarte, H. Cruz, M. A. Betancourt; A. Fernández; Anairad Ferrer and J. M. Montalvo

Compatibility of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to Endosulfan 50% CE in laboratory conditions 57
Noris B. Padrón, Cecilia Toledo, L. A. Rodríguez, D. Núñez and Irina Pérez

Biological activity of *Bacillus* LBT-25 strain against ootheca of *Meloidogyne incognita* 63
L. A. Torres, O. Fernández-Larrea y M. Escobar

Control of *Rhizoctonia* sp. on white basil (*Ocimum basilicum* L.) with *Trichoderma harzianum* A34 strain 67
Marlene Veitía, V. García, Deysi Izquierdo, Angela Porras and Wendy Wong

Use of *Hirsutella thompsoni* fungus and crops sanitation as fight methods against coconut mite *Eriophyes guerreroni* 71
Aurora Suárez, E. Ordúñez and Lérica Almaguel

Alternatives for biological control of citrus brown aphid (*Toxoptera citricidus* Kirkaldy) (Homoptera: Aphididae) 75
E. Peña, L. Villazón, S. Jiménez, L. Vázquez y L. Licor

Biological effectivity of isolates of *Bacillus thuringiensis* against *Cylas formicarius elegantulus* 79
Eslinda Fernández, Orietta Fernández-Larrea, Felicia Piedra, M. Milán and Y. Díaz

INTEGRATED MANAGEMENT

Definition of application parameters more effectives for fight against *Bemisia tabaci* and *Empoasca* spp. on bean crop 83
C. Hernández, M. Delgado, Marlene Veitía and J. A. Díaz

TECHNICAL REPORTS

Blatisav I: microbiological bait against cockroaches 89
Ofelia Milán, E. O'Bourque, Mercedes Luján, Nivia Cueto, Flor.A Castillo, Ena Gaínza, Elina Massó, Nidia Acosta and Miriam Sánchez

SHORT COMMUNICATIONS

- Cultivation of entomopathogenous fungi on substrate made with sagú (*Maranta arundinacea*, L.) 101
María de los A. Fonseca, Carmen Guerro and Elsa Suárez
- Epidemiologic aspects of the tizón by *Alternaria helianthi* (Hansf) Taub Nish in sunflower 103
María I. Pueyo and Ana D. Pupo
- Fungicidal activity of triazols and benzimidazols against *Colletotrichum* spp. causal agent of anthracnosis in post harvest phase of *Carica papaya* L. 105
Alicia Batlle and Giselle Estrada
- Development of rapid and simple method for isolation of ADN from fungical species affecting rice and tobacco 107
E. Miranda and Ileana Sandoval
- Studies about the use of elicitors for the inhibition of Tobacco Mosaic Virus in tomato plants 109
Ana L. Echemendía and G. González
- THESIS ABSTRACTS**
- Contribution to the study and diagnostic of pathogenic mycobiota of sugarcane (*Saccharum* Sp. Híbrida) in Cuba 111
María O. López

APLICACIÓN DEL DIAGNÓSTICO FITOVIROLÓGICO EN CULTIVOS ASOCIADOS A HUERTOS URBANOS

Ana L. Echemendía, Surey Valdés, S. Jiménez, Gloria González y J. Fernández

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

RESUMEN

La agricultura urbana ha adquirido gran importancia en nuestro país en los últimos años como una vía más para garantizar el suministro de vegetales y hortalizas a la población de las ciudades. Aparejado al surgimiento de hidropónicos, organopónicos y huertos, se han realizado de forma sistemática muestreos e inventarios de las plagas y enfermedades que afectan los cultivos asociados a estos sistemas. En este trabajo se señala la aparición de tres sintomatologías virales en los cultivos de lechuga (*Lactuca sativa* L.), apio (*Apium graveolens* L.) y melón de Castilla (*Cucumis melo* L.), asociados a la presencia de áfidos vectores. Para la identificación de los agentes causantes de estas enfermedades se emplearon diferentes técnicas de diagnóstico como son: las plantas indicadoras, microscopía óptica y electrónica, y la técnica ELISA en sus variantes DAS e indirecto. Los resultados demostraron que los síntomas observados en lechuga son producidos por el virus del mosaico de la lechuga (LMV); en el caso del apio se trata de una raza del virus del mosaico del pepino (CMV), ambos reportados por primera vez en nuestro país, y en el melón de Castilla se identificó como el virus de la mancha anular de la fruta bomba, raza w (PRSV) nunca antes encontrado este cultivo. Se identificó también por vez primera una especie de áfido colonizando lechuga y como vector del LMV.

Palabras claves: diagnóstico, ELISA, *Lactuca sativa* L., *Apium graveolens* L., *Cucumis melo* L., *Potyvirus* y *Cucumovirus*

ABSTRACT

The urban agricultural is very important to supply vegetable in our country. A study is presented in which ELISA, optical and electron microscopy and host plant were used to detect three different viruses of lettuce, celery and melon samples. This is the first report of detection about Lettuce Mosaic Virus, a strain of Cucumber Mosaic Virus and w strain of PRSV from lettuce, celery and melon plants.

Key words: diagnosis, ELISA, *Lactuca sativa* L., *Apium graveolens* L., *Cucumis melo* L., *Potyvirus* y *Cucumovirus*

INTRODUCCIÓN

La agricultura urbana ha adquirido gran importancia en nuestro país en los últimos años, como una vía más para garantizar el suministro de vegetales y hortalizas a la población de las ciudades. El combate de las plagas en los sistemas de cultivos de organopónicos constituye un elemento básico para la obtención de rendimientos aceptables bajo esta modalidad de agricultura urbana.

La aparición de diferentes enfermedades en estos sistemas requiere de un diagnóstico eficiente que permita que estas puedan ser manejadas y controladas, por lo que se han realizado de forma sistemática muestreos e inventarios de las plagas y enfermedades que afectan a los cultivos asociados a estos.

Este trabajo se realizó con el objetivo de diagnosticar las virosis encontradas en los organopónicos muestreados, en los cultivos de apio (*Apium graveolens* L.), lechuga (*Lactuca sativa* L.) y melón de Castilla (*Cucumis melo* L.).

MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de muestras

Se realizaron muestreos sistemáticos en los organopónicos a partir de enero de 1996-97 hasta la culminación del ciclo de los cultivos. Se colectaron hojas y semillas de lechuga, apio y hojas de melón de Castilla,

debido a la aparición de sintomatologías virales asociadas a estos cultivos.

Las muestras de hojas se procesaron para la realización del diagnóstico por diferentes técnicas, y las semillas fueron sembradas para determinar si existía transmisión del virus por esta vía.

Plantas indicadoras

Se procedió a macerar el material vegetal con tampón fosfato 0,025 M pH 7 en el caso del melón de Castilla, y con tampón citrato 0,05 M pH 6,5 para el apio y la lechuga. En todos los casos se empleó carbón activado como agente antioxidante y carborundum como abrasivo.

La lechuga se inoculó mecánicamente en posturas de *L. sativa* L. y en *Gomphrena globosa* L., mientras que las muestras de apio y melón de Castilla se inocularon en *A. graveolens* L. y en *Cucumis sativus* L. respectivamente. Las plantas fueron mantenidas en condiciones controladas a 25-30°C.

Microscopía óptica y electrónica

Fueron analizadas las muestras de lechuga, apio y melón de Castilla por microscopía óptica y electrónica según lo establecido por Christie y Edwarson (1977).

ELISA-DAS

Para diagnosticar el virus del mosaico del pepino (CMV) en hojas de lechuga, apio y melón de Castilla se empleó un kit de la SANOFI capaz de detectar varias razas de este virus.

El procedimiento consistió en el recubrimiento de las placas con la IgG policlonal durante dos horas a 37°C. El extracto vegetal fue incubado 16 horas a 4°C. Con el buffer PBS-Tween-Albúmina pH 7,4 se diluyó el conjugado que se mantuvo cuatro horas a 37°C y posteriormente se añadió el sustrato (4-nitrofenilfosfato en buffer de dietanolamina pH 9,8) durante 30 minutos a temperatura ambiente. La absorbancia se determinó a 405 nm en un equipo SUMAL PE.

Vectores

Fueron hechos muestreos de los áfidos presentes en los organopónicos, asociados o no a los cultivos de interés, para la determinación de la especie y su relación con las virosis encontradas. La clasificación se hizo de acuerdo con la clave de Holman (1974). En el caso del LMV se realizó la infección por áfidos para determinar qué especies eran capaces de transmitir el virus.

ELISA indirecto

Esta técnica se empleó para diagnosticar el virus del mosaico de la lechuga (LMV) en hojas de lechuga. Se siguió el procedimiento descrito por Clark y Adams (1977). El extracto vegetal se incubó 16 horas a 4°C. Al día siguiente se añadió albúmina de suero bovino (BSA) al 3%, manteniéndose una hora a 37°C. El in-

munosuero específico empleado procedente de Dinamarca se adicionó tres horas a 37°C. El conjugado diluido con PBS-T se mantuvo una hora a la misma temperatura y el sustrato otra hora, pero a temperatura ambiente. La lectura se realizó de la forma ya descrita.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las semillas de lechuga colectadas de plantas infectadas con LMV germinaron tres días después de sembradas, apareciendo los síntomas a los 20 días de germinadas. De esta forma se comprobó que hubo un 20% de transmisión de este virus por semillas. Esto coincide con lo planteado por muchos autores [Maury *et al.*, 1989 y Maury-Chovelon, 1984]. En otros trabajos se encontró en el tejido embrionario y no embrionario de las semillas y en las primeras hojas verdaderas agregados de partículas de LMV [Hunter *et al.*, 1993]. Las semillas de apio sembradas procedentes de plantas enfermas dieron lugar a posturas sanas.

En el análisis del rango de hospederos, las plántulas de lechuga inoculadas con el extracto vegetal de plantas con síntomas virosos demoraron en mostrar los síntomas de 20-25 días. Estos consistían en un aclaramiento en las nerviaciones seguido de un mosaico ligero de color verde. En el caso de la *G. globosa* se observó, a partir del sexto día, la presencia de lesiones locales necróticas, coincidiendo con lo obtenido por otros autores para el LMV [Tomilson, 1970].

Después de inocular las plantas de apio con la savia de plantas virosas, se observó a los 10 días síntomas de mosaico verde difuso, y más tarde anillos amarillos que se expanden hasta provocar la decoloración, y con ella la marchitez de las hojas. Esto se corresponde con lo descrito para una raza del CMV [Smith, 1972].

Las plantas de pepino inoculadas con el extracto vegetal obtenido del melón de Castilla viroso, mostraron a los cinco días síntomas de mosaico intenso verde con algunas verrugas y deformación de las hojas. Estas características se asemejan a lo encontrado para la raza w del PRSV [Gonsalves, 1984].

En cuanto a las especies de áfidos colectadas en los organopónicos, estas correspondían a *Myzus persicae*, *Aphis gossypii* Sulz y *Dactynotus ambrosiae* Thomas, las dos primeras conocidas como vectores de CMV, LMV y PRSV [Smith, 1972; Kennedy *et al.*, 1962; Kucharex and Purcifull, 1997], mientras que la última se conoce que habita en lechuga y fue comprobado en nuestro trabajo que es vector del LMV.

En las muestras de lechuga y melón de Castilla analizadas al microscopio de luz fueron observadas inclusiones amorfas citoplasmáticas en las células epidérmicas, mientras que en el microscopio electrónico se encontró por tinción negativa partículas alargadas flexuosas típi-

cas de un potyvirus, tanto en las muestras de organopónicos, de las plantas de lechuga germinadas a partir de semillas infectadas, como en las expuestas a la actividad vectorial de *D. ambrosiae*. Es importante señalar que en las revisiones realizadas no se encontraron reportes de la existencia del LMV en nuestro país.

En el caso de las plantas de apio se observaron al microscopio óptico inclusiones cristalinas en el citoplasma de las células epidérmicas correspondientes a las provocadas por el CMV.

El método ELISA indirecto resultó eficaz para detectar las muestras infectadas con LMV, coincidiendo los resultados con los obtenidos por microscopía óptica y electrónica. Muchos autores han empleado esta técnica para diagnosticar la presencia de LMV en semillas y plantas, considerándola muy efectiva, ya que detecta bajas concentraciones de virus [Grogan, 1980; Jafarpour *et al.*, 1979; Van Vuurde y Maat, 1983 y Ertun, 1992].

Con la técnica ELISA-DAS se detectó CMV sólo en las muestras de apio analizadas, lo que coincidió con lo observado por microscopía óptica. Esta virosis no se había encontrado con anterioridad en nuestro país, infectando este cultivo.

Las muestras de melón de Castilla fueron negativas para este virus y, teniendo en cuenta los síntomas desarrollados después de ser inoculados en pepino, podemos decir que estamos ante la presencia del virus de la mancha anular de la fruta bomba raza W (PRSV-W).

CONCLUSIONES

- Los síntomas observados en lechuga, apio y melón de Castilla corresponden a los virus del mosaico de la lechuga, del mosaico del pepino y de la mancha anular de la fruta bomba raza W.
- La raza del virus del mosaico del pepino (CMV) en apio, el virus del mosaico de la lechuga (LMV) y la raza W del PRSV en melón de Castilla fueron reportados por primera vez en Cuba.

- Se identificó a *Dactynotus ambrosiae*, Thomas colonizando plantas de lechuga y como vector del virus del mosaico de la lechuga.

REFERENCIAS

- Christie, R. G.; J. R. Edwarson: «Light and Electron Microscopy of Plant Virus Inclusion Bodies», *Agr. Exp. Sta. Mon.* no. 9, 1977.
- Clark, M. F.; A. N. Adams: «Characteristics of the Microplate Methods of Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay for Detection of Plant Viruses», *Journal of General Virology* 34, 475-483, 1977.
- Ertunç, F.: «Detection of Lettuce Mosaic Virus (LMV) from Infected Lettuce and Wild Mustard (*Sinapis arvensis* L.) Seeds by Non-Precoated Indirect Enzyme-Like Immunoabsorbent Assay», *Ankara Üniversitesi Ziraat Facültesi Yayınları* no. 1 253, 1992.
- Gonsalves, D.; D. Purcifull: «Papaya Ringspot Virus», *CMII/AAB. Descriptions of Plant Viruses* no. 292. 1984.
- Grogan, R. G.: «Control of Lettuce Mosaic Virus-Free Seed», *Plant Disease*, 64, 446-449, 1980.
- Hunter, D. G.; J. W. Bowyer: «Cytopathology of Lettuce Mosaic Virus Infected Lettuce Seeds and Seedlings», *Journal of Phytopathology (Australia)* 137(1): 61-72, 1993.
- Jafarpour, B.; R. J. Shephard; R. G. Gronan: «Serological Detection of Bean Common Mosaic and Lettuce Mosaic Virus in Seeds», *Phytopathology (EUA)* 69: 1125-1129, 1979.
- Kennedy, Day & Eastop: *A Conspectus of Aphids as Vector of Plant Viruses*, Commonwealth Institute of Entomology, London, 1962.
- Kucharek, T.; D. Purcifull: «Aphid-Transmitted Viruses of Cucurbits in Florida», Circular 1164, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 1997.
- Maury-Chovelon, V.: *Thesis*, Submitted at Université des Science et Techniques du Languedoc, France, 1984.
- Maury, Y.; R. K. Khetarpal: *Testing Seed for Viruses Using ELISA. Perspectives in Plant Pathology*. New Delhi, 1989, pp. 31-49.
- Smith, K.M.: *A Textbook of Plant Viruses Disease*, London, 1972 pp. 310-312.
- Tomilson, J. A.: «Lettuce Mosaic Virus». *CMII/AAB. Descriptions of Plant Viruses* no. 9, 1970
- Van Vuurde, J. W. L.; D. Z. Maat: «Routine Application of ELISA for the Detection of Lettuce Mosaic Virus in Lettuce Seeds», *Seed Sci. & Technol.* 11: 503-513, 1983.

DETECCIÓN EN SEMILLAS DE *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS* SUBSP. *MICHIGANENSIS*, AGENTE CAUSAL DEL CÁNCER BACTERIANO DEL TOMATE

A. Miguel,¹ A. García,² Zenaida Amat¹ y Irina Pérez²

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

² Laboratorio Central de Cuarentena Vegetal, Ayuntamiento 231 e/ San Pedro y Lombillo, Cerro, Ciudad de La Habana

RESUMEN

El cáncer bacteriano del tomate causado por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) es una de las enfermedades más importantes en este cultivo. La principal fuente de introducción y transmisión es a través de semillas donde el patógeno puede sobrevivir por años con niveles de inóculo muy bajos, lo que hace difícil su detección. Se realizó un estudio con el objetivo de estandarizar el método más idóneo, en nuestras condiciones, para detectar esta bacteria, conjugando la técnica serológica IFI con la siembra en medio semiselectivo. Utilizando semillas artificialmente infectadas se emplearon las siguientes variantes: maceración en tampón PBS una hora a 100 rpm sin centrifugación, PBS 24 horas a 4°C con centrifugación y PBS una hora a 100 rpm con centrifugación, tomando como control el método OEPP de maceración en tampón PBT por 24-72 horas a 4°C con centrifugación. Los resultados no mostraron diferencias significativas entre el método PBS una hora con centrifugación y el control OEPP, por lo que se procedió a comparar la sensibilidad de ambos tomando porcentajes de semillas infectadas, de donde se concluye que el método seleccionado responde correctamente, obteniéndose resultados positivos en la IFI en concentraciones de semillas infectadas mayores al uno por ciento mientras que la técnica cultural es sensible, al menos hasta el 0,1% de semillas infectadas, por lo que se propone como prueba confirmativa del diagnóstico.

Palabras claves: tomate, *Clavibacter michiganensis*, semillas, métodos de diagnóstico, cáncer bacteriano

ABSTRACT

Bacterial canker of tomato is an important disease caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm). The main source of inoculum are infected seeds where the pathogen can survive for many years. The aim of this study was to obtain the best method in our conditions to detect this bacterium in seed lots based in dilution plating in semiselective media and the serological technique immunofluorescence staining (IFAS). The best result for extract this quarantined pathogen was achieved macerating the seeds in phosphate buffer (PBS) 1 hour at 100 rpm at room temperature plus centrifugation. As control was taken the method proposed by EPPO. Whereas by IFAS we only detect the target in lots with more than 1% of infection, the bacterium was obtained in KBT at least, in lots with 0.1 percentage of artificially infected seeds of tomato. Then we considered this probe as the confirmative one in seed testing of Cmm.

Key words: tomato, *Clavibacter michiganensis*, seeds, diagnosis methods, bacterial canker

INTRODUCCIÓN

El cáncer bacteriano del tomate causado por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davies, Gillaspie, Vidaver & Harris es una de las enfermedades más importantes del tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) a nivel mundial [Fatmi y Schaad, 1989; Fatmi y Schaad, 1991].

Aunque el patógeno puede sobrevivir en el suelo, en malezas y en otros cultivos de interés, se considera que la principal fuente de diseminación de la enfermedad es a través de las semillas contaminadas, encontrándose el microorganismo tanto sobre la cubierta como en el interior de ellas [Fatmi y Schaad, 1989; Dhanvanta-

ri, 1989]. Se ha demostrado que la sobrevivencia del patógeno en semillas supera los diez años [Franken *et al.*, 1993] y que la enfermedad se puede transmitir de una cosecha a otra y ocasionar drásticas epifitias, aunque el porcentaje de infección en un lote de siembra sea inferior al uno por ciento.

La enfermedad ocasiona una severa reducción de la cantidad y la calidad de los frutos, los cuales de obtenerse pierden su capacidad comercial [Van Vaerenbergh y Chaveau, 1987]. Además la enfermedad representa un peligro potencial para otros cultivos importantes como la berenjena y el pimiento.

Este es un organismo cuarentenado debido a que la enfermedad no está presente en el país, por lo que el objetivo del trabajo consistió en obtener un método, a partir de cepas de referencia, de diagnóstico en semillas sensible, confiable y objetivo en las actuales condiciones para los diferentes niveles del sistema de sanidad vegetal, el cual debe poder insertarse dentro del programa integrado de detección de patógenos bacterianos en semillas de tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Extracción de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*)

Se procedió a la extracción del patógeno de lotes de semillas artificialmente infectados, tomando tres submuestras de cinco gramos cada una y añadiendo cada submuestra a un erlenmeyer con 50 mL del tampón correspondiente.

Se probaron las siguientes variantes empleando tampón fosfato (PBS pH 7,2) como líquido de extracción:

Método 1: Maceración por una hora con agitación (100 rpm) a temperatura ambiente.

Método 2: Maceración por 24 horas a 4°C seguida de centrifugación a 7 000 rpm por 15 minutos.

Método 3: Maceración por una hora con agitación (100 rpm) a temperatura ambiente seguido de centrifugación a 7 000 rpm por 15 minutos.

Como control se utilizó el método empleado por la Organización Europea y Mediterránea de Protección de Plantas (OEPP), consistente en maceración en tampón PBTween 20 (pH 7,45) por 24-72 horas a 4°C, seguido de centrifugación [Chaveau, 1992; Franken *et al.*, 1993].

El pellet obtenido en todos los casos se resuspendió en 1 mL de PBS, y se prepararon tres diluciones seriadas en cada caso (10^{-1} a 10^{-3}).

Aislamiento de *Cmm*

Se tomaron 50 µL de cada una de las tres diluciones seriadas, y se sembraron empleando espátula de Drigalsky en placas con los medios KBT y KBP. El medio KBT consiste en *Pseudomonas* Agar F (Difco) suplementado con telurito de potasio, cicloheximida y ácido nalidíxico, mientras que el KBP es similar, pero con la sustitución del telurito de potasio por polimixina B

[Dhavantari, 1988, Chaveau, 1992]. Las placas petri inoculadas se incubaron a 28°C. Las colonias de *Cmm* comienzan a aparecer al cuarto día y en ambos medios se muestran redondeadas, convexas, de coloración gris oscuro con márgenes más claros en KBT, mientras que en KBP son de color amarillo pálido [Chaveau, 1992]. Se contaron las colonias típicas y se les realizó una aglutinación en portaobjetos a algunas tomadas al azar con un inmunosuero policlonal.

Microscopía de inmunofluorescencia

Se empleó un inmunosuero policlonal (1:800) obtenido en el INISAV y levantado en conejo, tomando como antígeno una suspensión de células enteras de la cepa 21G del patógeno. Se utilizó la variante inmunofluorescencia indirecta (IFI), empleando el original y la primera dilución seriada obtenida (10^{-1}) en cada caso. Se chequearon 30 campos y se promedió el número de células observadas para dar el resultado en células/campo.

Prueba de sensibilidad

Se seleccionó el método de extracción 3 tomando como control el método propuesto por la OEPP. Se siguieron los mismos pasos, pero usando porcentajes de semillas infectadas de 2%, 1%, 0,5%, 0,3% y 0,1% del total de las submuestras de cinco gramos. La metodología de identificación se basó en este caso en inmunofluorescencia indirecta y siembra en medio semiselectivo KB. El medio KBP no se empleó por razones que más adelante detallaremos.

Análisis estadístico

En todos los resultados obtenidos se empleó la prueba estadística de comparación de medias basadas en la distribución *t* de Student con un intervalo de confianza del 95% ($p = 0,95$). Se señalan las diferencias significativas en las tablas, cuando existen, con un asterisco.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en cuanto a los métodos de extracción, tomando como testigo el método propuesto por la Organización Europea y Mediterránea para la Protección de Plantas (OEPP) se muestran en las *Tablas 1 y 2*.

Tabla 1. Resultados respecto a los métodos de extracción mediante la siembra en medio semiselectivo KBT

Xm (UFC/Placa)	Método 1			Método 2			Método 3		
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
Variantes	500	12,3	1,2	45,0	8,5	1,5	90,0*	15	3,8
Método OEPP	933*	126,0*	15,0*	44,0	14,0*	1,6	46,6	17	5,2

* Diferencias significativas

Tabla 2. Resultados respecto a los métodos de extracción mediante inmunofluorescencia indirecta (dilución 10⁻¹)

Células/campo	Método 1	Método 2	Método 3
Variantes	3,7	9,4	9,7
Método OEPP	8,5*	8,7	9,1

* Diferencias significativas

Los resultados obtenidos del enfrentamiento de la variante seleccionada (método 3) respecto al siste-

ma propuesto por la OEPP se muestran en las *Tablas 3 y 4*.

Tabla 3. Resultados de sensibilidad del método 3 respecto al control OEPP en medio semiselectivo KBT (UFC/Placa)

Porcentaje infección	2%			1%			0,5%			0,3%			0,1%		
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
Método 3	83*	12*	3,0*	163	26	6	34*	3	0,7*	185	48*	7*	26*	2*	0,3*
OEPP	53	5	0,3	184*	47*	5	30	3	0,3	187	37	4	4	1	0,1

* Diferencias significativas

Tabla 4. Resultados de sensibilidad del método 3 respecto al control OEPP para inmunofluorescencia indirecta (células/campo)

Variante (10 ⁻¹)	2%	1%	0,5%	0,3%
Método 3	4,62*	1,15	Negativa	Negativa
Método OEPP	1,87	0,95	Negativa	Negativa

* Diferencias significativas

Al enfrentar el método de extracción 1 con el método empleado por la OEPP (control), este último demostró, de acuerdo con la comparación de las medias obtenidas con la IFI y la siembra en medio semiselectivo, una diferencia significativa respecto al primero, por lo que se decidió comprobar si esta diferencia era consecuencia del tiempo de extracción (24 horas en incubadora refrigerada a 4°C) o a la concentración de la muestra basado en una centrifugación a 7 000 rpm por espacio de 15 minutos.

Se enfrentó el control OEPP con los métodos 2 y 3, resultados que mostraron que la diferencia significativa se debe al paso de centrifugación con la respectiva concentración de células que el proceso conlleva y no al tiempo de incubación.

Una vez comprobada la importancia de este paso, se enfrentaron ambos métodos, pero disminuyendo los porcentajes de semillas infectadas. Las pruebas realizadas desde el 2% al 0,1% no muestran en general diferencias respecto a los métodos de extracción probados, incluso mostrando una ligera mejoría en la extracción por una hora.

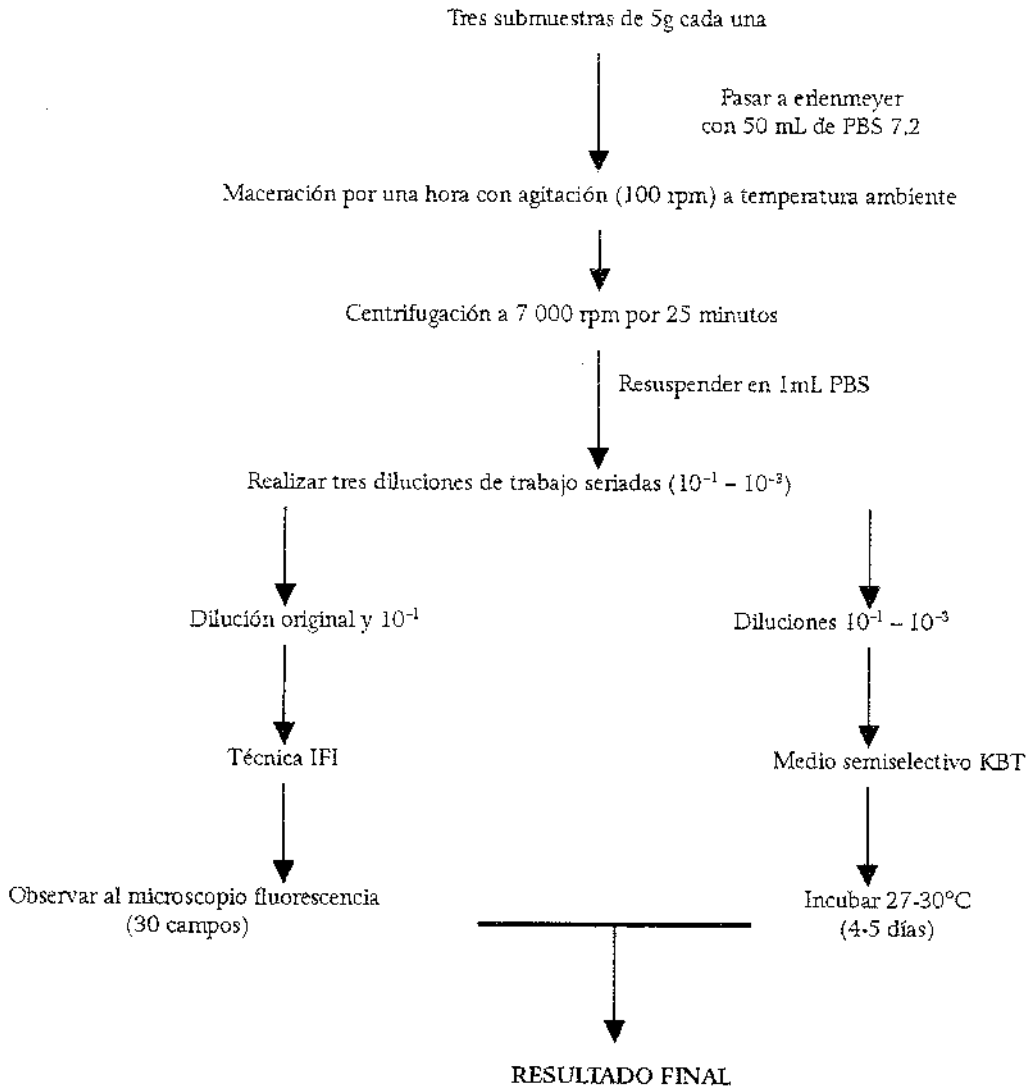
Respecto a la inmunofluorescencia indirecta, se observaron células típicas corineformes como se describen en la literatura [Chaveau, 1992; Franken *et al.*, 1993] en la primera dilución seriada, mientras que en los originales no se pudo definir el patógeno debido a la existencia en gran cantidad de partículas -que también son concentradas con la centrifugación- que interfieren en el resultado. En general esta técnica es útil hasta niveles de infección superiores al uno por ciento.

Respecto a los medios de cultivo, el KBT no resultó idóneo según nuestros resultados por el alto número de contaminantes de más rápido crecimiento que *Cmm*, lo que afectó sensiblemente el recobrado del patógeno. Sin embargo, el KBT muestra un recobrado alto con un muy escaso crecimiento de saprófitos, obteniéndose muchas veces un cultivo puro de la bacteria.

El medio KBT resulta útil hasta grados de infección de al menos un 0,1% del total, lo que nos lleva a concordar con la metodología de la OEPP, que toma como prueba confirmativa del diagnóstico para *Cmm* en semillas la siembra en medio de cultivo semiselectivo con la IFI como una prueba complementaria de mucha utilidad [Chaveau, 1992].

Esta metodología que proponemos se inserta dentro de la ya establecida en nuestro país para la detección de patógenos bacterianos en semillas de tomate y pimiento, además de que se adapta mejor a las condiciones objetivas de nuestros laboratorios, los cuales, en su mayoría, no poseen el equipamiento necesario ni todos

los reactivos que requiere el sistema de detección de la OEPP. Gracias a nuestro sistema de detección también economizamos tiempo, ya que el diagnóstico se obtiene en menos de ocho horas de trabajo, mientras que por la propuesta OEPP se requiere de 48-72 horas (Figura).



Metodología para la detección de *Cmm* en semillas de tomate

CONCLUSIONES

- El método de extracción 3-PBS una hora y agitación a 100 rpm con centrifugación es adecuado para diagnosticar semillas infectadas con *Cmm*.
- La técnica IFI se debe usar como complemento a la siembra de diluciones en medio agarizado, ya que es incapaz de detectar porcentajes de infección inferiores o iguales al uno por ciento.
- El medio semiselectivo KBP no mostró alta eficacia en el recobrado del patógeno.
- La siembra en medio semiselectivo KBT es la prueba confirmativa del diagnóstico de semillas infectadas; ya

que es capaz de detectar, al menos, el 0,1% de infección, identificándose fácilmente *Cmm* con un muy escaso crecimiento de saprófitos.

REFERENCIAS

- Chaveau F. J.: «*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: Test Methods for Tomato Seeds», *Bulletin EPPO* 22(2): 219-224, 1992.
- Dhavantari, B.N.: « Comparison of Selective Media for Isolation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*», *Phytopathology* (EUA) 78, 1988.

—: «Effect of Seed Extraction Methods and Seed Treatments on Control of Tomato Bacterial Canker», *Canadian Journal of Plant Pathology* (11): 400-408, 1989.

Fatmi, M.; N.W. Schaad: «Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in Tomato Seeds», *Detection of Bacteria in Seeds*, APS Press 45-49, 1989.

—: «Seed Treatments for Eradicating *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from Naturally Infected Tomato Seeds», *Plant Disease* 75(4), 1991.

Franken, A. A.; G. C. Kamminga; Y. E. Birnbaum: «Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in Tomato Seeds by Immunofluorescence Microscopy and Dilution Plating», *Neth. J. Pl. Path.* 99:125-137, 1993.

Kritzman G.: «A Method for Detection of Seedborne Bacterial Diseases in Tomato Seeds», *Phytoparasitica* 19(2): 133-141, 1991.

Ministry of Agriculture, Fisheries and Food: *Bacterial Canker of Tomato*, United Kingdom: MAFF Publications, 1982.

Van Vaerenbergh J. C. P.; J. F. Chauveau: «Detection of *Corynebacterium michiganensis* in Tomato Seed Lots», *Bulletin EPPO* 17: 131-138, 1987.

EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DEL ÁCARO *STENEOTARSONEMUS SPINKI* (ACARI: TARSONEMIDAE) EN LOS ESTUDIOS DE REGIONALIZACIÓN DESARROLLADOS EN CUBA

Lérida Almaquel,¹ J. Hernández,² P. de la Torre,¹ A. Santos,¹ R. I. Cabrera,³ A. García,² L. E. Rivero,² Liudmila Báez,² Idalia Cáceres¹ y A. Ginarte²

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

² Instituto de Investigaciones del Arroz (IIA). La Coca, Bauta, La Habana

³ Instituto de Investigaciones de Cítricos y Frutales. Calle 7a. esq. a 42, Playa, Ciudad de La Habana

RESUMEN

El ácaro *Steneotarsonemus spinki* Smiley (Acari: Tarsonemidae), desde su detección en Cuba en 1997, constituye la plaga de mayor importancia económica por su asociación con altos niveles de vaneado del grano y disminución de los rendimientos del arroz (*Oryza sativa* L.). El objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento de las variedades de los estudios de regionalización del IIA (Instituto de Investigaciones del Arroz), frente a esta nueva plaga para el país. Se evaluaron seis de ciclo corto (V1 a V5 nuevas líneas y la comercial Perla de Cuba) y siete de ciclo medio (V7 a V12 nuevas líneas y J-104 como patrón de comparación), en dos experimentos de bloque al azar con tres réplicas. Se realizaron dos evaluaciones, una al inicio de la fase reproductora y la otra antes de la cosecha, sobre 10 plantas por réplica, y se contó la población adulta del ácaro en un estereoscopio con aumento de 20 X. En las variedades de ciclo corto no hubo diferencias significativas en las poblaciones del ácaro, ni para el rendimiento. En las de ciclo medio los mayores índices del ácaro se presentaron en la V7, y los menores en la V11. El resto de las variedades tuvo un comportamiento intermedio. Las poblaciones en las variedades de ciclo corto fueron mayores que en las de ciclo medio. Las mayores poblaciones se encontraron en la vaina de la hoja bandera, con los mínimos en el ápice de estas y fueron superiores en la evaluación antes de la cosecha.

Palabras claves: ácaro, arroz, variedades, *Steneotarsonemus spinki*

ABSTRACT

The mite *Steneotarsonemus spinki* Smiley (Acari: Tarsonemidae), since its detection in Cuba in 1997, constitutes the most economic important pest, because its association with high levels of grain sterility and decrease of yields of rice (*Oryza sativa* L.) The objective of this paper was to evaluate the behavior of varieties in the studies of the IIA (Rice Research Institute), in front of this new pest for the country. Six of short cycle were evaluated (V1 to V5 new lines and the commercial Perla de Cuba) and 7 of half cycle (V7 at V12 new lines and J-104 as comparison pattern), in two block experiments at random with 3 replications. Two evaluations were carried out, one to the beginning of the phase maturation, and the other one before the harvest, on 10 plants for each reply. The adults' population of mite was counts in a stereoscope with augmentation lens of 20 X. In the varieties of short cycle didn't have significant differences in the populations of the mites, neither for the yield. In those of half cycle the biggest indexes in the mites were presented in the V7 and the minor in V11. The rest of the varieties had an intermediate behavior. The populations in the varieties of short cycle were bigger than in those of half cycle. The biggest populations were in the sheath of the flag leaf, with the minimal in the apex of these and they were superior in evaluation before harvest.

Key words: mites, rice, varieties, *S. spinki*

INTRODUCCIÓN

Steneotarsonemus spinki se presentó en China a mediados de la década del setenta al sur del río Yangtse, y se registraron pérdidas del 30%, aunque pueden presentarse en los casos más severos del 70-90% en las segundas siembras del arroz (*Oryza sativa* L.) [Comunicación personal, 1997]. En Taiwán, durante 1976-77, causó severos daños en más del 4,5% del área total dedicada a este cultivo [Cheng y Hsiao, 1979].

Desde 1985, *S. spinki* ha sido considerado como plaga del arroz de toda el Asia tropical. No se ha encontrado

información sobre su presencia en otras áreas geográficas; sin embargo, esta especie fue descrita por R. Smiley en 1967 como nueva dentro del género, y este autor señala que los ejemplares descritos fueron colectados sobre *Sogata orizicola* Muir en la localidad de Baton Rouge, Louisiana, Estados Unidos. En Cuba se detectó por primera vez a finales de 1997 [Ramos y Rodríguez, 1998].

En Taiwán se evaluaron en condiciones de campo 29 variedades, durante 1977-78, teniendo en cuenta el número de ácaros en las vainas, y obtuvieron diferencias

estadísticas en la susceptibilidad al ácaro y el porcentaje de esterilidad. En general, las variedades Índica presentaron menor número de ácaros que las japónicas, y recomendaron Kaohsiung select no. 1, Taichung-shen 5, Chianing-shen 11, en áreas de recurrencia severa. En el sur de China, indicaron como variedades resistentes a Dalinai, Baoxuan 2, Baoai 7, Baotaihai y Erbaijia [Lee, 1980].

En China han establecido un programa de lucha integrada basado en la eliminación de restos de cosecha y las malezas, uso racional del fertilizante nitrogenado, variedades resistentes, protección de los enemigos naturales y aplicación de productos químicos [Comunicación personal, 1997]. En Filipinas y para toda el Asia tropical, han recomendado el control cultural (mantener períodos libres de arroz en el campo, eliminación completa de los restos de cosecha, plantar los campos cercanos en un período de tres semanas y variedades resistentes), el biológico (ácaros depredadores y un parásito interno) y, como última alternativa, el químico (aplicaciones foliares de acaricidas) [Reissky *et al.*, 1985].

El ácaro *S. spinki* Smiley desde su detección en Cuba en 1997, constituye la plaga de mayor importancia económica por su asociación con altos niveles de vaneado del grano y disminución de los rendimientos del arroz. El objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento de las variedades de los estudios de regionalización del IIA frente a esta nueva plaga para el país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante octubre-noviembre de 1997 se evaluaron dos experimentos de regionalización de variedades de ciclo

corto y medio en el Instituto de Investigaciones del Arroz (IIA) en Bauta, La Habana. Referidos a seis de ciclo corto (V1 a V5 nuevas líneas y la comercial Perla de Cuba) y siete de ciclo medio (V7 a V11 nuevas líneas y J-104 como patrón de comparación), en dos experimentos de bloque al azar con tres réplicas (parcelas de 15 m²) por variedad. Se realizaron dos muestreos, una al inicio de la fase reproductiva y la otra antes de la cosecha, sobre 10 plantas por réplica. Se contó la población adulta del ácaro en tres hojas (más jóvenes) por planta, la bandera y las dos anteriores a esta (última y penúltima) en tres puntos de cada una (base, centro, ápice), y se contó la población adulta del ácaro en un estereoscopio, con aumento de 20 X. Se evaluaron los rendimientos agrícolas, según la metodología de Hernández *et al.* (1993).

Los análisis estadísticos se realizaron a partir de la normalización de los datos, ANAVAR y comparación de medias por el test de Newman-Keuls para $p = 5\%$.

RESULTADOS

En las variedades de ciclo corto se observaron de 6,7 a 12,2 y de 17,5 a 26,8 adultos promedios por planta, al inicio de la fase reproductora y próximo a la cosecha respectivamente. No hubo diferencias significativas para la población del ácaro, con fuerte variabilidad expresada en los parámetros de dispersión de las medias. Los rendimientos fueron semejantes, con poca variación entre las líneas, y oscilaron entre 4 y 4,5 t/ha, sin diferencias significativas (Fig. 1, Tabla 1).

ac/p

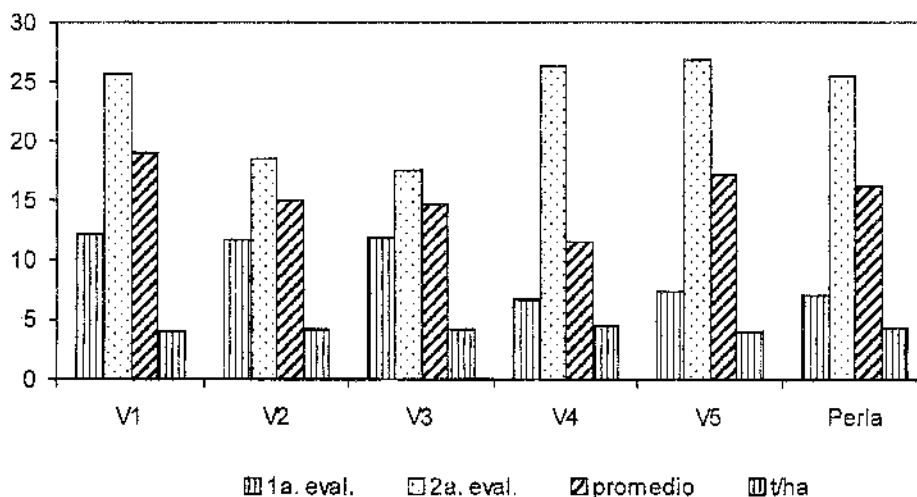


Figura 1. Población de *S. spinki* en las variedades de ciclo corto en el inicio de la fase reproductiva (1a.) y próximo a la cosecha (2a.).

Tabla 1. Indicadores de dispersión de la media para ácaros por plantas y rendimiento (t/ha) para las líneas de arroz de ciclo corto

Indicadores	Ácaros/planta en cada evaluación			Rendimiento (t/h)
	1a.	2a.	Promedio	
E.S.	1,18	13,20	1,34	0,47
C.V.	12,90	56,20	33,50	11,30

En general la población del ácaro en las variedades y líneas de ciclo medio fue mayor en la evaluación próxima a la cosecha, con máximos de 21,9 en la V7 (mutante de Gloria) y los mínimos, con diferencia significativa de 2,46 y 4,0 en la V-11 y V-8 (mutante de J-104), respectivamente. El resto de las variedades, incluyendo el estándar (J-104) tuvo un comportamiento

intermedio. La V-11 y V-8 presentaron menos de cinco ácaros promedio en ambas evaluaciones, que pudiera estar relacionado con una menor susceptibilidad de estas al ácaro, muy en particular la primera de las dos, que en el análisis integral tuvo 2,59 ácaros y rendimientos de 4,37 t/ha con diferencia significativa frente al resto de las líneas evaluadas (Tabla 2).

Tabla 2. Población promedio por planta de *S. spinki* y rendimientos (t/ha) en seis nuevas líneas de arroz de ciclo medio y la variedad comercial J-104. IIA (oct. y nov. de 1999).

Variedades	Ácaros/planta en cada evaluación			Rendimientos (t/ha)
	1a.	2a.	Promedio	
V7	2,9 ab	21,9 a	9,98 a	3,13 c
V8	3,5 ab	4,00 b	3,68 ab	2,77 c
V9	3,1 ab	12,8 ab	7,07 ab	3,67 abc
V10	2,3 b	14,9 ab	7,18 ab	3,37 bc
V11	2,7 ab	2,46 b	2,59 b	4,37 a
V12	2,5 ab	6,15 ab	4,04 ab	4,07 ab
J-104	7,4 a	8,23 ab	7,78 ab	2,80 c
E.S.	0,25	1,79	1,45	0,39
C.V.	7,0	29,4	29,2	11,3

La población del ácaro fue más alta en las variedades de ciclo corto y con mayor variabilidad que en las de ciclo medio. No hubo diferencias significativas en las evaluaciones de la población del ácaro y el rendimiento del cultivo. Las de ciclo medio, sin embargo, alcanzaron rendimientos más bajos que las del corto, con diferencias entre las líneas en ambos indicadores. Estos elementos indican respuesta genética de dichas variedades frente a la plaga (Figs. 2 y 3).

Lee (1980) refiere diferencias estadísticas en la susceptibilidad al ácaro *S. spinki*—teniendo en cuenta el número de ácaros en las vainas— y la esterilidad, en 29 variedades evaluadas en condiciones de campo

(1977-78), y señala que las Índica generalmente presentan mayor población de ácaros que las Japónicas, y se recomendaron Kaohsiung select no. 1, Taichung-shen 5, Chianing-shen 11, en áreas de recurrencia severa.

El mayor número de ácaros se encontró en la hoja bandera, en general en la base, y el menor en el ápice (Fig. 4). La población, en la evaluación antes de la cosecha fue superior a la de la primera evaluación (Tabla 3). Lo y Ho (1979) estudiaron la ocurrencia de *S. spinki* en la vaina de las hojas 1 a la 5, en diferentes fases fenológicas, y obtuvieron las mayores poblaciones en la fase de paniculación y grano lechoso en las hojas 1 y 2.

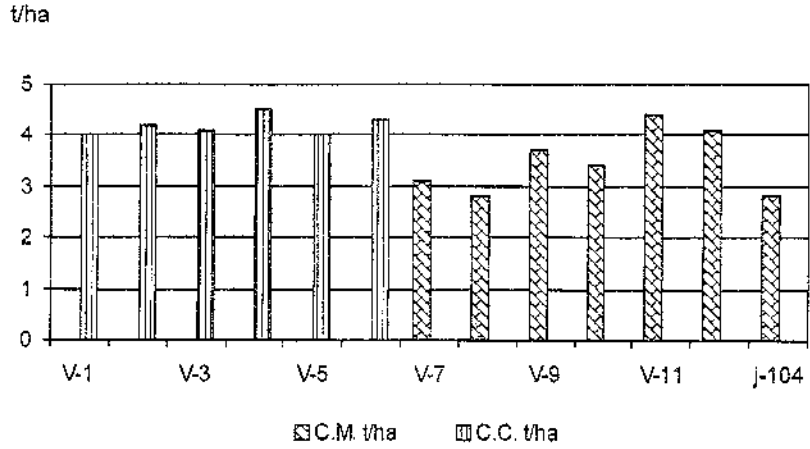


Figura 2. Rendimiento (t/ha) en las variedades de ciclo corto y medio.

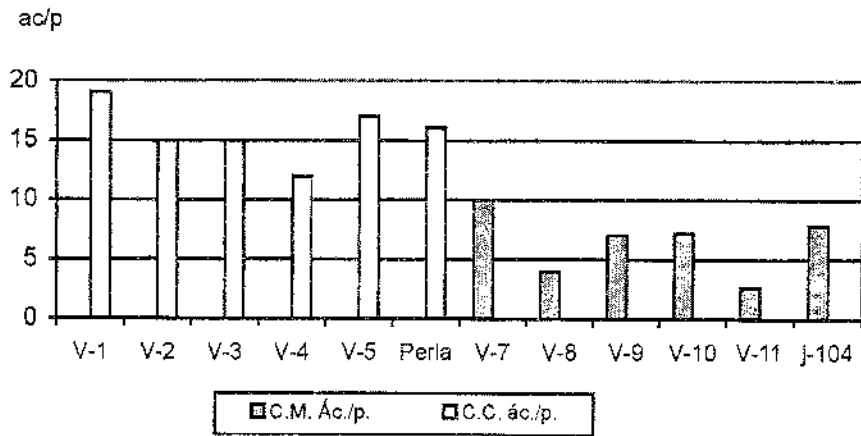


Figura 3. Población de ácaro promedio por planta (ác/p), en las variedades de ciclo corto y medio.

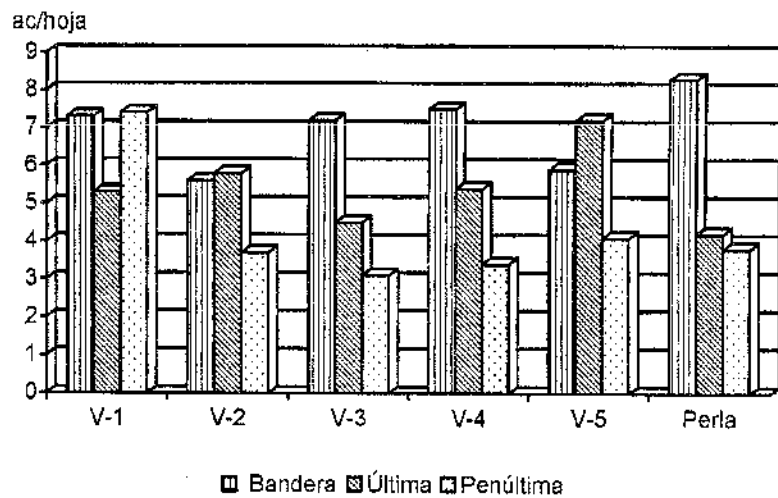


Figura 4. Población promedio de *S. pinki* (ác/hoja) en diferentes hojas (bandera, última y penúltima) en las variedades de ciclo corto.

Tabla 3. Población del ácaro en diferentes hojas de la planta de arroz evaluadas en el ciclo corto en dos momentos del cultivo.

Indicadores	Primera evaluación			Segunda evaluación			Promedio		
	Band.	Últ.	Pen.	Band.	Últ.	Pen.	Band.	Últ.	Pen.
Media	4,3 b	24,5 a	29,3 a	79,1 a	39,9 b	21,5 c	41,7 a	32,2 ab	25,4 b
E.S.	1,17			2,62			2,23		
C.V.	13,20			38,80			66,00		

Band.: hoja bandera.

Últ.: hoja anterior a la bandera.

Pen.: hoja anterior a la última.

CONCLUSIONES

- En general la población de *S. pinki* y los rendimientos fueron mayores en las variedades de ciclo corto que en las de ciclo medio. No se observó diferencias significativas en los indicadores medidos, y variabilidad muy alta en las variedades de ciclo corto.
- En las variedades de ciclo medio, la V-7 fue la de mayor población del ácaro en general y rendimientos bajos. La V-11 presentó mayores rendimientos y bajos niveles del ácaro en todas las evaluaciones, comportamiento similar al de la V-12.
- La población del ácaro en la evaluación próxima a la cosecha (noviembre) fue significativamente superior a la del inicio de la fase reproductora (octubre) para todas las variedades evaluadas, lo que indica mayor susceptibilidad de esta fase fenológica de la planta, relacionada con un hábitat adecuado para el desarrollo del ácaro.
- La base de las vainas y las hojas banderas presentaron los mayores niveles de población del ácaro. Se encontraron indicios de posibles fuentes de resistencia genética.

REFERENCIAS

- Cheng, Ch. Hsiao: «Bionomic of *S. pinki* Attacking Rice Plants in Taiwan», *Recent Advances in Acarology* 1: 111-117, 1979.
- Comunicación personal: Visita al Centro Nacional de Extensión y Servicios Agrotecnológicos del Ministerio de la Agricultura, Instituto de Control Biológico de la Academia de Ciencias Agrícolas (CAAS), Universidad Agrícola del Sur (provincia de Guangzhou), Universidad de Agricultura de Nanjing (provincia de Jiangsu). R.P. China del 1-15 de noviembre de 1997.
- 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.
- Lee, S. C.: «Screening for Varietal Resistance to Sterility of Rice Caused by Tarsonemidae Mite», *Plant Prot. Bull. (Taiwán)* 22 (1): 91-100, 1980.
- Lo K. Ch.; Ch. Ho: « Ecological Observations on Rice Tarsonemid Mite, *Steneotarsonemus pinki* (Acarina: Tarsonemidae)», *J. Agric. Res., China* 28 (3): 181-192, 1979.
- Ramos M.; H. Rodríguez: «*Steneotarsonemus pinki* Smiley (Acari: Tarsonemidae): nuevo informe para Cuba», *Rev. Protección Veg.* 13 (1): 25-30, 1998.
- Reissky, W. H. et al.: *Illustrated Guide to Management in Rice in Tropical Asia*, INRI, 228-232 (Philippines).

ESPECIES HOSPEDANTES DE *MYCENA CITRICOLOR* (BERK. ET CURT.) SACC. EN PLANTACIONES DE CAFETO (*COFFEA ARABICA* L.)

Denia de la Iglesia¹ y L. Cascaret²

¹ Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera a Santiago Km 2½. Guantánamo, CP 95100

² Estación Territorial de Protección de Plantas. Guantánamo

RESUMEN

Para las condiciones de Cuba, *Mycena citricolor* (Berk. et Curt.) Sacc. afecta al cultivo del café (*Coffea arabica* L.). Durante 1987, en la provincia de Guantánamo, se realizaron muestreos en plantaciones de café con el propósito de determinar la presencia de *M. citricolor* en las plantas espontáneas dentro del cultivo principal. Se informan como nuevos hospedantes *Teramnus uncinatus*, *Kalanchoe pinnata*, *Petiveria alliacea*, *Sloanea curatellifolia*, *Clerodendrum lindenianum*, *Alphitilla elata*, *Guarea guidonia*, *Syzygium jambos*, *Picramnia pentandra*, *Desmodium canum* y *Xanthosoma* sp. De ellas solamente la última es de importancia económica para el país. Los síntomas se manifestaron de forma similar en todas las plantas, como manchas redondas de color pardo que luego se vuelven casi blancas y de cuyo centro se desprenden cuando envejecen.

Palabras claves: *Mycena citricolor*, *Coffea arabica*, plantas hospedantes

ABSTRACT

For Cuban conditions, *Mycena citricolor* (Berk. Et Curt.) Sacc. affects coffee trees (*Coffea arabica* L.). During 1987, in Guantánamo province, were realized sampling in coffee tree plantations, with the purpose to determine presence of *M. citricolor* on spontaneous plants which are inside main cultivation.

Teramnus uncinatus, *Kalanchoe pinnata*, *Petiveria alliacea*, *Sloanea curatellifolia*, *Clerodendrum lindenianum*, *Alphitilla elata*, *Guarea guidonia*, *Syzygium jambos*, *Picramnia pentandra*, *Desmodium canum* and *Xanthosoma* sp., are presented as new hosts. *Xanthosoma* sp. was the only who has economic importance for Cuba. Symptoms appear in similar form in all the plants, as brown round spots that became almost white and that are detached when they aging.

Key words: *Mycena citricolor*, *Coffea arabica*, host plants

INTRODUCCIÓN

El hongo *Mycena citricolor* (Berk. et Curt.) Sacc. teleomorfo de *Stilbum flavidium* Cke, se reconoce en Cuba desde 1920 como agente causal de Ojo de Gallo en café (*Coffea arabica*, L.) [Bruner, 1920]. Su presencia es confirmada posteriormente por Mitov (1971) y puede producir mermas en la producción mayores del 20 % [Ordóñez, 1992].

En otros países *M. citricolor* se ha señalado sobre varias plantas cultivadas y espontáneas. Asimismo, Sequeira en 1958 [citado por Mitov, 1971] encontró 150 especies atacadas por este hongo. Por otra parte, Urtiaga (1986) la informa en *Borreria laevis*, *Campelia zanonina*, *Commelina longicaulis*, *Citrus sinensis*, *Hyptis villi*, *Oplismenus hirtellus*, *Pavonia typhoba* y *Phthirusa aff paniculata*.

En las plantas hospedantes, según Cherequino (1981), los primeros síntomas se manifiestan en las hojas en forma de pequeñas manchas que al principio son de co-

lor pardo rojizo, luego más claras, hasta blancuzcas a medida que crecen y envejecen.

Estudios realizados en laboratorio han podido demostrar que el hongo *Mycena citricolor* penetra fácilmente al huésped sin tener que hacer heridas, provocando su infección.

El objetivo del presente trabajo es dar a conocer los nuevos hospedantes de *M. citricolor* que fueron hallados en plantaciones de café de la provincia de Guantánamo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los muestreos se realizaron durante 1987 en la zona de Caridad de los Indios, municipio de Manuel Tames. Se tomaron plantas de malanga (*Xanthosoma* sp.) cultivadas entre las plantas de café, así como de las especies espontáneas dentro de la plantación, todas ellas con síntomas de la enfermedad.

En condiciones de laboratorio las hojas fueron observadas al estereoscopio con 10 X. Para determinar la presencia de las fructificaciones de *S. flavidum* sobre las manchas se utilizó la descripción realizada por Dennis en 1970 para la identificación.

Familia	Especie	Nombre vulgar
Meliaceae	<i>Guarea trichilioides</i> (L.), Sleumer	Yamagua
Myrtaceae	<i>Syzygium jambos</i> (L.), Alston	Pomarrosa
Simarubaceae	<i>Picramnia pentandra</i> , Sw.	Aguedita
Fabaceae)	<i>Desmodium canum</i> (J. F. Gmel)	Amor seco
Fabaceae	<i>Teramnus uncinatus</i> (L.), Sw.	Cresta de gallo blanca
Crassulaceae	<i>Kalanchoe pinnata</i> , Pers.	Hoja de aire
Fitolacaceae	<i>Petiveria alliaceae</i> , L.	Anamú
Araceae	<i>Xanthosoma</i> sp.	Malanga
Eloecarpaceae	<i>Sloanea curatellifolia</i> , Grib.	Achote
Verbenaceae	<i>Aegiphila elata</i> , Sw.	Guairo santo
Verbenaceae	<i>Clerodendrom lindenianum</i> , A. Rich.	Roble guayo

En todas las plantas se manifestaron de forma similar manchas redondas de color pardo, que luego se vuelven casi blancas, y de cuyo centro se desprenden cuando envejecen. Las fructificaciones del hongo en su fase de Stilbum aparecen sobre las manchas foliares, y forman coremios amarillentos que terminan en una cabezuela aplastada y que concuerdan con lo descrito por Dennis (1970) para la especie mencionada.

Arnold (1986) informó para Cuba al mamey colorado (*Calocarpum sapota*) y al cafeto como únicas plantas afectadas por *M. citricolor*; por lo tanto las 11 especies señaladas en este trabajo pueden considerarse nuevos hospedantes para Cuba. De ellas, la única que tiene importancia económica es la malanga, en la que se registraron intensos daños en las hojas que provocaron su destrucción casi total.

Cuando la malanga se cultiva en áreas destinadas a ella solamente, no se ha detectado la presencia de la enfermedad, por lo que se puede afirmar que *M. citricolor* aparece en condiciones de baja presencia solar, provocada por la asociación de otros cultivos de mayor porte, tales como el café, por lo que no es conveniente utilizar ambos cultivos en una misma plantación.

Las restantes especies detectadas constituyen plantas indeseables, de las cuales *P. alliaceae* y *D. canum* son informadas por Palenzuela *et al.* (1985) como malezas para el cafeto en Cuba.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El listado que se ofrece a continuación recoge las especies de las distintas familias botánicas, en cuyas hojas se determinó la presencia de *M. citricolor*.

CONCLUSIONES

- Las 11 especies de plantas, representadas en nueve familias botánicas, son nuevos hospedantes de *M. citricolor* en Cuba. Dentro de las medidas de lucha contra Ojo de Gallo en cafeto, se debe tener en cuenta la eliminación de las plantas señaladas como hospedantes, ya que pueden servir de reservorios y fuente de infección para el cultivo.

REFERENCIAS

- Arnold, G. R. W.: *Lista de hongos fitopatógenos de Cuba*, Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1986, p. 41.
- IICA: «Inoculación de *M. citricolor*», *Boletín Promecafé* 62: 14, ene.-marz., 1994.
- Bruner, S. C.: *Lista preliminar de las enfermedades de las plantas de importancia económica para Cuba de los años 1918 y 1920*, Estación Exp. Agr., Santiago de las Vegas, 1920.
- Cherequino, R. S.: «Enfermedades del cafeto», *Control integrado de enfermedades del cafeto*, Intecap. Anacafé, Guatemala, 1981.
- Dennis, R. W. G.: «Fungoflora of Venezuela and Adjacent Countries», *Kew Bulletin Additional Series III*, Royal Botanic Garden, London, 39-42, 1970.
- Mitov, N.: «Investigaciones sobre las enfermedades del cafeto en Cuba», *Revista Agricultura*, 4(2): 5-38, Cuba, 1971.
- Ordóñez, H.; R. Rivero: «El Ojo de Gallo en las zonas cafetaleras», *Revista Agricultura*, 2 (2): 22, Cuba, 1992.
- Palenzuela, Iris *et al.*: «Composición florística de plantas indeseables en el cultivo del cafeto en la empresa Habana», *Revista Agricultura*, 7 (2): 61-80, Cuba, 1985.
- Urriaga, R.: «Índice de enfermedades de Venezuela y Cuba», Lara, Venezuela, 1986, p. 202.

EL CEDRO (*CEDRELA ODORATA*), NUEVO HOSPEDANTE DE *PSEUDOMONAS CICHORII*

Neyda Arencibia

Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera de Siboney Km 6, La Redonda, Santiago de Cuba

RESUMEN

En plantas de cedro (*Cedrela odorata* Lin.), se observaron manchas pequeñas, color pardo oscuro, de forma angular y rodeadas de clorosis que se presentaban en gran número sobre las hojas de plantas de aproximadamente dos meses de edad. Finalmente se ponían totalmente amarillas. La patología descrita fue detectada en agosto de 1986 en el vivero forestal El Manguito, provincia de Santiago de Cuba. Como resultado del análisis realizado a las muestras, se aisló una bacteria cuyas características morfológicas, culturales, fisiológicas y bioquímicas la identifican como *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp. Estos aislamientos fueron sensibles a los antibióticos estreptomycin, tetraciclina y kanamicina. El trabajo constituye la primera información de esta especie bacteriana en cedro.

Palabras claves: *Cedrela odorata*, *Pseudomonas cichorii*

ABSTRACT

In cedar plants (*Cedrela odorata* Lin.), a lot of brown dark small spots, in angular shape and surrounded of chlorosis, were observed. They are over the leaves of plants of approximately two month. Finally they are turned totally yellow. Pathology described was detected in August 1986, in forest tree nursery El Manguito, Santiago de Cuba. As results of analysis realized to the samples, a bacterium whose morphological, cultural, physiological, biochemical characteristics identifies as *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp was isolated. These isolates were sensible to the antibiotics streptomycin, tetracycline and kanamycine. This is the first information of this bacterial specie in cedar.

Key words: *Cedrela odorata*, *Pseudomonas cichorii*

INTRODUCCIÓN

El cedro (*Cedrela odorata* Lin.) es considerado de gran valor económico, ya que su excelente madera es una de las más valiosas en el mercado maderero mundial [Hochmut, 1981]. Esta cualidad, unida a los esfuerzos que se realizan actualmente para la repoblación forestal en las montañas de Cuba, según la política orientada por el partido, hace que este cultivo adquiera gran importancia, por lo que se deben tomar medidas que ayuden al normal desarrollo y la calidad en las plantaciones. Una de las vías es lograr mantener las plantaciones sanas, por lo que es importante conocer las enfermedades que puedan afectarlas, para prevenirlas y erradicarlas. Al respecto, Hochmut (1981) y Echevarría (1986), señalan que el cedro puede ser afectado por plagas y enfermedades fúngicas. Sin embargo, no

se han encontrado referencias de daños causados por enfermedades bacterianas.

En agosto de 1986 se presentó en plantas de cedro una enfermedad desconocida hasta el momento en el país. Los síntomas consistían en manchas pequeñas, color pardo oscuro, de forma angular y rodeadas de clorosis, que se presentaban en gran número sobre las hojas de plantas de aproximadamente dos meses de edad. Finalmente, estas se ponían totalmente amarillas. La patología descrita fue detectada en el vivero forestal El Manguito, provincia de Santiago de Cuba.

El hecho de encontrarnos en presencia de un síntoma nuevo, cuyas características hacían suponer era de origen bacteriano, hizo que se emprendiera el estudio de la patología y determinación de su agente causal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar los aislamientos se utilizó agar nutriente. Estos se hicieron a partir de las zonas que mostraban los síntomas. Al cabo de las 48 horas se seleccionaron varias colonias, las cuales se pasaron al medio B de King *et al.* (1954).

Los cultivos bacterianos que produjeron pigmento fluorescente fueron infiltrados en hojas de tabaco variedad Burley, según la técnica descrita por Klement (1963). Se obtuvieron en total seis cepas que fueron capaces de inducir reacción hipersensitiva (HR) positiva. Todos estos aislamientos se caracterizaron morfológica y bioquímicamente mediante pruebas que se relacionan a continuación:

Tinción de Gram, modificación de Hucker (1957), citado por Harrigan y Mc Cance (1966), coloración de flagelos por la técnica de Rodees (1958), LOPAT según Lelliot *et al.* (1966). Diferenciación del metabolismo oxidativo-fermentativo de la glucosa, catalasa, amilasa, gelatinasa, lipasa, producción de sulfhídrico, producción de indol, acción sobre la leche tornasolada, nitrato-reductasa, acetoina, tartrato, citrato, rojo de metilo, según Harrigan y Mc Cance (1966) y Dye (1962).

Para la utilización de carbohidratos, se empleó el medio basal libre de peptona, según Dowson (1957). Los azúcares utilizados fueron glucosa, manitol, rhamnosa, dulcitol, lactosa y fructosa.

La patogenicidad de los aislamientos se efectuó en plantas de cedro, de aproximadamente dos meses de edad. Se asperjaron estas con una suspensión bacteriana de 10^8 UFC/mL, a partir de cultivos de 24 horas, sobre medio agar nutriente inclinado. Además, se inocularon estas cepas sobre plantas de pimiento (*Capsicum annuum* Lin.) variedad Medalla de Oro, con el mismo método de inoculación. Las plantas permanecieron en condiciones de laboratorio.

Se realizaron siembras a partir de los peciolos de las plantas de cedro que presentaban síntomas, para conocer si la bacteria afectaba los haces vasculares.

Para la prueba de aglutinación en portaobjetos se utilizaron cultivos puros de 24 horas [Kiraly *et al.*, 1970]. Se probó cada una de las cepas con antisuero de *P. cichorii* producido por el Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. La dilución del antisuero fue de 1:40.

La sensibilidad de los antibióticos se reveló en el medio B de King *et al.* (1954) por el método de los discos impregnados. Los antibióticos utilizados fueron estreptomycin, eritromicina, novobiocina, penicilina, tetraciclina, piopen y kanamicina.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontró que los aislamientos estudiados resultaron patógenos al cedro y al pimiento. En hojas de cedro se observaron manchas pequeñas, color pardo oscuro, de forma angular y rodeadas de clorosis. Con el transcurso de los días las hojas se pusieron totalmente amarillas. A las plantas afectadas se les eliminaron todas las ramas. No se observó en las hojas nuevas síntomas de enfermedad.

La bacteria sólo se aisló de síntomas en hojas, no así de los peciolos, donde no se manifestaron síntomas, lo cual demostró que la enfermedad no afecta los haces vasculares.

En las hojas de pimiento se observaron manchas acuosas, grasientas e irregulares que comenzaron por el borde, y se extendieron a toda la hoja, poniéndola transparente. La yema terminal se ablandó para, finalmente, colapsar.

Los aislamientos que resultaron patógenos se denominaron C210-1, C210-2, C210-3, C285-1, C285-2, C285-3, los que se aislaron en agosto de 1986 y son procedentes de la Empresa Forestal Integral Sierra Maestra, vivero El Manguito, Municipio de Songo La Maya.

Las células de las bacterias son bacilares, gramnegativas, motiles con uno o dos flagelos polares. En agar nutriente, a las 48 horas, se observaron colonias blancas, bordes enteros, redondeadas, ligeramente elevadas en el centro y algo concéntricas. Los resultados del LOPAT se reflejan en la *Tabla 1*.

Los datos sobre las pruebas bioquímicas se muestran en la *Tabla 2*. La prueba de aglutinación demostró que las cepas aglutinaban con el antisuero empleado. Los resultados del antibiograma se reflejan en la *Tabla 3*, donde se muestra la sensibilidad de los aislamientos a la estreptomycin, tetraciclina, kanamicina y resistencia a la penicilina, eritromicina, piopen y novobiocina.

Tabla 1. Resultados del LOPAT con los aislamientos del cedro

Levan	Oxidasa	Papa	Arginina	Tabaco (HR)
-	+	-	-	+

Tabla 2. Pruebas fisiológicas y bioquímicas de los aislamientos de cedro

Pruebas	Resultados
Metabolismo de la glucosa	O
Catalasa	+
Amilasa	-
Gelatinasa	-
Lipasa	-
Producción de:	
Sulfídrico	-
Indol	-
Acción sobre la leche tornasolada	Alc
Nitrato-reductasa	+
Acetoína	-
Tartrato	+
Citrato	+
Rojo de metilo	-
Ácido a partir de:	
Glucosa	+
Manitol	+
Rhamnosa	+
Dulcitol	+
Lactosa	+
Fructosa	+

O: Oxidativo.
 +: Crecimiento y acción.
 -: No acción sobre los sustratos.
 Alc: Reacción de alcalinización.

Tabla 3. Sensibilidad de los antibióticos

Antibióticos	C210-1	C210-2	C210-3	C285-1	C285-2	C285-3
Penicilina 10 mcg	-	-	-	-	-	-
Estreptomina 10 mcg	++	++	++	+	++	++
Eritromicina 2 mcg	-	-	-	-	-	-
Tetraciclina	+	+	+	+	+	+
Piopen 10 mcg	-	-	-	-	-	-
Nivobiocina 5 mcg	-	-	-	-	-	-
Kanamicina 10 mcg	+	+	+	+	+	+

Grados de sensibilidad:

++: Germen sensible (Diámetro de la zona de inhibición superior a los 15 milímetros).

+: Germen ligeramente sensible (Diámetro de la zona de inhibición inferior a 15 milímetros).

-: Germen resistente (No hay zona de inhibición).

CONCLUSIONES

• Las características morfológicas, bioquímicas y fisiológicas de los aislamientos concuerdan con el subgrupo 1-H [Sands *et al.*, 1970] de *Pseudomonas fluorescens*, así como con los resultados informados por Lelliot *et al.* (1966), Misaghi y Grogan (1969), Trivedi *et al.* (1978) y Rivera *et al.* (1981). El agente etiológico se identificó como *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp.

• Se estableció una comparación teórica entre los resultados de las pruebas bioquímicas de los aislamientos y los obtenidos por Rivera *et al.* (1981) en el cultivo del pimiento, los que se muestran en la *Tabla 4*. Se observó entre estos una gran similitud.

• Esta bacteria ha causado síntomas sobre numerosos hospedantes, tales como gerbera [Grogan *et al.*, 1977], lechuga y achicoria [Wehlburg y Meller, 1976; Malta y Garibaldi, 1970; Grogan *et al.*, 1977], pimiento [Rivera *et al.*, 1981], tomate [Wilkie y Dye, 1973], beleño gitano [Sattar *et al.*, 1986 y col [Wehlburg, 1965; Trivedi *et al.*, 1978]; sin embargo no se ha encontrado en ninguna de las literaturas consultadas datos sobre infecciones naturales de este patógeno en plantaciones de cedro [Echevarría, 1986; Sattar *et al.*, 1986].

• Esta bacteria solamente se ha detectado en la provincia de Santiago de Cuba en agosto de 1986 [Brooks, 1999].

Tabla 4. Similitud entre las características bioquímicas de nuestras cepas y las de *seudomonas cichorii* (Swingle) Srapp aisladas del cultivo del pimiento

Pruebas	Aislamiento de cedro	Aislamiento de pimiento
Metabolismo de la glucosa	0	0
Catalasa	+	+
Amilasa	-	-
Gelatinasa	-	-
Lipasa	-	-
Producción de:		
Sulfídrico	-	-
Indol	-	-
Acción sobre la leche tornasolada	Alc	Alc
Nitrato-reductasa	+	+
Ácido a partir de:		
Glucosa	+	+
Manitol	+	+

Rhamnosa	+	+
Dulcitol	+	+
Lactosa	+	+
Fructosa	+	+
Pigmento sobre King B	+	+
Levan	-	-
Oxidasa	+	+
Papa	-	-
Arginina	-	-
Tabaco (HR)	+	+

O: Oxidativo.

+: Crecimiento y acción.

-: No acción sobre los sustratos.

Al: Reacción de alcalinización.

REFERENCIAS

- Brooks, A.: Comunicación personal, 1999.
- Dowson, D. W.: *Plant Disease Due to Bacteria*, Cambridge University Press, Cambridge, 1957, pp. 28-32.
- Dye, D. E.: «The Inadequacy of the Usual Determinative Test for the Identification of *Xanthomonas* spp.», *J. SCL.* 5: 393-416, 1962.
- Echevarría, E.: «Aspectos esenciales sobre barrenador de la madera *Apate monachus* (Coleoptera:Bostrychidae)», *Boletín de Reseñas Forestales*, 4, La Habana, 1986.
- Grogan, R. O. et al.: *Phytopathology* 67 (8): 957-960, Estados Unidos, 1977.
- Harrigan, W. F.; M. E. Mc Cance: *Laboratory Methods in Microbiology*, Mass. Cambridge, Cambridge University Press, 1966.
- Hochmut, R.: «Métodos silviculturales para la protección de las Meliáceas contra el ataque del barrenador *Hypsipyla grandell*», *Boletín de Reseñas Forestales* no. 1, diciembre, CIDA, La Habana, pp. 7-15, 1981.
- King, E. O.; M. K. Ward; D. E. Raney: «Two Simple Media for the Demonstration of Pyocyanin and Fluorescin», *J. Lab. Clin. Med.* 44:301-307, 1954.
- Kiraly, Z. et al.: *Methods in Plant Pathology*, Akademiai Kiadó, Budapest, 1970, p. 49.
- Klement, Z.: «Rapid Detection of the Pathogenicity of Phytopathogenic», *Pseudomonads Nature* 199: 299-300, 1963.
- Lelliott, R. A.; E. Billing; A. C. Hayward: «A Determinate Scheme for the Fluorescent Plant Pathogenic *Pseudomonads*», *J.APPL. Bac.* 29: 470-489, 1966.
- Matta, A.; A. Garibaldi: «La batteriosi delle insalate de *Pseudomonas cichorii*», *Estratto de Informatore Fitopatológico*, 12: 3-5, 1970.
- Messiaen, C. M.; R. Lafen: *Les maladies des plantes maraicheres*, INRA, Paris, 1970.
- Misaghi, I.; R. O. Grogan: «Nutritional and Biochemical Comparisons of Plant-Pathogenic and Saprophytic Fluorescent *Pseudomonads*», *Phytopathology* 59: 1436-1450, 1969.
- Rhodes, M. C.: «The Cytology of *Pseudomonas* Spp. As Revealed by a Silver-Plating Staining Method», *J. Gen. Microbiol.* 18: 639-648, 1958.
- Rivera, Nérida; Zenaida Amat; María Hevesi: «Putridión foliar del pimiento en Cuba causada por *Pseudomonas cichorii*», *Agrotecnia de Cuba*, 13 (2): 67-72, 1981.
- Roig, M. J. T.: *El cedro (Cedrela mexicana M. J. Roem). Estudio ecológico de las plantaciones existentes y recomendaciones para la propagación y el cultivo comercial*, pp. 5-49, 1964.
- Sands, D. C.; M. N. Schroth; D. C. Hildebrand: «Taxonomy of Phytopathogenic *Pseudomonads*», *J. Bact.* 101: 9-23, 1970.
- Sattar, A. K.; K. Janardhanan; A. Husain: «Bacterial Blight of Egystian Henbane», *Plant Protection Bulletin* 3 (34): 161, 1986.
- Trivedi, B. B.; P. N. Patel; J. P. Verma: «Zonate Spot of Cabbage in India», *Sci. Cult.*, 44: 182-183, 1978.
- Wehlburg, C.: «Bacterial Spot of Cabbage in Florida», *Phytopathology* 55: 10082-1084, 1965.
- Wehlburg, C.; R. W. Meyer: «Bacterial Spot Rot of Icebert (Creat Lakers) Lettuce in the Florida Everglades», *Plant Dis. Rep.* 50: 1082-1084, 1966.
- Wilkie, J. P.; D. W. Dye: «*Pseudomonas cichorii* Causing Tomato and Celery Diseases in New Zeland», *N. Z. J. Agric. Res.* 17: 123-130, 1973.

ESTUDIO DEL EFECTO INHIBITORIO DE *FUSARIUM MONILIFORME* SHELDON SOBRE LA GERMINACIÓN DE LA SEMILLA AGÁMICA DE LA CAÑA DE AZÚCAR (*SACCHARUM* SP. HÍBRIDA)

Danay López y María O. López

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

RESUMEN

Fusarium moniliforme es uno de los patógenos más frecuentemente aislados en caña de azúcar en nuestro país, afectando la germinación de la semilla agámica de esta importante gramínea. Con el objetivo de determinar el grado de afectación que es capaz de causar este hongo sobre la capacidad germinativa de la semilla agámica de la caña de azúcar, se realizó la inoculación del mismo a una concentración de $3,2 \times 10^5$ conidios/mL en semilla agámica de la variedad Ja 60-5. La suspensión conidial se aplicó en las yemas de las semillas y en el suelo mediante un asperjador manual. Se inocularon seis réplicas por cada variante y se sembraron las semillas en bolsas de polietileno con suelo ferráltico rojo. Las plantas se observaron diariamente para comprobar la germinación o no de las yemas. Al cabo de los 28 días se procedió a la observación de los síntomas y al reaislamiento del hongo. En las semillas testigo se obtuvo un 66,7% de germinación mientras que en aquellas inoculadas con el patógeno no hubo germinación alguna, observándose en todas síntomas severos de pudrición. Los resultados obtenidos del trabajo demostraron la capacidad de *F. moniliforme* para afectar la germinación de las yemas de la semilla agámica de la caña de azúcar.

Palabras claves: *F. moniliforme*, caña de azúcar, inhibición de la germinación

ABSTRACTS

Fusarium moniliforme is one of pathogens most frequently isolated of sugarcane in our Country. The Fungus affects the agamic seed germination of this important graminicolous crop. With the aim of determining the affecting degree that *F. moniliforme* causes over sugarcane agamic seed germination capacity, the fungus was inoculated to a concentration of $3,2 \times 10^5$ conidios/ml in Ja60-5 agamic seed. Conidial suspension was sprinkled over soil and seed buds. Six replicate for each variant were inoculated. Afterwards they were sown in polyethylene bags with red ferralitic soil. Plants were observed daily in order to prove seeds germination. After 28 days, symptoms were examined and the fungus was reisolated. A 66,7% of germination was obtained in control seeds whereas those inoculated with pathogen showed severe rotting symptoms and not germination at all. The results obtained from this work demonstrate the capacity that *F. moniliforme* has to affect sugarcane agamic seed germination.

Key words: *F. moniliforme*, sugar cane, germination inhibition

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum* sp. híbrida) es uno de los principales eslabones que sustenta la economía en nuestro país. Sin embargo, en los últimos años el número de enfermedades que afectan a esta importante gramínea ha aumentado considerablemente, destacándose en este sentido aquellas patologías que inciden de manera negativa en la capacidad germinativa de la semilla agámica de la caña de azúcar provocando así cuantiosas pérdidas en las plantaciones [Santana *et al.*, 1997].

La pudrición del tallo causada por *Fusarium* spp. se ubica dentro de este grupo. La enfermedad se considera de poca importancia económica en el país, aunque puede ocasionar considerables daños cuando ataca variedades

susceptibles. Se desarrolla tanto en las cañas en pie como en aquellas estacas sanas que son utilizadas como semilla, y se caracteriza por un enrojecimiento de los haces vasculares, del tejido parenquimatoso y de las raíces jóvenes que rápidamente se pudren [Chinea y Rodríguez, 1994].

Autores tales como Koike (1988), Autrey *et al.* (1992) y López *et al.* (1998) informan a *F. moniliforme* y *F. subglutinans* como los agentes productores de esta enfermedad, siendo *F. moniliforme* la especie más frecuentemente aislada en muchas de las regiones cañeras del país. Según un inventario de hongos patógenos realizado en semilla agámica de caña de azúcar en diferentes localidades de Ciudad de La Habana, esta especie

representó el 38,6% del total de aislamientos realizados [López, 1999].

Este hongo es un patógeno de muchas gramíneas, por lo cual posee una extensa distribución mundial, registrándose su presencia en la mayoría de los países del continente americano, algunos del continente africano, India, Indonesia, Indochina, Hawaii, Australia y Estados Unidos [Autrey *et al.*, 1992].

El grado de afectación que es capaz de causar en la capacidad germinativa de la semilla agámica de la caña de azúcar fue determinado en este trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó la inoculación de *F. moniliforme* en semilla agámica certificada de la variedad Ja 60-5, colectadas de la UBPC Hermanos Maceo. La cepa para inocular fue aislada de un muestreo de semillas de la misma variedad realizado en el CAI Manuel Martínez Prieto, algunas de las cuales presentaban síntomas de pudrición del tallo.

Para la preparación de la suspensión conidial se partió del cultivo del hongo en cuña de agar-papa-dextrosa (PDA) como recomienda Booth (1977). Se añadió una solución de tween 80 al 1% para lograr la homogeneización de la suspensión, se agitó manualmente con el mismo propósito anterior y se dejó en reposo durante cinco minutos; posteriormente se tomó una alícuota con micropipeta para el conteo en cámara de Neubauer al microscopio óptico. La concentración conidial resultante fue de $3,2 \times 10^5$ conidios/mL.

La suspensión conidial fue aplicada mediante una asperjador manual en las yemas de las semillas. Fueron inoculadas seis réplicas por hongo dejándose como testigo otras seis asperjadas solamente con agua destilada estéril.

Las semillas tratadas se sembraron en bolsas de polietileno con suelo ferralítico rojo previamente esterilizado, añadiendo al suelo el inóculo sobrante. Las bolsas fueron colocadas bajo condiciones favorables de aireación e iluminación para favorecer la germinación de las yemas. Las estacas sembradas fueron regadas diariamente.

Las plantas se observaron periódicamente con el fin de determinar si había germinación o no en las yemas de las semillas. Al cabo de los 28 días las estacas fueron desenterradas y lavadas con abundante agua corriente, fueron observados los síntomas en las semillas tratadas con el patógeno y se procedió después al reaislamiento del hongo según el método de López *et al.* (1999) con el fin de cumplir los postulados de Koch. Algunos fragmentos de tallos fueron colocados en cámara húmeda.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el grupo de semillas testigo la germinación de las yemas comenzó a observarse al cabo de los 10 días de sembradas, obteniéndose un 66,7% de brotes, que manifestaron un crecimiento normal. En las estacas asperjadas con *F. moniliforme* no se observó germinación alguna durante los 28 días del experimento.

La causa de la inhibición de la germinación fue la rápida y severa pudrición que provocó este patógeno tanto en las yemas inoculadas como en el tejido parenquimatoso del tallo, al penetrar por los extremos de las estacas a través del suelo infectado. En estas semillas se observó en el tallo y las yemas una coloración rojo púrpura difuso, característica de la pudrición del tallo causada por *F. moniliforme*, según lo descrito por Koike (1988), Hughes *et al.* (1964) y Fauconnier (1980).

Aún cuando en el ciento por ciento de las estacas tratadas con este patógeno se presentaron síntomas severos de la enfermedad, el hongo no pudo ser reaislado de ninguna de ellas, debido a su alto grado de pudrición. Sin embargo, en todos los fragmentos colocados en cámara húmeda se apreció crecimiento micelial sobre los exudados bacterianos, demostrando esto la gran capacidad que posee *F. moniliforme* para infectar la semilla agámica de la caña de azúcar y afectar la germinación de sus yemas. Este resultado, contrasta con lo planteado por China y Rodríguez (1994) en relación con la poca importancia económica de la pudrición del tallo en el cultivo de la caña de azúcar en nuestro país, lo que ha traído en consecuencia que se le haya prestado escasa atención al curso de esta enfermedad en las diferentes regiones cañeras, representando esto una amenaza latente para estas regiones.

CONCLUSIONES

- *Fusarium moniliforme*, como agente causal de pudrición del tallo, afecta en un alto grado la capacidad germinativa de la semilla agámica de la caña de azúcar, implicando esto un peligro potencial para las regiones cañeras en cuanto al uso en la siembra de semillas infectadas con el patógeno y su presencia en el suelo.

REFERENCIAS

- Autrey, L. J. C. *et al.*: «Sugar Cane Diseases and Their Distribution», XXI Congress ISSCT. 5-14 March, Bangkok, Thailand, pccixlll-ccxxll, vol. 1, 1992.
- Booth, C.: *The Fusarium*. CMI, Kew Surrey, England, 58 p., 1977.
- China, A.; E. L. Rodríguez: *Enfermedades de la caña de azúcar*, Publicaciones IMAGO, La Habana, 100 p., 1994.
- Fauconnier, R.: *La caña de azúcar*, Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1980, p. 359.

Hughes, C. G.; E. V. Abbott; Wismer, C.A.: *Sugar Cane Diseases of the World I*, Elsevier Publ. Co., Amsterdam, 1964, pp. 187-205.

Koike, H.: *Sugar Cane Diseases. A Guide for Field Identification*, FAO, Rome, 127 p., 1988.

López, D.: *Aislamiento, identificación y patogenicidad de varios hongos presentes en la semilla agámica de la caña de azúcar (Saccha-*

rum sp. híbrida) en Ciudad de La Habana, Tesis de Grado, Facultad de Biología, La Habana, 53 p., 1999.

López, M. O.; I. Sandoval; J. Mena: *Manual para la identificación de los hongos fitopatógenos de la caña de azúcar en Cuba*. INISAV, La Habana, 75 p., 1998.

Santana, I.; A. China; J. Escalona: «Medio siglo de investigaciones cañeras», *Cuba & Caña* 1(2):14, 1997.

EPIFITIOLOGÍA DE LAS ENFERMEDADES FÚNGICAS PRESENTES EN LA FASE DE VIVEROS EN EL CULTIVO DE LA PIÑA EN CUBA

A. Hernández,¹ Berta L. Muiño¹ y A. Martín²

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

²Universidad de Ciego de Ávila, Departamento de Matemática-Computación, Carretera de Morón Km 13, Ciego de Ávila

RESUMEN

Se realizó un análisis epifitológico de las enfermedades fúngicas que afectan la fase de vivero en el cultivo de la piña. El ensayo se ejecutó en la Empresa Piña, provincia de Ciego de Ávila, en dos canteros de cemento con suelo Ferralítico Rojo, donde se sembraron fracciones de tallos de piña de la variedad Cayena Lisa Serrana. Se realizó un monitoreo semanal, se cuantificaron los tallos enfermos por *Fusarium subglutinans*, *Phytophthora nicotianae* y *Chalara paradoxa*, y se determinó el porcentaje de incidencia por especies y el porcentaje de afectación general de los propágulos. Se aplicó el método de análisis multivariado Componentes Principales, para conocer el aporte del nivel de incidencia y el porcentaje de afectación de los patógenos fúngicos en correlación con las variables climáticas de temperatura, humedad relativa y precipitación. La máxima incidencia fue de *F. subglutinans* (1,5%) a los 75 días de plantados, *P. nicotianae* con (0,3%) a los 40 días y *Ch. paradoxa* (0,2%) también a los 75 días. La afectación general de los propágulos se observó entre los 33 y 75 días. Estos fitopatógenos presentan una fuerte dependencia de la humedad relativa mínima (46 a 64%) y media (72 a 86,6%). Sin embargo las temperaturas máximas de 28 a 32°C, medias entre 19 y 25°C y mínimas entre 17 y 19°C constituyen limitantes para el desarrollo de *P. nicotianae* y *Ch. paradoxa*, y no para *F. subglutinans*, el cual además mostró que su incremento poblacional tiene una alta correlación con la combinación de todas las variables climáticas.

Palabras claves: *Ananas comosus*, *Fusarium subglutinans*, *Phytophthora nicotianae*, *Chalara paradoxa*, enfermedades fungosas, hongos, viveros

ABSTRACT

An epiphytological analysis of the fungal diseases that affect nursery stage in pineapple crop was undertaken. The experiment was carried out at the Pineapple Enterprise in Province of Ciego de Avila. Two cement rows containing red ferralitic soil were selected for the assay. Pineapple stalk pieces of the variety Cayena Lisa Serrana were planted. Each week, a survey was conducted in order to register the stalks affected by *Fusarium subglutinans*, *Phytophthora nicotianae* and *Chalara paradoxa*. Incidence percentage for each species and the general percentage of the propagules were determined. A Multivariate Analysis, Main Components was applied in order to know the incidence level and the affectation percentage for each fungal pathogen in relation with the climatic variables, such as, temperature, relative humidity and precipitation. Maximal incidence was caused by *F. subglutinans* (1.5%) and *Ch. paradoxa* (0.2%) 75 days after stalks pieces were planted, while for *P. nicotianae* (0.3%) this peak was registered 40 days after planting. A total affectation of propagules was observed between 33 and 75 days. These plant pathogens show a strong linkange with the lowest relative humidity (46 - 64 %) and the mean relative humidity (72-86.6 %). However maximal temperatures of 28 - 32°C, mean temperatures between 19 and 25°C and minimal ones between 17 and 19°C constitute a limiting factor for the development of *P. nicotianae* and *Ch. paradoxa* but not for *F. subglutinans*, which additionally showed that its populational increase is strogly correlated with the combination of all the climatic variables studied.

Key words: *Ananas comosus*, *Fusarium subglutinans*, *Phytophthora nicotianae*, *Chalara paradoxa*, fungal diseases, fungi

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la piña constituye en la actualidad un renglón importante en la economía agrícola de nuestro país, por su alta demanda como fruto fresco e industrializado para el consumo de la población y el turismo, lo cual implica ingresos importantes en divisas.

Este cultivo es afectado por numerosas plagas y enfermedades. Las de origen fúngico y con mayor importancia a nivel mundial son la fusariosis, que afecta tanto la planta como los frutos, producida por *Fusarium subglutinans* (Wr & Rein) P. E. Nelson, T. A. Tousson & Ma-

rasas, daños a los hijos, plantas en desarrollo y próximas a la cosecha causados por *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan y la pudrición de frutos y propágulos por *Chalara paradoxa* (De Seyn) Sacc. [Rohrbach y Schmitt, 1994]. En Cuba también estas especies fitopatógenas constituyen las de mayor importancia en la fase de vivero [Hernández, 1999].

Los niveles actuales de la producción de piña no logran abastecer las necesidades del país por diversos motivos, dentro de los cuales se encuentran los daños por hongos

fitopatógenos en las áreas de vivero que ocasionan importantes pérdidas económicas por concepto de afectación del material de semilla, lo cual implica una limitante en el incremento de las áreas en explotación de este cultivo, así como por las pérdidas por el valor de los propágulos, además de los gastos de personal que se involucran en el desarrollo de la actividad agrotécnica en general. Por otra parte, el bajo nivel de información con que se cuenta sobre el comportamiento epifitológico de estos patógenos impide el perfeccionamiento de las estrategias de control. Por tanto, el objetivo fundamental de este trabajo consistió en realizar un análisis epifitológico de los hongos más importantes que inciden en esta fase del cultivo, que permita conocer su comportamiento en relación con el clima y establecer parámetros que pueden ser empleados en un sistema de manejo integrado.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo epifitológico se ejecutó en la Empresa Piña, provincia de Ciego de Avila, en dos canteros de cemento con suelo Ferralítico Rojo, de 80 m de largo, 1,5 m de ancho y 1 m de alto. Se sembraron 1 200 fracciones de tallos de piña por cantero de la variedad Cayena Lisa Serrana. El sistema de obtención de posturas se refiere al método de multiplicación de fracciones de tallos y coronas [Sigh y Yoden, 1980].

Para el estudio de la dinámica poblacional de las enfermedades, se cuantificó semanalmente el número de fragmentos de tallos enfermos por *F. subglutinans*, *P. nicotianae* y *Ch. paradoxa* a través de la identificación de las diferentes especies, y se calculó el porcentaje de afectación respecto al número total de tallos sembrados. Las evaluaciones se iniciaron a los 33 días de sembrado el experimento. Los parámetros evaluados se correlacionaron con los índices medios semanales de

las variables climáticas, temperatura mínima, media y máxima; humedad relativa mínima y media, y el acumulado semanal de precipitaciones, registrados en la estación meteorológica que se corresponde con la zona durante el período del ensayo.

El procesamiento estadístico se realizó mediante el método de análisis multivariado Análisis de Componentes Principales [Linares *et al.*, 1986] para conocer el aporte de la variabilidad de los factores relacionados. La selección de las variables que más se relacionan entre sí, se realizó con el criterio de valores mayores de 0,5, que implican una correlación superior al 50%. Este proceso se ejecutó mediante el sistema computarizado Statciv.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El comportamiento poblacional de las especies de hongos que inciden en la fase de viveros en el cultivo de la piña aparece en la Fig. 1. A los 33 días se detectó un 0,5 % de incidencia de *F. subglutinans*, 0,3 % para *P. nicotianae*, y en menor cuantía *Ch. paradoxa* en un 0,1%. En todo el ciclo del vivero, de forma general los niveles más altos registrados correspondieron a *F. subglutinans*, con un máximo a los 75 días con 1,5 %, y a partir de esta fecha prácticamente no se detectó su incidencia hasta los 145 días. *P. nicotianae* se comportó en todo el ciclo de forma más estable, aunque con valores más bajos, desde 0,3 hasta 0,1% a los 127 días. Para *Ch. paradoxa* se detectaron muy bajos niveles de incidencia, sólo a los 33, 40 y 75 días con porcentajes de 0,1, 0,15 y 0,2% respectivamente. Es importante señalar que a los 145 días del ensayo no se observó la incidencia de ninguno de los tres patógenos.

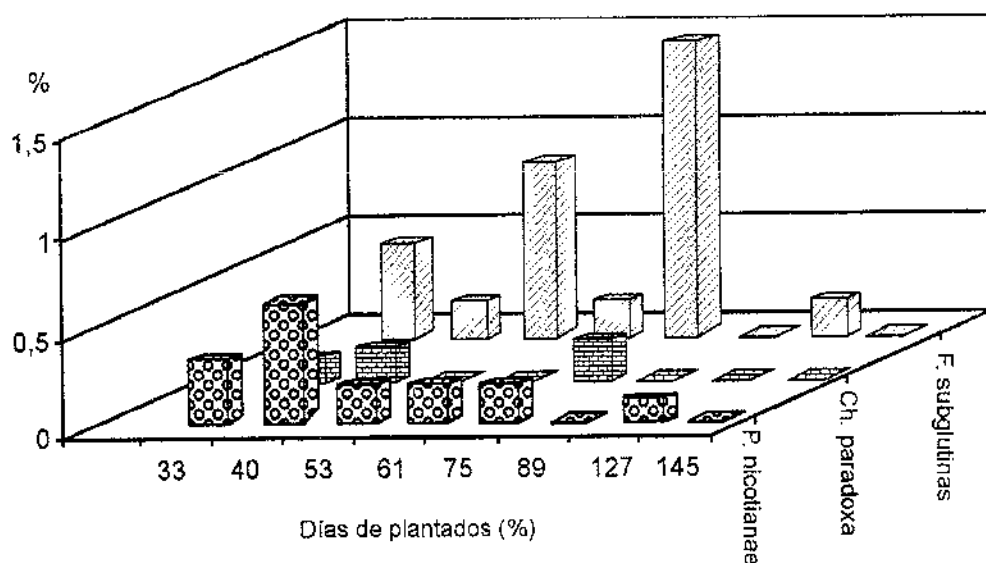


Figura 1. Dinámica de aparición de las especies de hongos durante el ciclo de vivero.

En cuanto a la dinámica de aparición de propágulos enfermos (*Fig. 2*), a los 33 días se registró 3,9 % de afectación. A los 40 días se observó la máxima afectación en el ciclo con 7,23%, seguido de 4,8% a los 75 días. A partir de esta fecha los niveles de afectación se redujeron drásticamente con porcentajes de 1,1,

0,8 y 1,2 a los 89, 127 y 145 días respectivamente, de ahí, la necesidad de establecer medidas de control en este periodo, hasta los 75 días fundamentalmente para obtener altos rendimientos de posturas sanas y solamente en los primeros 33 días del semillero.

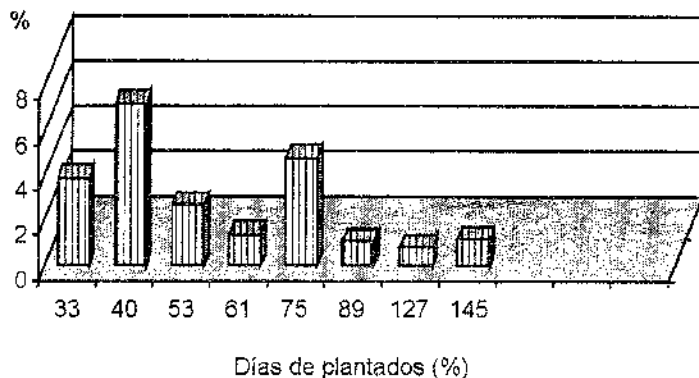


Figura 2. Dinámica de aparición de propágulos de piña enfermos durante el ciclo de vivero (por ciento general).

El análisis de componentes principales (*Fig. 3*) muestra el resultado de la correlación de la dinámica poblacional de las especies y las variables climáticas durante el período de diciembre a abril. Esto permite conocer las condiciones ambientales que pueden favorecer el

desarrollo de las enfermedades que afectan la etapa de viveros en la piña. La correlación de estos factores informa de la existencia de una fuerte dependencia de los patógenos fúngicos ante las condiciones climáticas.

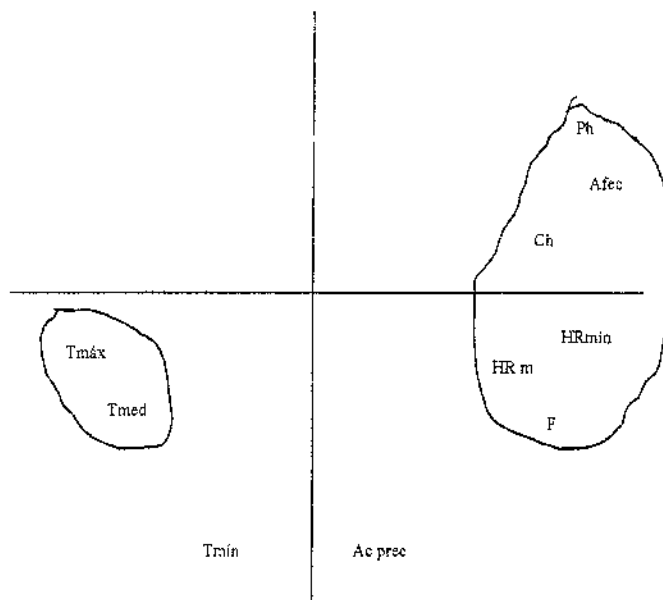


Figura 3. Correlación de los factores climáticos y los por cientos de incidencia de los patógenos fúngicos y la afectación general. Círculo de correlaciones Eje 1 Horizontal y Eje 2 Vertical

La relación entre el por ciento de incidencia de *F. subglutinans*, *P. nicotianae* y *Ch. paradoxa* y las temperaturas promedio semanales mínimas, medias y máximas, resultaron inversamente proporcionales, lo que significa que las temperaturas no fueron lo suficientemente favorables para el desarrollo de estas especies. En este caso la temperatura mínima fue el factor más limitante para el desarrollo de los patógenos, puesto que de forma general se comportaron con valores bajos durante todo el ciclo del vivero.

Respecto a las temperaturas media y máxima, a pesar de que su efecto negativo fue en menor cuantía, estas se comportaron también a bajos valores durante todo el período analizado, lo cual indica que no son favorables para el desarrollo de estos patógenos. Sin embargo, el factor humedad relativa media y mínima contribuyó favorablemente, demostrando una alta dependencia entre el desarrollo de las enfermedades y la humedad relativa, aspecto que indica que las condiciones de humedad de este período fueron favorables para

el desarrollo de las enfermedades, demostrado por el agrupamiento de las variables. De manera semejante se relacionó la precipitación acumulada en la semana y los índices de los patógenos, aunque no de forma tan acentuada como la humedad relativa del aire. Estos resultados se explican si se analizan los vectores en función del Eje 1 (horizontal). Este eje aporta una contribución de un 46,8 % a la variación total, lo que demuestra que existe una dependencia fuerte entre los factores analizados.

El análisis de las variables en relación con el Eje 2 (horizontal), el cual aporta una contribución de un 28,7 % de la variación total (Fig. 4), demuestra que las condiciones de temperatura mínimas, humedad relativa mínima, media y el acumulado de precipitación semanal existentes en ese período, favorecieron de forma importante el desarrollo de *F. subglutinans*, por tanto explica el nivel de incidencia de esta especie durante el ciclo de vivero y que está condicionado por la combinación de las variables climáticas.

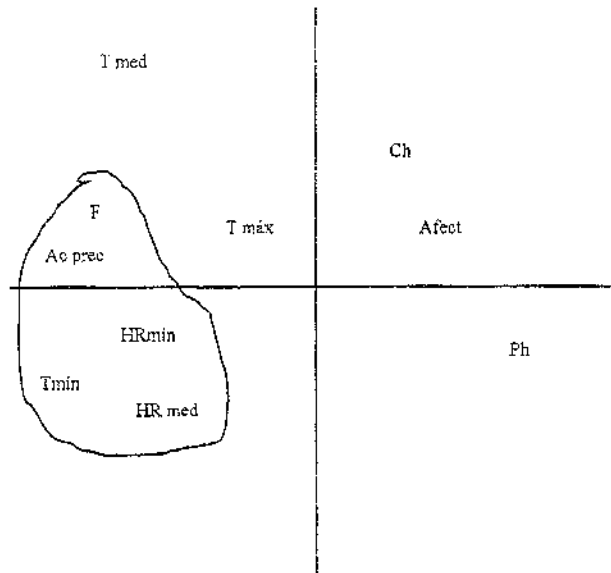


Figura 4. Correlación de los factores climáticos con los porcentajes de incidencia de los patógenos fungosos y el porcentaje de afectación general. Círculo de correlaciones Eje 2 Horizontal y Eje 3 Vertical.

Esta situación se mostró de forma diferente al relacionar a *P. nicotianae* y *Ch. paradoxa*, ya que las variables climáticas presentaron una correlación inversa ante los niveles de incidencia, lo cual indica que no fueron suficientemente favorables para su desarrollo. Es importante señalar que estos patógenos son muy exigentes a condiciones más cálidas de temperaturas, especialmente la temperatura mínima, las cuales se comportaron con valores bastante bajos durante todo el período analizado. Sin embargo, se demuestra que *F. subglutinans* se desarrolla en un rango más amplio de temperaturas, por lo que provoca las mayores afectaciones en fase de vivero en este período del año. No obstante, los resultados de los análisis estadísticos demuestran que la afectación general depende también de la presencia de *P. nicotianae* y *Ch. paradoxa*.

Los valores de la varianza en los ejes principales aportan una contribución de un 75,5 % por los Ejes 1 y 2, lo que demuestra una alta confiabilidad de los análisis estadísticos.

La humedad relativa mínima se comportó en un rango de 46 a 64 %, y humedad relativa media, que osciló entre 72,6 y 86,6 %, son favorables para el desarrollo de estas enfermedades. Las temperaturas fueron de 28 a 32°C la máxima, 19 a 25°C la media y 17 a 19°C la mínima. Estos valores no favorecen el desarrollo de *P. nicotianae* y *Ch. Paradoxa*. En ninguno de los casos se observó un incremento poblacional, a diferencia de *F. subglutinans*, el cual aumentó su incidencia ante los rangos de temperatura descritos anteriormente. Los niveles de precipitación fueron, bajos aunque existieron

momentos con precipitaciones de 21,7 mm a los 53 días y 10,5 mm a los 75, que explican el incremento de los niveles poblacionales de estas especies de hongos fundamentalmente en su relación para *P. nicotianae* y *Ch. paradoxa* (Figs. 1 y 2), que son las más dependientes también de la humedad del suelo.

F. subglutinans es capaz de sobrevivir por varias semanas en el suelo en dependencia de las condiciones de humedad y temperatura, y su mayor supervivencia ocurre en suelos secos con temperatura óptima para su crecimiento entre 25 y 30 °C [Rohrbach y Schmitt, 1994]. Estas condiciones son similares a las presentadas en el período analizado, y justifican los incrementos poblacionales de este hongo fitopatógeno.

Erwin y Ribeiro (1996) exponen que las condiciones de temperaturas entre 20 y 27 °C favorecen el desarrollo de *P. nicotianae*, así como las áreas con excesiva irrigación o sometidas a fuertes aguaceros, que permiten una severidad mayor de la enfermedad, como también el empleo de suelos con mal drenaje, además de otros factores que requiere el patógeno para su desarrollo como luz, fuentes de carbono, etc. En este caso la baja humedad del suelo, producto del bajo nivel de precipitación que incidió durante el período analizado, explica el comportamiento a bajos niveles de *P. nicotianae*, además del tipo de suelo (Ferralítico Rojo) empleado en el ensayo, con buen drenaje interno y poco contenido de materia orgánica. Por tanto, sólo el factor humedad relativa favoreció el desarrollo de esta enfermedad, observándose incrementos en períodos con humedad relativa mínima de un 60% y media de 80%. El desarrollo epifitológico de esta enfermedad está muy estrechamente ligado a la temperatura del suelo. *P. nicotianae* se desarrolla en suelos con temperaturas entre 19-36 °C [Erwin y Ribeiro, 1996], aunque es capaz de provocar afectaciones al cultivo a partir de los 25 °C.

Referente a la epidemiología de *Ch. paradoxa*, las condiciones de temperatura para su desarrollo oscilan entre 13-34 °C con un óptimo entre 25-31 °C, pero además depende de los niveles de pH, así como el contenido de materia orgánica y la solarización [Zaldívar, 1983], dos aspectos que en condiciones de vivero influyen desfavorablemente, ya que la intensidad de los rayos solares es relativamente fuerte en esta etapa y el bajo contenido de materia orgánica en estos suelos.

Es importante señalar que los aspectos epifitológicos determinados en este trabajo constituyen la base del

perfeccionamiento de los métodos de lucha fitosanitaria para la elaboración de un sistema de manejo integrado para el combate de las patologías fúngicas en los vivero de la piña. Se logró determinar las dinámicas de desarrollo de los hongos que inciden en esta fase del cultivo, el período de mayor afectación, el cual requiere de tratamientos de fungicidas y las dependencias climatológicas que poseen estos fitopatógenos.

CONCLUSIONES

- Las mayores incidencias, según los patógenos fúngicos, fueron para *Fusarium subglutinans* de 1,5%, *Ch. paradoxa* con niveles bajos de un 0,2% a los 75 días de sembradas las fracciones de tallos, y *P. nicotianae* a los 40 días con un 0,3 %.
- Las máximas afectaciones por hongos en el ciclo del vivero ocurren entre los 33-75 días de plantadas, lo cual precisa de tratamientos de fungicidas para evitar pérdidas importantes.
- La humedad relativa mínima en un rango de 46 a 64%; humedad relativa media entre 72,6 y 86,6 % son favorables para el desarrollo de estas enfermedades. Sin embargo, la temperatura máxima entre 28-32 °C, media entre 19-25 °C y mínima entre 17-19 °C son valores limitantes para *P. nicotianae* y *Ch. paradoxa*, y no para *F. Subglutinans*.

REFERENCIAS

- Erwin, D. C.; O.K Ribeiro: *Phytophthora Diseases Worldwide*, The American Phytopathology Society, Minnesota, 1996.
- Hernández, A.: *Determinación, epifitología y control de los patógenos fúngicos que afectan la fase de vivero en el cultivo de la piña*, Tesis de Máster en Microbiología, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, 1999.
- Linares, Gladys; Liliams Acosta; Viviam Sistachs: *Estadística multivariada*, Facultad de Matemática-Cibernética, Universidad de La Habana, 1986.
- Rohrbach, K. G.; Schmitt D. P.: «Pineapple», *Compendium of Tropical Diseases*, t. IV, The American Phytopathological Society, EUA, 1994.
- Singh, He; L. Yoden: «Método de multiplicación rápido de la piña», *And. Hard* 25(2): 7-9, 1980.
- Zaldívar, H.: *Estudio de la comercialización y determinación de métodos fitosanitarios que aseguren la exportación de frutos frescos del agro de Cuba*, tesis de Doctorado, DerHumboldt Universität, 1983.

DETERMINACIÓN DE PHTHALIDE POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE

Rafaela Batista

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 desarrolló un método analítico para la determinación del contenido de phthalide en una formulación de polvo humedecible al 30 % P/P. El método consistió en la utilización de la espectrofotometría UV - visible a una longitud de onda de 246 nm usando dioxano como solvente. Se realizaron 15 determinaciones, obteniéndose una desviación típica de $\pm 0,44$ con un coeficiente de variación de 1,42 % para el método, por lo que resultó ser confiable, preciso y selectivo.

Palabras claves: phthalide, espectrofotometría UV

ABSTRACT

An analytic method was developed for the determination of the phthalide content in formulations of wettable powders. The method consisted on the use of the UV-visible spectrophotometry at wavelength of 246 nm using dioxane as solvent. They were carried out 15 determinations being obtained a typical deviation of ± 0.44 with a coefficient of variation of 1.42% for the method for what it turn out to be reliable, precise and selective.

Key words: phthalide, UV-visible spectrophotometry

INTRODUCCIÓN

El phthalide es un fungicida con acción protectora contra los hongos que atacan al cultivo del arroz como son: *Pyricularia oryzae*, *Bipolaris oryzae*, *Cercospora oryzae*, *Gerlachia oryzae*, *Sarocladium oryzae* y el complejo de hongos que afectan el manchado del grano [AgrEvo, 1998].

El método recomendado para determinar dicho ingrediente activo en sus formulados es la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) [AgrEvo, 1998]. Es una técnica muy costosa por el equipamiento y accesorios que requiere. Conjuntamente su desarrollo trae consigo el uso de una serie de solventes que son costosos, pero que además tienen que ser grado HPLC, por lo que su precio se eleva más aún, todo esto sin dejar de resaltar que el uso de esta técnica implica más complejidad desde el punto de vista operacional y técnico, así como mayor tiempo empleado. Además, actualmente

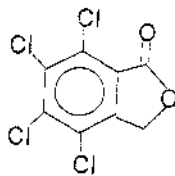
en el país no disponemos de cromatógrafos líquidos en los laboratorios provinciales.

Por todo ello fue necesario desarrollar otro método que permitiera realizar la cuantificación del phthalide, con ahorro de solventes y de tiempo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para desarrollar este método fue necesario basarnos en las propiedades físico-químicas del phthalide que se exponen en la *Tabla 1*, y hacer un espectro de adsorción del phthalide en un rango de longitud de onda de 300-200 nm, utilizando varios solventes, de donde se pudo escoger el más adecuado, en este caso el dioxano, y la longitud de onda más conveniente: 246 nm (*Fig. 1*).

Tabla 1. Propiedades fisico-químicas del Phthalide (AgrEvio, 1998; Pesticide Manual, 1994; Farm Chemicals, 1992)

Fórmula empírica	$C_8H_2Cl_4O_2$
Fórmula estructural	
Nombre común	Phthalide
Nombre químico	4,5,6,7- tetraclorophthalide
Apariencia	Cristales blancos
Peso molecular	271,9
Punto de fusión	209-210 °C
Estabilidad	Estable en medio ácido y a bases débiles. Estable a la luz y al calor
Solubilidad	Agua: 0,002 g/L Etanol: 1,1 g/L Acetona: 8,3 g/L Benzeno: 16,8 g/L Dioxano: 14,1 g/L THF: 19,3 g/L
Toxicidad	Oral aguda: LD ₅₀ : > 10 000 mg/kg en ratones Dermal aguda: LD ₅₀ : > 10 000 mg/kg en ratones

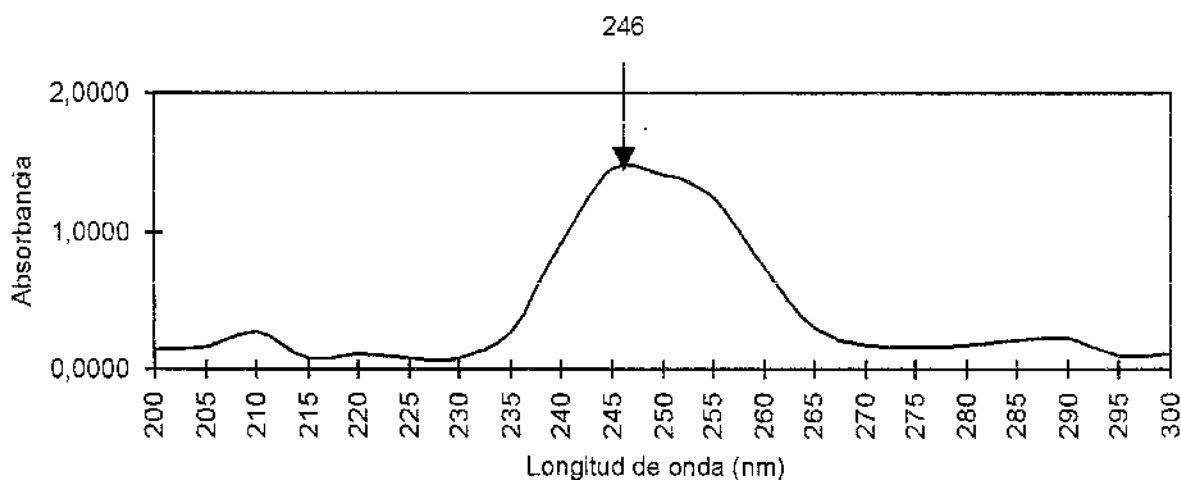


Figura 1. Espectro UV del phthalide.

Principio del método

El método se basó en la determinación del ingrediente activo del phthalide por espectrofotometría UV-visible a una longitud de onda de 246 nm, mediante la construcción de una curva de calibración usando dioxano como blanco.

Reactivos

- Patrón de phthalide
- Dioxano grado analítico

Equipos y cristalería

- Volumétricos de 100 y 25 mL

- Pipetas de 1; 1,5; 2; 2,5 y 5 mL
- Espectrofotómetro UV-visible Shimadzu-1201
- Cubetas de cuarzo de 1 cm
- Balanza analítica Sartorius (Precisión $\pm 0,0001$ g)

Técnica operatoria

a) Preparación de la curva de calibración

Se pesaron 0,2 g de phthalide puro en un volumétrico de 100 mL, se mezclaron y enrasaron con dioxano. De

esta solución se tomaron 5 mL y se llevaron a un volumétrico de 25 mL enrasando con dioxano. A partir de esta última solución se pipetearon 1; 1,5; 2 y 2,5 mL y se llevaron a sus respectivos volumétricos de 25 mL, mezclando y enrasando con dioxano. Se hizo la lectura de cada una de las soluciones en cubetas de cuarzo de 1 cm contra dioxano a 246 nm. Conociendo las concentraciones de cada uno de los cuatro puntos y sus respectivas absorbancias se construyó la curva de calibración (Fig. 2).

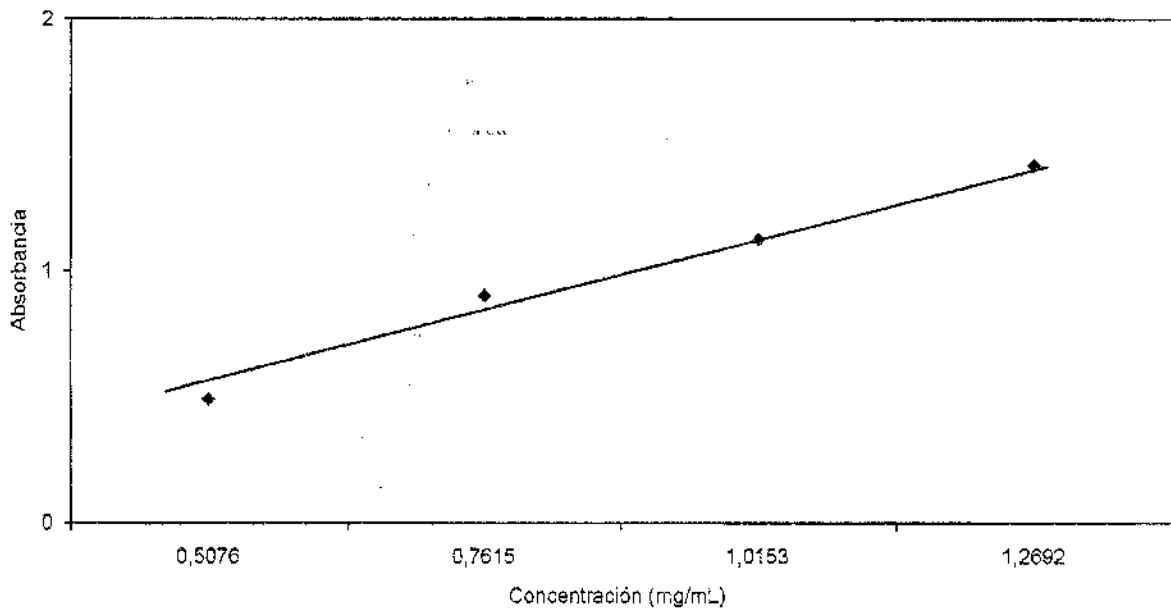


Figura 2. Curva de calibración del phthalide.

b) Preparación de la muestra

Se pesaron 0,6 g de la muestra de phthalide en un volumétrico de 100 mL, se mezclaron y enrasaron con dioxano. Posteriormente se tomaron 5 mL de esta solución y se llevó a un volumétrico de 25 mL, agitando y enrasando con dioxano. De esta última solución se tomaron 2 mL y se llevaron a un volumétrico de 25 mL enrasando con dioxano. Finalmente se leyó la absorbancia de esta solución en cubeta de cuarzo de 1 cm contra dioxano a 246 nm. Luego, con la ayuda de la curva de calibración, se determinaron los miligramos de phthalide y se calculó el por ciento de este según la siguiente fórmula.

Cálculos

$$\% \text{ de phthalide p/p} = \frac{F \times 250}{W_m} \times 100$$

donde:

F: miligramo de phthalide hallado en la curva de calibración
 W_m: peso de muestra de phthalide expresado en miligramos

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

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se muestra en la *Tabla 2*, los valores del contenido de ingrediente activo de phthalide por el método espectrofotométrico oscilaron entre 30,26 y 31,88%, que, comparándolo con la concentración reportada por el proveedor del producto (30 \pm 2) % [AgrEvo, 1998], demuestra la capacidad de esta técnica para determinar de manera eficiente la concentración de este ingrediente activo dentro de la formulación, lo que da una medida de la exactitud de la técnica analítica propuesta.

En la *Tabla 3* se puede observar que los valores obtenidos de desviación típica y del coeficiente de variación para dicho método fueron de $\pm 0,44$ y de 1,42 % respectivamente, por lo que se puede deducir que el método utilizado presentó una aceptable precisión.

Tabla 2. Resultados obtenidos por análisis

No.	Pesos de muestra (g)	Miligramos de phthalide halados en la curva	Concentración del producto (% p/p)
1	0,6290	0,7615	30,26
2	0,6131	0,7820	31,88
3	0,6157	0,7630	30,98
4	0,6128	0,7520	30,67
5	0,6043	0,7230	31,38
6	0,6012	0,7770	31,38
7	0,6078	0,7922	31,38
8	0,6228	0,7137	31,38
9	0,6260	0,7821	31,23
10	0,6112	0,7536	30,82
11	0,6025	0,7617	31,60
12	0,6089	0,7830	31,38
13	0,6551	0,7980	30,45
14	0,6193	0,6977	31,38
15	0,6305	0,7445	31,38

Tabla 3. Resultados estadísticos

Parámetro estadístico	Valores
Valor promedio (X)	31,17
Desviación típica (D.T.)	± 0,44
Coefficiente de variación	1,42 %

• El método es una alternativa para determinar el contenido del ingrediente activo de Phthalide en formulaciones de polvos humedecibles, sustituyendo el método de HPLC.

CONCLUSIONES

• El método de espectrofotometría UV-visible desarrollado es adecuado, pues presentó una desviación típica $\pm 0,44$, así como un coeficiente de variación de 1,42%, lo cual conlleva a una aceptable precisión.

REFERENCIAS

- AgrEvo: *Expediente de Rabcide 30 PH (phthalide) para el registro en Cuba*. Registro Central de Plaguicidas. 1998
- Farm Chemicals Handbook*. Meister Publishing Company, USA, 1992, p. 185
- The Pesticide Manual. A World Compendium*. Tenth ed., The British Crop Protection Council, 1994, pp. 810-811.

ESTUDIO PRELIMINAR DE DOS EXTRACTOS VEGETALES PARA EL CONTROL *IN VITRO* DEL HONGO *CORYNESPORA CASSIICOLA* (BERK & CURT) WEI

Wendolyn Pérez, Blanca Bernal, Ana Martín y C. Romeu

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 nivel mundial los plaguicidas de origen natural constituyen un importante medio para el control de las plagas en los diversos cultivos, como una alternativa para disminuir el consumo de productos químicos, pues éstos, además de tener un costo elevado, provocan resistencia generalmente por su uso continuado y también por la contaminación del medio ambiente. El desarrollo de los agroquímicos naturales junto a los controles biológicos forman parte de los sistemas agrícolas de manejo integrado. Este estudio estuvo dirigido a la determinación de la actividad inhibitoria de dos extractos vegetales a partir de las plantas *Lantana camara* L. (filigrana o verbena morada) y *Gliciridia sepium* L. (piñón amoroso) sobre el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno *Corynespora cassiicola*. Se realizaron pruebas *in vitro* con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), evaluándose el crecimiento radial de las colonias durante siete días a una temperatura de incubación de 27°C. Ambas sustancias vegetales mostraron actividad inhibitoria frente a *C. cassiicola*. El mejor control se obtuvo en el ensayo donde se utilizó el extracto de piñón amoroso, ya que no se observó crecimiento micelial hasta el quinto día. Sin embargo, con el extracto de filigrana se inició a partir de las 72 horas. En los dos extractos vegetales la concentración de 25% fue la que presentó el menor crecimiento del hongo fitopatógeno.

Palabras claves: sustancias vegetales, control, *Corynespora cassiicola*

ABSTRACT

In the world the natural pesticides constitute an important mean to control pests in different crops. It's an alternative to reduce the use of chemicals products, due to it's high costs contamination to the environ and resistance induction because of it's uninterrupted use. The develop of the natural agrochemicals and the biological control take part in the agricultural system of Integrated Management. This study was directed to determine the inhibitory activity of two vegetables extracts obtained from the plants: *Lantana camara* L. (filigrana or verbena morada) and *Gliciridia sepium* (piñón amoroso) on the micelial grown of the phytopathogen fungus *Corynespora cassiicola*. *In vitro* tests were realized in PDA culture media, was evaluating the radial growth of the colonies during seven days with an incubation temperature of 27°C. Both vegetables substances shown inhibitory activity in front of *C. cassiicola*. The best control was obtained in the assay where we utilized the piñón amoroso extract, since the micelial growth was not observed until fifth day. Nevertheless with the filigrana extract the minor growth was obtain with the concentration of 25%.

Key words: vegetables substances, control, *Corynespora cassiicola*

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la agricultura moderna se ha debido en gran medida a la utilización de plaguicidas sintéticos para reducir las pérdidas que plagas y enfermedades causan a los cultivos. No obstante, en los últimos años las campañas fitosanitarias están prestando importancia al estudio de productos naturales para el control de los agentes nocivos.

Los productos naturales constituyen una fuente inagotable de sustancias biológicamente activas, por lo que han contribuido históricamente al control de plagas y al desarrollo de nuevos productos, como son las piretrinas, la rotenona y la nicotina.

La recogida y evaluación de actividad biocida en extractos procedentes de plantas silvestres ha sido abordada recientemente por diversos autores en distintas partes del mundo [Hoffman *et al.*, 1993]. Los resultados de estas investigaciones han dado lugar a productos o extractos que son utilizados directamente en agricultura ecológica.

El desarrollo de plaguicidas basados en productos naturales no debe perseguir la sustitución de los productos convencionales, más bien lo que deben es contribuir a la racionalización de las aplicaciones de los pesticidas.

Los plaguicidas naturales podrían utilizarse en el control integrado de cultivos en la agricultura tradicional y en la agricultura ecológica, con grandes posibilidades de aplicación y sin impactos negativos sobre los recursos naturales y el medio ambiente [Debrosses, 1987].

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es afectado por numerosos hongos fitopatógenos de importancia agrícola, entre los que se encuentra el hongo *Corynespora cassiicola*, el cual puede afectar hojas, tallos y frutos en las plantas de esta solanácea [Sandoval, 1980].

El objetivo de este estudio estuvo dirigido a la determinación de la actividad fungicida de dos extractos vegetales sobre el hongo fitopatógeno *C. cassiicola*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Laboratorio de Micología del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal durante los meses de mayo (1998) y febrero (1999).

Los extractos vegetales se obtuvieron por maceración a partir de las plantas *Lantana camara* L. (filigrana o verbena morada) y *Gliricidia sepium* L. (piñón amoroso) procedentes de la Estación Experimental de Alquízar. Se utilizaron 25 g de hojas de cada una de las plantas en 100 mL de agua destilada.

A partir de esta concentración (25%) se realizaron diluciones al 15, 10 y 6 % con vistas a determinar la con-

centración mínima inhibitoria de estos extractos frente al hongo *Corynespora cassiicola*, aislado de manchas foliares de tomate del híbrido W 424, procedente de plantas enfermas bajo condiciones de cultivo protegido.

Se realizaron pruebas *in vitro* con medio de cultivo artificial papa dextrosa agar (PDA), adicionándose 10 mL del medio más 2 mL de cada una de las diluciones de los extractos por placa con seis réplicas; el crecimiento radial de las colonias fue evaluado durante siete días. La temperatura de incubación fue de 27°C.

El análisis del Anova se realizó por el programa Statistica Versión 5.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Fig. 1 se muestra el crecimiento del hongo *C. cassiicola* frente a diferentes concentraciones de piñón amoroso, donde se observa que hubo una disminución del crecimiento micelial con respecto al testigo, obteniéndose el mejor control cuando utilizamos el extracto vegetal al 25%; como se puede apreciar, a esta concentración no hubo desarrollo del hongo durante los primeros cinco días del ensayo. Al 6% se obtuvo un bajo crecimiento (12 mm) comparado con el testigo, aunque mayor que el obtenido al 25%.

Este resultado coincide con lo señalado por Beckstrom-Sternberg y Duke (1994), quienes plantearon que en

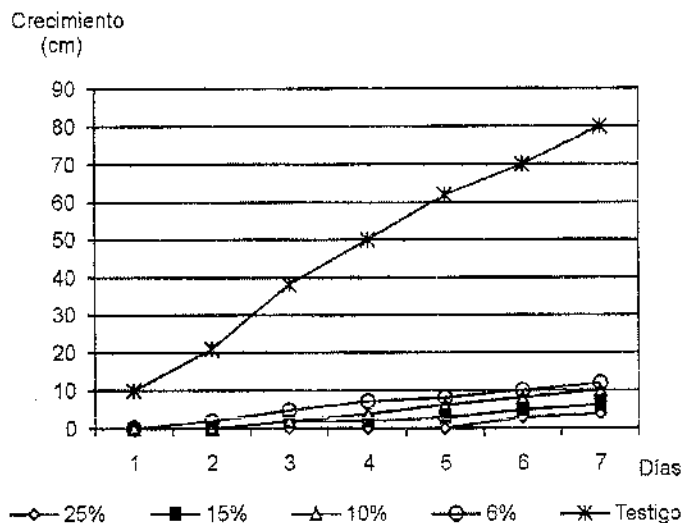


Figura 1. Evaluación de *C. cassiicola* frente a diferentes concentraciones de piñón amoroso.

un estudio antifúngico los extractos de *Gliricidia sepium* inhibieron el crecimiento y desarrollo del hongo *Drechslera oryzae*.

En el análisis matemático realizado se encontraron diferencias significativas entre el testigo y los tratamientos, siendo al 25% el más efectivo (Fig. 2).

Cuando analizamos las diferentes concentraciones de filigrana frente al hongo, podemos observar que hubo un control efectivo durante los tres primeros días, al emplear el extracto al 25%, teniendo un crecimiento

de 7 mm a esta concentración. Al 6% también se obtuvo una disminución del crecimiento micelial de hasta 15 mm con respecto al testigo (Fig. 3).

Srivastava *et al.*, (1997) informaron de las propiedades fungicidas de los extractos acuosos de hojas de *L. camara*, para el control de *Curvularia tuberculata* y *Alternaria alternata*, coincidiendo estos resultados con los nuestros.

En el ensayo con el extracto de filigrana se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo, siendo la concentración al 25% la más efectiva (Fig. 4).

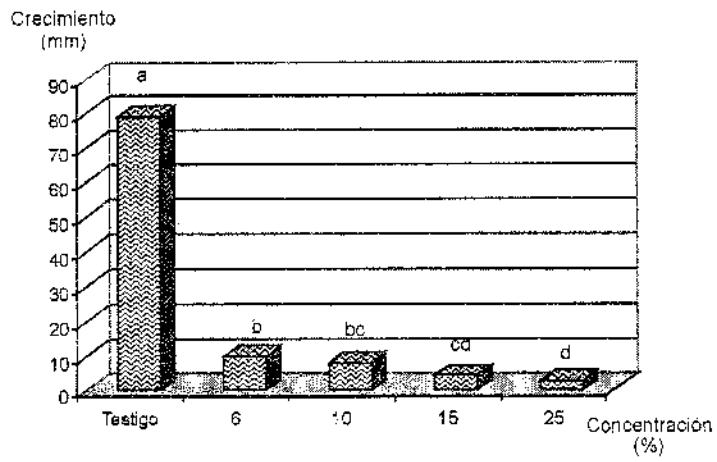


Figura 2. Efecto del extracto de piñón amoroso sobre el crecimiento micelial del hongo.

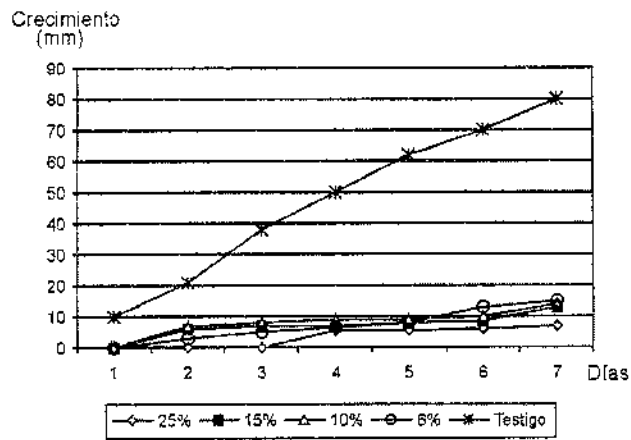


Figura 3. Evaluación de *C. cassicola* frente a diferentes concentraciones de filigrana.

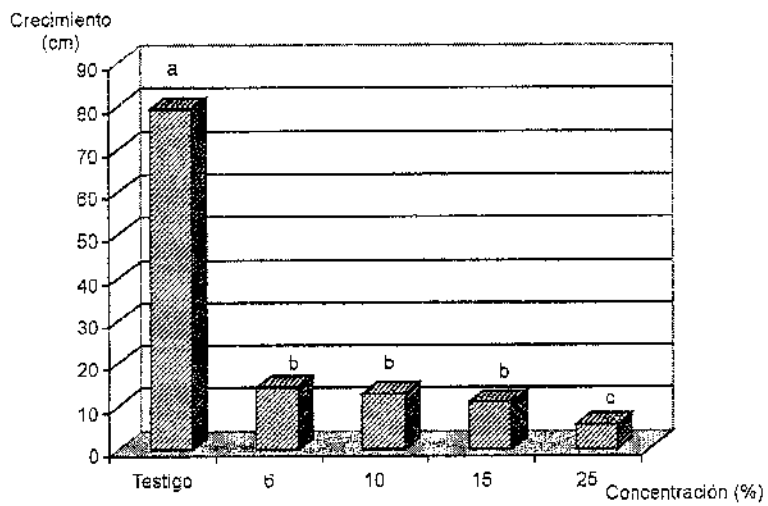


Figura 4. Efecto del extracto de filigrana sobre el crecimiento micelial del hongo.

Al comparar ambas sustancias vegetales observamos que el extracto de piñón amoroso se obtuvo un mejor control sobre el hongo fitopatógeno *C. cassicola*.

CONCLUSIONES

- Ambas sustancias vegetales mostraron actividad inhibitoria frente a *Corynespora cassicola*.
- Con los extractos de piñón amoroso y filigrana se obtuvo el menor crecimiento micelial al 25% (4 y 7 mm respectivamente).
- El mejor control se obtuvo al emplear el extracto de piñón amoroso, ya que no se observó crecimiento micelial hasta el quinto día.

REFERENCIAS

- Beckstrom-Sterberg, S. M.; J. A. Duke: The Phytochemical Database [on line]: ACDDB version 4.3 data version. <http://probe.nalusda.gov:8300/cgi-bin/browse/phytochemdb> (consulta: July 1994)
- Desbrosses, P. Agricultura biológica y alimentos biológicos. Perspectivas y futuro en el marco de la CEE. Congreso Internacional de Tecnología de Alimentos Naturales y Biológicos. Centro Menéndez Pelayo, Madrid 9-11, 1987.
- Hoffman, J. J. et al.: « Potential Antimicrobial Activity of Plants from the Southwestern United States », *International Journal of Pharmacognosy* 31(2): 101-115, 1993.
- Sandoval, I.: « Podredumbre del fruto y mancha foliar producida por *Corynespora cassicola* en el cultivo del tomate en Cuba », *Ciencia y Técnica Agrícola, Serie Protección de Plantas* 3 (2-3): 77-84, 1980.
- Srivastava, A. K.; B. Lal: « Studies on Biofungicidal Properties of Leaf Extracts of Some Plants », *Indian Phytopathology* 50(3): 408-411, 1997.

USO DE LA HIGUERETA (*RICINUS COMMUNIS*, L.) EN EL CONTROL DE ROEDORES

N. Suárez, H. Sánchez, P. P. Mora y María E. Rodríguez

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 lucha contra roedores siempre ha sido difícil para el hombre, quien ha ensayado variedad de métodos en función de esta tarea, siendo el uso de sustancias naturales un campo aún poco explorado. En condiciones de laboratorio se probó la efectividad de la planta *Ricinus communis* en el control de las especies de roedores *Rattus norvegicus* y *Mus musculus*, L., para lo cual se cosechó la semilla en horas de la mañana, molíndose y mezclándose con cebo inocuo a diferentes concentraciones. También esta semilla fue pelletizada, y se preparó una infusión con las hojas con el objetivo de facilitar el trabajo. La especie *Rattus norvegicus* resultó muy susceptible a los formulados a base de semilla de higuera, no siendo así para el *Mus musculus*. Se comprobó que los animales mueren por diarreas y hemorragias generalizadas cuando comen el formulado preparado con semilla de higuera.

Palabras claves: *Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, *Ricinus communis*, control

ABSTRACT

The fight against rodents has been very difficult for men, but the use of poisoning plants is an sphere hardly explored. In laboratory condition was experimented the efficacy of *Ricinus communis*, L. in the control of rodents species *Rattus norvegicus* (Berk), (L.) and *Mus musculus*, L. The seeds were harvested in the morning. They were grinded and mixed with innocuous bait. A pellet was made with seeds and gotten ready leaf's infusion in order to work was easier. *Rattus norvegicus* was very susceptible to the bait but was not to *Mus musculus*. The animals die for diarrhea and bleeding when eat bait prepared with seeds of that plant.

Key words: *Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, *Ricinus communis*, control

INTRODUCCIÓN

La lucha contra roedores ha sido siempre difícil para el hombre, quien a lo largo de la historia se ve como su principal enemigo, pero también es su benefactor, ya que con sus hábitos ha modificado el papel adaptativo de estos animales que, a su vez, se han desarrollado.

En esta constante lucha por exterminar estos dañinos animales se han utilizado diversidad de métodos, siendo el esquema a partir de cebos envenenados el de mayor efectividad; pero su empleo masivo ha puesto de manifiesto algunas consecuencias como son: eliminación de la fauna benéfica (enemigos naturales) y la contaminación del medio ambiente de forma general [Pascual-Villalobos, 1996].

En nuestro país se ha aplicado con gran efectividad la bacteria *Salmonella enteritidis* variedad Dañysz como medio biológico; sin embargo, el uso de plantas tóxicas

no es muy común, a pesar de haberse obtenido buenos resultados con la semilla de aguacate (*Persea americana*, Mill.), piñon botija (*Jatropha curcas*, L.) y mamey Santo Domingo (*Mammea americana*, L.) [Bong, 1992].

Las plantas son la fuente de compuestos químicos orgánicos más importante que existe [Pascual-Villalobos, 1996].

Actualmente el 75% de la población mundial confía en las plantas y sus extractos. El mercado de productos químicos naturales abarca 7,5% de la producción global de productos químicos, aunque sólo 5 000 especies han sido estudiadas exhaustivamente, habiéndose estimado entre 250 000 y 300 000 las especies de plantas [Abelson, 1990; Pascual-Villalobos, 1996].

El uso de plantas tóxicas o venenosas en el control de roedores es un campo aún poco explotado, y sólo exis-

ten referencias ocasionales de personas aisladas, sin aval científico, que utilizan una u otra especie.

Roig (1965) plantea la existencia en la flora cubana de muchas especies tóxicas o venenosas, entre ellas, la higuera.

Esta planta contiene ricino, ricinina y ácido cianhídrico, compuestos venenosos e irritantes [Pitty, 1997].

Teniendo en cuenta que el uso de sustancias naturales es menos nocivo para el medio ambiente y la fauna benéfica, el objetivo de nuestro trabajo es demostrar que la higuera puede ser utilizada en el control de roedores.

MATERIALES Y MÉTODOS

En condiciones de laboratorio se le suministró de forma obligada a tres animales de la especie *Mus musculus* diferentes partes de la planta de higuera: tallos, hojas y semillas, durante cinco días, sin medir el consumo. Transcurrido este período se le retiró esta alimentación y se pasó a las condiciones normales de laboratorio.

Comprobado el efecto rodenticida y para la continuidad de los experimentos, se cosecharon semillas de higuera en horas de la mañana, y se extrajeron de sus cápsulas tricocas de forma manual.

Posteriormente las semillas fueron pelletizadas, con un contenido de ciento por ciento de estas en el pellet, el cual fue suministrado a 10 animales de la especie *M. musculus*, siguiendo el patrón de alimentación no selectiva de la OMS [WHO, 1975].

En la segunda fase la semilla fue molida y mezclada con cebo inocuo (95% de maíz y 5% de trigo) a diferentes concentraciones preestablecidas: 5, 10, 20, 40 y 60%. En esta etapa se usaron cinco animales por tratamientos, y un testigo sin tratamiento durante un período de cinco días de alimentación.

Para *Rattus norvegicus* se separaron tres animales del mismo sexo por jaulas, y se siguió el mismo proceso

descrito para la especie *Mus musculus*, midiéndose además el consumo de agua antes y durante el experimento.

En esta especie se montó una segunda prueba donde se tomaron valores medios de la curva de mortalidad, correspondiendo a 10, 23, 35, 40 y 60% del contenido de la semilla molida. Para esta fase se utilizaron tres animales por tratamiento, separados en jaulas individuales y sometidos durante cinco días a la alimentación obligada.

Se preparó una infusión con las hojas a una concentración de 272,2 g de hojas por litro de agua; para esto se hirvió el agua, se le agregaron las hojas y se dejó reposar durante 15 minutos. Posteriormente se prepararon frascos con 10, 25, 50, 75 y 100% de la infusión; el resto se completó con agua.

En todas las pruebas se midió el consumo diariamente, retirando el producto viejo y reponiendo con material fresco. A los animales muertos se les practicó la autopsia para determinar la causa de muerte.

Los datos se procesaron por un análisis de varianza de clasificación simple, y las medias que resultaron significativas se compararon por el test de rangos múltiples de Duncan (1965).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de las pruebas realizadas con *Mus musculus* se muestran de forma resumida en las Tablas 1 y 2, en las cuales se puede ver el consumo, días de muertes, mortalidad y aceptación.

En un pellet cuyo contenido es del ciento por ciento de la semilla de higuera se observa que el consumo varía entre 0,01 y 5,43 g, siendo la mortalidad en esta prueba de sólo un 10 %, mostrando también una variabilidad en la aceptación entre 0,04 y 21,36% (Tabla 1).

Tabla 1. Consumo y aceptación de pellets de higuera por *Mus musculus*

Animal	Peso (g)	Consumo total (g)	Aceptación (%)	Mortalidad (%)	Días de muerte
1	23	0,56	2,43	—	—
2	24	0,01	0,04	—	—
3	25	0,03	0,12	—	—
4	24	0,27	1,12	—	—
5	26	0,27	1,03	—	—
6	22	0,18	0,8	—	—
7	23	0,46	2	—	—
8	26	0,13	0,5	—	—
9	25	5,34	21,36	—	—
10	25	1,41	5,64	10	5

Con la semilla molida se observa que, a medida que aumenta la concentración de esta en el cebo, su aceptación disminuye de 4,4 para 10% a 0,5 para el 60% de concentración de semilla, existiendo diferencias significativas en el consumo de las dosis de 40 y 60% y el resto de los tratamientos. Sin embargo, para la dosis de

60% se obtiene un 40% de mortalidad, demorando los animales en morir cuatro días, siendo este último dato inferior al obtenido por Lund (1981) de entre 7-10 días para ratones resistentes a la warfarina, utilizando brodifacoum 0,005% y con un día de alimentación (Tabla 2).

Tabla 2. Consumo y aceptación de semilla molida de higuera por *Mus musculus*

Concentración (%)	Peso (g)	Consumo (g)		Días de muerte		Mortalidad (%)	Aceptación (%)
		X	Rango	X	Rango		
5	22	6,36 b	2,14-12,18	-	-	0	2,8
10	24	10,79 a	7,1-14,82	-	-	0	4,4
20	27	3,43 b	1,76-5,64	-	-	0	1,2
40	23	1,12 b	1,07-3,45	-	-	0	0,8
60	25	1,42 c	0,46-2,48	4	4	40	0,5

Los resultados con *Rattus norvegicus* se reflejan en las Tablas 3, 4 y 5, donde se puede apreciar una alta susceptibilidad de esta especie ante los cebos preparados con semillas de higuera, ya que la mortalidad varía en-

tre 0-100%, siendo siempre mayor para individuos machos. El período de muerte oscila entre tres y cuatro días; sin embargo, Rowe *et al.* (1985) utilizando flo-coumafen, obtienen un período de muerte entre 3-10 días.

Tabla 3. Consumo y aceptación de semilla de higuera por *Rattus norvegicus*

Concen. (%)	Sexo	Peso (g)	Mortalidad (%)	Días de muerte		Consumo (g)	Aceptación (%)
				X	Rango		
5	M	318	100	3	-	3,8	1,13
	H	265	33,3	3	-	1,6	0,60
10	M	335	100	3	-	2,76	0,71
	H	260	0	-	-	1,6	0,61
20	M	315	100	3,5	3-4	2,2	0,69
	H	275	66,6	3,5	3-4	1,1	0,43
40	M	335	66,6	3,5	3-4	0,53	0,15
	H	243	100	3,5	3-4	2,77	1,13
60	M	316	100	3	-	1,6	0,50
	H	250	0	-	-	1,6	0,64

Tabla 4. Consumo de agua por *Rattus norvegicus* antes y durante el experimento con semilla de higuera molida

Concentración (%)	Consumo de agua antes del experimento (mL)	Consumo de agua durante el experimento (mL)
10	50	328,3
23	41,6	153,3
35	33,3	128,3
40	33,3	70
60	55	86,6
Test	33,3	45

Arruebo (1981) y Howard (1980) plantean que el consumo normal de alimentos para esta especie es de entre 20-40 g diarios; sin embargo, para esta prueba el consumo se comporta muy bajo tomando valores entre 0,53-3,8g.

Buckle y Kaukeinen (1988) con cebos de klerat obtienen una aceptación de 61,1, mientras que con la semilla de esta planta sólo se llega a obtener entre 0,15-1,13% (Tabla 3).

La Tabla 4 refleja el consumo de agua, que se comporta según lo planteado por Velasco y Navas (1988), tomando valores de entre 33,3-50 mL de agua; pero cuando los animales están sometidos al consumo del

formulado a base de semilla de higuera, las necesidades hídricas aumentan considerablemente, llegando a valores de 45 hasta 328,3 mL, corroborándose lo planteado por Pitty (1997), de que este producto provoca sed en los animales que lo consumen.

Dubock (1980) utilizando coumatetralyl, obtiene un 33% de mortalidad similar al 33,3% obtenido en la segunda prueba con *Rattus norvegicus* en las dosis de 35 y 40%, tardándose los animales en morir entre 5-6 días. Para esta prueba el consumo se comporta muy bajo, entre valores de 4-36,6, influyendo en que la aceptación sea baja también, variando entre 1,42- 8,1% (Tabla 5).

Tabla 5. Consumo y aceptación de semilla molida de higuera por *Rattus norvegicus*

Concentración (%)	Peso (g)	Consumo (g)		Mortalidad (%)	Días de muerte	Aceptación (%)
		\bar{X}	Rango			
10	330	27	25-36,6	0	-	8,1
23	345	25,5	15-36,3	0	-	6,43
35	320	5,53	3,33-8,833	33,3	5	1,72
40	365	6,66	3,33-11,6	33,3	6	1,82
60	350	5	1,6-11,60	0	-	1,42

La Tabla 6 refleja el consumo de la infusión de las hojas de la planta, el cual varía entre 25-88,8mL, incrementándose este por encima de los 15 a 30mL de agua necesarios para su supervivencia [Velasco y Navas, 1988].

Tabla 6. Consumo de infusión de higuera por *Rattus norvegicus* (Berk)

Concentración (%)	Peso (g)	Mortalidad	Consumo (mL)
10	350	0/5	88,8
25	330	0/5	83,3
50	295	0/5	47
75	315	0/5	27,7
100	340	0/5	25

En esta prueba se da al traste con lo planteado por Monje y García (1993) de que una infusión preparada con hojas de higuera provoca mortalidad en ratas.

CONCLUSIONES

- *Rattus norvegicus* es más susceptible a los cebos preparados con semillas de higuera que *Mus musculus*.
- Los cebos preparados no son apetecibles por los animales.

REFERENCIAS

- Abelson, P. H.: «Medicine from Plant», *Science* 247 (4942): 513, 1990.
- Arruebo, A. L.: *La moderna defensa pasiva contra las ratas y otros roedores*. Ayuntamiento de Madrid. España, 1981.
- Bong, Xiomara: «Uso de piñón botija, aguacate y mamey santo domingo en el control de roedores», Informe al VII Forum Nacional de Ciencia y Técnica, 1992.
- Buckle, A. P.; D. E. Kaukeinen: «A Field Method for Assessing the Palatability for Rodenticidal Bait», *Proceeding of the thirteenth vertebrate pest conference*, Monterrey, California, 1-3 march, pp. 156-159, 1988.
- Dubock, A. C.: «The Development and Practical Use of Novel Anticoagulant Rodenticides Brodifacoum», *Plant Prot. Bull.* 22: 223-238, 1980.
- Duncan, D. R.: «Multiple Range Multiple F-test», *Biometrics* 11, 1-42, 1965.

Uso de la higuera (Ricinus...

- Howard, W. E.: «Method and Approach to Rodent Control in Tropical Countries», Seminar and workshop on pest and pesticide management in the Caribbean, Barbados, Consortium for crop protection, EUA, 1980.
- Lund, M.: «Comparative Effect of Three Rodenticides, Warfarin, Difenacoum and Brodifacoum on Eight Rodent Species in Short Feeding Periods», Danish pest infestation laboratory. *Denmark*, 87: 101, 1981.
- Monje, E. J.; E. J. García: *Manejo integrado de plagas* (Costa Rica) (28): 5-83, 1993.
- Pascual-Villalobos, M. J.: *Plaguicidas naturales de origen vegetal: estado actual de la investigación*, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, 1996.
- Pitty, A.: *Introducción a la biología, ecología y manejo de malezas*, Ed. Zamorano Aradmi Press, 1997.
- Raig, J. T.: *Diccionario botánico de nombres vulgares cubanos*, t. I y II, Ed. Ciencia y Técnica, La Habana, 1965.
- Rowe, F. P.; A. Bradfield; T. Swinney: «Pen and Field Trials of a New Anticoagulant Rodenticide Flocuomafen Against House Mouse (*Mus musculus* L.)», *J. Hyg Camb.* 95: 623-627, 1985.
- Velasco-Said, A; R. Nava-Nava: *Ratas y ratones domésticos: métodos y alternativas para su control*, Limusa, México, 1988.
- WHO: «Instructions for Determining the Susceptibility or Resistance of Rodents to Anticoagulant Rodenticides», *WHO/VBC/75*: 595, 1975.

INFLUENCIA DE LA INTERACCIÓN DE *TRICHODERMA* Y EL HERBICIDA SIMAZINA EN LA MICORRIZACIÓN DE *PINUS CARIBAEA* MORELET SUBESPECIE *CARIBAEA* BARRET ET GOLFARI

Ángela Duarte,¹ H. Cruz, M. A. Betancourt,¹ A. Fernández,² Anairad Ferrer¹ y J. M. Montalvo¹

¹ Instituto de Investigaciones Forestales. Calle 14 no. 1723 e/ 17 B y Siboney, Playa, Ciudad de La Habana

² Estación Experimental Forestal. Km 20, Carretera de Viñales, Pinar del Río

RESUMEN

Los estudios *in vitro* del biocontrolador *Trichoderma* sección *Longibrachiatum* con varios herbicidas de frecuente aplicación práctica, han arrojado resultados satisfactorios. Con la finalidad de evaluar el comportamiento de diferentes especies de hongos ectomicorrizógenos y el herbicida simazina, se realizó la presente investigación. El trabajo fue desarrollado en fase de vivero, las semillas de *Pinus caribaea* fueron sometidas al tratamiento pregerminativo establecido, incluyendo en este la aplicación de *Trichoderma*. Además, fue adicionado a las bolsas en el momento de la siembra suelo micorrizado obtenido de pinares. Las aplicaciones de simazina fueron realizadas según lo orientado en la Lista Oficial de Plaguicidas Autorizados para viveros forestales. Como resultados no se presentaron afectaciones en cuanto a la supervivencia y desarrollo de las posturas de *P. caribaea*.

Palabras claves: *Trichoderma*, *Pinus caribaea*, herbicidas, control

ABSTRACT

Studies *in vitro* of *Trichoderma*, section *Longibrachiatum* with several herbicides of frequent practical application, has shows satisfactory results. With the objective to evaluate the behavior of different species of ectomycorrhizogens fungi and the herbicide Simazina, the present research was realized. The work was developed in tree nursery phase. The seeds of *Pinus caribaea* were submitted to established pre-germinative treatment, including application of *Trichoderma*. Furthermore, soil with mycorrhizae was added to the bags at the moment of seeding. Simazina applications were made according to the orientation on Official List of Authorized Pesticide for forest tree nursery. Don't be presented affectations as to survival and development of *Pinus caribaea* seedlings

Key words: *Trichoderma*, *Pinus caribaea*, herbicides, control

INTRODUCCIÓN

Basado en las experiencias obtenidas con los trabajos realizados *in vitro*, en lo referido a la compatibilidad que manifiesta el producto simazina con el hongo *Trichoderma* sección *Longibrachiatum* [Duarte *et al.*, 1993], se extendieron a vivero dichos trabajos, esperando corroborar lo planteado por Jacas y Viñuela (1993) en cuanto a la no toxicidad de un producto aplicado a vivero y/o campo cuando no lo ha sido al trabajarlo *in vitro*. Existen también referencias de estudios de compatibilidad, en iguales condiciones, con *Trichoderma* spp. y diferentes plaguicidas químicos de aplicación práctica, así como de los fungicidas zineb, mancozeb y thiram en tratamientos de suelo [Muiño y Sáenz, 1994].

En cuanto a la compatibilidad de *Trichoderma* con hongos micorrizógenos, aún no tenemos ninguna referencia de trabajos realizados; pero sí sabemos que son

simbiontes obligados que colonizan intracelularmente las raíces de las plantas, coadyuvan al crecimiento y mejoran la nutrición de sus hospedantes. Asimismo pueden ejercer un efecto antagónico sobre otros organismos de la rizosfera, estimulando el crecimiento de las plantas [Rivas y Cuervo, 1998].

En el caso del género *Pinus* fundamentalmente, esa relación se establece con un simbiote fungoso: la micorriza. Como es obligada, el pino no sobrevive si esta asociación no se hace efectiva. Se observa que los beneficios que las plantas pueden obtener de una relación micorrizógena varían indudablemente dependiendo de los factores involucrados en el medio en que se lleva a cabo esa asociación [Gibson y Salinas, 1985].

Se hace importante observar también la influencia de otros factores como son el control de las plagas y enfermedades, y la aplicación de productos para combatir

las malezas en la etapa en que se debe establecer la relación hongo micorrizógeno-planta. Se poseen antecedentes [Fernández, 1983] de trabajos realizados en Venezuela con el herbicida simazina y *Pinus caribaea* subespecie *caribaea*, y se reporta la no afectación de la simbiosis pino-micorriza al aplicar el herbicida simazina para evitar el crecimiento de malas hierbas.

Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar la interacción de *Trichoderma* y el herbicida simazina en posturas de *Pinus caribaea*, y su respuesta en el crecimiento y desarrollo con la inoculación de hongos micorrizógenos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento fue realizado en la Estación Experimental Forestal de Viñales, provincia de Pinar del Río, con posturas de *Pinus caribaea* Barret y Golfari en el período comprendido desde febrero hasta septiembre de 1994.

Conociendo los resultados alcanzados por [Heredia *et al.*, 1996] y [Castellanos *et al.*, 1998] en cuanto al incremento en la germinación de las semillas, en el número de plantas sanas y disminución de la mortalidad al tratarlas con el biocontrolador *Trichoderma*, se le realizó a las semillas de pino un tratamiento pregerminativo, y posteriormente otro con *Trichoderma* líquida y en polvo.

Todas las plántulas de los distintos tratamientos crecieron en un suelo micorrizado (100%) extraído de un pinar de *Pinus caribaea* en los alrededores del sitio experimental.

Relación de tratamientos realizados

T₁: Testigo absoluto. Inmersión de semillas en agua a temperatura ambiente durante 48 horas.

T₂: *Trichoderma* líquida. Inmersión de semillas en agua a temperatura ambiente durante 24 horas; el resto, a completar 48 horas con *Trichoderma* líquida.

T₃: *Trichoderma* polvo. Inmersión de semillas en agua a temperatura ambiente durante 48 horas. Posteriormente mezcla con *Trichoderma* en polvo durante 24 horas.

T₄: *Trichoderma* líquida más simazina. Inmersión de semillas en agua a temperatura ambiente durante 24 horas; el resto, a completar 48 con *Trichoderma* líquida. Posteriormente, a los 3,5 meses, se aplicó la dosis de simazina establecida para vivero.

T₅: *Trichoderma* en polvo más simazina. Inmersión de semillas en agua a temperatura ambiente durante 48 horas, posteriormente mezcladas con polvo de *Trichoderma*. A los 3,5 meses después de la siembra se le aplicó la Simazina.

T₆: Simazina. Inmersión en agua a temperatura ambiente durante 48 horas. Aplicación de simazina 3,5 meses después de sembrada.

La simazina fue aplicada a los 3,5 meses a razón de 1,0 kg/ha i.a. con una asperjadora manual SWISS-MEX con boquilla de cono, y una solución final de 500 L/caldo/ha.

Las evaluaciones fueron realizadas de forma sistemática, cuantificando el número de semillas germinadas y la afectación de las posturas (clorosis y *damping-off*).

Al desmontar el experimento siete meses después, se consideraron los siguientes indicadores: altura (cm), diámetro en el cuello de la raíz (mm), peso seco foliar y radical (g), e infección micorrizógena (%), este último parámetro según el método de [Garbaye, 1983].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la *Tabla 1* se relacionan los por cientos de germinación por tratamiento, indicándonos los valores obtenidos que no existen diferencias en cuanto a ellos.

Tabla 1. Comportamiento de la germinación. Porcentaje de plantas germinadas y muertas por tratamientos

Tratamiento	Germinadas		Muertas	
	Total	(%)	Total	%
T ₁	98	90,7	6	6,1
T ₂	108	100	7	6,4
T ₃	108	100	9	8,3
T ₄	108	100	5	4,6
T ₅	108	100	5	4,6
T ₆	106	98	8	7,4

Se puede observar que en los porcentajes de plantas germinadas y muertas sí hubo diferencias con una $p = 0,05$.

En cuanto a la protección de la semilla con el hongo *Trichoderma*, en este trabajo no se puede decir por los resultados cuál fue el más efectivo, pues al observar los datos de la tabla no se señalan diferencias significativas en cuanto al número de plantas muertas por una u otra causa (clorosis y *damping-off*).

Solamente los casos de los tratamientos T_4 y T_5 presentaron una ligera disminución de plantas muertas, pero esto no señala ningún nivel de significación en el resto de los tratamientos, incluyendo aquí, por supuesto, al testigo.

Como se puede ver en el experimento realizado, tanto *Trichoderma* en polvo como la líquida ofrecen un mismo efecto protector sobre las posturas de pino.

Acerca del herbicida utilizado (simazina), no se observó ningún tipo de fitotoxicidad sobre las posturas de pino; tampoco efectos negativos en relación con el hongo *Trichoderma*, respuesta esperada, ya que los resultados obtenidos por Duarte *et al.* (1993) reflejaron la compatibilidad de este producto con el biocontrolador.

En cuanto a la efectividad del herbicida, este mantuvo los mismos niveles de control para las gramíneas y dicotiledóneas una vez pasados los 30 días de su aplicación, siendo inefectivo contra la especie *Cyperus rotundus* L., coincidiendo con lo reportado por [Fernández (1983) y Betancourt *et al.* (1989)].

En relación con la micorriza, los resultados obtenidos son similares a los reportados por Fernández (1983) en Venezuela, donde plantea que la simazina en dosis de 1,0-5,0 kg/ha i.a. no afecta a la micorriza de *Pinus caribaea* subespecie *caribaea*. Además, Betancourt *et al.* (1989) reportan la presencia de cuerpos fructíferos de especies micorrizógenas *Pisolithus tinctorius* y *Telephora terrestris* en los alrededores del sitio experimental donde se aplicaron las dosis de simazina 1,0 kg/há. i.a. en posturas de la subespecie antes mencionada.

En la *Tabla 2* se muestran los valores promedios de los caracteres de crecimiento e infección micorrizógena para los distintos tratamientos. Estadísticamente no hubo diferencias significativas en la altura, diámetro en el cuello de la raíz, peso seco foliar y radical, aunque en estos dos últimos indicadores los valores absolutos de los tratamientos experimentales (T_2 , T_3 , T_4 , T_5 y T_6) fueron superiores al tratamiento testigo (T_1).

Tabla 2. Caracteres de crecimiento e infección micorrizógena en posturas de *Pinus caribaea* subespecie *caribaea*

Tratamiento	Altura (cm)	Diámetro (cm)	Peso seco foliar (g)	Peso seco radical (g)	Infecc. micorriz. (%)
T_1	12,9 a	2,0 a	0,8 a	0,11 a	10,0 a
T_2	12,6 a	2,2 a	0,9 a	0,15 a	25,0 b
T_3	14,1 a	2,2 a	0,9 a	0,17 a	12,5 d
T_4	12,6 a	2,0 a	0,9 a	0,14 a	30,0 b
T_5	11,8 a	2,1 a	0,9 a	0,12 a	45,0 a
T_6	13,7 a	2,2 a	0,9 a	0,16 a	17,5 c
Promedio	12,8	2,1	0,9	0,14	23,3

Letras iguales en una misma columna no difieren significativamente.

Al analizar la infección micorrizógena se detectaron diferencias altamente significativas del tratamiento cinco con respecto a los demás, pudiendo ser una de las causas posibles la mayor concentración de esporas de *Trichoderma* producto de la adición del biocontrolador en forma de polvo. Lo anterior pudo motivar una mayor interacción sinérgica con los hongos micorrizógenos que se encontraban en el mismo sustrato.

Por otro lado, la menor micorrización (10%) se encontró en las posturas del tratamiento testigo, lo cual indi-

ca que la fuente de inóculo utilizada para establecer una simbiosis micorrizógena adecuada (alrededor del 40-50%) en el sistema radical de las plantas, no fue efectiva en la cantidad de propágulos potencialmente infectivos. Sin embargo, debe señalarse que la adición de *Trichoderma* —en forma líquida o polvo T_2 y T_5 — y simazina en ese mismo sustrato micorrizado presumiblemente estimuló, en cierta medida, la infección micorrizógena, reflejándose en un mayor porcentaje de micorrización que el presentado por el tratamiento testigo.

CONCLUSIONES

- Se corroboraron los resultados obtenidos *in vitro* en cuanto a la no toxicidad del herbicida en relación con *Trichoderma* sp.
- Se observó una correspondencia en cuanto al mayor porcentaje de micorrización y la supervivencia en las plantas tratadas con *Trichoderma*.
- No se presentaron afectaciones en la simbiosis pi-no-micorriza al aplicar el herbicida simazina. No se observó además ningún efecto negativo a la simbiosis, la aplicación de *Trichoderma* como biocontrolador.

REFERENCIAS

- Betancourt, M. *et al.*: «Aplicación de productos herbicidas con envases biodegradables con las especies *P. caribaea* y *E. saligna*», *Boletín Técnico Forestal* no. 1, La Habana, 1989.
- Castellano L. *et al.*: «Posibilidades de uso de *Trichoderma* spp. para el control de enfermedades fungosas en especies forestales», II Congreso Forestal, La Habana, 1998.
- Duarte, Ángela *et al.*: «Posible compatibilidad de *Trichoderma* sp. vs. herbicidas usados en viveros forestales», I Encuentro Nacional Científico-Técnico de Bioplaguicidas, La Habana, 1993.
- Fernández, R.: «Aplicación de diferentes herbicidas en viveros con *Pinus caribaea* en Venezuela», *Venezuela Forestal* 2(10): 10-52, Venezuela, 1983.
- Garbaye, J.: «Premier resultats de recherches sur la competelivite des champignons ectomycorhiziens», *Plant Soil* 71: 303-08, 1983.
- Gibson I. A. S.; R. Salinas Quinard: «Nota sobre enfermedades forestales y su manejo», *Boletín Técnico* 106, México, 1985.
- Heredia, Irma *et al.*: «Biocontrol con *Trichoderma* spp. de hongos asociados a las semillas» IV Encuentro Científico-Técnico de Bioplaguicidas, IV EXPOCREE, Memorias, INISAV, La Habana, 1996.
- Muñío Bertha L.; Mercedes Sáenz: «Efecto de los plaguicidas sobre *Trichoderma* spp.», VII Jornada Científica, INIFAT MINAG, La Habana, 1994.
- Jacas J. A.; E. Viñuela: «Los efectos de los plaguicidas sobre los organismos beneficiosos en la agricultura. II Fungicidas», *Phytoma* no. 48, España, 1993.
- Rivas Platero G.; J. Cuervo Andrade: «Interacción de hongos endomicorrizogenos con *Meloidogyne exigua* en café», *Manejo Integrado de Plagas* (49): 68-72, 1998.

COMPATIBILIDAD DE *BEAUVERIA BASSIANA* Y *METARHIZIUM ANISOPLIAE* CON ENDOSULFAN 50% C.E. EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Noris B. Padrón,¹ Cecilia Toledo,² L. A. Rodríguez,² D. Núñez² e Irina Pérez¹

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

² Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, Figueredo 508 e/Línea y M. Echeverría, Bayamo, Granma, CP 85100

RESUMEN

El uso de los hongos entomopatógenos constituye un elemento importante dentro del manejo integrado de plagas, estos pueden ser encontrados de manera natural en los agroecosistemas, controlando un gran número de plagas de insectos. Por la importancia que reviste conocer el efecto de los insecticidas cuando son mezclados con los entomopatógenos, nos propusimos evaluar la compatibilidad de *Beauveria bassiana* (cepa LBB-1) y *Metarhizium anisopliae* (cepa Niña Bonita) con el endosulfan 50 % C.E. (thiodan). Este trabajo se desarrolló en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Granma, en el periodo comprendido entre mayo-julio de 1995. Se utilizó medio agarizado tratado con dosis completa, media y un décimo de ingrediente activo, y fueron evaluados cualitativa y cuantitativamente. La metodología empleada y la escala utilizada fue la establecida por el INISAV, de acuerdo con la cual el endosulfan resultó tóxico para *Beauveria bassiana* en todas las proporciones, no siendo así para el caso de *Metarhizium anisopliae*, que resultó ligeramente tóxico.

Palabras claves: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, compatibilidad, endosulfan

ABSTRACT

The use of entomopathogenic fungi in Integrated Pest Management is a key element. These microorganisms can be found naturally occurring in the agroecosystems, controlling a great number of pest insect species. Therefore, it's very important to know the effect of the chemical insecticides on entomogenous fungi when mixed together. In this paper the compatibility between *B. bassiana* (strain Bb-1) and *M. anisopliae* (Niña Bonita strain) and insecticide endosulphan 50 % EC (thiodan) was assessed. This work was developed in the plant health provincial laboratory of Granma dated on May-July 1995. A qualitative and quantitative assessment for the compatibility of *B. bassiana* and *M. anisopliae* with endosulphan was carried out using insecticide treated agar medium with the recommended dose (RD), the half RD and the tenth RD both the evaluation scale and the methodology used are those stated by INISAV. Endosulphan resulted toxic for *B. bassiana* at very concentration tested differing for *M. anisopliae* where the insecticide resulted slightly toxic.

Key words: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, compatibility, endosulfan

INTRODUCCIÓN

La capacidad toxicológica de los productos químicos aplicados en la agricultura para el control de plagas también afectan otros organismos. Ellos ocasionan el desarrollo de resistencia y resurgencias de insectos, permiten el aumento de plagas secundarias, eliminan los enemigos naturales, destruyen los insectos polinizadores y afectan la fauna silvestre y los animales domésticos [Vergara, 1991].

Bustillo *et al.* (1992) mencionan que los insecticidas en el campo sólo deben usarse como última medida, cuando las otras alternativas hayan sido agotadas.

El uso masivo de hongos entomopatógenos producidos en sustratos naturales para el control de insectos plaga,

viene estudiándose y llevándose a cabo en países como China, Cuba, Brasil y Venezuela [Antía *et al.*, 1992].

El hongo entomopatógeno *B. bassiana* (Bals) Vuill (Hyphomycetes) es uno de los agentes de control de muchas plagas. Sus huéspedes son principalmente miembros de los órdenes Lepidoptera y Coleoptera, incluyendo insectos de importancia económica en la agricultura [Storey y Godiner, 1986; Bustillo, 1991; citado por Rivera, 1993].

Por otra parte, *M. anisopliae* (Metsch) Sorokin (Hyphomycetes) se considera un agente natural de diversas especies de insectos considerados como plagas en cultivos de importancia comercial. Se ha encontra-

do en más de doscientas especies de insectos en siete órdenes, de los cuales, los coleópteros son los más comúnmente atacados. Se encuentra en forma saprofita en el suelo y como parásito de insectos [Barnett and Hunter, 1972] *M. anisopliae* tiene gran afinidad por insectos del suelo [Zinnermann, 1992].

Es posible que dadas las características dentro del marco del manejo integrado de plagas (MIP), la práctica del control microbiológico debe hacerse de forma coordinada con sus componentes para que no interfieran en su ejecución, como podría ocurrir con el uso de plaguicidas que limitan la población de enemigos naturales en los cultivos y reducen su impacto sobre las poblaciones de insectos plaga; además, con el uso de entomopatógenos es posible disminuir en forma racional este impacto. [Rivera, 1993].

Muchos estudios han indicado que los insecticidas pueden inhibir la actividad de *B. bassiana* [Ramarajaha *et al.*, 1967; Olmert y Kenneth, 1974; Clark *et al.*, 1982; Osborne y Boncias, 1985; River, 1992; King *et al.*, 1993, citado por Rivera, 1994], puesto que la exposición prolongada *in vitro* del hongo a formulaciones de insecticidas es determinante; la mezcla muestra un proceso que podría ocurrir en el campo [Rivera, 1994].

El control químico debe ir acompañado de otras medidas basadas en prácticas agronómicas, control cultural y control biológico [Bustillo, 1990].

El insecticida más recomendado para el control químico de la broca en muchos países productores de café afectados es el endosulfan. Sin embargo este insecticida es de alta toxicidad [Goebel, 1982], causa impacto adverso al ecosistema y a la fauna benéfica [Jiménez, 1995] y no existen antídotos para tratar casos de envenenamiento.

Bustillo (1992) realizó un experimento con el objetivo de evaluar la eficiencia de diferentes insecticidas para el control de la broca del café. Los insecticidas evaluados fueron: endosulfan, clorpirifos, pirifos-metil, malathion y fenitrotion. Los resultados indicaron que se puede obtener alta mortalidad de adultos de broca (mayor del 90 %) 24 horas después de iniciar la penetración en los frutos o sólo los que se encontraban en el canal de penetración. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de endosulfan, clorpirifos, fenitrotion y pirifos-metil. Sin embargo, el endosulfan causó la mortalidad más alta (98 %) y la menor se obtuvo con malathion (41 %).

La urgente necesidad de desarrollar estrategias para un empleo de programa de manejo integrado de plagas nos llevó a examinar *in vitro* la compatibilidad de *B. bassiana*, cepa LBB-1 y *M. anisopliae* (cepa Niña Bonita) con el insecticida endosulfan 50 % C.E., lo cual constituye el objetivo del presente trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se desarrolló en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Granma, en el período comprendido entre mayo-julio de 1995. Para su realización se utilizaron cepas procedentes de la micoteca del INISAV, *B. bassiana* (Bals) Vuill, cepa LBB-1 y *M. anisopliae* (Metsch) Sorokin, cepa Niña Bonita, ambas reproducidas en el laboratorio.

Se utilizaron placas Petri con medio sabouraud-dextrosa-agar (SDA), mezclado con endosulfan 50 % C.E., del cual se emplearon suspensiones basadas en las dosis de aspersión en el campo (DC), dosis media (1/2 DC) y una dosis menor (1/10 DC) para establecer un rango de subdosis.

Los testigos se inocularon en medios de cultivos iguales a los del tratamiento, pero sin mezclar con endosulfan.

En todos los casos los experimentos se organizaron mediante diseños experimentales completamente aleatorizados.

Para determinar el comportamiento de la germinación de *B. bassiana* se emplearon las tres variantes antes mencionadas, y un testigo con seis réplicas y tres repeticiones cada uno.

Se realizó una dilución de *B. bassiana* de 7×10^5 conidios/mL, de la cual se colocaron seis gotas equidistantes por placas. La incubación se realizó por 48 horas a $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

De cada gota se contaron cinco campos en el microscopio con el objetivo 40 x, y se determinó el porcentaje de germinación según Norma Cubana 72-02/1993. Con el fin de estudiar el crecimiento radial de la colonia, así como la influencia sobre la germinación causada por el insecticida, se utilizaron cinco placas con SDA por variante, una de las cuales tenía un cultivo fresco (dos días) de *B. bassiana* en SDA, y las cuatro restantes con la mezcla de SDA con endosulfan a la dosis correspondiente a cada uno de los tratamientos. Asimismo se procedió con el hongo *M. anisopliae* (cepa Niña Bonita). Se practicaron ponchetes en la porción central de cada placa con medio tratado, y los que se realizaron en ella fueron transferidos a las placas con el cultivo del hongo. Se procedió del mismo modo con el testigo.

Pasados cinco días se realizaron las evaluaciones. Se preparó un medio de cultivo líquido en tubos de ensayos (agua peptona) y se sembró por asada en cuatro tubos por variantes, tomando de la porción central de cada uno de los discos con *B. bassiana*, que permanecieron durante cinco días en las placas con SDA mezclados con endosulfan a las diferentes dosis. Se realizó la incubación por 48 horas, y luego se procedió a determinar el porcentaje de germinación de la media de cada tratamiento, como establece la NC-72-2/1993, y además se halló el porcentaje de inhibición de la germinación de la media por variante, en relación con el testigo según la fórmula de Abbot modificada, citado por Viñuela *et al.* (1993).

$$\text{Por ciento de reducción de la capacidad beneficiosa} = \frac{\text{diámetro de la colonia testigo} - \text{colonia conc.}}{\text{diámetro de la colonia testigo}} \times 100$$

Los valores en por cientos obtenidos se compararon con la escala de clasificación de plaguicidas del grupo de trabajo de la OILB [Jacas y Viñuela *et al.*, 1993].

Los resultados obtenidos en las revisiones del crecimiento radial de las colonias fueron procesados del modo anteriormente expuesto.

Se tomaron cuatro placas con el hongo *B. bassiana* crecidas sobre SDA (dos días) y se depositaron gotas equidistantes de una solución de la DC de endosulfan. Para el testigo se utilizó agua destilada estéril. La evaluación se realizó a los siete días, efectuando la medición en mi-

límetros de los halos de inhibición. Las medias se compararon con la escala citada por Calderón (1982).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como puede apreciarse en la *Tabla 1*, a las 48 horas la inhibición de la germinación de *B. bassiana* en las tres concentraciones de endosulfan alcanzó un ciento por ciento tóxico para este entomopatógeno, según la escala de la OILB. Resultados similares obtuvo Rivera (1993), el cual encontró que el endosulfan (thiodan) inhibió totalmente la germinación conidial de *B. bassiana* a las mismas dosis utilizadas en este experimento.

Tabla 1. Porcentaje de germinación promedio de *B. Bassiana* en SDA mezclado con endosulfan 50 % C.E. y testigo 48 horas después de la inoculación

Endosulfan 50%	Réplicas				Toxicidad
	I	II	III	Inhibición (%)	
DC	0,00	0,00	0,00	100	Tóxico
1/2 DC	0,00	0,00	0,00	100	Tóxico
1/10 DC	0,00	0,00	0,00	100	Tóxico
Testigo	93,9	88,8	90,0		

Rivera *et al.* (1994) plantean que el efecto inhibido de la germinación conidial se produce tempranamente en la mezcla debido al tipo de solvente utilizado, que tiene propiedades desecantes de la membrana citoplasmática, afectando la viabilidad de la conidia.

En la *Tabla 2* se refleja el comportamiento de la germinación de *B. bassiana* posterior a la inoculación en agua peptona, luego de haber permanecido durante cinco días en la porción central de las placas con SDA, mezclados con las tres dosis de endosulfan comparadas con el testigo. Como se observa, se manifiesta un proceso inhibitorio que está en relación directa con la concentración del insecticida, resultando tóxico para la dosis completa (DC), moderadamente tóxico para la mitad de ella y ligeramente tóxico para la décima parte. Rivera *et al.* (1994) coinciden con otros autores [Ramara-jahé *et al.*, 1977; Olmert y Kennet, 1974; Clark *et al.*, 1982; Osborne y Bucías, 1985; Rivera, 1992; King *et al.*, 1993] en afirmar que se observa un efecto fungistático de los insecticidas, cuyo efecto inhibitorio aumenta a través del tiempo de mezcla y, puesto que la exposición prolongada *in vitro* del hongo a formulaciones del insecticida es determinante, este mismo proceso podría ocurrir en el campo. Por otra parte, Gorden Lock-wood (1991), citado por Rivera *et al.* (1994) hallaron que mediante el análisis provit de dosis-mortalidad contra niveles de funguicidas, revelan una significativa tendencia de aumento en los valores

de la dosis letal media (DL 50) con el incremento de la fungistasis.

En la *Tabla 3* se observa que el endosulfan inhibió el incremento de *B. bassiana* resultando tóxico, según la escala de la OILB. Estos resultados concuerdan parcialmente con los de Rivera (1993), pues este refiere que el endosulfan causó una alta inhibición (96,07%) en el tratamiento fúngico de la DC. En un medio de la DC la inhibición fue de 71,65%, y en un décimo de DC la inhibición fue de 42,38 %. Sus resultados concuerdan con los hallados por Olmer y Kennet (1974) y Alves (1986), quienes encontraron que el producto tiene efecto sobre el crecimiento de *B. bassiana*. Al evaluar la acción de gotas de disolución de endosulfan a la DC sobre un cultivo de *B. bassiana* desarrollado formando un césped, se pudo observar la presencia de un halo alrededor de cada una. Las mediciones realizadas aparecen en la *Tabla 4*, las cuales, al ser comparadas con la escala utilizada por Calderón (1982), dan como resultado incompatibilidad entre endosulfan y *B. bassiana*. Inferimos que la presencia de estos halos está motivada por la acción determinante del insecticida y las propiedades desecantes de la membrana citoplasmática debido al tipo de solvente utilizado en las formulaciones, planteamientos realizados por Rivera *et al.* (1994). Consideramos que es importante profundizar en este sentido para poder concluir con certeza que, además del efecto fungistático, existe una acción fungicida relacionada con la dosis.

Tabla 2. Porcentaje de germinación e inhibición de *B. bassiana* a las 48 horas de inoculado por asada en agua peptona a partir de ponchetes que permanecía por cinco días en SDA

Producto	\bar{X} en %		Toxicidad
	Germinación	Inhibición	
DC	0,00	100	Tóxico
1/2 DC	16,67	82,11	Med. tóxico
1/10 DC	56,52	39,35	Med. tóxico
Testigo	93,20	-	-

Tabla 3. Crecimiento radial y porcentaje de reducción de la capacidad beneficiosa de *Beauveria bassiana* por endosulfan mezclado con SDA en relación con el testigo, a los cinco días de la inoculación

Endosulfan 50 % C.E.	\bar{X} crecimiento (mm)	Reducción de la capacidad beneficiosa (%)	Toxicidad
DC	0,0	100	Tóxico
1/2 DC	0,0	100	Tóxico
1/10 DC	0,0	100	Tóxico
Testigo	20,5	-	-

Tabla 4. Medida promedio de los halos de inhibición de *Beauveria bassiana* provocados por el contacto de gotas de endosulfan diluido a la DC después de siete días

	Réplicas			\bar{X}	\bar{X}	
	I	II	III	General	Testigo	
\bar{X} (mm)	2,125	1,857	2,071	2,018	0,00	Incompatible

Para el entomopatógeno *M. anisopliae* se evaluó el efecto que sobre este ejerce el endosulfan, midiendo el incremento radial de las colonias así como el porcentaje de disminución de la capacidad beneficiosa, cuyos datos aparecen en la *Tabla 5*. En ella se observa que a la DC y 1/2 DC se produjo un ciento por ciento de inhibición del crecimiento hasta el duodécimo día, mientras que para la dosis menor (1/10DC) se mantuvo entre 36,0% y 40,3% de inhibición o reducción de la capacidad beneficiosa. Al comparar estos resultados con la es-

cala de valores de la OILB, encontramos que para la DC y para 1/2 DC el endosulfan resulta tóxico al hongo, mientras que resulta ligeramente tóxico a la concentración de 1/10 DC. En la literatura consultada no se reportan trabajos de compatibilidad entre *M. anisopliae* y endosulfan. Atehortea *et al.* (1994) encontraron que clorpirifos, a una concentración de 50 ppm, inhibe totalmente la esporulación del hongo *M. anisopliae*, incluso a los 16 días después de sembrado, así como en el crecimiento micelial a los 18 días de sembrado en SDA.

Tabla 5. Crecimiento radial y por ciento de reducción de la capacidad beneficiosa de *M. anisopliae* por endosulfan mezclado con SDA en relación con el testigo a los 5, 7, 9, 12 días posteriores a la inoculación

Endosulfan	\bar{X} crecimiento (mm)				Reduc. de la capacidad beneficiosa (%)				Toxicidad
	5	7	9	12	5	7	9	12	
DC	0,0	0,0	0,0	0,0	100	100	100	100	Tóxico
1/2 DC	0,0	0,0	0,0	0,0	100	100	100	100	Tóxico
1/10 DC	21,75	25,5	34,38	41,63	36,0	40,1	39,2	40,3	Lig. tóxico
Testigo	34,0	44,25	56,63	69,75	-	-	-	-	

CONCLUSIONES

- Endosulfan 50% C.E. resultó tóxico a *B. bassiana* al evaluar el porcentaje de germinación para las tres dosis utilizadas.
- La viabilidad de los conidios de *B. bassiana* mezclado con endosulfan fue afectada de modo directamente proporcional a la concentración del insecticida, pues resultó tóxico para la dosis completa, moderadamente tóxico para un medio de DC y ligeramente tóxico para un décimo de DC.
- Una mezcla de endosulfan a la dosis de aspersión en el campo en contacto con un cultivo de *B. bassiana* desarrollado provoca un halo de incompatibilidad.
- El crecimiento radial de las colonias de *M. anisopliae* resultó inhibido a un ciento por ciento en presencia de mezcla de endosulfan a la dosis comercial como a la mitad de esta, manifestándose tóxico a estas concentraciones, mientras que a un décimo de la dosis comercial resultó ligeramente tóxico.
- Las aplicaciones de mezcla de endosulfan con *B. bassiana* y *M. anisopliae* no son recomendadas, pues los resultados *in vitro* muestran que la germinación es afectada por este.

REFERENCIAS

Antía L. et al.: «Producción en finca del hongo *B. bassiana* para el control de la broca del café». CENICAFE, Chinchina, Caldas, Colombia, no. 182, pp. 1-12, octubre 1992.

Atehortea, C. et al.: «Efectos de algunos agroquímicos en el crecimiento y esporulación del hongo *M. anisopliae*», *Revista Colombiana de Entomología* 20 (4) :255-260, 1994.

Barnett, H. L.: B. B. Hunter: *Illustrated general of imperfect fungi 3 the.*, Burgespubl., Ca, Minneapolis, 1972.

Bustillo P. A. E.: «Perspectivas de manejo integrado de la broca del café en Colombia», Seminario sobre la Broca del Café, Medellín (Colombia), 21 de mayo 1990.

Bustillo, P. A. E. et al.: «Guía para manejo de la broca del café en Colombia», Chinchina, Colombia, 1992.

Bustillo, P. A. E.: «Evaluación de otros insecticidas para el control de la broca del café», Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Disciplina de entomología. Chinchina, Colombia. Informe Anual de Labores, 1992.

Calderón, A.: «Metodología para la prueba de compatibilidad con el hongo *B. bassiana* (Bals) Vuill con herbicidas y fertilizantes», *Manual metodológico*, pp. 24-25, Cuba, 1982

Goebel, H; S. Gorbach: «Properties, Effects, Residues, and Analytics of the Insecticide Endosulfan». *Residues Review* (E.U.) 83 (1): 1-174, 1982.

Jacas J, A. y E. Viñuela: «Los efectos de los plaguicidas sobre los organismos beneficiosos en la agricultura. II. Fungicidas», *Phytoma* 48, España, 1993.

Jiménez R. M. T.: *Impacto del uso del endosulfan y clorpirifos sobre Apis mellifera L. y Bombix mori L. en ecosistemas cafeteros*, Santafé de Bogotá (Colombia) Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, 1995.

Rivera, M. A.: «Estudio sobre la compatibilidad del hongo *B. bassiana* (Bals) Vuill con formulaciones comerciales de fungicidas e insecticidas», *Revista Colombiana de Entomología* 19 (4):151-158, 1993.

—: «Compatibilidad de dos aislamientos de *B. bassiana* (Bals) Vuill en mezcla con insecticidas usados en el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari)», *Revista Colombiana de Entomología*, 20 (4): 209-214, 1994.

Norma Cubana 72-02. Biopreparados Entomopatógenos. Métodos de ensayos. Biotecnología Agrícola, Cuba, 1993.

Vergara, R. R.: «Análisis de la problemática de los plaguicidas en Colombia y alternativas de solución», Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, 18 Cali, Miscelánea, Sociedad Colombiana de Entomología, Colombia, 21: 23-44, julio1991.

Viñuela, E; J. A. Jacas ; V. Marcos: «Los efectos de los plaguicidas sobre los organismos beneficiosos en la agricultura y el grupo de trabajo de la OILB. Plaguicidas y Organismos Beneficiosos», España, no. 45, 1993.

Zinnermann, G.: «*M. anisopliae* and Entomopathogenic Fungus in Biological Crop Protection», *Symposium* 24, Bayer, 45 (63): 113-128, 1992.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LA CEPA LBT-25 DE *BACILLUS THURINGIENSIS* SOBRE OOTECAS DE *MELOIDOGYNE INCOGNITA*

L. A. Torres, O. Fernández-Larrea y M. Escobar

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 probó la actividad biológica de la cepa LBT-25 de *Bacillus thuringiensis* sobre ootecas jóvenes de *Meloidogyne incognita*. Un primer experimento fue diseñado para observar el efecto de un cultivo de esta cepa, a diferentes concentraciones, sobre las ootecas, y el segundo experimento estuvo dirigido a determinar la fracción activa presente en el cultivo. Ambos experimentos dieron como resultado que la cepa LBT-25 posee actividad ovocida sobre *M. incognita*, y esta se debe a una acción sinérgica entre los componentes del sobrenadante y la biomasa.

Palabras claves: *Bacillus thuringiensis*, *Meloidogyne incognita*, δ -endotoxina, β -exotoxina, actividad biológica

ABSTRACT

Biological activity of *Bacillus thuringiensis* LBT-25 strain on youth oothecae of *Meloidogyne incognita* was proved. First experiment was designed to observe the effect of a culture from this strain, at different concentration, over oothecae. Second experiment was directed to determine the active fraction present in culture LBT-25 strain has ovocidal activity against *M. incognita* and that is result of a synergic action between component of floating part and biomass.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, *Meloidogyne incognita*, δ -endotoxin, β -exotoxin, biological activity

INTRODUCCIÓN

Meloidogyne spp., dentro de los fitonemátodos, es uno de los principales agentes causantes de daños en cultivos, con pérdidas millonarias en la agricultura a escala mundial, reportándose solamente en las regiones tropicales con estimados que oscilan entre 11 y 25% de las cosechas [Sasser, 1979]. Existen diferentes estrategias de control, entre las cuales podemos mencionar la introducción de variedades resistentes, la rotación de cultivos y el uso de nematocidas químicos, entre otros [Atkinson, 1993]. Los nematocidas químicos han sido los más efectivos, pero se han limitado cada día más por su elevada toxicidad, que repercute en un profundo daño ambiental. Lo anterior ha motivado un incremento del control biológico dentro de programas de manejo integrado de fitonemátodos. El empleo de microorganismos entomopatógenos ha sido objeto de estudio en los últimos años, al grado que ya se tienen formulaciones comerciales de algunos de ellos, y son aplicados en varias miles de hectáreas en muchos países desarrollados [McCoy, 1990]. Entre los microorganismos que se reportan para el control de fito-

nemátodos se encuentra el hongo *Paecilomyces lilacinus* y las bacterias *Pasteuria penetrans* [Persis, A. et al., 1991], *Bacillus licheniformis* y algunas cepas de *B. thuringiensis* [Bone, L. W., 1989]. El presente trabajo aborda la detección de actividad nematocida sobre *M. incognita* en la cepa LBT-25 de *Bacillus thuringiensis* (Bt.).

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepa: Fue utilizada la cepa LBT-25 de Bt. perteneciente al cepario del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), conservada en cuña con agar nutriente a 4°C.

Para las pruebas se emplearon cultivos obtenidos por agitación en zaranda a 140 rpm y 28-30°C en un medio caldo nutriente [Oxoid. S.A.]. Los inóculos consistieron en suspensiones de esporas con una concentración inicial de 10⁷ esp/mL. Los cultivos agitados se mantuvieron durante 48 horas, y posteriormente se separaron en cuatro variantes, para lo cual fue necesario

centrifugar a 6 000 rpm durante 20 minutos una parte del cultivo. Las variantes resultantes fueron las siguientes:

Variante 1: Consiste en el cultivo sin tratamiento alguno (10^8 esp/mL).

Variante 2: Consta de la biomasa (esporas y cristales) obtenida por centrifugación a 6 000 rpm, y luego resuspendida en solución salina (NaCl al 0,85%)

Variante 3: Constituye el sobrenadante del centrifugado, el cual está formado por todos los componentes extracelulares presentes en el medio de cultivo, incluyendo las toxinas bacterianas.

Variante 4: No es más que la variante 3 anteriormente tratada a 121°C y 1,5 atmósfera durante 15 minutos.

Bioensayos

Para los bioensayos con nemátodos se usaron ootecas jóvenes de *M. incognita* esterilizadas con NaOCl al 2%. Las ootecas se colocaron en vidrio reloj para posterior inoculación.

En el primer experimento se utilizó como inóculo la variante 1 a diferentes concentraciones (10^{-1} , 10^{-2} y sin diluir) bañando las masas de huevos en un volumen de 10 mL.

En el segundo experimento se utilizaron las restantes variantes como inóculo (Variantes 2, 3 y 4) usando el procedimiento anterior con el objetivo de determinar si el componente biocida era extra o intracelular.

En ambos experimentos el control agua estéril. Las evaluaciones se realizaron cada 48 horas durante 10 días observando el número de huevos eclosionados. Cada tratamiento fue replicado cinco veces en un diseño completamente aleatorizado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Bioensayo 1

La cepa LBT-25 de *Bacillus thuringiensis* mostró actividad nematocida sobre las ootecas de *M. incognita*, evidenciado esto por el porcentaje de reducción de la eclosión de las ootecas en todas las diluciones de la variante 1 comparada con el control (Tabla 1). El mayor porcentaje de eclosión se observó a una concentración de 10^8 esp/mL. Este resultado concuerda con los trabajos de Sharma *et al.* en 1994 quien reporta actividad ovocida de *B. thuringiensis* sobre *M. incognita*.

Tabla 1. Efecto de la cepa de LBT-25 sobre ootecas de *M. incognita*

	Variante 1	Reducción de la eclosión (%)
LBT-25	Sin diluir (10^8 esp/mL)	100
	10^{-1}	88
	10^{-2}	66
Control	Agua estéril	0

Bioensayo 2

En el segundo ensayo se pudo observar que existe actividad tanto extra como intracelular, ya que en toda las fracciones hubo reducción de la eclosión (Tabla 2). La reducción de la eclosión por el sobrenadante puede es-

tar dada por la presencia de la β -exotoxina, lo que se evidenció en la fracción 3, ya que esta toxina es termoestable. Efectos nematostáticos y nematocidas de la β -exotoxina sobre fitonemátodos han sido reportados [Prasad *et al.*, 1972; Ignoffo y Dropkin, 1977; Bone, 1989; Noel, 1990].

Tabla 2. Efecto de las diferentes fracciones sobre ootecas de *M. incognita*

	Variante	Reducción de la eclosión (%)
LBT-25	V2(sin diluir)	100
	V2(10^{-1})	66,25
	V3(sin diluir)	100
	V3(10^{-1})	68,12
	V4(sin diluir)	100
	V4(10^{-1})	66,25
Control	Agua estéril	0

La biomasa debe su actividad fundamentalmente a la presencia de esporas y δ -endotoxina. Esta toxina pudo haber sido la responsable de la actividad biocida sobre *M. incognita* en el experimento, ya que han sido recientemente reportadas dos nuevas proteínas cristal (δ -endotoxina) activas contra nemátodos, la Cry V y Cry VI [Feitelson *et al.*, 1992], así como formulaciones comerciales que sólo contienen δ -endotoxinas y muestran actividad nematocida han sido recomendadas para el

control de fitonemátodos [Bone, 1989; Narva *et al.*, 1991], aunque no sobre *M. incognita*.

V2: biomasa; V3: sobrenadante tratado; V4: sobrenadante sin tratar; sin diluir = 10^8 esp/mL.

Estos bioensayos reflejan la existencia de una acción sinérgica entre la biomasa y el sobrenadante (Fig. 1). Diversos estudios han revelado la acción combinada entre la β -exotoxina, la δ -exotoxina y las esporas de un cultivo de *B. thuringiensis* contra larvas de insectos [Dubois, 1986].

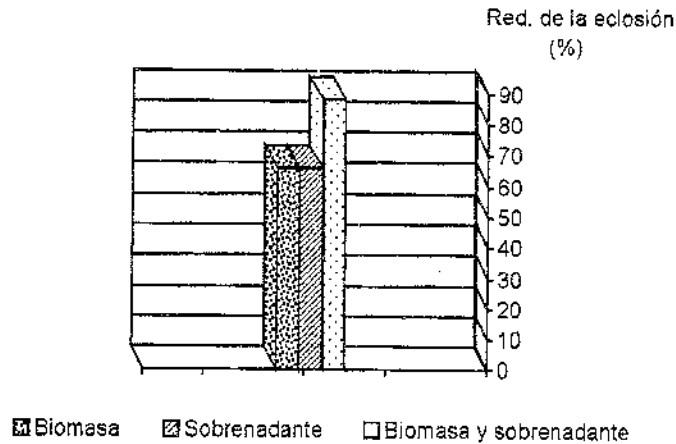


Figura 1. Sinergismo entre biomasa y sobrenadante.

CONCLUSIONES

- La cepa LBT-25 de *B. thuringiensis* posee actividad inhibitoria sobre las ootecas de *M. incognita*.
- Se encontró actividad tanto intra como extacelular (biomasa y sobrenadante), demostrándose una acción sinérgica entre ambas.

REFERENCIAS

Atkinson, H. J.: *Oportunities for Plant Molecular Biology in Crop Production*, Monograph 55, 1993, pp. 257-256.

Bone, L. W.: «Activity of Comercial *Bacillus thuringiensis* Preparation Against *Trichostrongylus colubriformis* and *Nippostrongylus brasiliensis*», *J. Invert. Pathology* 53:276-277, 1989.

Dubois, N. R.: «Synergism Between β -exotoxin and *Bacillus thuringiensis* Subspecies Kurstaki(HD-1) in Gipsy Moth, *Lymantria dispar*, larvae», *J. Invert. Pathology* 48:146-151, 1986.

Edwards, D. L.; J. Payne; G. G. Soares: «Novel isolates of *Bacillus thuringiensis* Having Activity Against Nematodes», *European Patent Application* 88: 307-309, 1989.

Feitelson, J. S.; J. Payne; L. Kim: «*Bacillus thuringiensis*: Insects and Beyond», *Bio/Technol.* 10: 271-275, 1992.

Ignoffo, C. M.; V. H. Dropkin: «Deleterious Effects of the Thermostable Toxin of *Bacillus thuringiensis* on Species of Soil-inhabiting, Myceliophagus, and Plant-Parasitic Nematodes», *J. Kansas Ent. Soc.* 50: 394-398, 1977.

Narva, K.E. *et al.*: «Novel *Bacillus thuringiensis* Microbe Active Against Nematodes, and Genes Encoding Novel Nematode-Active Toxins Cloned from *Bacillus thuringiensis* Isolates», *European Patent Application*, 1991

Noel, G. R.: «Evaluation of Thuringiensin for Control of Heterodera Glycines on Soybean», *Suppl. J. Nematol.* 22 (45): 763-766, 1990.

Prasad, S.; K. V. Tila; K. G. Gollakota: «Role of *Bacillus thuringiensis* on the Larval Survabiility and Egg Hatching of *Meloidogyne* spp., the Causative Agent of Root-Knot Disease», *J. Invertebr. Pathology* 20: 377-378, 1972.

Sasser, J. N.: *Root Knot Nematodes*, Ac. Press, Londres, 1979.

Sharma, R. D.: «*Bacillus thuringiensis*: a Biocontrol Agent of *Meloidogyne incognita* on Barley», *Nematol. Brasileira* 18: 79-84, 1994.

CONTROL DE RHIZOCTONIA SP. EN ALBAHACA BLANCA (OCIMUM BASILICUM L.) CON TRICHODERMA HARZIANUM CEPA 34

Marlene M. Veitía, V. García, Deysi Izquierdo, Ángela Porras y Wendy Wong

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 albahaca, *Ocimum basilicum* L., es cultivada en gran número de países por sus cualidades aromáticas, medicinales, ornamentales y melíferas. Es afectada por numerosos patógenos del suelo, entre los que se encuentra *Rhizoctonia solani* y *Rhizoctonia* sp. En la literatura se menciona un buen control de esta enfermedad en albahaca blanca mediante el fungicida etil tolclofos en tratamientos al suelo, utilizando bajas dosis. El contenido de residuos en plantas fue siempre inferior a 0,05 mg/kg de masa fresca. El trabajo se realizó en condiciones semi-controladas en el Área Experimental del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, ubicada en el municipio de Alquizar, provincia de La Habana. Se utilizó suelo ferralítico rojo típico, que presentaba una infestación natural con *Rhizoctonia* sp., el cual fue homogeneizado. Se utilizaron cuatro bandejas cada una con 1 800 cm de superficie, las cuales se dividieron en cuatro partes y estas se tomaron como réplicas. En cada réplica se sembraron 25 semillas (total 100 semillas por bandeja). Los tratamientos se realizaron al suelo antes de la siembra, y se utilizó *T. harzianum* cepa A 34 con una concentración de 2×10^9 con/g a 4, 6, 8 y 10 kg/ha, y se comparó con un testigo sin tratar. Las evaluaciones se realizaron a los 15, 30 y 45 días de realizada la siembra. Se determinó la intensidad de la afectación mediante la fórmula de Townsend-Heuberger, y la eficacia de los tratamientos mediante la fórmula de Abbot. Los resultados demuestran que los mayores porcentajes de germinación y los menores de afectación se alcanzan con *T. harzianum* cepa A 34 a las dosis de 8 y 10 kg/ha en el cultivo de *O. basilicum*. Este preparado biológico a esas dosis presenta gran efectividad en el control de *Rhizoctonia* spp.

Palabras claves: *Rhizoctonia* sp., *Trichoderma harzianum*, *Ocimum basilicum*, plantas medicinales, control

ABSTRACT

Basil, *Ocimum basilicum* L., is cultivated in several countries by its aromatic, medicinal, ornamental and honey producer qualities. This plant is affected by several soil pathogens, like *Rhizoctonia solani* and *Rhizoctonia* sp. Good control of this disease on white basil by means of ethyl tolclofos fungicide in soil treatments using low doses is referred in literature. Residues content in plants was always inferior to 0.05 mg/kg of fresh mass. Work was carried out in quasi-controlled conditions in Experimental Area of Plant Health Research Institute, located in Alquizar, Havana province. Typical Red Ferralitic soil, which presented natural infestation of *Rhizoctonia* sp. was used. It was homogenized. 4 trays each one of them with 1800 cm of surface were used and they were divided in 4 parts as replicas. 25 seeds were sowing in each replica (100 seeds by trays). Soil treatments were realized before sowing and was used *T. harzianum* A-34 strain with a concentration of 2×10^9 con/g at 4, 6, 8 and 10 kg/ha and was compared with a witness without treatment. Evaluations were made at 15, 30 and 45 days since sowing. Intensity of affectation was determined through Townsend-Heuberger formula and treatment efficacy by Abbot formula. According to results the highest germination percentages and the lowest affectation percentages were obtained by *T. harzianum* A 34 strain at doses of 8 and 10 kg/ha in *O. basilicum*. This biological preparation at those doses presents great effectivity in the control of *Rhizoctonia* spp.

Key words: *Rhizoctonia* sp., *Trichoderma harzianum*, *Ocimum basilicum*, medicinal plants, control

INTRODUCCIÓN

La albahaca, *Ocimum basilicum* L., fue llamada *hierba reina* por los griegos, y su nombre proviene de la palabra griega *basileus* que quiere decir rey o reina [Méndez, 1998]. Introducida en Europa desde el siglo XVI y posiblemente en fecha no lejana en América [Fitomed, 1991; Fitomed, 1997], es en la actualidad cultivada en gran número de países por sus cualidades aromáticas,

medicinales, ornamentales y melífera [Granda *et al.*, 1988].

Esta planta es afectada por numerosas enfermedades en el follaje entre las que se encuentran *Alternaria alternata* [Méndez *et al.*, 1998], *Botrytis cinerea* Pers. Fr. [Gullino *et al.*, 1997], *Cercospora ocimicola* [Acosta, 1995], *Cercospora canescens* [Acosta *et al.*, 1998] y *Colletotrichum*

gloeosporioides (Penz) Sacc. [Gaelan y Gally, 1993; Miti-dieri, 1973; Méndez *et al.*, 1998 y Gullino *et al.*, 1997].

Entre los patógenos del suelo citados en la literatura como presentes en este cultivo se encuentran *Fusarium* sp., [Pscheidt, 1997] *Fusarium oxysporum* Schlechtend, [Wick and Haviland, 1992; Dutky and Wolkow, 1994; Keinath, 1994; Pscheidt, 1997], *Rhizoctonia solani* [Fari *et al.*, 1995; Gullino *et al.*, 1997; Méndez *et al.*, 1998; Minuto *et al.*, 1998] y *Rhizoctonia* sp., [Fari *et al.*, 1995], entre otras.

En la literatura existen algunos registros sobre el control de enfermedades de las plantas medicinales mediante diferentes métodos. Tal es el caso de Minuto *et al.* (1998), que mencionan un buen control de *Rhizoctonia solani* en albahaca blanca mediante el fungicida etil tolclofos en tratamientos al suelo, y utilizando bajas dosis. El contenido de residuos en las plantas fue siempre inferior a 0,05 mg/kg de masa fresca, excepto en invierno.

Este patógeno del suelo se presentó en el Área Experimental del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal en plantas de *O. basilicum*, y con el objetivo de controlarlo mediante productos biológicos se llevó a cabo el presente trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en condiciones semicontroladas en el Área Experimental del INISAV, ubicada en el municipio de Alquizar, provincia de La Habana; para ello se utilizó suelo ferralítico rojo típico, que presentaba una infestación natural con *Rhizoctonia* sp., el cual fue homogeneizado. El patógeno fue previamente identificado en el laboratorio de microbiología del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal.

Se utilizaron cuatro bandejas, cada una con 40 cm de ancho por 45 de largo (1 800 cm² de superficie), y una altura de 7 cm, las cuales se dividieron en cuatro partes, y estas se tomaron como réplicas. En cada réplica se procedió a sembrar 25 semillas (total 100 semillas por bandeja).

Los tratamientos se realizaron al suelo antes de la siembra, y se utilizó *Trichoderma harzianum* cepa A 34 con una concentración de 2×10^9 con/g, obtenida en el Centro de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos de la Empresa de Cultivos Varios de Alquizar. Se aplicó a cuatro dosis diferentes (4, 6, 8 y 10 kg/ha), y se comparó con un testigo sin tratar.

Las aplicaciones se efectuaron con un asperjador manual Matabi con 200 mL de solución final por tratamiento. En el testigo fueron aplicados 200 mL de agua destilada estéril.

Los muestreos se realizaron a los 15, 30 y 45 días de realizada la siembra. En cada tratamiento se contabilizó

el número de plantas germinadas para determinar el porcentaje de germinación.

Para determinar el porcentaje de afectación se evaluaron 40 plantas por variante (bandeja). Para ello se utilizó una escala de daño de cuatro grados donde:

- 0: planta sana.
- 1: plantas con ligera pudrición en el cuello.
- 2: plantas con ligera pudrición en el cuello y síntomas de marchitez en las hojas.
- 3: plantas inclinadas con avanzados síntomas de marchitez.
- 4: plantas muertas.

La intensidad de ataque de la enfermedad fue calculada mediante la fórmula de Townsend-Heuberger [CIBA-GEIGY, 1981], y la eficacia de los tratamientos mediante la fórmula de Abbot [CIBA-GEIGY, 1981].

Los datos obtenidos fueron procesados mediante el programa estadístico SAV al 5 % de significación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las evaluaciones realizadas para analizar el porcentaje de germinación en los diferentes tratamientos (Fig. 1) se observa que, aunque no existe diferencia significativa, los datos muestran una mayor germinación en las variantes con una dosis de 8 y 10 kg/ha de *Trichoderma* (90, 88 y 86 % de germinación en el primer caso y 92, 92 y 88 en el segundo caso, a los 15, 30 y 45 días de efectuada la siembra). Los resultados son muy similares en todos los intervalos. El menor porcentaje de germinación se obtiene en el testigo sin tratamiento (65, 69 y 68 % para cada intervalo), lo cual pudiera deberse a la influencia de la enfermedad *Rhizoctonia* sp.

Al analizar la afectación en las plantas de cada variante (Fig. 2) se observa que a los 15 días las mayores afectaciones ocurren en el testigo sin tratar (3,33 %) y en los tratamientos con *Trichoderma* a 4 y 6 kg/ha (1,95 y 1,11%) los cuales presentan diferencia significativa con respecto a las dosis mayores de *Trichoderma*, que tienen menor porcentaje de afectación (0,55 y 0,28 % respectivamente).

A los 30 días el testigo difiere significativamente del resto de los tratamientos con *Trichoderma*, y estos a su vez no presentan diferencias entre sí. Sin embargo, donde menor porcentaje de afectación se observa es con las dosis de 6, 8 y 10 kg/ha del biopreparado con 5; 3,06 y 3,61 % de eficacia respectivamente.

Transcurridos 45 días de sembradas las plantas, los tratamientos que presentan diferencia significativa en relación con el testigo son a 8 y 10 kg/ha de *Trichoderma harzianum*, las cuales presentan el menor porcentaje de afectación. A las dosis de 4 y 6 kg/ha del preparado biológico, aunque presentan menor porcentaje de afectación que el testigo, esta es mayor que en los tratamientos a la dosis de 8 y 10 kg/ha.

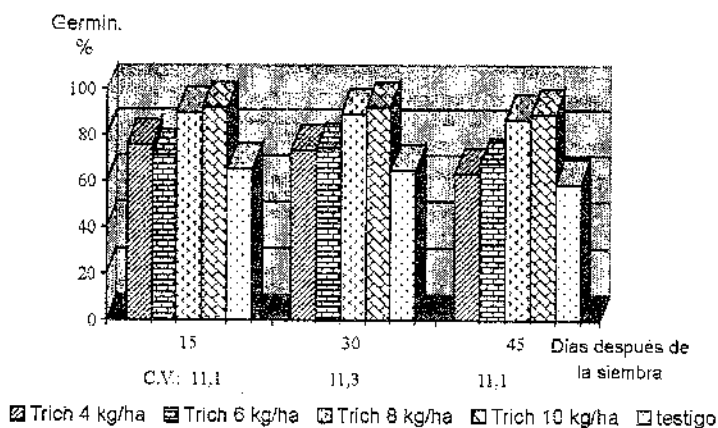


Figura 1. Evaluación de la germinación en los tratamientos para el control de *Rhizoctonia* sp. en albahaca blanca.

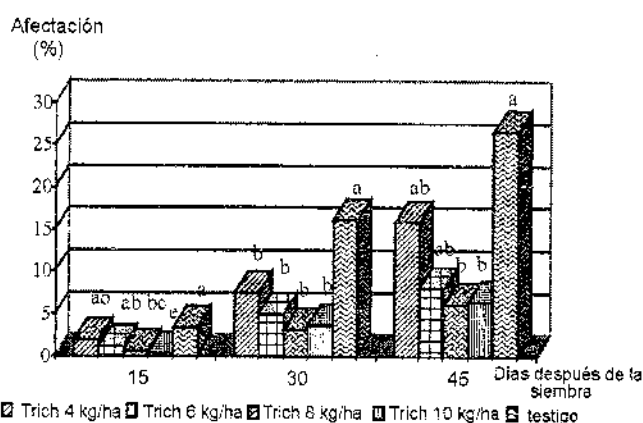


Figura 2. Evaluación de la afectación en los tratamientos para el control de *Rhizoctonia* sp. en albahaca blanca.

Al observar la eficacia de los tratamientos a diferentes dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de *Rhizoctonia* sp. (Fig. 3), se observa que las cuatro dosis del biopreparado presentan eficacia en el control de la enfermedad en los diferentes intervalos. A los 15 días de

sebrado el cultivo se presentan diferencias significativas entre los tratamientos y las dosis de 6, 8 y 10 kg/ha, se comportan como los mejores con 66,64; 83,36 y 91,67 respectivamente, aunque esta última presenta diferencia significativa con respecto a la menor dosis (4 kg/ha).

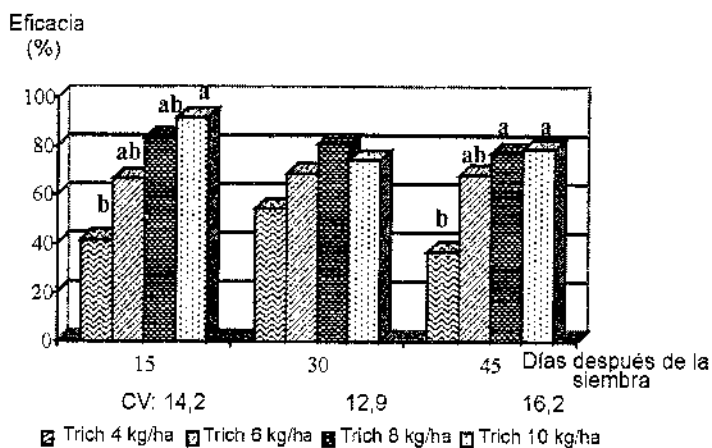


Figura 3. Evaluación de la eficacia de los tratamientos en el control de *Rhizoctonia* sp. en albahaca blanca.

En el resto de los intervalos, aunque no existe diferencia significativa, se observa que las dosis de 6, 8 y 10 kg/ha ejercen buen control de *Rhizoctonia* sp. en *O. basilicum* (68,4; 74,07 y 80,65 % de eficacia a los 30 días y 67,81; 77,20 y 78,50 % a los 45 días).

En experimentos con hortalizas, Fernández *et al.* (1996) obtuvieron que la germinación en semillas no tratadas fue inferior en todos los casos a la obtenida con las aplicaciones de *T. harzianum*. También Stefanova y Sandoval (1995) registraron una reducción favorable de los daños por *R. solani*, hongo involucrado en el *damping off* del tabaco.

Sandoval (1995) plantea que los tratamientos al suelo con *T. harzianum* resultan altamente satisfactorios para el control de *R. solani* y *P. parasitica* en tomate, y que la cepa A 34 es la más efectiva y la de mayor espectro de acción de todos los aislamientos. También Rincón (1992) plantea que, en recientes investigaciones, se demostró que *T. harzianum* es un agente efectivo de control biológico contra este patógeno del suelo.

Lo anterior tiene gran importancia, ya que existen registros de control de *Rhizoctonia* en albahaca blanca mediante la utilización de etil tolclofos en tratamientos al suelo, lo cual puede dejar residuos en la planta [Minuto *et al.*, 1998]. Sin embargo, dicho patógeno fue controlado mediante un preparado biológico, lo cual no deja residuos en el cultivo.

También Conway (1997) menciona el control de *Rhizoctonia* en romero (*Rosmarinus officinalis*) mediante la utilización del control químico y el biológico, así como medidas culturales. El control biológico utilizado fue *Trichoderma harzianum*.

CONCLUSIONES

- Los mayores porcentajes de germinación se alcanzan con *T. harzianum* a la dosis de 8 y 10 kg/ha en el cultivo de *O. basilicum*.
- Las mayores afectaciones ocurren en el testigo sin tratar.
- Los menores porcentajes de afectación se observan a las dosis de 8 y 10 kg/ha de *T. harzianum* cepa 34. El preparado biológico de *T. harzianum* a la dosis de 8 y 10 kg/ha presenta gran efectividad en el control de *Rhizoctonia* spp.

REFERENCIAS

- Acosta, L.: *Proporciónese salud: cultive plantas medicinales*, Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1995.
- Acosta, O. *et al.*: «Instructivo técnico: manejo integrado de plagas en plantas medicinales, aromáticas y condimenticias», *Fitosanidad*. Boletín no. 2, sept. 1998.
- Batista, F. R.: *El libro de la familia*, Ed. Verde Olivo, La Habana, 1991.
- Conway, K. E.; N. E. Maness; J. E. Motes: «Integration of Biological and Chemical Controls for *Rhizoctonia* Aerial Blight and Root Rot of Rosemary», *Plant Disease* 81(7): 795, 1997.
- Dutky, E. M.; P. Wolkow: «First Report os Fusarium Wilt of Basil in Maryland», *Plant. Disease* 78(12): 1217, 1994.
- Fari, D. F. *et al.*: *Fungi on Pans and Plants Products in the United States*, Second Printing, Minnesota, Estados Unidos, 1995.
- Fernández, E.: «Manejo Integrado de plagas en los organopónicos», *Boletín Técnico* 3 junio, 1996.
- Fitomed: *Plantas medicinales*. Ed. Ciencias Médicas, sept., 1991.
- : Base de datos de plantas medicinales. Albahaca. <http://www.info-med.sld.cu/fitomed/alb.html> (Consulta: diciembre, 1998).
- Gaetán, S. A.; M. E. Gally: «Antracnosis de la menta (*Mentha piperita* L.) causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.», *Boletín de Sanidad Vegetal* 19 (4): 673-676, España, 1993.
- Granda, M. M. *et al.*: «Perspectivas de utilización a gran escala de plantas medicinales en Cuba», *Boletín de Reseñas. Plantas medicinales* 1 mayo, 1988.
- Granda, M. M. *et al.*: «Recolección, secado y almacenamiento de plantas medicinales», *Rev. Plantas Medicinales*, CIDA, 1988.
- Gullino, M. L.; A. Garibaldi; G. Minuto: «First Report of "Black Spot" of Basil Iced by *Colletotrichum gloeosporioides* in Italy», *Plant. Dis.* 79(5), 1995, p. 539.
- Keinath, A. P.: «Pathogenicity and Host Range of *Fusarium oxysporum* from Sweet Basil an Evaluation of Disease Control Methods», *Plant. Dis.* 78(12):1211-1215, 1994.
- Less, P.: «Plantas que podrían sanear la economía del agricultor. Cultivos medicinales», *Rev. Agricultura de las Américas*, mayo 1986.
- Méndez, R. J.: Especies y hierbas. Listado de especies y hierbas. Albahaca-Basilico (basil) mayo, 1998. <http://208.197.136.19/cocina/especies/listado0.htm>
- Méndez, R. *et al.*: «Paquete tecnológico integral sobre plantas medicinales», Forum Tecnológico sobre Manejo Integrado de Plagas. MIP 98, Matanzas, sept. 1998.
- Minuto, A.: «Control de *Rhizoctonia solani* en albahaca», Cuadernos de Fitopatología, *Revista de Fitopatología y Entomología* 25(58). tercer trimestre, 1998.
- Mitidieri, I. Z. M.: «La antracnosis de la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) causada por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. y su forma asexual *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spaulding. y V. Schrenk., *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, Serie 5. Patología Vegetal, 10(2): 99, Argentina, 1973.
- OSU: «Extension Plant Pathology», *Plant Disease Control* (on line): an on line guide. [*Basil. fusarium* wilt], Oregon State University Department of Botany and Plant Pathology, 1997 <http://www.osu.orst.edu/dept/botany/epp/guide/B/basfuswil.html> [Consulta: 20 julio 1998]
- Rincón, G. A. A.; J. Legnizianon; G. Arbeláez: «Control biológico de *Rhizoctonia solani* con *Trichoderma* spp. en semilleros de café», *Cenicafé*. 43 (3) julio-sept. 1992.
- Roig, J. T.: *Diccionario botánico de nombre vulgares cubanos*, t. I y II, Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1988.
- : *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba*, t. I y II, Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1988.
- Sandoval, I. *et al.*: «*Trichoderma harzianum* (cepa A 34): un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomate y del pimiento», *Boletín Técnico* 3, noviembre, 1995.
- Stefanova, M.; I. Sandoval: «Efectividad de biopreparados de *Trichoderma* spp. en el control de hongos fitopatógenos de suelo», *Boletín Técnico* 2, mayo, 1995.
- Wich, R. L.; P. Haviland: «Occurrence of Fusarium Wilt of Basil in the United States», *Plant Disease* 76 (3):323, 1992.

UTILIZACIÓN DEL HONGO *HIRSUTELLA THOMPSONII* Y EL SANEAMIENTO A LAS PLANTACIONES COMO MÉTODO DE LUCHA CONTRA EL ÁCARO DEL COCOTERO *ERIOPHYES GUERRERONIS*

Aurora Suárez,¹ E. Ordúñez² y Lérica Almaguel³

¹ Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, Carretera Santiago Km 2½, Guantánamo, CP 95100

² Empresa Municipal Agropecuaria Baracoa

³ 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 realizó el estudio en una plantación de cocotero Enano Rojo de Malasia, de 10 años, ubicada en la zona de Bourque, Baracoa, en los meses de mayo a noviembre en los años 1989 y 1990. Fueron seleccionadas cuatro parcelas con 10 plantas cada una, donde se realizaron los tratamientos: aplicación de *Hirsutella thompsonii*, después del saneamiento de las plantas; aplicación del hongo acaropatógeno; saneamiento; y el testigo. El biopreparado fue aplicado en forma líquida a una dosis de 10^9 - 10^{10} conidios por planta, y con solución final de 1,5 L/planta. Las aspersiones se realizaron en horas de la tarde con una motomochila y dirigidas hacia tres racimos jóvenes (frutos entre 4-15 cm de longitud). El saneamiento consistió en la eliminación de hojas y espaldas viejas, racimos ya cosechados y frutos muy dañados por la plaga. Antes y después de los tratamientos se evaluó el porcentaje de parasitismo, grado medio de daño de la plaga, el rendimiento y calidad de la cosecha. El parasitismo natural del hongo se comportó de forma similar en todas las parcelas, oscilando entre el 6-8%; después de aplicar el medio biológico en la parcela con saneamiento se obtuvo a los 15, 30 y 60 días un parasitismo de 35, 61 y 75% respectivamente, mientras que en la no saneada fue de 20, 40 y 55%, existiendo diferencias significativas entre ellas. En las parcelas donde no se aplicó el producto biológico, el parasitismo se mantuvo bajo (1-3%), semejante al testigo. La efectividad de *H. thompsonii* fue superior cuando se aplicó después del saneamiento a la plantación, con máximos de 92,3% a los 60 días después del tratamiento, con rendimiento de 0,442 t, y sólo 9,6% de frutos con daños severos. Todas las variantes tratadas presentaron indicadores de rendimiento y calidad de la cosecha superiores a los obtenidos en el testigo, donde los daños severos alcanzaron un valor del 16%.

Palabras claves: *Eriophyes guerreronis*, *Hirsutella thompsonii*, medidas de control, saneamiento fitosanitario

ABSTRACT

A survey in the plantation of Malaysian Red Dwarf coconut to 10 years old located in the area of Bourque, Baracoa during the months May-November of 1989 and 1990 was made. It was selected four parcels with ten plants each where some treatments were made: Application of *H. thompsonii* and sanitation, application of *H. thompsonii* without sanitation, sanitation only and the control respectively. The biopreparation with *H. thompsonii* was applied in a liquid form in 10^9 - 10^{10} conidia/plant dosage, and final solution of 1.5 l/p. The sprays were made at evening using hand sprayer equipment directed to three bunches (nuts between 4-15 cm long). The sanitation consisted in the elimination of old leaves, others parts of the tree and the young nuts severely damage by the mite. Before and after the treatments it was evaluated the percentage of parasitism, middle degree of damage from the pest, and the out put and quality of crop; was evaluated at 30, 60 and 60 days the technical effectiveness of the biopreparation in the parcels where it was applied. It was obtained as a result that the percentage of parasitism of *Hirsutella*, technical effectiveness of the biopreparation and the out put together with the quality of crop increased while the level mite damage decreased where it was applied the biological agent and the sanitation to the plantation. It is recommended the use of this method of control of the coconut mite *Eriophyes guerreronis*.

Key words: *Eriophyes guerreronis*, *Hirsutella*, control measures, reparation phytosanitary

INTRODUCCIÓN

El cocotero (*C. nucifera* L.) es una planta universalmente conocida, sobre todo para los países situados en las zonas intertropicales [Fremond *et al.*, 1969].

El ácaro *E. guerreronis* es considerado hoy en día como una de las plagas que más afecta a este cultivo a nivel

mundial, por lo cual la FAO lo ha incluido en su lista de proyectos más urgentes [Ohler, 1986].

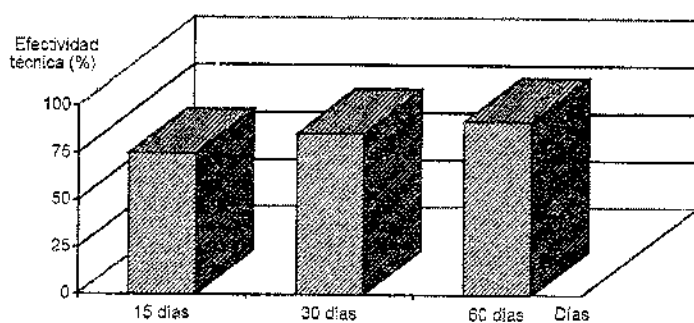
Contra este ácaro se han utilizado diversos métodos de lucha química que, en la mayoría de los casos, no han sido rentables para grandes plantaciones, debido a que

Tabla 1. Por ciento de parasitismo y grado medio de daño del ácaro *E.guerreronis*

Variantes	Antes del tratamiento		Después del tratamiento					
			15 días		30 días		60 días	
	P(%)	GMD	P(%)	GMD	P(%)	GMD	P(%)	GMD
Medio biológico más saneamiento	8 (a)	1,10(a)	35,0(a)	1,0 (a)	61,1(a)	0,54(a)	75,0(a)	0,15(a)
Medio biológico sin saneamiento	7(a)	1,00(a)	20,0(b)	1,0(a)	40,0(b)	0,70(b)	55,0(b)	0,51(b)
Saneamiento	6(a)	1,20(a)	3,0(c)	1,4(a)	3,0(c)	1,75(c)	3,0(c)	1,50(c)
Testigo	7(a)	1,60(a)	3,0(c)	2,0(a)	2,0(c)	3,00(d)	2,0(c)	3,0(d)
C.V. (%)	20	20,2	19,1	17,1	15,3	12	10,2	15,0

P(%): Por ciento de parasitismo natural por *H. thompsonii*

GMD: Grado medio de daño del eriódido



Ht + san = Hongo más saneamiento Ht = Hongo C.V. (%) = 16,3; 15,1; 13,2

Figura 1. Efectividad técnica (%) del biopreparado del hongo *H. thompsonii* en áreas saneadas (Ht + san) y sin saneamiento (Ht) a los 15, 30 y 60 días de la aplicación

Tabla 2. Rendimiento (T), cantidad total y número de frutos con grado máximo de daño del eriódido antes y después de los tratamientos

Variantes	Antes del tratamiento			Después del tratamiento		
	No. de cocos	Rendimiento (t)	Frutos con grado 4	No. de cocos	Rendimiento (t)	Frutos con grado 4
Medio biológico más saneamiento (Ht+san)	225	0,225	18	310	0,424	9,6
Medio biológico (Ht)	191	0,272	17,2	270	0,385	13,0
Saneamiento	185	0,264	15,6	200	0,285	14,8
Testigo	190	0,271	13,1	185	0,264	16,0

Hall *et al.* en 1980, recomendaron para el control de *E. guerreroni* al biorregulador *H. thompsonii*. Mc Coy (1980), puntualizó la patogenicidad específica de este hongo sobre ácaros, especialmente eriófidos y tetránicos.

CONCLUSIONES

- El por ciento de parasitismo y la efectividad técnica del hongo *Hirsutella thompsonii* fueron significativamente más altos en la parcela donde se efectuó un saneamiento a las plantas con valores a los 15, 30 y 60 días de 35, 61 y 75% para el parasitismo, y del 75,6; 85,6 y 92,3% para la efectividad técnica.

- El grado medio de daño del ácaro *E. guerreronis* disminuyó significativamente donde se aplicó el hongo *H. thompsonii* y el saneamiento, alcanzando su valor más bajo a los 60 días.

- Se observó un aumento en los rendimientos y calidad de la cosecha cuando se aplicó el biorregulador, pero esta última fue apreciablemente mayor donde se efectuó el saneamiento, pues de 16% de frutos afectados severamente disminuyó a 9,6%.

- El biorregulador *H. thompsonii* ejerce un mejor control sobre el ácaro *E. guerreronis* si la planta se encuentra saneada.

REFERENCIAS

- Cabrera, R. I.; Dalmis Domínguez: El hongo *Hirsutella thompsonii* y su importancia como biorregulador del ácaro del cocotero *E. Guerreronis* en Cuba, Resúmenes: I Jornada Científica del Instituto de Zoología, ACC, La Habana, 1982, p. 48.
- Cuba. Ministerio de la Agricultura: *Instructivo técnico para el cultivo del coco*, Departamento de Frutales, La Habana, 1990.
- Espinosa, B. A.; J. L. Carrillo: «El hongo *Hirsutella thompsonii* en el control del eriófido del cocotero *Eriophyes guerreronis* (Keifer)», *Revista Agricultura Técnica en México* 12(2): 319-323, México, julio-dic. 1986.
- Fremont, Y.; R. Zillier; M. Nucé de Lamothe: *El cocotero. Técnicas agrícolas y producciones tropicales*, Ed. Blume, Barcelona, 1969.
- Hall, A. R.; M. W. Hussey; D. Mariau: «Result of a Survey of Biological Control Agents of the Coconut Mite *Eriophyes guerreronis*», *Rev. Oleagineaux* 35 (8-9): 395-400, Francia, 1980.
- Julia, J. F.; D. Mariau: «Nouvelles recherches en Cote d'Ivoire sur *Eriophyes guerreronis* acarie ravageur des noix du cocotier», *Rev. Oleagineaux* 34 (4): 181-189, 1979.
- Mariau, D.; M. Tchibazo: «Essais de lutte chimique contre *A. guerreronis* (Keifer)», *Rev. Oleagineaux* 28 (3): 133-135, 1973.
- Ohler, J. G.: «El cocotero, árbol de vida», *Estudios FAO. Producción y Protección Vegetal* no. 57, FAO, Roma, 1986, p. 34.
- Suárez González, Aurora: «Búsqueda de hongos patógenos asociados a *E. Guerreronis* en la región de Baracoa», Informe final de investigación, Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Guantánamo, Cuba, 1987.
- : «Efecto del saneamiento a plantaciones de coco sobre los daños de *E. guerreronis*», Resúmenes: I Taller Internacional sobre Lucha Biológica contra el Ácaro del Cocotero, 16-21 noviembre, Baracoa, Cuba, 1992.
- : «Influencia de diferentes intensidades de ataque del ácaro del fruto del cocotero *E. guerreronis* en los rendimientos en masa, copra y aceite», *Ciencia y Técnica en la Agricultura*, Serie Protección de Plantas 13(14): 61-66, La Habana, 1990.

ALTERNATIVAS PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DEL PULGÓN PARDO DE LOS CÍTRICOS (*TOXOPTERA CITRICIDUS* KIRKALDY) (HOMOPTERA:APHIDIDAE)

E. Peña,¹ L. Villazón,² S. Jiménez,¹ L. Vázquez,¹ y L. Licor²

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

² Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera Central Extremo Oeste e/ 7 y 8, Vista Alegre, Zona 3, Ciego de Ávila, CP 65100

RESUMEN

La presencia en Cuba de *Toxoptera citricidus* Kirkaldy (Homoptera: Aphididae) ha motivado un gran interés por la eficiencia de esta especie en la transmisión del virus de la tristeza de los cítricos (VTC). La importancia de suprimir las poblaciones potencialmente vectoras ha conllevado a estudiar diferentes alternativas de control. Se estudió la efectividad de insecticidas, sustancias naturales y diferentes biopreparados a base de cepas de entomopatógenos, como *Verticillium lecanii* Zimm, *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) y *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill, todo lo cual se realizó en condiciones de producción en la Empresa Citrícola Ciego de Ávila, en la fase de ensayos a nivel de parcelas. Los entomopatógenos estudiados mostraron potencialidades, pues de las cepas del biopreparado *V. lecanii* evaluadas, la LBVL-8 y LBVL-3 a 10^8 esp/mL alcanzaron hasta un 76 y 78% de efectividad técnica, respectivamente. Por su parte, el hongo *P. fumosoroseus* a 10^8 esp/mL fue efectivo hasta un 85%, y la cepa Pinar del Río de *B. bassiana* a 10^8 esp/mL mostró efectividades de hasta un 83%. Las dos sustancias naturales evaluadas (concentrado emulsionable de aceite de semillas de *Azadirachta indica* A. Juss y extracto crudo de frutos de *Melia azedarach* L.) mostraron las mayores efectividades técnicas con 74 - 87% y 90% respectivamente.

Palabras claves: *Toxoptera citricidus*, virus de la tristeza de los cítricos, hongos entomopatógenos, sustancias naturales, *Azadirachta indica*, *Melia azedarach*, cítricos

ABSTRACT

A great interest to Cuba cause the presence of *Toxoptera citricidus* Kirkaldy (Homoptera: Aphididae), for the efficient it in the Citrus Tristeza Virus transfer. The importance of suppresses the potential vector populations to carry out studies about different control alternatives. Were studies the effectiveness of insecticides, natural substances and different biopreparation on the basis of entomopathogen strains, as *Verticillium lecanii* Zimm, *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) and *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. These studies were achieved in production conditions on Ciego de Avila Citrus Enterprise, in levels plot assay phase. Showed potentiality the evaluated entomopathogens, because the strain of *V. lecanii* biopreparation, the LBVL -8 and LBVL-3 to 10^8 esp/mL reached to 76 and 78 % effectiveness respectively. The fungi *P. fumosoroseus* to 10^8 esp/mL was effective to 85 % and *B. bassiana* (Pinar del Río strain) to 10^8 esp/mL showed 83 % of effectiveness. Were evaluated two natural substances (emulsifiable concentrate from the *Azadirachta indica* A. Juss oil seeds and crude extract from the *Melia azedarach* L. fruit) it show the major technical effective with 74 - 87% and 90% respectively.

Key Words: *Toxoptera citricidus*, citrus tristeza virus, entomopathogen fungus, natural substances, *Azadirachta indica*, *Melia azedarach*, citrus

INTRODUCCIÓN

El pulgón pardo de los cítricos *Toxoptera citricidus* Kirkaldy (Homoptera: Aphididae) es considerada una plaga originaria de Asia, probablemente de China [Roistacher y Moreno, 1991].

Yokomi *et al.* (1994) plantearon que en la actualidad *T. citricidus* se encuentra distribuido en América del Sur, América Central, por todo el arco de las Antillas, en Australia, en las islas del Pacífico, en África, al sur del Sahara y en el sudeste de Asia; quedan aún libres de su presencia las áreas citrícolas de América del Norte, la región del Mediterráneo y el Medio Oriente.

T. citricidus es la especie de áfido más identificada con los Citrus, la menos polífaga y se encuentra fundamentalmente sobre plantas de la familia Rutaceae, [Lee *et al.*, 1992]. Esta especie, al igual que *Aphis spiraeicola* Patch, produce en los brotes atacados enrollamiento en las hojas y causa serias malformaciones por su daño directo [Konar, 1990]; la afectación fundamental que produce a los cítricos es como difusor del VTC (virus de la tristeza de los cítricos), al ser su principal vector. Muchos autores plantean que en la década de 1940 fue

el responsable de la epidemia de VTC ocurrida en Argentina y Brasil, donde murieron 30 millones de árboles.

Existe una amplia experiencia en otros países donde esta plaga resulta dañina, sustentada en el uso de insecticidas para su control. Esta táctica logra un buen nivel de efectividad técnica, pero representa un alto costo ambiental.

En el caso particular de Cuba, en nuestras áreas cítricas, en las que desde hace años se aplica un programa fitosanitario de manejo integrado, con una alta recuperación de los biorreguladores de plagas, la utilización de insecticidas tendría un efecto negativo inmediato.

A partir de la detección de sus primeras afectaciones, se acometieron diferentes estudios de control que permitieran el manejo de *T. citricidus*, cuyos resultados se presentan en el siguiente trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el control de *T. citricidus* se llevó a cabo un ensayo de campo sobre plantas de naranja Valencia (*Citrus sinensis* Osbeck) de 25-30 años de edad, plantadas en la Empresa Cítrica Ciego de Ávila. Los estudios se realizaron durante el período de junio-septiembre de 1995.

Para el ensayo de campo se seleccionaron 20 brotes distribuidos en cinco plantas al azar para cada tratamiento y se realizaron dos aplicaciones con una asperjadora manual con intervalos de siete días. Las evaluaciones se tomaron a los 3, 5 y 7 días de cada aplicación y se evaluó en cada brote el grado de infestación presente por la escala descrita en el programa de defensa contra *T. citricidus* Kirk. [CNSV, 1995] (Tabla 1).

Tabla 1. Escala para evaluar el brote de cítrico según programa de defensa contra *T. citricidus*

Grado	Descripción
0	Sin infestación
1	De 1-5 pulgones
2	De 6-20 pulgones
3	De 21-100 pulgones
4	Más de 100 pulgones

Para los tratamientos se utilizaron los siguientes productos: concentrado emulsionable a base de aceite de semillas del árbol del nim (*Azadirachta indica* A. Juss)

80%, extracto crudo de semillas del árbol del paraíso (*Melia azedarach* L.) 50 %, el biopreparado a base de cepas de *Verticillium lecanii* Zimm. Viégas LBVL-1, LBVL-2, LBVL-3, LBVL-5, LBVL-6, LBVL-7 y LBVL-8, todas a una concentración de 10^8 esp/mL, *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown and Smith a 10^8 esp/mL, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. cepa Pinar del Río a 10^8 esp/mL, además de un biopreparado de *Bacillus thuringiensis* Berliner a base de la cepa LBT-13 a 10^8 esp/mL. Se utilizó como estándar de comparación el insecticida tradicional omethoate para el control de áfidos. Las medias se transformaron en $\sqrt{x+1}$ y los porcentajes en $\sqrt{\%}$ para someterlos a la prueba de comparación de medias de Newman Keuls para $p \leq 0,05$.

Los tratamientos y dosificaciones que se utilizaron se relacionan en la Tabla 2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 3 se muestra el resultado obtenido con la primera aplicación contra *T. citricidus* Kirk. Los mayores valores de efectividad técnica se encontraron con el hongo entomopatógeno *P. fumosoroseus* a los cinco y siete días de la aplicación respectivamente, el cual no difiere significativamente en ambas evaluaciones del estándar omethoate. Las cepas LBT-13 de *B. thuringiensis* y Pinar del Río de *B. bassiana* tampoco mostraron diferencias significativas con el producto químico utilizado; algo similar ocurrió con las cepas LBVL-3 y LBVL-8 de *V. lecanii*. También mostraron altas efectividades contra este insecto los concentrados emulsionables a base de semillas de árbol del nim y paraíso con 50,8 % y 70,6 % respectivamente; estos resultados son similares a los obtenidos por González *et al.* (1994), quienes no encontraron diferencias entre los porcentajes de superficie de las hojas dañadas por el minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton entre brotes tratados con extracto de paraíso con los insecticidas abamectin, butocarboxim o aceite de petróleo; tampoco Stansly y Knapp (1993) hallaron diferencias en el control del minador con extracto del nim, abamectin o aceite de petróleo sobre plantaciones jóvenes de toronja. El efecto antialimentario del extracto de semillas de paraíso sobre larvas de lepidópteros fue citado por Estrada *et al.* (1993).

En los resultados de la segunda aplicación (Tabla 4) se aprecia que los mejores valores de efectividad se encontraron a los cinco y siete días de la segunda aplicación. Ejercieron mejor control la cepa Pinar del Río de *B. bassiana* con 91,7 % de efectividad. Con los concentrados emulsionables a base de semillas de nim y paraíso se obtuvo 87,9 % y 90,0 % de mortalidad respectivamente. *B. thuringiensis* cepa LBT-13 mostró un 83,3%, y las cepas LBVL-3 y LBVL-8 de *V. lecanii* con 79,0 % y 76,7% respectivamente. Es bueno señalar que no se en-

contraron diferencias significativas entre las variantes antes mencionadas. Los resultados obtenidos con el microorganismo *V. lecanii* coinciden con los de Rondón *et al.* (1980), donde confirma en pruebas de patogenicidad su elevada capacidad patogénica sobre diferentes instares de *T. citricidus* y donde obtuvo más del 80 % de efectividad en las dos primeras semanas, además de im-

pedir que el insecto culminara su ciclo biológico. Otros autores como Nagaich (1973) y Hagen y Van Den Bosch (1968) han encontrado porcentajes de mortalidad de hasta 94% antes de los 14 días de asperjado el *V. lecanii* sobre colonias de áfidos (*Myzus persicae* Sulz., *A. craccivora* Koch, *A. rumicis* L., *Brevicoryne brassicae* L. y *Macrosiphoniella sanborni* Gill.).

Tabla 2. Productos y dosis utilizadas en ensayos contra *Toxoptera citricidus* Kirkaldy bajo condiciones de campo

Nombre del producto	Dosis (i.a o PC /ha) y concentraciones
Omethoate	0,05 %
Aceite del nim (<i>Azadirachta indica</i> A. Juss)	0,5 %
Extracto de paraíso (<i>Melia azedarach</i> L.)	3,0 %
<i>Verticillium lecanii</i> Zimm (cepas LBVL-1, LBVL-2, LBVL-3, LBVL-5, LBVL-6, LBVL-7 y LBVL-8)	10 l PC/ha (10 ⁸ esp/mL)
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> (Wize)	5 l PC/ha (10 ⁸ esp/mL)
<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) (cepa Pinar del Río)	5 l PC/ha (10 ⁸ esp/mL)
<i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner (cepa LBT-13)	4 l PC/ha (10 ⁸ esp/mL)

Tabla 3. Porcentaje de mortalidad de *Toxoptera citricidus* Kirkaldy en condiciones de campo. Primera aplicación

Variantes	Efectividad técnica (%)		
	72 horas	5 días	7 días
<i>B. bassiana</i>	39,47 a	51,32 ab	52,63 ab
Nim	31,34 a	50,75 ab	50,75 ab
Paraíso	35,29 a	45,59 b	70,59 a
<i>P. fumosoroseus</i>	32,39 a	60,56 a	54,93 ab
LBVL-3	32,89 a	44,74 b	50,00 ab
Omethoate	27,14 ab	52,86 ab	54,29 ab
LBVL-8	17,95 bc	28,21 cd	44,87 bcd
LBVL-1	15,38 bc	30,77 c	38,46 cd
LBVL-2	14,67 bcd	16,00 de	33,33 de
LBVL-6	16,22 bcd	27,03 cd	32,43 de
LBVL-5	11,59 cde	17,39 d	30,43 de
LBVL-7	6,25 def	12,50 de	22,50 e
<i>B. thuringiensis</i>	3,03 ef	28,79 cd	45,45 bcd
Testigo	2,53 f	7,59 e	6,33 f

C.V. (%)

3,08

1,98

1,87

D.E.

0,45

0,21

0,18

Tabla 4. Porcentaje de mortalidad de *Toxoptera citricidus* Kirkaldy en condiciones de campo. Segunda aplicación

Variantes	Efectividad técnica (%)		
	72 horas	5 días	7 días
<i>P. fumosoroseus</i>	56,25 a	62,50 abc	84,38 a
Nim	53,13 a	75,76 a	87,88 a
<i>B. bassiana</i>	52,78 a	83,33 a	91,67 a
Omethoate	52,63 a	87,50 a	93,75 a
LBVL-8	51,52 ab	67,44 ab	76,74 abc
<i>B. thuringiensis</i>	44,19 ab	63,39 abc	83,33 ab
LBVL-3	38,89 bc	68,42 ab	78,95 abc
Paraíso	35,00 bc	65,00 abc	90,00 a
LBVL-6	16,67 c	42,00 abc	68,00 abc
LBVL-5	13,00 cd	39,58 abc	58,33 abcd
LBVL-7	0,00 d	20,97 abc	37,10 bcd
LBVL-1	0,00 d	18,75 abc	33,33 cd
Testigo	0,00 d	8,11 d	20,27 d
LBVL-2	0,00 d	14,00 bc	34,00 bcd
C.V. (%)	26,7	20,1	25,5
D.E.	1,18	1,11	1,13

CONCLUSIONES

- Para el control del pulgón pardo de los cítricos *T. citricidus* Kirkaldy resultaron efectivos los biopreparados *B. bassiana* cepa Pinar del Río, *P. fumosoroseus*, la cepa LBT-13 de *B. thuringiensis* y las cepas LBVL-3 y LBVL-8 de *V. lecanii*, todos a una concentración de 10^8 esp/mL.
- Los insecticidas naturales en forma de concentrados emulsionables a base de semillas de árbol del nim (*A. indica* A. Juss) y paraíso (*M. azedarach* L.) demostraron su efecto antialimentario ante *T. citricidus*.
- Las variantes utilizadas con mejores resultados contra el pulgón pardo de los cítricos mostraron los mayores valores de efectividad a los cinco y siete días de la segunda aplicación.

REFERENCIAS

- Centro Nacional de Sanidad Vegetal: Programa de defensa contra el pulgón pardo de los cítricos. Ministerio de la Agricultura, La Habana, 31 enero 1995.
- Estrada, O. J.; J. M. País; R. Avilés; A. Morales: «Árbol paraíso (*Melia azedarach* L.) en Cuba. Su cultivo y empleo en la producción de un insecticida botánico», INIFAT, VIII Forum de Ciencia y Técnica, 1993.

- González, Nancy; E. Peña, A. Castellanos; C. González; I. Hernández; I. Cáceres: III Simposio de Zoología, junio, La Habana, 1994.
- Hagen, K. S.; R. Van Den Bosch: «Impact of Pathogens, Parasites and Predators on Aphids», *Annual Review of Entomology* 13, 325-384, 1968.
- Konar, A.: «Important Pests of Orange *Citrus reticulata* in the Darjeeling District, West Bengal», *Environmental Ecology* 8 (1) A., 1990, pp. 11-18.
- Lee, R. F.; C.N. Roistacher; C. L. Niblett; R. Lastra; M. Rocha-Peña; S.M. Garnsey; R. K. Yokomi; D. J. Gumps; J. A. Dodds: «Presence of *Toxoptera citricidus* in Central America: A threat to citrus in Florida and the United States», *Citrus Industry* 73:13-24.62, 63, 1992.
- Nagaich, B. B.: «Verticillium Species Pathogenic on Aphids», *Indian Phytopathol.* 26, 163, 165, 1973.
- Roistacher, C. N. & P. Moreno: «The World Wide Threat from Destructive Isolates of Citrus Tristeza Virus», — a review, pp. 7 – 19. In: R. H. Briansky, R. F. Lee & L. W. Timmer [eds], Proceedings, 11th Conference of the International Organization of Citrus Virologists IOCV, Riverside, C. A., 1991.
- Rondón, A.; G. E. Arnal; F. Godoy, F.: *Comportamiento del Verticillium lecanii* (Zimm) Viégas, patógeno del áfido *Toxoptera citricidus* (Kirk.), separata de la revista *Agronomía Tropical*, en.- dic. 30 (1-6): 201- 212, Maracay, Venezuela, 1980.
- Stansly, P. A.; J. L. Knapp: «Chemical Control of Citrus Leaf Miner in Florida Grapefruit», *Tropical Lepidoptera* 4 (1), 1993.
- Yokomi, R. K.; R. Lasra; M. B. Stoetzel; V. D. Damsteeg; R. F. Lee; S. M. Garnsey; T. R. Cottwald; M. A. Rocha – Peña; C. L. Niblett: «Establishment of the Brown Citrus Aphid (Homoptera: Aphididae) in Central America and the Caribbean Basin and Transmission of Citrus Tristeza Virus. Horticultural Research Laboratory, USDA», *Journal of Economic Entomology* 87 (4) pp. 1078-1085, 1994.

EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE AISLADOS DE *BACILLUS THURINGIENSIS* SOBRE *CYLAS FORMICARIUS ELEGANTULUS*

Eslinda Fernández, Orietta Fernández-Larrea, Felicia Piedra, M. Milán y Y. Díaz

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

RESUMEN

El tetuán del boniato (*Cylas formicarius elegantulus*) es la plaga que mayor afectación causa a este cultivo en Cuba. Con el fin de buscar nuevas alternativas de biocontrol a sus ataques, realizamos este trabajo, en el que se hizo la evaluación de la virulencia a nivel de laboratorio de cinco biopreparados de *Bacillus thuringiensis*, obtenidos por fermentación sumergida a partir de las cepas LBT-9, LBT-12, LBT-19, LBT-20 y LBT-25. En el estudio de fermentación se emplearon cuatro variantes de medios de cultivo complejos a fin de obtener el mejor para la reproducción de las cepas con mayor virulencia contra este insecto. Se determinaron las fracciones de los biopreparados con mejor efecto insecticida. Los biopreparados que mostraron mayor virulencia contra este insecto fueron LBT-19, LBT-20 y LBT-25. Los medios complejos MO y M10 fueron considerados los mejores para la reproducción de estas cepas. La biomasa y el cultivo fermentado total fueron los que mostraron mejor efecto toxicológico y patológico sobre esta plaga.

Palabras claves: *Bacillus thuringiensis*, *Cylas formicarius elegantulus*, control biológico, virulencia

ABSTRACT

Cylas formicarius elegantulus is the plague that bigger affectation causes to the cultivation of the sweet potato in Cuba. With the purpose of looking for new biological control alternatives to the attacks of this plague we carry out this work. In which was carried out the evaluation from the virulence at laboratory level of five *Bacillus thuringiensis* products obtained by submerged fermentation starting from the strains LBT-9, LBT-12, LBT-19, LBT-20 and LBT-25. Also in the study of fermentation four variants of complexes cultivation media were used to obtain the best for the reproduction of the strains more virulent against this insect. In another hand the fractions of the biological cultures were determined with better insecticide effect. The biological cultures that showed higher virulence against this insect was: LBT-19, LBT-20 and LBT-25. The complex MO and M10 media were considered the best for the reproduction of these strains. The biomass and the all fermentation broth were those that showed better toxic and pathological effect on this plague.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, *Cylas formicarius elegantulus*, biological control, virulence

INTRODUCCIÓN

El cultivo del boniato constituye uno de los principales alimentos para el hombre y los animales, tanto en Cuba como en el resto del mundo, por su gran contenido de sustancias nutritivas, especialmente azúcares. El costo de producción de este cultivo se ve encarecido por la gran cantidad de productos químicos que se utilizan para el control de su principal plaga, *Cylas formicarius elegantulus* Summ, conocida como tetuán del boniato, sin que se vean reducidos los daños, que pueden estar entre 30-40% de la producción. En nuestro país esta especie de coleóptero se convirtió en un problema serio para la producción en 1994, debido al notable incremento de los daños, con la consiguiente disminución de los rendimientos globales y de los tubérculos con calidad comercial [INIFAT, 1995].

Los resultados del trabajo *Manejo integrado del tetuán del boniato* mostraron que es posible reducir el daño técnico y económico cuando se utiliza *Beauveria bassiana*, *Paccilomyces fumosoroseus*, *P. lilacinus* y *Pheidole megacephala*, en un 17,3; 13,6; 22,2 y 14,8% respectivamente, en relación con el 32% que se logra con el tamarón (60%) [Piedra et al., 1995].

Con el objetivo de buscar nuevas estrategias de biocontrol para esta plaga, nos propusimos evaluar la virulencia de *Bacillus thuringiensis* sobre adultos de *Cylas formicarius* a nivel de laboratorio. Para lograr esto se observó la reacción de los insectos al ingerir el alimento asperjado con cinco biopreparados obtenidos por fermentación sumergida a partir de cinco cepas de esta bacteria. También se emplearon cuatro variantes para encontrar el mejor medio de cultivo donde se re-

produjeron los aislados que causaron mayor mortalidad. Se determinaron las fracciones de los medios de cultivo con mayor efecto insecticida.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislados bacterianos

El experimento se llevó a cabo en los laboratorios del INISAV, utilizando las cepas LBT-9, LBT-12, LBT-19, LBT-20 y LBT-25, pertenecientes al cepario de este centro, las que fueron seleccionadas atendiendo a su origen y serotipo. Las pertenecientes al serotipo H1 fueron empleadas como control.

Medios de cultivo

Los medios empleados para el mantenimiento y crecimiento de los cultivos fueron: agar nutriente; caldo Luria-Bertani (g/L) extracto de levadura, 5,0; triptona, 10,0; NaCl, 10,0, y los medios complejos: MO (g/L) levadura panadera, 2,5; levadura torula, 5,0; almidón, 2,5; M3 (g/L) almidón, 5,0; harina de soya, 8,0; CaCO₃, 1,0; M4 (g/L) almidón, 5,0; levadura torula, 35,0; K₂SO₄, 1,0; (NH₄)₂HPO₄, 2,0; M10 (g/L) almidón, 5,0; levadura torula, 10,0; harina de soya, 5,0; CaCO₃, 0,3 (Tabla 1).

Tabla 1. Características de los aislados

Aislados	Origen	Serotipos
LBT-9	<i>G. mellonella</i>	H1
LBT-12	?	H1
LBT-19	CIGB	*
LBT-20	CIGB	H8a8b
LBT-25	<i>P. litus</i>	*

*No se observó reacción positiva frente a los antisueros flagelares (H1 → H28.)

Procedimientos

a) Selección de los aislados (Bioensayo 1)

Se hicieron crecer en caldo LB hasta esporulación total en una zaranda termostata BIOZART 2013 durante 48 horas, con un régimen de agitación de 140 rpm y una temperatura de 30 ± 1°C. Posteriormente se adicionó ácido sórbico (0,5%), y los ensayos biológicos se realizaron con diez insectos en la fase adulta para cada réplica, y se emplearon tres para cada tratamiento. Los insectos fueron colocados en frascos de vidrio estériles de 9,5 X 12,5 cm. Después fueron dispuestos sobre hojas de boniato sanas, previamente asperjadas en el laboratorio con los cultivos fermentados y completamente esporulados de cada cepa, a razón de 10⁸ esporas/mL, de forma tal que las aspersiones dieron una cobertura uniforme al material de alimentación. Se co-

locaron tres réplicas como testigo. Los insectos se obtuvieron a partir de un pie de cría de laboratorio.

Se realizaron observaciones diarias para registrar la mortalidad durante 10-15 días. Los insectos muertos se colocaron en cámara húmeda para realizar los reaislamientos. La selección de los aislados se realizó teniendo en cuenta la mortalidad acumulada de cada uno y la presencia de esporas y cristales típicos de *B.t.* observados en cada uno de los reaislamientos y en el testigo.

b) Selección de los medios de cultivo

Los aislados seleccionados se hicieron crecer hasta esporulación total en los medios MO, M3, M4 y M10. Estos cultivos se agitaron durante 29-56 horas a 31 ± 1°C y 140 rpm. Posteriormente se realizó el conteo de esporas en cámara de Neubauer para cada variante en cada medio de cultivo. Se tomó en cuenta la presencia de cristales típicos para cada aislado, según las observaciones de las tinciones simples realizadas, lo que nos permitió asumir este conteo como equivalente de la cantidad de cristales [Bernhard y Utz, 1993].

Los medios de cultivo se seleccionaron teniendo en cuenta la mayor producción de esporas, sus componentes y el tiempo de fermentación.

c) Separación de fracciones (Bioensayo 2)

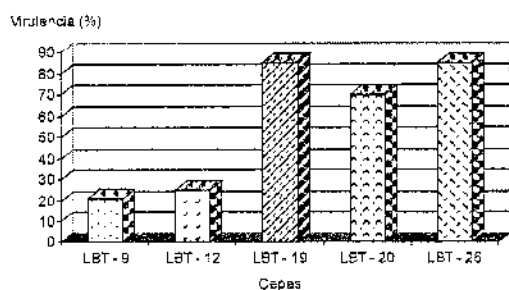
Los cultivos fermentados totales en los medios seleccionados fueron centrifugados a 5 000 rpm durante quince minutos, se lavaron dos veces con solución salina fisiológica. Posteriormente la biomasa fue resuspendida en solución NaCl (0,85%) pH = 7,2, manteniéndose el mismo volumen del cultivo inicial. La concentración y el rendimiento de esporas se cuantificó por conteo en cámara de Neubauer. El sobrenadante se dividió en partes iguales. Una de ellas fue tratada en autoclave a 121°C durante quince minutos, y la otra sin tratamiento, por lo cual para cada aislado se ensayaron tres fracciones y el cultivo fermentado total (CFT).

Los ensayos de patogenicidad se realizaron para las fracciones y el CFT, que se realizaron siguiendo la metodología descrita anteriormente para la selección de los aislados con mayor efectividad biológica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Selección de aislados

De los cinco aislados ensayados al nivel de laboratorio, sólo tres resultaron efectivos contra *C. formicarius* (LBT-19, LBT-20 y LBT-25), con una virulencia entre 70-85% en un período entre 10-15 días (Fig. 1).

Virulencia de aislados de *B.t.* sobre *C. formicarius*.

Estos resultados concuerdan con lo planteado por Krieg (1981), quien obtuvo en sus experimentos una alta susceptibilidad con esta bacteria cuando la enfrentó a diferentes ordenes de coleópteros.

Las cepas LBT-9 y LBT-12 no mostraron una alta virulencia sobre *C. formicarius*. Esto pudo deberse a que pertenecen al serotipo H1. Sin embargo, la LBT-20, perteneciente al serotipo H8a8b, mostró una mortalidad del 70% sobre estos insectos. Keller y Langenbruch (1993) plantearon que parece existir una relación entre el serotipo y el patotipo de los aislados que ejercen cierto control sobre coleópteros, siendo la conocida variedad san diego o morrisoni patogénica contra este orden de insectos. A esta variedad pertenece la cepa LBT-20.

Aunque no se ha podido determinar el serotipo de los aislados LBT-19 y LBT-25 debido a que no respondieron a los antisueros flagelares probados, sí mostraron actividad sobre este insecto, por lo que estos resultados no concuerdan con lo planteado por Keller y Langenbruch (1993). Estos aislados pueden diferir en serotipo con la LBT-20, pero está probado que la acción insecticida la realizan las deltaendotoxinas [Knowles y Dow, 1994; Wasano y Ohba, 1997; Bravo, 1997]. Además, aunque no se observó una mortalidad a las 48-72 horas, el comportamiento de los insectos se fue menos activo, cesando su actividad alimentaria, por lo que dejaron de producir daños.

Selección de medios

La selección y el mejoramiento de medios de cultivo constituyen el primer paso para obtener un biopreparado con alta efectividad biológica, de forma tal que el microorganismo pueda reproducirse y excretar al medio la mayor cantidad de productos con acción insecticida.

El MO resultó ser el mejor medio para la producción de esporas del aislado LBT-19, mientras que el M10 lo fue para el LBT-25; sin embargo, el LBT-20 no mostró diferencias significativas en la producción de esporas con las distintas variantes de medios ensayados (Tabla 2), por lo que podemos concluir que los mejores resultados se obtuvieron en los medios MO y M10, medios que se

acercan a la relación teórica C:N 1:2, necesaria para el desarrollo y esporulación de *B.t.*, según lo planteado por Rowe (1990) y Bernhard y Utz (1993).

Todos los medios probados contenían carbohidratos y fuentes nitrogenadas; las diferencias fundamentales en estas últimas estuvieron dadas por sus características y proporciones presentes en los medios complejos. Como conocemos, cada cepa posee una capacidad fisiológica diferente para asimilar los nutrientes, y en cada medio ensayado existe una disposición que puede estar balanceada o no, por lo que los resultados obtenidos dependen de estas causas y su interacción. En este caso la formación de esporas y la concentración de estas en cada uno de los medios de cultivo probados para la cepa LBT-20 no mostraron diferencias significativas, lo que hace probable que la capacidad fisiológica de esta cepa sea mayor.

Tabla 2. Concentración de esporas (10^8 esp/mL) de los aislados reproducidos en medios de producción

Medios	LBT-19	LBT-20	LBT25(esp/mL)
MO	6,94a	2,33a	5,30b
M3	3,08b	2,95a	4,44b
M4	3,96b	3,11a	3,80b
M10	4,48b	3,60a	6,65a
	S = 0,04 C.V. = 8,8%	S = 0,74 C.V. = 15%	S = 0,10 C.V. = 7,9%

* Las letras que difieren presentan diferencias significativas ($p=0,05$.)

Es conocido que las fuentes de nitrógeno amónico, como el extracto de levadura, favorecen la esporulación, mientras que las fuentes de nitrógeno anónico, como el hidrogenofosfato de amonio, alargan la fase de crecimiento logarítmico de la bacteria [Rowe, 1990; Devisety, 1994]. Los resultados obtenidos en nuestros experimentos corroboran este planteamiento, porque el tiempo de fermentación de todos los aislados en el medio M4 fue más largo que en resto de los medios. Estos resultados son similares a los obtenidos por Galán *et al.* (1996) y Vallejo *et al.* (1996), para cepas de *B.t.* que crecen en presencia de sales de amonio.

El hecho de que los resultados para la mejor reproducción de los aislados sea en diferentes medios, concuerda con lo planteado en los estudios de Bernhard y Utz (1993) y Vallejo *et al.* (1996), cuando recomiendan optimizar un medio de cultivo para cada cepa.

Separación de fracciones

Cuando se produce un insecticida microbiano existen diferentes formas para establecer el método de recobrado del ingrediente activo. En estos experimentos se obtuvo que

para estos insectos las fracciones con mayor actividad biológica lo constituyeron el CFT y la biomasa, por lo que los metabolitos excretados por la bacteria al sobrenadante tratado y al que no recibió tratamiento, no ejercieron un control apreciable a nivel de laboratorio. Se puede deducir que resulta conveniente la concentración de la biomasa por centrifugación, precipitación o filtración para obtener concentraciones de esporas y cristales insecticidas que permitan ejercer un mejor control del tetuán del boniato, como lo recomienda Payne (1993) en su patente sobre el uso de *B.t.* contra el escarabajo colorado de la papa [Devisety, 1994; Galán, 1996] (Tabla 3).

Tabla 3. Virulencia de fracciones en MO y M10 sobre *C. formicarius* (en porcentaje)

Fracciones	LBT-19	LBT-20	LBT-25
CFT	60b	79,3a	82,7b
Sobrenadante sin tratar	33b	31b	34c
Biomasa	100a	79,3a	100a
Sobrenadante tratado	46b	31b	34 c
Testigo	-	-	-
S	0,32	0,33	0,17
C.V.	14,2%	13,8%	6,9%

Debido a que la mortalidad acumulada fue mayor en la biomasa que en el CFT para los biopreparados obtenidos a partir de las cepas LBT-19 y LBT-25 y similar para la LBT-20, se hace necesario aclarar que la biomasa contenía fundamentalmente esporas y cristales insecticidas, con un porcentaje de pureza superior a los que se encuentran en el CFT. Este resultado concuerda con lo planteado por Keller y Langenbruch (1993), y Payne (1993), quienes refieren que la principal actividad insecticida de *B.t.* se encuentra en las deltaendotoxinas.

En los reaslamientos realizados a partir de insectos muertos se observó el crecimiento de colonias típicas de *B.t.*, lo que hizo evidente la patogenicidad a causa de la ingestión bacteriana.

Estos experimentos nos permiten concluir la primera etapa de la elaboración de un producto insecticida potencial contra *C. formicarius elegantulus*, basado en las propiedades insecticidas de la biomasa de estos tres aislados.

CONCLUSIONES

- Los mejores aislados para el control de *C. formicarius* fueron LBT-19, LBT-20 y LBT-25.

- Los medios MO y M10 fueron considerados los mejores medios para la reproducción de estos aislados.
- Las fracciones contenidas en la biomasa y el CFT fueron las que mostraron mayor virulencia.

REFERENCIAS

- Arévalo, N. K.: «Toxinas de *Bacillus thuringiensis*», Galán, L. J.; C. R. Avances recientes en la biotecnología en *Bacillus thuringiensis*, UNAM, México, 1996, p. 209.
- Bravo, A.: Phylogenetic Relationships of *Bacillus thuringiensis* Delta-Endotoxin Family Proteins and Their Functional Domains», *Journal of Bacteriology* 179(9): 2793-2801, 1997.
- Bernhard, K.; R. Utz.: «Production of *Bacillus thuringiensis* Insecticides for Experimental and Commercial Uses», Wiley and Sons. *Bacillus thuringiensis and Environmental Theory and Practice*, Colorado State University, Estados Unidos, 1993, pp. 255-256.
- Devisety, B. N.: «Production and Formulation Aspects of *Bacillus thuringiensis*», Akhurst, R. J. *Proceeding of the 2nd Canberra Meeting on Bacillus thuringiensis*, 1993, p. 95.
- Galán-Wong, et al.: «Producción de *Bacillus thuringiensis*. Galán, L. J.; C. R. Padilla; H. A. L. Olivera (eds.). Avances recientes en la biotecnología en *Bacillus thuringiensis*. UNAM, México, 1996, pp. 139-145.
- Instituto de Investigaciones Fundamentales en la Agricultura Tropical Alejandro de Humboldt (INIFAT): «Nuevo enfoque multidisciplinario para la lucha integrada contra el tetuán del boniato (*Cylas formicarius*) en Cuba», Proyecto de Investigación, 1995.
- Keller, B.; G. A. Langenbruch: «Control of Coleopteran Pest by *Bacillus thuringiensis* Crystal Proteins. A Genetic Approach», Wiley and Sons. *Bacillus thuringiensis and Environmental Theory and Practice*, Colorado State University, Estados Unidos, 1993, pp. 73-74.
- Knowles, B. H.; J. A. T. Dow: «Models for the Mode of Action of *Bacillus thuringiensis* Toxins in Vivo», Freer y col. (eds.). *Bacterial Protein Toxins*, Zbl Bakt. Suppl. 24, New York, 1994, pp: 345-346.
- Krieg, A.; G. A. Langenbruch: «Susceptibility of Arthropod Species to *Bacillus thuringiensis*», Burges, H.D. (ed.), Academic Press, Londres/New York, 1981, pp: 837-899.
- Neal, J. W. Jr. et al.: «Activity of the Thermostable Beta-Exotoxin of *Bacillus thuringiensis* Berliner on *Tetranychus Urticae* and *T. cinnabarinus*», *J. Agric. Entomol.* 4(1): 33-40, 1987.
- Payne: «Coleopteran-Active *Bacillus thuringiensis* Isolates and Genes Encoding Coleopteran-Active Toxins», Patente 5,262,324, Mycogen Corporation, 1993.
- Piedra, F. et al.: «Manejo integrado del tetuán del boniato *C. formicarius* (Summ)», Resúmenes X Fórum de Ciencia y Técnica INISAV, 1995.
- Rowe, G. E.: «Metabolism of Bacterial Sporulation Based on Branched Chain Aminoacids Cycles». *J. Ferm.* 77: 1-14, 1990.
- Royalty, R. N.; F. R. Hall; R. A. J. Taylor: «Effects of Thuringiensin on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) Mortality, Fecundity and Feeding». *J. Econ. Entomol.* 83(3): 792-798, 1990.
- Vallejo, L.; S. Orduz: «Producción de un bioplaguicida a base de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, a nivel de laboratorio», *Rev. Col. Entomología* 22 (1): 61-67, 1996.
- Wasano, N.; H. Saitoh; M. Ohba: «A High Homology Exists in N-terminal Amino Acid Sequences of Deltaendotoxins Between Lepidoptera-specific and Coleoptera-specific *Bacillus thuringiensis* Strains», *Letters in Applied Microbiology* 24: 438-440, 1997.

DEFINICIÓN DE PARÁMETROS DE APLICACIÓN MÁS EFECTIVOS PARA LA LUCHA CONTRA *BEMISIA TABACI* Y *EMPOASCA* SPP. EN EL CULTIVO DEL FRIJOL

C. Hernández, M. Delgado, Marlene Veitia y J. A. 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

En la Estación Experimental de Sanidad Vegetal en Alquízar, La Habana, se realizaron los experimentos con el propósito de conocer la efectividad de diferentes parámetros de aplicación para el combate de *Empoasca* spp. en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris*, L.). Se utilizó un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones y parcelas de 84 m². El producto utilizado fue el metamidophos, de conocida efectividad sobre este tipo de insecto, a dosis de 0,6 kg/ha i.a. Para realizar las aplicaciones se utilizó una asperjadora terrestre provista con bomba tipo PO-11 de baja presión. Se evaluó la calidad de aspersión sobre las hojas, la efectividad técnica en el combate de la plaga y los rendimientos de la cosecha. En condiciones similares se realizó la generalización en la CPA Gilberto León, de San Antonio de los Baños, sobre un área de 0,5 ha por variante, y evaluando también la mosca blanca (*Bemisia tabaci*). El método de aplicación de mayor efectividad resultó el de boquillas tipo B-20 cónica, con diámetro del orificio de salida de 1,6 mm, esquema de aspersión en forma de cortina, volumen de solución final entre 140-215 l/ha y velocidad de trabajo de 7,5 km/h, obteniéndose los mejores depósitos de ingrediente activo de plaguicida sobre las plantas y con mayor distribución de la cobertura de alta densidad de gotas, con efectividad significativa en la lucha contra *B. tabaci* y *Empoasca* spp., mayores rendimientos de la cosecha e incremento del rendimiento del equipo de aplicación de 73% y aumento de la ganancia en 77%.

Palabras claves: cobertura, esquemas de aspersión, volumen de solución final

ABSTRACT

On Experimental Station of Plant Health in Alquízar, La Habana, experiments were realized with the purpose to know the effectuality of several applications parameters for the control of *Empoasca* spp. in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). A design of block at random, with four repetitions and parcels of 84 m² was used. Metamidophos was the product used; it has recognized effectuality against this insect at doses of 0,6 kg/ha a. i. To make the applications was used a terrestrial sprinkler, provided with a low-pressure bomb PO-11. The quality of aspersion over leaves, technical effectuality in pest control and harvest yields were evaluated. In similar conditions, generalization was realized in CPA "Gilberto León" of San Antonio de los Baños, over an area of 0,5 ha per variant and also evaluating white fly (*Bemisia tabaci*). Method of application more effective was conical stems type B-20, with exit orifice diameter of 1.6 mm, scheme of aspersion in curtain form, final solution volume between 140-215 l/ha and work velocity of 7.5 km/h, getting the better deposits of pesticide active ingredient on plants and with greater distribution of the cover of drop high density, with significant effectuality in fight against *B. tabaci* and *Empoasca* spp., greater harvest yields and increasing of yield to the application equipment of 73% and increase of the gaining in 77%.

Key words: covering, aspersion schemes, final solution volume

INTRODUCCIÓN

Los salta hojas (*Empoasca* spp.) que atacan al cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) se encuentran dentro de las plagas de mayor importancia económica que lo afectan, las cuales constituyen una enorme población de insectos durante casi todo el período vegetativo y desde que la plántula emerge. De manera similar se comporta la mosca blanca, la que ha provocado severos daños al cultivo en los últimos años, presentándose fuertes afectaciones con grandes daños al área foliar, al normal desarrollo y rendimientos del cultivo [Murguideo *et al.*, 1982].

Se cuenta con productos tanto químicos como biológicos para la lucha contra *B. tabaci* y *Empoasca* spp.; sin embargo, la efectividad de la aplicación en el combate de esta plaga no sólo depende del producto utilizado y su dosificación, sino de un método de aplicación que permita la obtención de depósitos suficientes de ingrediente activo de los plaguicidas sobre el cultivo, en correspondencia con las dosis utilizadas, lo que depende de los parámetros de aspersión más efectivos para la colocación y distribución del plaguicida en relación con su modo de acción y el comportamiento de la plaga, así como las características particulares de cada

cultivo, lo que, además, es importante para la obtención de resultados, tanto técnicos como ecológicos [Lerch, 1980; Folber, 1980; CIBA-Geigy, 1994].

Para los tratamientos con plaguicidas sobre el cultivo del frijol no se dispone de un procedimiento de aspersión, donde se precisen los volúmenes de aplicación que permitan alta calidad en las aplicaciones y buena efectividad biológica en la lucha contra las plagas, con alto rendimiento del equipo de aplicación.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se desarrolló en la Estación Experimental de Sanidad Vegetal en Alquizar, La Habana, sobre suelo ferralítico rojo típico, bajo un diseño de bloque al azar con cuatro repeticiones y parcelas de ocho surcos con 84 m². Se utilizó la variedad de frijol ICA-Pijao, sembrándose a 0,70 m entre surcos, y las labores de cultivo se realizaron en correspondencia con lo orientado en el instructivo técnico para dicho cultivo.

En condiciones semejantes de suelo se desarrolló la generalización en la CPA Gilberto León de San Antonio de los Baños, tomando una superficie de 0,5 ha para cada variante (Tabla 1).

Tabla 1. Variantes del experimento

Variantes	Esquema de aspersión	Presión (kg/cm ²)	Velocidad (km/h)	Volumen (L/ha)
1	1	10	4	250-400
2	1	10	7.5	140-115
3 (estándar)	2	10	3	343-1 030
4	Testigo sin tratar			

Esquema 1: Etapa 1 (hasta los quince días de la germinación) una boquilla/surco. Etapa 2 (a partir de los quince días de la germinación) en forma de cortina a 0,45 m entre boquillas.

Esquema 2: Etapa 1: una boquilla/surco. Etapa 2: tres boquillas/surco; dos laterales formando ángulo de 135° en relación con bajante.

El producto que se utilizó en las aplicaciones fue metamidphos 60% CE en dosis de 0,6 kg/ha i.a.

El método de evaluación para la determinación de la efectividad biológica sobre plagas (*Empoasca* spp.), así como el índice de infestación para la realización de las aplicaciones, se realizó por la metodología establecida [Murguido, 1982].

En los tratamientos se utilizó una máquina asperjadora integral con bomba de pistón de baja presión, de revolutor mecánico, tanque metálico con sistema de filtros

en la boca del tanque y a la salida de la bomba, utilizándose una boquilla cónica tipo B-20, de caudal promedio de 1,21/min y ángulo de los conos de aspersión con rango de 80-86°.

Las aplicaciones se realizaron en horas de la mañana de ocho a once, con velocidades de viento de 0-3 m/s. Las aplicaciones fueron repetidas, siempre que la lluvia se presentara en el intervalo de tiempo de 24 horas posterior a la realización de la aplicación.

Para combatir la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) se aplicó *Verticillium lecanii* 1,1 x 10⁸ a dosis de 4 kg/ha.

La calidad de aspersión se determinó mediante la aplicación de colorante (anilina) al 1% en agua, usándose tarjetas colectoras de color blanco (kromecotte). Para ello se colocaron seis tarjetas con tres niveles diferentes (superior, medio e inferior) de la planta, por el haz y envés de las hojas, en seis plantas de los seis surcos centrales de cada parcela, en línea recta, de forma transversal al paso de la asperjadora. Posteriormente las tarjetas se recolectaron para la realización de conteo de gotas al microscopio 32x en el laboratorio, considerándose como asperjado de baja densidad (menos de 100 gotas/cm²).

Los depósitos de sustancia activa del producto Carbaryl 85% pH a dosis de 2 kg/ha de i.a. fueron obtenidos de forma similar que la cobertura, con la diferencia de que se usó papel de filtro como muestra colectoras de los depósitos sobre las plantas, las que finalmente fueron trasladadas al laboratorio físico-químico para la determinación de los valores de los depósitos, los que se expresan en microgramos por centímetro cuadrado de i.a. sobre la superficie de las hojas.

Los rendimientos se evaluaron mediante el pesaje de los granos de toda la parcela, excepto los surcos de borde.

Se realizó análisis de varianza a los resultados sobre depósitos, eficacia biológica y rendimientos, y cuando existió significación, las medias fueron comparadas por la dócima de Duncan (5% P).

El rendimiento del equipo de aplicación se determinó por el tiempo de trabajo efectivo en el turno, a través de la fórmula siguiente:

$$W = 0,1 B \cdot V \cdot T$$

donde:

W: rendimiento del equipo (ha/h)

B: ancho de trabajo del equipo (m)

V: velocidad de desplazamiento (km/h)

T: coeficiente de aprovechamiento del tiempo de trabajo dentro del turno

T es igual a la relación entre el tiempo de trabajo efectivo y el tiempo de trabajo total en el turno de seis horas, para lo cual se determina el tiempo consumido en cada labor, como llenado, traslado al campo, virajes, roturas, aplicación, etc.

Tabla 2. Distribución del asperjado sobre la planta de frijol

Variantes	Presión (kg/cm ²)	Volumen (l/ha)	Velocidad (km/h)	Asperjado de baja densidad			Distrib. (%)	Asperjado de alta densidad			Distrib. (%)	Asperjado con forma de escur. en (por ciento)	Distrib. (total %)
				Haz (gotas/cm ²)	Favés (gotas/cm ²)	Promedio (gotas/cm ²)		Haz (gotas/cm ²)	Favés (gotas/cm ²)	Promedio (gotas/cm ²)			
1	10	258-400	4	64,0	35,0	49,5	26,4	398,3	220,5	304,4	65,3	8,3	100
2	10	140-215	7,5	70,0	15,2	42,6	32,6	332,3	332,5	282,4	67,4	0,0	100
Estándar 3	10	343-1030	4	36,0	26,6	18,3	12,5	260,5	180,9	220,7	54,2	33,3	100

Tabla 3. Distribución porcentual del asperjado en la etapa de generalización

Variante	Presión (kg/cm ²)	Volumen (l/ha)	Velocidad (km/h)	Asperjado de baja densidad			Distrib. (%)	Asperjado de alta densidad			Distrib. (%)	Asperjado en forma de escur. distrib. en (por ciento)
				Haz (gotas/cm ²)	Favés (gotas/cm ²)	Promedio (gotas/cm ²)		Haz (gotas/cm ²)	Favés (gotas/cm ²)	Promedio (gotas/cm ²)		
Nueva	10	140-215	7,5	72,0	14,0	43,0	32,2	330,1	225,2	277,6	63,6	4,2
Base	10	345-1030	4,0	38,0	8,5	23,2	29,3	263,4	180,2	224,3	46,3	24,2

Tabla 4. Eficiencia biológica porcentual y rendimiento de la cosecha en la lucha contra *Empoasca* spp.

Variantes	Eficiencia biológica (porcentual) que se obtuvo en las evaluaciones										Depósitos		Rendim. (t/ha)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	
1	94,40 a	96,50 a	100,00	98,90	99,70	99,70	92,80 a	97,70	99,60 a	98,00 a	7,40 a	7,45 a	1,63 ab
2	94,60 a	97,00 a	100,00	100,00	100,00	100,00	91,40 a	99,20	99,20 a	99,00 a	12,90 b	11,90 b	1,96 a
Estándar 3	86,60 b	94,00 b	97,20 us	97,00	99,20 us	99,20 us	84,70 b	95,80 us	93,38 b	95,00 b	5,60 a	6,61 a	1,80 bc
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,20 c
C.V.	9,50	4,59	0,98	4,40	5,71	5,89	6,73	4,19	6,03	4,79	18,27	10,65	13,89
E.S.X	0,13	0,07	0,04	0,07	0,03	0,04	0,03	0,19	0,04	0,07	1,06	0,62	0,57

Letras diferentes denotan diferencia significativa por la d.écima de Duncan para 5% P.

Tabla 5. Eficiencia biológica porcentual y rendimientos en la generalización contra *Empoasca* spp.

Variantes	Eficiencia biológica (%) que se obtuvo en las evaluaciones									Rendimientos (t/ha)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Nueva	84,20 a	87,2 a	90,4	87,5 a	84,5 a	87,5 a	95,2	90,0 a	89,7 a	1,8 a
Base	72,8 b	82,1 b	88,4 ns	83,9 b	79,3 b	80,3 b	92,0 ns	85,0 b	82,3 b	1,1 b
C. V.	8,30	5,00	6,70	5,30	6,20	6,10	6,00	5,01	5,02	9,03
E. S. \bar{X}	0,21	0,16	0,13	0,12	0,17	0,20	0,14	0,21	0,12	1,02

Tabla 6. Eficiencia biológica de los tratamientos y rendimientos de la cosecha en la generalización contra *B. tabaci* con producto biológico.

1	Eficiencia biológica (porcentual) de las diferentes evaluaciones						Rendimiento (t/ha)
	2	3	4	5	6		
Nueva	57,1 a	61,6 a	53,8 a	53,8 a	60,0 a	1,6	
Base	28,5 b	42,8 b	46,1 ns	38,4 b	40,0 b	0,95 ns	
C. V.	11,73	8,91	7,82	10,07	9,65	5,60	
E. S. \bar{X}	1,56	1,47	0,86	1,06	1,14	0,68	

Tabla 7. Rendimiento de la cosecha y del equipo de aplicación en el cultivo del frijol

Variantes	Rendimiento promedio de la generalización (t/ha)	Rendimiento del equipo (ha/h)	Incremento del rendimiento del equipo (%)	Ganancia por concepto de gastos complementarios (pesos/ha)
Base	1,02	1,5	...	380,70
Nueva	1,43	2,6	73	676,00

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tipo de aspersión (cobertura) que se obtuvo en las aplicaciones sobre las plantas de frijol en todas las etapas del experimento (Tabla 2) muestra que el de asperjado con formación de lámina de escurrimiento (33,3%) fue comparativamente muy superior en la variante estándar número 3, de alto volumen de solución final (343-1 030 L/ha) en comparación con el resto de las variantes, lo que se manifestó en el transcurso del trabajo en forma similar, con pérdidas superiores de ingrediente activo del objetivo biológico o blanco de aplicación.

En consecuencia, el asperjado inadecuado o deficiente puede provocar considerables pérdidas de i.a., superiores incluso al 50%, como se ha demostrado en el cultivo de la papa [Hernández, 1985]. La Tabla 3 refleja cómo la variante nueva tiene una distribución de 63,6% de cobertura de alta densidad, muy superior a la variante base, de sólo 46,3% y distribución de escurrimiento sólo de 4,2%.

En la Tabla 4 se explica que, en correspondencia con el tipo de asperjado de alta formación de lámina de escurrimiento, la variante estándar tuvo los depósitos más bajos de i.a. sobre el follaje, con 5,60 y 6,67 microgramo/cm². La variante 2, de reducidos volúmenes de solución final, arrojó los mayores depósitos y un alto rendimiento de la cosecha, todo lo cual corrobora lo planteado por otros autores en calidad de aplicación [Anónimo, 1978; Felber, 1980; Matthews, 1979].

A pesar de que no se presentaron altas infestaciones de *Empoasca tabaci* en este experimento, la variante estándar tuvo efectividad biológica significativamente inferior al resto de las variantes.

En las Tablas 5 y 6 se presentan los resultados de la eficiencia y rendimientos obtenidos en las etapas de generalización contra *Empoasca* spp. y *B. tabaci*. En ellas se corrobora de manera clara las ventajas del nuevo procedimiento de aplicación, se aprecia que los rendimientos en la cosecha siempre fueron superiores en la variante nueva de 140-215 L/ha y, sin embargo, se utilizaron las mismas dosis de producto que en la variante base, lo que pone claramente de manifiesto las ventajas de la utilización de los tratamientos por el método de aplicación con los parámetros de trabajo utilizados en la variante nueva.

Sin embargo, debemos además destacar en esta variante de mayor velocidad de trabajo (7,5 km/h) y reducido volumen de aplicación (140-215 L/ha), que en este caso se obtiene mayor productividad y más alto rendimiento del equipo de aplicación, lo que se aprecia en la Tabla 7, donde, además de la diferencia en el rendimiento promedio de cosecha de las dos generalizaciones, se aprecia mayor rendimiento del equipo de aplicación de 2,6 contra 1,5 ha/h, para un incremento de 73%, así como una ganancia por concepto de gastos complementarios de 676.00 pesos/ha, superior en un

77% a la variante base, lo que corrobora lo planteado por Matthews (1979).

El alto rendimiento del equipo en la labor de aplicación tiene doble significación en la protección fitosanitaria, ya que en primer lugar se puede cumplir en un plazo más breve de tiempo el programa de aplicación basado en la señal de aparición de la plaga, lo que posibilita la realización de los tratamientos en el momento oportuno, que juega un importante papel en el combate a tiempo de las plagas que, como la *Empoasca* spp. y *B. tabaci*, puede, en corto período de tiempo, causar fuertes daños al cultivo, y, en segundo lugar, a mayor productividad se incrementa el índice de aprovechamiento de trabajo efectivo dentro del turno, reduciéndose los costos por uso de la maquinaria por concepto de combustible, fuerza de trabajo, reparación y tratamiento del equipo, que corrobora lo planteado por Hernández (1985).

CONCLUSIONES

- El nuevo procedimiento de aplicación basado en volumen de solución final de 140-215 L/ha, velocidad de trabajo de 7,5 km/h, esquema de aspersión de cortina con boquilla tipo B-20 de diámetro de 1,6 mm, situados a 0,45 m entre ellas sobre el aguilón, arrojó los mejores resultados en cuanto a calidad de aspersión (cobertura) y eficiencia biológica sobre las plagas, así como también se obtuvieron los mejores depósitos de ingrediente activo, significativamente superior a la variante base, sobre la superficie foliar del cultivo.
- La mayor velocidad de trabajo y reducido volumen hace más productiva la labor de aplicación (de 2,6 ha/h), incrementándose el rendimiento del equipo en 73% con un incremento de 77% de ganancia.

REFERENCIAS

- Ciba-Geigy: *Curso sobre las técnicas de aplicación de productos agroquímicos* 1, 1994.
- Anónimo. *La aspersión de volúmenes reducidos. Project and Application A.C. 6.21*, Ciba-Geigy, Basle Switzerland, 1970.
- Dacter, E. I.: «Trends in Application Technology», *Autlook* 10 (7): 319-320, 1981.
- Derike, A.: *Nuevas técnicas en aceites agrícolas en el control integrado de plagas*, *Phytoma* 102, España, 1998.
- Estévez, J.: «Nuevo equipo para la protección eficaz de las plagas y enfermedades a mínimas dosis de aplicación», *Phytoma* 102, España, octubre 1998.
- Ellis y Martin, L. R.; Jones y Grant: «Tesis de Doctor en Ciencias Agrícolas», ISCAH, 1985.
- Felber, H.: *Correct Selection of Droplet Size. Project and Application Services. A. G. S-11*, Ciba-Geigy, Basle Switzerland, 1980.
- García, J.: «Técnicas de control. Transferencia tecnológica. Aviación agrícola», *Phytoma* 109, España mayo, 1999.
- Hernández, C.; L. Gómez: «Efectos de diferentes parámetros de aspersión de plaguicidas con asperjadoras terrestres en el cultivo de la papa», *Protección de plantas* 4: 65-79, 1981.

- Hernández, C.: Aspectos técnicos fundamentales de las aspersiones terrestres de fungicidas para la lucha contra *Alternaria solani*, 1985.
- Lerch, M. Nozales and Pilfers: *Projects and Application Services. A. C. 8-11*, Ciba-Geigy, Besle Switzerland, 1980.
- Martin M. L. «Calidad de aplicación de los productos fitosanitarios. Nuevas tecnologías en maquinaria de aplicación», *Phytoma* (España) 102, octubre 1998.
- Matthews, C. A.: *Pesticide Application Methods*, first edition, Longuan London, 1979.
- Meisajovich, L. A.: *Asperjadora de bajo volumen terrestre de las plantas agrícolas*. Ed. Keloc, Leningrado Unión Soviética, 1974.
- Murguido, C.: «Efectividad de nuevos insecticidas para el control de salta hojas (*Empoasca tabaci*), aplicados a los 30 y 50 días de la germinación del frijol», *Ciencia y Técnica Agric. Serie Protección de Plantas* 5 (1): 31-11, 1982.
- Murguido, C. *et al.*: «Evaluación técnica y económica de un método nuevo para la señalización del salta hojas (*Empoasca tabaci*) en el cultivo del frijol», *Ciencia y Técnica Agrícola, Serie Protección de Plantas* 5 (3): 39-48. 1982.
- OR. U. «La aplicación precisa de agua y fertilizantes», *Agrotecnología en Israel*, p. 28, 1997.
- Unterstenhofer, C.: «The Basic Principles of Crop Protection field trials». *Pflansaenhuta-Nachrichten* 24 (2): 84-180, 1976.

BLATISAV-1: UN CEBO MICROBIOLÓGICO CONTRA CUCARACHAS PLAGAS

Ofelia Milán,¹ Nivia Cueto,¹ Mercedes Luján,¹ E. O'Bourque,¹ Flor A. Castillo,² Ena Galnza,² Elina Massó,¹ Nidia Acosta¹ y Miriam Sánchez¹.

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

² Departamento de Higiene y Epidemiología, MINSAP, Hospital Hermanos Ameijeiras, Ciudad de La Habana

Resumen

Se evaluó un cebo a base del hongo entomopatógeno M-1N4, unido a un polisacárido que gelifica, al cual se le adiciona glicerina para retener la humedad y un atrayente vegetal que lo hace deseable, en forma de perlas individuales de 1,5 cm³. El cebo fue comparado con los productos químicos lambda-cyhalotrina y propoxur a la dosis recomendada por los productores. Se determinó la efectividad técnica sobre el estado ninfal y adulto de *Blattella germanica*, *Periplaneta americana* y *Periplaneta australasiae*, en condiciones de laboratorio y campo. Los resultados obtenidos en laboratorio demostraron que fue efectivo para la fase ninfal, con una mortalidad superior al 80% para *B. germanica* en un período de diez días, un 60% para *P. australasiae* a partir de los quince días, mientras que *P. americana* fue la más resistente con mortalidad del 50% después de los quince días. En la fase adulta *B. germanica* fue la más susceptible, con mortalidad superior al 80% a partir de los quince días, mientras que *P. australasiae* resultó de un 60% entre 20-40 días, y *P. americana* del 50% a los sesenta días. El biopesticida es económico, puede usarse en lugares frecuentados por cucarachas sin riesgos para la salud humana y animales de sangre caliente; no contamina el ambiente y protege el ecosistema.

Palabras claves: *Blattella germanica*, *Periplaneta americana*, *P. australasiae*, *Metarhizium anisopliae*, *Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana*

ABSTRACT

Bait in base at the entomopathogenic fungi M-1N4, linked at a polysaccharide what gellifics, which it is added glycerin to retain the moisture, and vegetable attractive in form of individual pearls of 1.3 cm³ which are stored in nylon packing at 8(1(C during two months, was evaluated. Bait was compared with chemical products lambda-cyhalotrina and propoxur at recommended dose. Technical effectivity on nymph and adult of *Blattella germanica*, *Periplaneta americana* y *Periplaneta australasiae*, in conditions of laboratory and field, was determined. Results obtained in laboratory demonstrate was effective in nymph phase, with mortality superior at 80% for *B. germanica* in 10 days; 60% for *P. australasiae* from onward 15 days. *P. americana* was the most resistant with 50% of mortality after 15 days. In adult phase, *B. germanica* was the most susceptible with mortality superior at 80% from onward 15 days, while *P. australasiae* has 60% between 20-40 days and *P. americana* has 50% at 60 days. This biopesticide is economic, can be used in places frequented by cockroaches, without risks to human and hot blood animal health; it doesn't contaminate the environment.

Key words: *Blattella germanica*, *Periplaneta americana*, *P. australasiae*, *Metarhizium anisopliae*, *Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana*

INTRODUCCIÓN

Debido a la rápida adaptación de los blátidos a diferentes medios con distintas temperaturas y humedades, y por ser las cucarachas vectores mecánicos de gérmenes patógenos, especialmente de aquellos que son agentes etiológicos de enfermedades de transmisión digestiva, es necesario un programa intensivo de combate como una de las medidas higiénicas para proteger la salud humana. Con frecuencia las excretas de estos insectos indican su presencia, aun cuando no se han visto; sus deyecciones y secreciones corporales inutilizan los alimentos. Pueden además transportar virus que originan hepatitis, meningitis [Correo Fitosanitario, 1985; 1987]. También se han informado diferentes enfermedades causadas por bacterias como disentería, fiebre tifoidea,

peste, gangrena, lepra, difteria, brucelosis, tétanos y tuberculosis [Roth y Willis, 1957].

La mayoría de esas plagas se convirtieron en resistentes desde la introducción de pesticidas químicos sintéticos. Tal es el caso de *Blattella germanica*, que ha desarrollado insectoresistencia a clorpirifos; propoxur, bendiocarb; piretrinas y piretroides, allethain, fenvalerato, cyfluthrin y cypermetrina, y casi es indestructible [De Zayas, 1974].

Muchos consumidores quieren abandonar el uso de los productos químicos [Cochran, 1970], y se han inclinado por otros métodos alternativos como son los agentes biológicos. De ahí la importancia de utilizar todo método de

control, entre los que se incluyen formulaciones con agentes biológicos, [Henricke, 1992; Tillemans y col., 1992].

Dentro de los métodos de control biológico para combatir las cucarachas se han empleado microorganismos, entre los que se encuentran la bacteria *Bacillus thuringiensis* y los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, que se han utilizado solos o combinados con otros productos [Cochran, 1982; Gunnarson, 1985]. Estos microorganismos actúan sobre la cutícula del insecto, facilitando su entrada y acción dentro del cuerpo [Joshi y Bateman, 1992; García y col., 1994].

El método de control que utiliza microorganismos para reducir poblaciones de insectos plagas es una idea propuesta desde finales del siglo pasado. En la naturaleza son los responsables de la regulación del ecosistema en más de doscientas especies de insectos, en las que se incluyen las formulaciones comerciales por vía fermentativa [Luján, 1987; 1989].

Para el combate de las cucarachas se han confeccionado cebos en forma de gelatina, polvo, pasta o en formulaciones granuladas. Muchos investigadores en la actualidad protegen los propágulos infecciosos con polisacáridos y cloruro de calcio, logrando supervivencia para los microorganismos por tiempo prolongado, según refieren Knudsen *et al.* (1990); Stenzel *et al.* (1992) y Edmilson (1993).

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en el Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV) en el período comprendido entre 1993-95.

Se inició la cría a partir de ninfas emergidas de ootecas colectadas, de tres especies de blátidos: *Blattella germanica*, *Periplaneta americana* y *Periplaneta australasiae*, las cuales fueron alimentadas con desechos de dieta semisintética seca molida, y se mantuvieron en frascos de vidrio de 3,4 L con tapa metálica perforada, para permitir el intercambio con el medio. En el fondo de los frascos se colocó papel para su refugio, y un frasco (4 x 1,5 cm) con agua tapado con algodón por donde estas la absorben.

Una vez obtenidos los adultos, se clasificaron por especies [Gutiérrez, 1995] y se aparearon para obtener ootecas, las cuales se colocaron en viales de vidrio rotulados (10 x 1 cm) y tapados.

La cepa del hongo entomopatógeno utilizada para estos experimentos, M-1N4, provino de la micoteca del INISAV, y con ella se confeccionó un cebo cuyo componente principal es un polisacárido de producción nacional, que se mezcló con agua destilada, agitando

continuamente hasta su total dilución, a la cual se le añadió un atrayente vegetal. A esta mezcla se le agregó una sal de calcio que permitió fraccionar la masa en forma de perlas de 1,5 cm³ de diámetro.

Se montaron tres variantes: el microorganismo en su medio sólido y líquido se comparó con el testigo lambda-dacyhalotrina, y se comprobó la patogenicidad del hongo sobre el estado de ninfa y adulto para cada una de las especies en estudio. En el caso de las ninfas se evaluaron a diferentes edades de desarrollo. Para comprobar la efectividad del cebo en las variantes utilizadas, se tomaron tres perlas, y se colocaron con 10 insectos de cada una de las especies en frascos de vidrio que diariamente se revisaron para llevar el control de los insectos muertos.

Con los datos obtenidos se determinó el porcentaje de eficacia, para lo cual se aplicó la fórmula de Abbott (1925) transformada.

La temperatura y humedad relativa se registraron en un hidrotermógrafo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Fig. 1 se observa que las ninfas de 1-2 meses de *B. germanica* alcanzaron mayores porcentajes de mortalidad entre los 5-10 días para el medio sólido, no así para la especie *P. australasiae* y *P. americana*, que mueren más lentamente. En el medio líquido la especie *B. germanica* fue la más susceptible, ya que alcanzó la mayor mortalidad entre los 10-15 días, pero las otras dos especies lo alcanzaron entre los 15-30 días. En el caso del estándar la mayor mortalidad se observó en *P. australasiae* y *P. americana* a dosis de 100 mg/L, mientras que *B. germanica* fue más resistente, donde el mayor porcentaje de mortalidad se alcanzó después de los 10 días. Sin embargo, *P. australasiae* fue la más susceptible a las 24 horas con el ciento por ciento de mortalidad, y *P. americana* lo alcanzó a lo cinco días.

En la Fig. 2 se muestran los resultados de las ninfas de 2-3 meses de las especies *B. germanica* y *P. australasiae*, las que tuvieron resultados similares de mortalidad entre los 5-10 días, donde se aplicó el cebo con el microorganismo en su fase sólida, mientras que con *P. americana* la mortalidad fue lenta, y aumentó hasta obtener el ciento por ciento a los 60 días, y para la variante del medio líquido *B. germanica* también fue la más susceptible al producto. Las especies *P. australasiae* y *P. americana* fueron susceptibles al piretroide utilizado.

Como se observa en la Fig. 3, para las ninfas de 3-9 meses de las variantes con el microorganismo, tanto en su medio sólido como líquido, se logró el ciento por ciento de mortalidad en la especie *B. germanica* entre los 15-20 días; para la cucaracha americana el efecto fue más lento, y se apreció a los 60 días un 100% de mortalidad. En el caso de los plaguicidas químicos todas las especies murieron a partir de los cinco días.

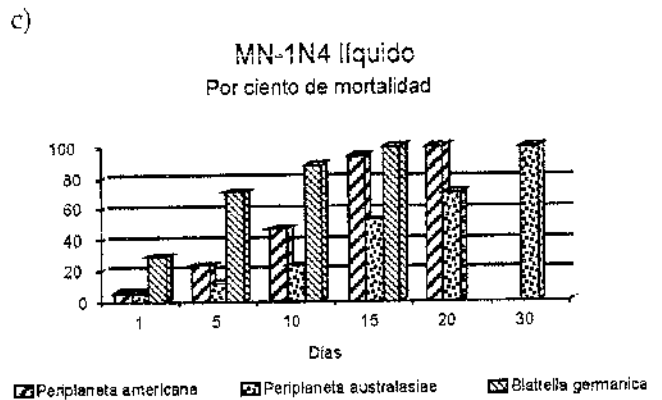
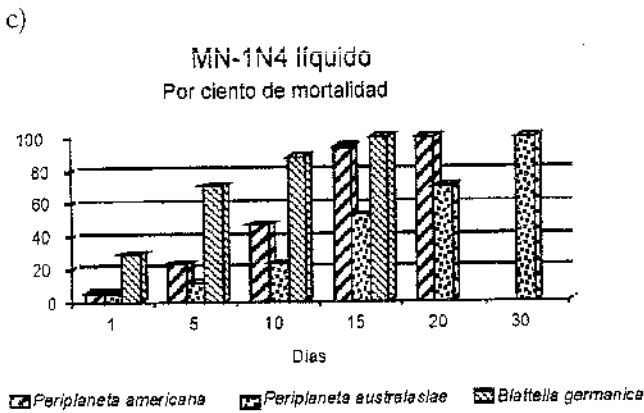
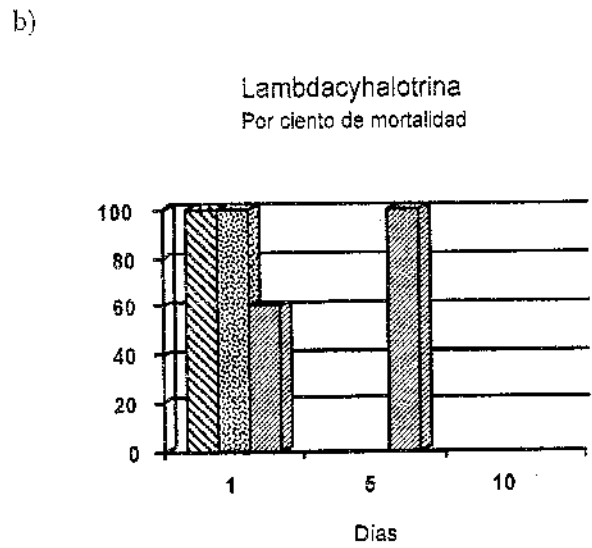
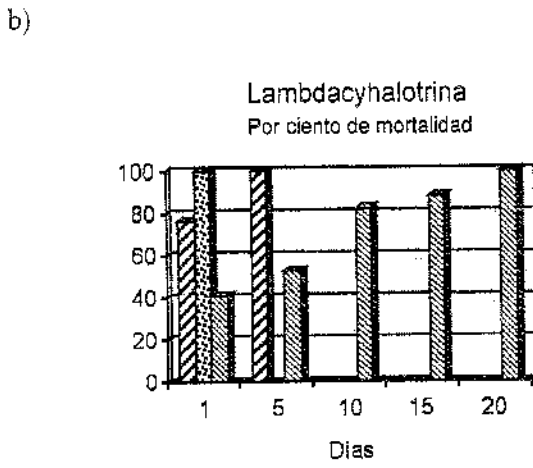
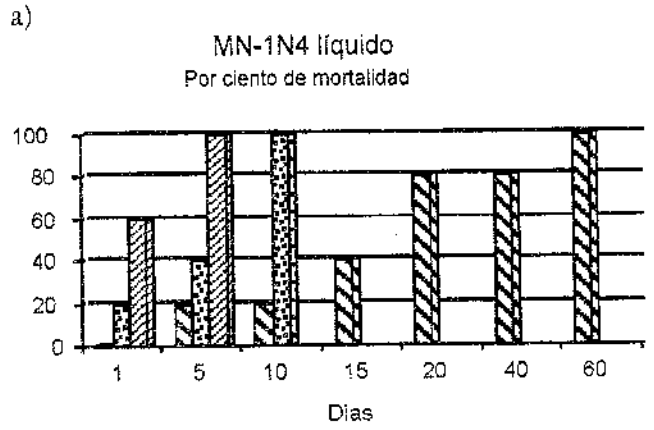
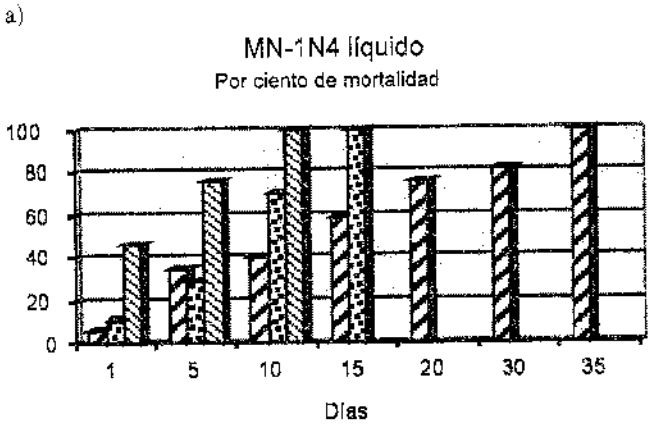


Figura 1. Porcentaje de mortalidad de ninfas de 1-2 meses.

Figura 2. Porcentaje de mortalidad de ninfas de 2-3 meses.

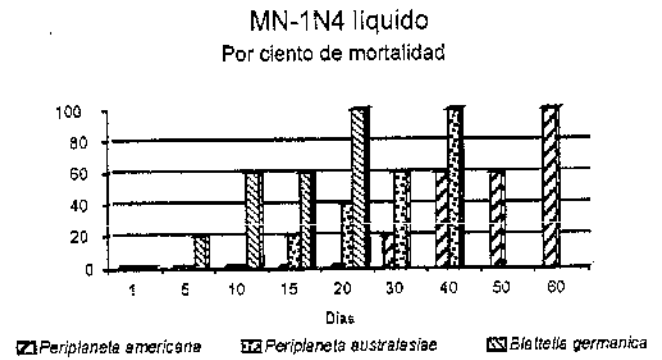
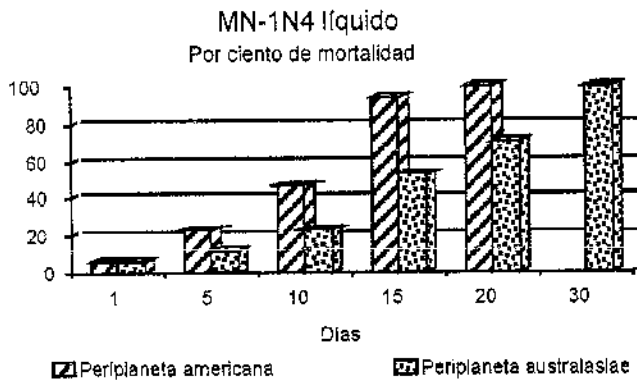
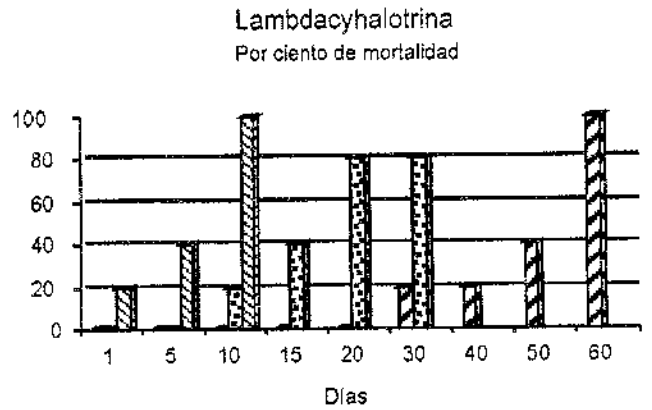
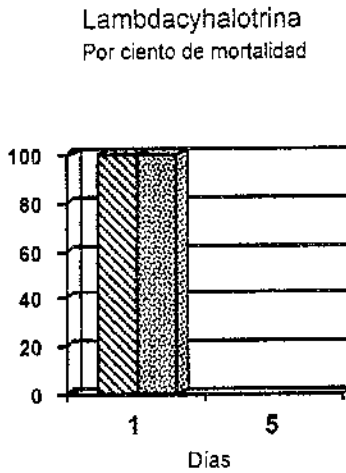
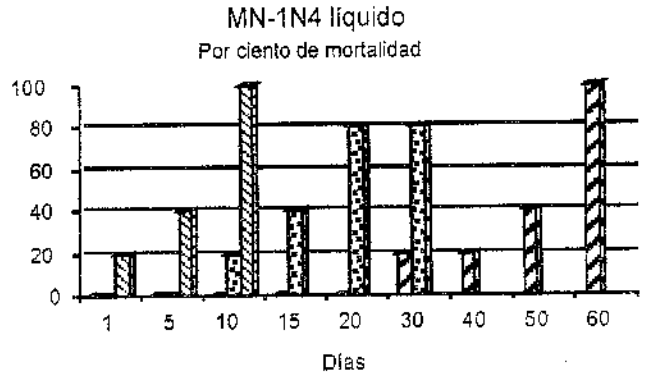
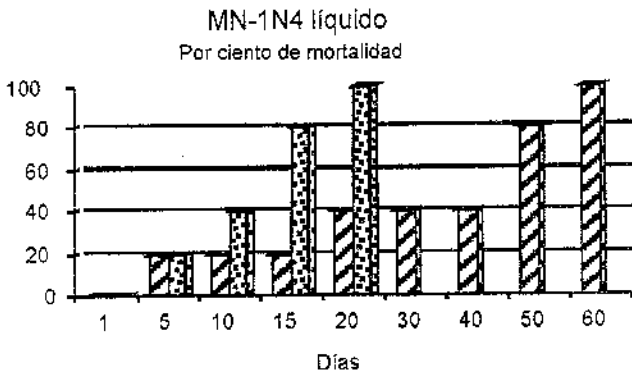


Figura 3. Porcentaje de mortalidad de ninfas de 3-9 meses.

Figura 4. Porcentaje de mortalidad de adultos.

En la Fig. 4 se aprecia que los adultos de la cucaracha alemana (*B. germanica*) fueron más susceptibles al producto biológico, mientras que las otras especies comenzaron a morir a partir de los 20 días. Los adultos de todas las especies mostraron más resistencia al producto químico que las ninfas, con un 100% de mortalidad a partir del quinto día para *P. australasiae* y *P. americana*.

CONCLUSIONES

- Se comprobó la efectividad de un microorganismo contra las cucarachas plagas, y por primera vez en Cuba se obtuvo un cebo cuyo ingrediente activo es un hongo entomopatógeno elaborado con ingredientes de producción nacional y de bajo costo.

- El cebo confeccionado con el biopreparado biológico, tanto en su medio líquido como sólido, resultó ser tan efectivo como los productos químicos propoxur y lambda-cyhalotrina a 100 mg/L.
- El producto biológico en su medio sólido actúa con mayor rapidez que en el medio líquido.
- *B. germanica* fue la especie más susceptible al producto microbiológico en los primeros días de aplicado el cebo en el laboratorio.

REFERENCIAS

- Abbott, W. S.: «Method of Computing the Effectiveness of Insecticides», *Journ of Economic Entomology* 18(2):256-267, 1925.
- Cochran D. G.; J. M. Grayso; Ashley B. Gurney: *Cockroaches-Biology and Control World*, Heal Organisation Mondiale de la Santé, 1970.
- Cochran D. G.: «Cockroaches. Biology and control», *WHO/BCI* 82.856, Ginebra, 1982.
- Correo Fitosanitario: *Control de cucarachas. Aplicación con cyflutrin WP10 en cocinas del ejército alemán*, Editora Bayer 10, 1985.
- : *Cucaracha, un problema en el alcantarillado*, Editora Bayer, República Federal Alemana 6-7, 1987.
- Edmilson J. M.: «Efecto de las formulaciones en la preservación de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en las diferentes condiciones de almacenamiento», tesis de Doctorado, Brasil, 1993.
- García, A. N., et al.: «Incremento de la efectividad de *M. anisopliae* sobre adultos de *Lissorhoptus brevisrostris* (Coleoptera: Curculionidae) al mezclarse con bajas concentraciones de metilparathion», IX Forum de Ciencia y Técnica INSAV, 1994, p. 19.
- Gunnarsson, S. G. S.: «Inyección de *M. anisopliae* a *Periplaneta americana*», *J. Invert. Pathol.* 46 (3): 312-319, 1985.
- Gutiérrez, E.: «Annotated Checklist of Cuban Cockroaches», *Transact. of the American Ent. Soc.* 121 (1-2): 65-85, 1995.
- Hennicke, F.: «Investigations About the Existence of Heteroagglutinins in the Hemolymph of the American Cockroach. *Periplaneta americana* L.», XXV ANNUAL Meeting Heidelberg, Germany, August 16-21, 1992.
- Joshi, L.; A. K. Charnley and Bateman: «Sinergism of Entomopathogenic Fungi, *Metarhizium* sp. and Benzoylphephenyl Urea Insecticide Teflubenzuron, Against the Desert Locust *Schistocerca gregaria*», 25 Years S. I. P. Heidelberg Germany, 1992, p. 283.
- Knudsen G. R.; J. B. Johnson; D. J. Eschen: «Alginate Pellet Formulation of a *Beauveria bassiana* (Fungi: Hyphomycetes) Isolate Pathogenic to Cercal Aphid», *J. Econ. Entomol.* 83 (6): 2225-2228, 1990.
- Luján, Mercedes, et al.: «Comparación de diferentes fuentes de nitrógeno y carbono para el crecimiento de *M. anisopliae*», *Ciencia y Técnica de la Agricultura. Protección de Plantas* 10 (4): 31-37, 1987.
- Luján, Mercedes, et al.: «Metodología para la reproducción masiva de *M. anisopliae*. Virulencia y conservación», II Jornada Internacional de Lucha Biológica en el Cultivo de la Caña de Azúcar, 1989, p. 20.
- Roth, L. M.; E. R. Willis: «The Medical and Veterinary Importance of Cockroaches», *Smithson Misc. Collect* 134 (10):1-137., 1957.
- Stenzel, K. S. T.; J. Holters; W. Andersch: «Performance of B 10 1020 (Mycelial Granules of *Metarhizium anisopliae* in Biological Control of *Otiorynchus sulcatus* Under Practical Conditions», XXV ANNUAL Meeting Heidelberg, Alemania, August 16-21, 1992.
- Tillemans, F.; T. M. Butt; N. Wilding: «Intrinsic Variability in the Entomogenous, Hyphomycete Fungus *Metarhizium anisopliae*», XXV Annual Meeting Heidelberg, Alemania, August 16-21, 1992.
- Zayas, Fernando de: *Entomofauna cubana*, t. III, 1974, pp. 9-26.

LA RESISTENCIA GENÉTICA DE LAS VARIEDADES COMO ELEMENTO BÁSICO EN EL MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS Y PRESERVACIÓN DEL MEDIO AMBIENTE EN EL CULTIVO DEL ARROZ

R. Alfonso¹, E. Suárez¹, A. Hernández², R. Pérez³, J. Ávila², A. Ginarte¹, J. L. Hernández¹, P. Orellana⁴

¹ Instituto de Investigaciones del Arroz

² Estación Territorial Jucarito. Vado del Yeso, Río Cauto, Granma.

³ Estación Territorial Sur del Jibaro. La Sierpe, Sancti Spiritus.

⁴ IBP Villa Clara. Universidad Central de Las Villas.

RESUMEN

El empleo de fuentes genéticas de resistencia en los programas de mejoramiento ha permitido una mayor seguridad en la producción. Con el presente trabajo se brinda información de cómo, a partir de variedades resistentes al insecto *Tagosodes orizicolus*, ha sido posible establecer el manejo integrado de plagas en el cultivo del arroz, reduciendo sustancialmente la contaminación ambiental. El mismo está compuesto por un resumen analítico de la resistencia genética a partir del programa de mejoramiento, estructura varietal y su composición respecto a la resistencia al insecto, así como las respectivas aplicaciones de productos químicos para el control. Para garantizar la base genética necesaria se crea en 1974 el Banco Nacional de Germoplasma, y en 1975 se inicia un sostenido programa de mejoramiento para resistencia genética, a partir de la identificación de variedades resistentes evaluadas desde 1973, lo que ha posibilitado que en la actualidad las ocho variedades que componen el esquema productivo del país sean resistentes al insecto e igualmente las 16 restantes obtenidas por el programa, permitiendo de esta forma implantar el manejo integrado de plagas en el cultivo, al favorecer el desarrollo de enemigos naturales, por lo que de 10 a 12 aplicaciones de insecticidas por año se han podido disminuir a 2,5 como promedio, y que en los últimos catorce años no se aplique ningún producto contra este insecto en la producción arrocería nacional, dejándose de aplicar sólo para *Tagosodes* 200 toneladas de insecticida por año.

Palabras claves: arroz, fuentes de resistencia, *Tagosodes orizicolus*, manejo integrado de plagas

ABSTRACT

The use of genetic source of resistance in breeding program has allowed a major production security. With this paper we mean to give more information about the use of *Tagosodes orizicolus* insect resistance varieties, in the integrated pest management (IPM) and the reduction of the environment contamination. This work is conformed by a genetic resistance analytical summary, taking into account the breeding program, varieties composition in the field production based on their resistance to the insect as well as the chemical product applied to control it. In 1974 the Germplasm National Bank was created to guarantee the necessary genetic bases. In 1975 a genetic resistance breeding program was initiated taking into consideration those resistant varieties that had been studied since 1973 which have had possible that the current 8 varieties that form the productive diagram in our country were resistant to the insect as well as the other 16 varieties obtained through this program, it allowed the integrated pest management favoring the development of natural enemies. That's why from 10 to 12 time of insecticide applying per year it could be reduced to 2.5 time as average since the 14 year ago to 1999 in the Cuba national rice production none product against this insect has been applied, having saved about 200 tons of insecticide products per year.

Key words: genetic source resistant, integrated pest management, rice, *Tagosodes orizicolus*

INTRODUCCIÓN

El arroz cultivado en los países tropicales está expuesto permanentemente al ataque de diferentes plagas, las que se incrementaron a partir del empleo de las variedades índicas semienanas altamente exigentes en nitrógeno, que propician el medio ideal para la incidencia de estas, a lo que se agregan las altas densidades de siembra y alto porcentaje de una misma variedad, que traen consigo un mayor riesgo para la producción.

En el país se produjeron fuertes afectaciones por *Tagosodes* y hoja blanca en los años 1972-73, a causa del empleo en la producción de variedades susceptibles al

daño mecánico y al virus transmitido por el insecto [Grupo Nacional de Arroz, 1972].

Antes de 1962, según lo reportado por Jennings *et al.* (1981) los científicos consideraban poco probable la resistencia genética a insectos en el arroz; sin embargo, pronto fue demostrada su efectividad, además de que constituye el centro o base del manejo integrado de plagas [Heinrichs, 1978]. Los propios autores destacan que el insecto *Tagosodes orizicolus*, conocido como *Sogatodes orizicola*, se encuentra sólo en las Américas, donde el daño mecánico causa grandes pérdidas.

Según Gavida (1970), el único método eficaz para el control de *Tagosodes* y hoja blanca es el empleo de variedades resistentes; a ello agregan Galvis *et al.* (1985) que es el más eficiente y económico, considerando que la resistencia genética es responsable de hasta un 40% del incremento en los rendimientos de las variedades modernas [IRRI, 1976].

En otros estudios, Reyes (1985) reporta que el manejo integrado de plagas es lo más efectivo y económico; sin embargo, no siempre el agricultor está preparado, y recurre a los insecticidas, que afecta los enemigos naturales, lo que incrementa la contaminación ambiental y la insectoresistencia.

La introducción de resistencia genética al insecto en las nuevas variedades no constituye limitante alguna, pues esta es altamente heredable y puede recombinarse con todos los caracteres deseables, siendo genéticamente independiente la resistencia al insecto y al virus; no obstante, la resistencia al insecto protege las variedades susceptibles al VHB [Jennings *et al.*, 1985], lo que había sido informado por Gavida y Gálvez (1971), quienes además expresan que está dada por dos pares de genes mayores de acción complementaria, con efecto dominante, confirmado por Orellana (1981) en Cuba, al encontrar que el 76,2% de las líneas F3 provenientes de cruces simples entre variedades resistentes y susceptibles mostraron resistencia.

El incremento de variedades con genes de resistencia al insecto ha reducido en los últimos años la presencia de este en América Central y del Sur [Orellana *et al.*, 1982], debiendo tener en cuenta que la siembra a gran escala de una sola variedad puede incrementar la población del insecto e incluso derivar en un nuevo biotipo [Pathak y Khush, 1979], siendo preferible la resistencia por no preferencia que por antibiosis [Álvarez *et al.*, 1998].

No obstante lo alcanzado en la resistencia genética, dicho insecto sigue considerándose como una de las principales plagas del arroz [Borrero *et al.*, 1998], causante de importantes pérdidas en el rendimiento en América Latina y el Caribe [Reyes *et al.*, 1998], y es el empleo de variedades resistentes el principal método de control a ambos daños [Triana *et al.*, 1998].

El objetivo del presente trabajo es mostrar cómo, a partir de la resistencia varietal al insecto *Tagosodes orizicolus*, se pudo implementar el manejo integrado de plagas en el arroz.

MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de lo sucedido en la producción de arroz en los años 1972-73 se traza la estrategia de forma acelerada para la obtención de variedades resistentes al insecto *Tagosodes orizicolus* y al virus de la hoja blanca en el cultivo del arroz, por lo que el presente trabajo constituye un resumen de lo acontecido en la producción de arroz a partir del programa de mejoramiento y la contribución de la resistencia genética.

Como primera medida se introduce la variedad CICA 4 en 1973 —procedente de Colombia— por su resistencia

al insecto, y el IR1529 del IRRI que, después de las pruebas, resultaron resistentes al insecto; paralelo a ello se intensifica la organización del Banco Nacional de Germoplasma en 1974 y las pruebas al insecto y al virus de todo el material existente; de igual forma se evalúa un alto número de líneas cada año proveniente de los ensayos internacionales y como fuente genética de resistencia, las cuales se confirman en el país.

La otra línea seguida es el programa de mejora genética por hibridación a partir de 1971, buscando la incorporación de genes de resistencia al insecto y, en todo lo posible, al virus, definiéndose desde 1976 que no se liberaría una variedad susceptible, lo que se ha cumplido desde 1981 con la liberación de la J104.

De 1973 a 1993 se trabajó intensamente en la empresa arrocera Fernando Echenique, en Granma, con el fin de comprobar la posibilidad de reducir las aplicaciones de insecticidas a partir del empleo de variedades resistentes y, simultáneamente, se evaluó la presencia de enemigos naturales y los niveles de *Tagosodes* semanalmente, para definir si era posible suprimirlas totalmente e iniciar de forma gradual la introducción del manejo integrado de plagas sin riesgos para la producción.

Las pruebas de resistencia al insecto se realizaron en el insectario del Instituto de Investigaciones del Arroz, empleando la metodología recomendada por Jennings y Pineda (1970) y las modificadas por Orellana y Ginate (1977).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se puede apreciar en la *Tabla 1*, las variedades empleadas en la producción hasta 1967 se caracterizaban por un bajo potencial de rendimiento y susceptibilidad al insecto y al virus de la hoja blanca, de las cuales aún existen pequeñas áreas de campesinos con las variedades Caña Verde, Gloria y Century Patna fundamentalmente, lo que traía consigo continuas aplicaciones de insecticidas.

Tabla 1. Variedades tradicionales

Variedades	Resistencia		
	Tagosodes	Hoja blanca	Fecha
Honduras	S	S	1967
Pati Prieto	R	R	1967
Zayas Bazán	S	S	1966
Caña Verde*	S	S	1965
Blue Bonet	S	S	1967
Gloria*	S	S	1967
Century Patna 231*	S	S	1967

* Actualmente son sembradas por campesinos y son de bajo potencial de rendimiento de 1,5-3 t/ha

La Tabla 2 recoge las variedades que a partir de 1967 constituyeron lo que podemos llamar el inicio del programa arrocero, conformado fundamentalmente por el IR 8 de alto potencial de rendimiento, pero susceptible al insecto y al virus; seguidamente son introducidas la IR 160 e IR 480-5-9-3-2 con igual comportamiento frente al insecto, a la que sigue el IR 880 C9, seleccionada en el país a partir de material introducido del IRRI y que tampoco cumplía dichos requerimientos. En 1971 y 1972, cuando hubo una alta incidencia del insecto y del virus de la hoja blanca en Sancti Spíritus, la producción arrocera se encontraba sustentada en estas cuatro variedades y con volúmenes superiores al 50% de una misma variedad (Tabla 3), sobresaliendo el IR 160 con 58% del área sembrada en frío y 78% de pérdida en los rendimientos, y el IR 480 en primavera con 63% del área y 86,8% de pérdida en el rendimiento, destacando que, a fin de proteger el cultivo, fueron efectuadas seis aplicaciones de insecticidas, utilizando tres productos a razón de 9,98 L/ha (Tabla 4), y a pesar de ello no hubo control del *Tagosodes*, lo que demostró que esta no es la vía adecuada para el control del insecto.

Tabla 2. Variedades introducidas

Variedades	Resistencia		
	Tagosodes	Hoja blanca	Fecha
IR8	S	S	1966
IR160	S	S	1967
IR480	S	S	1968
CICA 4	R*	R*	1973
Naylamp	R*	R*	1973
IR880-C9	S	S	1973
IR1529	R*	I*	1975

* Variedades semienanas con alto potencial de rendimiento de 5,5-9 t/ha.

Tabla 3. Variedades en explotación 1971-72. Niveles de afectación

Variedades	Área sembrada (%)	Área sembrada (%)	Afectación (%)
	Frío	Primavera	
IR8	2	4	26,7
IR160	58	20	77,9
IR480	1	63	86,8
IR 880-C9	39	13	29,0

Tabla 4. Productos empleados

Aplicación	Días después de germinado	Producto	Dosis en L/ha
1a.	0-5	Malathion 57%	2,01
2a.	10-15	Dimecron	0,97
3a.	25-30	Toxafeno	2,23
4a.	35-40	Dimecron y malathion	1,56
5a.	50-55	Dimecron	1,11
6a.	65-70	Malathion y toxafeno	2,2
Total	-	-	1 197,6 t/año

Aplicaciones de insecticida para sogata: 6.

Fuente. Grupo Nacional de Arroz (1972).

Según Reyes (1985), los insecticidas deben ser usados como complemento y aplicados en el momento oportuno, pues el uso indiscriminado de productos químicos reduce los enemigos naturales y predadores, aumentando la insectoresistencia.

En 1972 se inicia la introducción emergente de las variedades Cica 4 y Naylamp, procedentes de Colombia, resistentes al insecto y al virus, y en 1975 el IR 1529 procedente del IRRI, después de un pequeño trabajo de selección, sin llegar a ocupar áreas importantes en la producción, manteniéndose el IR 880-C9 como la variedad principal, con niveles superiores al 50%.

Como parte del inicio de la consolidación del programa de mejoramiento, se libera en 1981 la variedad J104, proveniente de líneas F4 introducidas de Perú y seleccionadas en el país, resaltando que aún supera el 60% de la producción nacional, con muy buenos resultados en sentido general (Tabla 5). A ella le siguió la Amistad 82 de ciclo corto en 1983, obtenida por hibridación en Cuba; Perla de Cuba en 1985, que aún está en la producción de los CAI, y ambas en la siembra popular, en ambos casos de ciclo corto; IACuba 14 y 15 en 1986 para ciclo medio, IACuba 17 y 19 de medio; IACuba 18 y 20 de corto; IACuba 23 para bajos insumos de agua y fertilizantes, e IACuba 25 tolerante a la salinidad, estas seis últimas liberadas en 1995, todas ellas de resistentes a intermedias al insecto *Tagosodes orizicolus* y algunas con resistencia combinada. Ello da respuesta a lo aprobado en 1976 de no liberar una variedad a la producción nacional susceptible al insecto *Tagosodes orizicolus*.

Como se aprecia en la Tabla 6, cuando se empleaba la variedad IR880-C9, susceptible al insecto y al virus, era necesario aplicar insecticidas de tres a cuatro veces contra el insecto *Tagosodes orizicolus* como promedio, con un costo de 5,27 USD/ha por campaña, y no había presencia de enemigos naturales, como se aprecia en ella. Sin embargo, a partir de la reducción de estos,

fueron apareciendo insectos capaces de parasitar los huevos de *Tagosodes*, lo que constituye el soporte para el manejo integrado de la plagas, permitiendo reducir

las aplicaciones de insecticidas desde 12 hasta 2,5 aplicaciones como promedio, sustituyéndolas siempre que sea posible por productos biológicos.

Tabla 5. Variedades liberadas del programa nacional de mejoramiento

No.	Variedades	Resistencia		Fecha de obtención
		Tagosodes	Hoja blanca	
1	Caribe 1	R	R	1978
2	J104	MR	S	1981
3	Amistad 82	R	S	1986
4	Perla de Cuba	R	MR	1990
5	IACuba 14	R	MS	1990
6	IACuba 15	MR	MS	1990
7	IACuba 16	MR	MR	1993
8	IACuba 17	MR	MS	1995
9	IACuba 18	R	R	1995
10	IACuba 19	MR	MS	1995
11	IACuba 20	R	MR	1995
12	IACuba 21	MR	MR	1995
13	IACuba 22	MR	MR	1995
14	IACuba 23	MR	S	1995
15	IACuba 24	MR	S	1995
16	IACuba 25	R	MS	1995
17	IACuba 26	MR	S	1995

Tabla 6. Resultados del trabajo realizado en Granma para la aplicación del manejo integrado

Variedades	Reacción	Aplicaciones	Costo USD/ha	Costo unitario	Enemigos naturales
IR880-C9	S	3	5,27	15,8	-
IR1529	I	3	5,27	15,8	-
Naylamp	R	3	5,27	15,8	-
CICA 4	R	3	5,27	15,8	-
J104	MR	3	5,27	15,8	-

Ello muestra cómo a partir de liberar la J104, la estructura varietal empleada en la producción de arroz, tanto en el sector especializado como en la siembra popular y áreas de autoconsumo de las empresas, está sustentada sobre variedades con reacción de intermedia (MR) a resistentes (R) al insecto, lo que permitió ir reduciendo las aplicaciones de insecticidas en una primera etapa, y a la eliminación total de estas en una segunda, propiciando el incremento de enemigos naturales para *Tagosodes* y otras plagas, entre los que sobresalen *Paranagrus*, *Tetracnata*, *Tithus parvice* y *Gonatopus* como los más importantes controles biológicos, además de otros controles naturales para insectos de menor peligrosidad, y que antes de dejar de aplicar no estaban

presentes en las arroceras, permitiendo que a partir de 1993 se pudiera emplear el manejo integrado de plagas en el cultivo.

Desde el punto de vista ambiental posee un importante efecto positivo, reflejado en los siguientes elementos. Se dejan de verter a la atmósfera cada año, sólo por este insecto, 200 t de productos tóxicos, y si consideramos que el manejo integrado de plagas ha permitido reducir el volumen de aplicaciones de productos químicos en un 75% aproximadamente, se han dejado de verter 7 650 t en catorce años.

Desde 1996 se inicia un programa de siembra popular de arroz, estableciéndose como principio no propiciar

el empleo de variedades susceptibles y, aunque aún se emplean algunas susceptibles, no rebasan el 3%, sobre

lo cual se trabaja intensamente para sustituirlas por resistentes.

Tabla 7. Después de establecido el manejo integrado

Varietades	Reacción	Aplicaciones	Costos	Costo unitario	Enemigos naturales
J104	MR	0	-	-	<i>Paranagrus</i>
Perla de Cuba	R	0	-	-	<i>Tetragnata</i>
Amistad 82	R	0	-	-	<i>Tythus parvice</i>
IACuba 14	R	0	-	-	<i>Gonatopus</i>

En resumen, se puede expresar que la utilización de variedades resistentes al insecto *Tagosodes orizicolus*, principal plaga en el cultivo del arroz en Cuba, ha constituido la base para el manejo integrado de plagas en el cultivo, tanto en la UCAI como en la siembra popular.

CONCLUSIONES

- El trabajo paciente y sistemático de la genética ha propiciado incorporar los genes de resistencia al insecto a todas las variedades cultivadas en la actualidad, y al virus de la hoja blanca a parte de ellas.
- Con los resultados alcanzados en los últimos catorce años queda ratificado que la resistencia genética al insecto permite la aplicación del manejo integrado de plagas, pues se alcanzan los niveles de enemigos naturales necesario para ello.
- La utilización de variedades resistentes ha permitido dejar de aplicar sólo contra este insecto 200 t de insecticidas cada año, lo que contribuye positivamente a reducir la contaminación ambiental y el efecto tóxico sobre los hombres que los manipulan.

REFERENCIAS

Álvarez, R. et al.: «Mecanismos de resistencia a *Tagosodes orizicolus* Muir (Homoptera: Delphacidae) de tipo antibiótico y no preferencia a algunas líneas de arroz (*Oryza sativa*)», I Encuentro Internacional de Arroz, Palacio de Convenciones, La Habana, 1998.

Borrero Correa, J.; M. Chatel; M. Triana Espinal: «Mejoramiento poblacional de arroz irrigado para hoja blanca», I Encuentro Internacional de Arroz, Palacio de Convenciones, La Habana, 1998.

De Galvis et al.: *Arroz, investigación y producción*, PNUD, 1985.

Heinrichs, E. A.: «Methods of Controlling Rice Leafhoppers and Plant Hoppers», IRRI, RTP Trainings Program, 1978.

IRRI: «The International Rice Research Institute», *Annual Report for 1975*, Philippines, 1976.

Jennings, P. R.; A. Pineda: «Screening Rice for Resistance to the Plant Hopper, *Sogatodes orizicola* Muir: Crop.», *Sci* 10: 687-689, 1970.

Jennings, P. R.; W. R. Coffman; H. E. Kauffman: «Mejoramiento genético de la resistencia a plagas», *Mejoramiento del arroz*, CIAT: apartado 6713, Cali, Colombia, 1981.

Jennings P. R.: «El mejoramiento del arroz», *Arroz, investigación y producción*, PNUD/CIAT, Cali, 1985.

Orellana, P.; A. Ginarte: *Resistencia varietal del arroz (Oryza sativa L.) a la enfermedad hoja blanca*, Centro Agrícola, Universidad Central de Las Villas, 1977.

Orellana, P.: «Aspectos relacionados con la resistencia genética del arroz (*Oryza sativa*) al insecto *Sogatodes orizicola*, hoja blanca y *Piricularia oryzae*», *Agrotecnia de Cuba*. 3(1) 37-45, 1981

Orellana, P.; P. R. Jennings; L. Pérez: «Resultados preliminares de estudios de resistencia en variedades de arroz (*Oryza sativa*) con colonias de sogatas de diferentes localidades», *Cienc. Tec. Agric. Arroz* 5 (2): 63-82, 1982.

Pathak, M.; G. S. Khush: «Studies of Varietal Resistance in Rice to the Brown Plant Hopper at IRR», *Brown Plant Hopper: Threat to Rice Production in Asia*, IRRI, Los Baños, Lagunas, Philippines, 1979.

Reyes, J. A.: «Manejo de plagas en arroz», *Arroz investigación y producción*, PNUD, CIAT, 1985.

Reyes, J. A.; L. Calvert; A. C. Velasco: «Monitoreo de *Tagosodes orizicolus* (sogata) en zonas arroceras de Colombia», CIAT. A. A., I Encuentro Internacional de Arroz, Palacio de Convenciones, La Habana, 1998.

Triana, M.; et al.: «Desarrollo de una metodología de evaluación al daño mecánico causado por el insecto *Tagosodes orizicolus* Muir en el cultivo del arroz», I Encuentro Internacional de Arroz, Palacio de Convenciones, La Habana, 1998.

CULTIVO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN UN SUSTRATO ELABORADO CON SAGÚ (*MARANTA ARUNDINACEA*, L.)

María de los A. Fonseca, Carmen Guerra y Elsa Suárez

Instituto de Investigaciones Agropecuarias Jorge Dimitrov, Bayamo, Granma

Más de 750 especies de hongos son reconocidos como patógenos de insectos. Entre ellos unos pocos han sido considerados seriamente como agentes de control biológico [Smits, 1997].

En Cuba los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) son alternativas importantes para combatir un grupo de insectos dañinos entre los que se destacan el picudo negro del plátano (*Cosmopolites sordidus* Germar), el tetuán del boniato (*Cylas formicarius* var. *elegantulus* Sum.), el picudito acuático del arroz (*Lissorhoptus brevisrostris* Suff.) y el picudo verde azul de los cítricos (*Pachnaeus litus* Germ.). *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas y *Paccilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown y Smith son utilizados para el control de *Bemisia tabaci* Genn. en diferentes cultivos [Estrada, 1997].

Sin embargo la conservación, reproducción y estudios biológicos de estos patógenos requieren de medios de cultivo de alta demanda y valor en el mercado.

El objetivo de este estudio fue evaluar las posibilidades de un sustrato elaborado con sagú (*Maranta arundinacea*, L.) para el cultivo de cuatro hongos entomopatógenos.

Se utilizaron cepas de *Metarhizium anisopliae*, *Verticillium lecanii*, *Paccilomyces fumosoroseus* y *Beauveria bassiana* procedentes del INISAV. El sustrato se elaboró con la siguiente composición: sagú, 100g; sacarosa, 10g; agar, 10g; y agua destilada, 1 000 mL. Rebanadas de sagú se secaron a 60°C y se sometieron a decocción por veinte minutos. Al filtrado, con la sacarosa añadida, se le ajustó el pH y se esterilizó durante veinte minutos a 0,1 MPcal. Los cultivos se incubaron en oscuridad continua a temperatura de 23 y 28°C según la especie

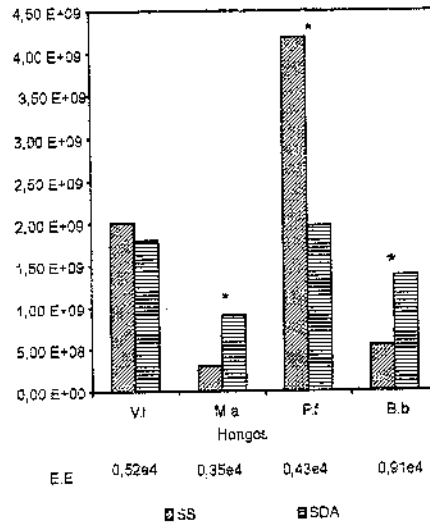
de hongo. Se determinó la esporulación y la viabilidad a los doce días después de la inoculación.

Se utilizó el medio de cultivo sabouraud dextrosa agar (SDA) como testigo. Los datos experimentales se procesaron mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Los hongos alcanzaron, a los doce días, valores de esporulación y viabilidad dentro del rango establecido por la NC 72-03 (1993) en el sustrato sagú-sacarosa (SS) (Figs. 1 y 2). Los valores de esporulación en el sustato SS fueron superiores a los obtenidos en el medio SDA. para *V. lecanii* y *P. fumosoroseus*, en este último con diferencias significativas; sin embargo la esporulación obtenida con *M. anisopliae* y *B. bassiana* fue significativamente inferior con respecto al testigo. Los valores de viabilidad de los conidios en el sustrato SS fue inferior para los cuatro medios evaluados, con diferencias significativas para *V. lecanii*, *M. anisopliae* y *B. bassiana* (Fig. 2); sin embargo, todos los valores se encuentran dentro del rango de aceptación establecido por la NC 72-03 (1993).

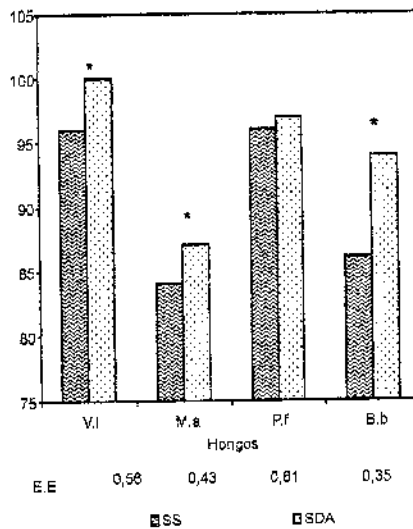
Resultados positivos en el cultivo de hongos entomopatógenos en sustratos naturales han obtenido varios autores [Luján *et al.*, 1990; Auld, 1992; Calderón *et al.*, 1995 y Fernández-Larrea, 1997].

La utilización del sagú como componente principal del sustrato evaluado se fundamenta en la posibilidad de reducir la cantidad de agar empleado en su elaboración, debido a su poder gelificante y a su composición por elementos nutritivos necesarios para el desarrollo de los hongos en general, como son almidón (27,07%), albúmina (1,56%) y azúcares (4,10%), entre otros [Montaldo, 1991].



Significado para $p < 0,05$

Figura 1. Comportamiento de la esporulación (Cél./mL) en los medios de cultivo sagú sacaroca (S. S.) y sabouraud dextrosa agar (S. D. A.) a los doce días de incubación.



* Significativo para $p < 0,05$

Figura 2. Comportamiento del porcentaje de germinación en los medios de cultivo sagú-sacarosa (SS) y sabouraud dextrosa agar (SDA) a los doce días de incubación.

REFERENCIAS

- Auld, B. A.: «Mass Production, Formulation and Application of Fungi As Bio-control Agents», *Agricultural Research and Veterinary Center*, Australia.
- Calderón, A.; Magaly Fraga y Bertha Carreras: «Reproducción de *Beauveria bassiana* por fermentación en estado sólido», *Rev. de Protección Vegetal* 10: 269-273, 1995.
- Estrada, J.; M. Teresa López: «Los bioplaguicidas en la agricultura sostenible cubana», III Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica, Conferencias, Universidad Central de Las Villas, 1997.
- Fernández-Larrea, Orietta: «Microorganismos en el control fitosanitario en Cuba», III Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica, Conferencias, Universidad Central de Las Villas, 1997.
- Luján, M. et al.: «Metodología para la reproducción de *Metarhizium anisopliae*, virulencia y conservación», *Ciencia y Técnica en la Agricultura. Serie de Protección de Plantas (La Habana)* 13 (4): 43-50, 1990.
- Montaldo, A.: *Cultivo de raíces y tubérculos tropicales*, 2a. ed., Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, San José, Costa Rica, 1991.
- Norma Cubana 72-03: *Biotechnología. Biopreparados del hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii* (Especificaciones)*, 1993.
- Smits, P. T.: *Microbial Control of Insect Pests*, 26th International Course on Integrated Pest Management, 189-198, I.A.C., Wageningen, 1997.

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DEL TIZÓN CAUSADO POR *ALTERNARIA HELIANTHI* (HANSF) TAUB AND NISH EN GIRASOL

María I. Pueyo y Ana D. Pupo

Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Maceo 22 e/ Ángel de la Guardia y Joaquín Agüero, Las Tunas, CP 75100

En la provincia de Las Tunas las principales enfermedades fungosas en el cultivo del girasol (*Helianthus annuus* L.) son causadas por *Erysiphe cichoracearum* DC, *Alternaria helianthi* (Hansf) Tub & Nish y *Macrophomina phaseolina* (Moub) Ashby [Fernández, 1973]. Gunter y Arnold (1986) reportan estos patógenos en el catálogo de hongos en Cuba. El tizón constituye una enfermedad de importancia económica. Agrawat *et al.*, (1979) calcularon pérdidas del 80% de los rendimientos del cultivo, mientras Carson (1985) señaló que esta enfermedad redujo significativamente el contenido de aceite de la semilla.

En la etapa comprendida desde septiembre de 1997 a mayo de 1999 se realizó un estudio del comportamiento epidemiológico de esta enfermedad en diferentes zonas de la provincia, teniendo en cuenta las épocas de siembra y las fases fenológicas del cultivo en diferentes variedades e híbridos.

En todos los muestreos se registró un incremento del ataque de *A. helianthi*, lo que demuestra la alta virulencia del patógeno ante la alta disposición que tienen diferentes híbridos y variedades. La enfermedad hace su aparición desde la etapa de germinación. Las mayores incidencias del tizón fueron registradas a partir de la época de floración, con un incremento de la infección de la enfermedad hasta la época de maduración y secado de los granos, que alcanza desde 26-52% de intensidad de ataque y de 51-89% de distribución (Tabla 1).

Todas las variedades e híbridos del cultivo resultaron vulnerables al ataque de *A. helianthi*, siendo la variedad Caburé 15 y el híbrido Ketil, de procedencia italiana, los más afectados. Los híbridos Alfatic y Flora resultaron los de mejor comportamiento (Tabla 2).

Tabla 1. Por ciento de distribución e intensidad de *A. helianthi* en diferentes fases fenológicas del cultivo del girasol

Fases fenológicas	X (por ciento de distribución)	X (por ciento de intensidad)
Germinación	0,4386 d	0,1873 e
Inducción floral	1,3582 c	0,6865 d
Floración	2,5235 b	1,2592 c
Formación del grano	3,0539 a	2,0526 b
Maduración-Cosecha	3,1219 a	2,3349 a

Tabla 2. Por ciento de distribución e intensidad del tizón por *A. helianthi* en variedades e híbridos evaluados

Variedad e híbrido	X de distribución	X de intensidad
Alfatic	1,928 c	1,2388 d
Alanis	2,052 c	1,3437 bc
Caburé	2,28 a	1,4463 a
Flora	1,993 c	1,3137 cd
Ketil	2,167 ab	1,3858 ab
Nikil	2,182 ab	1,3142 cd

Los por cientos de infestación registrados en diferentes niveles de las plantas ratifican que el nivel inferior y medio son los que alcanzan los mayores valores, y que en la medida en que se incrementan estos, aumenta el por ciento de intensidad en los niveles superiores, reinfestando al resto de los órganos susceptibles al ataque (Tabla 3).

Tabla 3. Por ciento de infección de *A. helianthi* en diferentes niveles de las plantas a partir del uso de variedades susceptibles y resistentes

Variedades	Intensidad (%)		
	Nivel inferior	Nivel medio	Nivel superior
Susceptibles	3,1416 a	2,1472 b	1,8993 c
Resistentes	1,6715 c	1,6216 c	1,1175 d

El diámetro promedio de las lesiones fue de 2,3-2,6 mm sobre hojas. Las lesiones no se limitan sólo a las hojas, sino que el resto de los órganos aéreos de las plantas muestran sensibilidad al ataque del patógeno, siendo más afectadas las hojas inferiores donde las lesiones conducen a la necrosis o muerte del tejido afectado, a diferencia de aquellos órganos que se encuentran en el nivel superior.

Humedades relativas por encima de 76% favorecieron el desarrollo de la epidemia, así como la presencia de rocío cuando estos alcanzaron valores de hasta ocho, no así cuando los valores oscilan entre tres y cinco. La enfermedad es favorecida por un amplio rango de temperaturas. En la zona evaluada se registraron temperaturas mínimas y medias promedio entre 22,7 y 27,5°C respectivamente, y niveles bajos y algo frecuentes de precipitaciones. Cuando la fase de mayor susceptibilidad de la enfermedad coincide con las condiciones favorables de humedad y temperatura, se incrementan

los valores de infección; así en la época de mayor sequía las condiciones fueron menos favorables para el desarrollo de la epidemia, lo que coincide con Kufner (1987) y Acimovic y Lacok (1991).

REFERENCIAS

- Acimovic, M.; N. Lacok: «The Causal Agent of Brown-Red Spot, a New Sunflower Disease», 1991.
- Agrawat, J. M.; S. J. Mather; H. P. Cheppa: «Chemical Control of Alternaria Spot of Sunflower», *Indian J. Mycol. Plant Pathol.* 9: 79-80, 1979.
- Carson, M. L.: «Epidemiology and Yield Losses Associated with Alternaria blight of Sunflowers», *Rev. Phytopathology* 7:1151-1156, 1985.
- Fernández, R. M.: *Catálogo de enfermedades de plantas cubanas. Serie Agrícola no. 27*, Academia de Ciencias de Cuba, 1973.
- Gunter, R.; W. Arnold: *Lista de hongos fitopatógenos en Cuba*, Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1986.
- Kufner, Eva G.: *Las enfermedades más importantes del girasol y posibilidad de control. Reportes agrícolas*, Ed. BASF, 1987.

ACTIVIDAD FUNGICIDA DE TRIAZOLES Y BENZIMIDAZOLES SOBRE *COLLETOTRICHUM* SPP., AGENTE CAUSAL DE LA ANTRACNOSIS EN LA FASE DE POSTCOSECHA DE FRUTABOMBA (*CARICA PAPAYA* L.)

Alicia Batlle y Giselle Estrada

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

La frutabomba (*Carica papaya*) es un cultivo altamente rentable. La comercialización del fruto se valora en 200 USD/ t, y se obtienen altos rendimientos de 50 a 120 t de fruta/ha/año. Una de las enfermedades de mayor importancia por los daños que provoca durante la poscosecha de este cultivo y por su alta incidencia lo constituye la antracnosis, provocada por *Colletotrichum* spp. Muchos han sido los reportes de dificultades en el control de esta especie de patógenos, debido a la pérdida de sensibilidad a los productos empleados [Griffe, 1973; Químio, 1976; Hostachy, 1990; Johanson, 1992; Astúa, 1994 y De Lapeyre, 1997].

Se estudiaron las especies *C. capsici*, *C. acutatum* y *C. Gloeosporioides*, aisladas de frutos de frutabomba que presentaban síntomas de antracnosis. De cada una de las especies se analizaron cinco aislados. Se prepararon placas de Petri con medio papa dextrosa agar, envenenado con los fungicidas prochloraz, thiabendazol, propiconazol y difenoconazol a las concentraciones 1×10^{-3} , 1×10^{-2} , 0,1 y $1 \mu\text{g i.a./mL}$, y para el thiabendazol se preparó además medio con $5 \mu\text{g i.a./mL}$, y placas con medios libres de productos que sirvieron como testigos. Estas placas se sembraron con discos de cada uno de los patógenos. Se colocaron cuatro placas para cada concentración, incluyendo los testigos. Después de cinco días de incubadas a 25°C de temperatura y en la oscuridad, se midió el diámetro de las colonias, y se determinó el por ciento de inhibición del crecimiento respecto al testigo. Los datos de concentración fueron transformados a logaritmo, y el por ciento de inhibición a unidades Probit [Bliss, 1934]. Con estos valores, y utilizando un programa Probit, elaborado en 1996, se calculó la DL_{50} de cada producto para cada una de las especies en estudio.

Se obtuvo un buen control sobre el crecimiento de estos patógenos bajo la acción de prochloraz. *C. gloeosporioides* resultó la especie más sensible al producto,

requiriendo una dosis ligeramente menor que las otras especies en estudio, con una DL_{50} de $0,01 \mu\text{g/mL}$ (Tabla), aunque se debe señalar que no existieron diferencias significativas entre las tres especies para este producto.

El propiconazol y el difenoconazol mostraron control sobre el crecimiento de los tres patógenos, aunque se obtuvieron valores de DL_{50} mayores que para el prochloraz (Tabla), lo cual señala la mayor efectividad de este último. Resultados similares han sido reportados por Freeman y Nizami (1997) para *C. acutatum* en fresa.

El thiabendazol resultó ser el compuesto que requiere una mayor dosis para el control de estas especies, mostrando valores de DL_{50} entre 1,15 y $2,13 \mu\text{g/mL}$ (Tabla). En análisis realizados con este producto en 1998, se obtuvieron valores de DL_{50} que oscilaban entre 0,5 y $0,8 \mu\text{g/mL}$. Por tanto, este resultado señala una pérdida de sensibilidad de estos patógenos a este ingrediente activo y coincide con muchos casos reportados para el thiabendazol específicamente [Hostachy, 1990; Johanson, 1992 y Astúa, 1994]. Este último refiere una marcada reducción en la sensibilidad al thiabendazol en aislamientos de *C. gloeosporioides* provenientes de plantaciones comerciales de papaya donde el uso de benomyl ha sido intensivo. Es válido señalar que el benomyl y el thiabendazol son fungicidas pertenecientes al grupo de los benzimidazoles, con un mecanismo de acción similar [Davidse e Ishii, 1995]. En este mismo sentido De Lapeyre (1997) encontró 23% de aislados resistentes al thiabendazol de un total de 1 350 aislados obtenidos de 45 plantaciones, lo cual influye negativamente en los tratamientos poscosecha con este producto. También han sido informados casos de tolerancia a otros benzimidazoles como el benomyl [Griffe, 1973 y Químio, 1976] para *Colletotrichum musae*.

Tabla 1. Valores de DL₅₀ (µg/mL) de prochloraz, propiconazol, difenoconazol y thiabendazol sobre diferentes especies de *Colletotrichum*

Especies	Prochloraz	Propiconazol	Difenoconazol	Thiabendazol
<i>Colletotrichum acutatum</i>	DL ₅₀ = 0,03	DL ₅₀ = 0,27	DL ₅₀ = 0,16	DL ₅₀ = 1,15
<i>Colletotrichum capsici</i>	DL ₅₀ = 0,03	DL ₅₀ = 0,17	DL ₅₀ = 0,21	DL ₅₀ = 1,18
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	DL ₅₀ = 0,01	DL ₅₀ = 0,19	DL ₅₀ = 0,14	DL ₅₀ = 2,13

Es muy importante la determinación de las líneas bases de sensibilidad a estos productos, algunos de ellos, como el thiabendazol, son empleados en los tratamientos de poscosecha para el control de muchos patógenos que se detectan en esta etapa del cultivo. Los valores reportados en este estudio deben ser tomados en cuenta en los futuros trabajos que se realicen sobre este tema.

REFERENCIAS

- Astúa, G.; L. F. Arauz; G. Uniaña: «Sensibilidad reducida al thiabendazol en *Colletotrichum gloeosporioides* aislado de papaya», *Agronomía Costarricense* 18 (1):35-39, 1994.
- Bliss, C.I.: «The Calculation of the Dosage Mortality Curve», *Annals of Applied Biology*, 135-137.
- Davidse, L. C.; H. Ishii: «Biochemical and Molecular Aspects of the Mechanisms of Action of Benzimidazoles, N-phenylcarbamates and N-phenylformamidoxines and the Mechanisms of Resistance to These Compounds in Fungi. Modern Selective Fungicides». Ed. Dr. Horst Lyr.305-322, 1995.
- Freeman, S.; Y. Nizami: «Control of *Colletotrichum acutatum* in Strawberry Under Laboratory, Greenhouse and Field Conditions», *Plant Disease* 81:749-752, 1997.
- Griffe, P. J.: «Resistance to Benomyl and Related Fungicides in *Colletotrichum musae*», *Trans. Br. Mycol. Soc.* 60: 433-439, 1973.
- Hostachy, B. et al.: Bananos de la Martinique. Incidence des problèmes fongiques sur le qualité», *Phytoma* 420:37-44, 1990.
- Johanson, A.; B. Blazquez: « Fungi Associated with Banana Crown Rot on Field Packed Fruit from the Windard Island», *Crop Protection* 11: 79-83, 1992.
- L. de Lapeyre de Bellaire: «Distribution of Thiabendazol-Resistant *Colletotrichum musae* isolates from Guadeloupe Banana Plantations», *Plant Disease* 81 (12): 1378-1383, 1997.
- Quimio, T. H.: «Variability in *Colletotrichum musae* (Berk. It Curt.) V. Arx and its Significance in Chemical Control», *Phytopathology* 12: 40-50, 1976.

DESARROLLO DE UN MÉTODO RÁPIDO Y SENCILLO PARA EL AISLAMIENTO DE ADN DE ESPECIES FÚNGICAS QUE AFECTAN AL ARROZ Y EL TABACO

E. Miranda e Ileana Sandoval

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

Los patógenos fúngicos son causantes de graves y severos daños en la mayoría de los cultivos de nuestro país. Tal es el caso de la pata prieta del tabaco, causada por el hongo de suelo *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan, que puede ocasionar graves pérdidas en fase de semilleros en el país, así como la pudrición de la vaina del arroz por *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams & Hawsks., patógeno recientemente registrado para las condiciones de Cuba, capaz de necrosar intensamente las vainas de las panículas y provocar manchado y vaneado de los granos con pérdidas en los rendimientos [Sandoval *et al.*, 1999].

La caracterización de los hongos mediante marcadores moleculares puede propiciar un mayor entendimiento de la epidemiología de las enfermedades, lo que se revertiría en un mejor control [Crowhurst *et al.*, 1995].

Los marcadores RAPD se basan en el PCR, para lo cual se utilizan cebadores de 10 nucleótidos con una secuencia arbitraria, según Williams *et al.* (1990). Los patrones de bandas obtenidos con cada iniciador sirven para estudiar la variabilidad genética intra e inter-poblacional de los patógenos, así como sus relaciones taxonómicas.

Estos estudios se hacen generalmente con un número elevado de cepas, por lo que se necesita un método rápido y simple de obtención de ADN que permita procesar una gran cantidad de muestras al mismo tiempo.

En este estudio se presenta un protocolo para la extracción de ADN desarrollado en el laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, el cual muestra resultados adecuados para los fines antes expuestos en relación con las especies fúngicas *S. oryzae* y *P. nicotianae*.

Para la obtención del ADN se tomó de 0,5-0,75 g de micelio de los cultivos de los hongos crecidos en sustra-

to líquido papa dextrosa, y se trituró en un microtubo de 1,5 mL con 500 μ L de buffer de extracción (50 mM Tris-HCl pH = 7,5; 50mM EDTA, 2% de SDS y 1% de Na₂SO₃).

La mezcla fue macerada en el microtubo, se agitó en el vortex durante un minuto y posteriormente se centrifugó a 6 000 rpm durante diez minutos. El sobrenadante fue calentado durante quince minutos a 80°C, seguido de una extracción con un volumen de fenol-cloroformo (1:1) y centrifugación a 10 000 rpm por diez minutos. Se colectó la fase acuosa y se le agregó igual volumen de isopropanol. La mezcla fue colocada en frío durante veinte minutos y centrifugada a 10 000 rpm por espacio de diez minutos. Se desechó el sobrenadante, y el precipitado fue secado a 37°C durante treinta minutos y resuspendido en 50 μ L de buffer TE1X pH = 8.

Las concentraciones de ADN obtenidas fueron de 1 a 2 μ g/ μ L, cantidad suficiente para realizar más de 50 reacciones RAPD. El tiempo total de todo el proceso de extracción fue aproximadamente de tres horas. Siguiendo esta técnica, y según las posibilidades prácticas de nuestro laboratorio, se pueden llegar a procesar al mismo tiempo hasta 15 muestras diferentes por un solo especialista, por lo que se reduce considerablemente el tiempo de procesamiento en relación con otros métodos. Por ejemplo, con el método de Dellaporta *et al.* (1983) puede tomar hasta un día todo el proceso de obtención de ADN y, por los volúmenes que se emplean en los momentos iniciales, es muy difícil el procesamiento de seis muestras paralelamente.

Una de las novedades del método es el empleo del calentamiento a 80°C durante quince minutos para inactivar nucleasas. Muchos métodos de extracción emplean en este paso la incubación con proteinasa K a

37 °C durante al menos una hora [Boehm, 1999], o la incubación a 65°C por una hora [Du Teau y Leslie, 1999], por lo que es obvio el ahorro de tiempo que se obtiene con esta innovación.

La técnica propuesta resultó satisfactoria para la extracción de ADN de dos representantes de los hongos de diferentes grupos taxonómicos, Oomycetes y Deuteromycetes, con resultados excelentes para su inclusión en los estudios de la caracterización molecular de diferentes aislamientos del patógeno de la pudrición de la vaina del arroz *S. oryzae* en diferentes variedades y localidades arroceras del país.

La técnica ha resultado adecuada además para la obtención de ADN de tabaco y frijol, por lo que es posible su aplicación para plantas.

REFERENCIAS

- Boehm, E. W.: «Fungal Genomic DNA Extraction (on Line)», <http://www.protocolonline.net/molbio/DNA/fungal-genomic-dna-extraction.htm> (consulta: diciembre 1999).
- Crowhurst, R. U. et al.: «RAPD Characterization of *Fusarium oxysporum* Associated with Wilt of Angsana (*Pterocarpus indicus*) in Singapore», *Mycol. Res.* 99: 14-18, 1995.
- Dellaporta, S. L.; J. Wood; J. B. Hics: «A Plant Molecular DNA Mini-preparation, Version II», *Plant Mol. Biol. Rep.* 1: 19-21, 1983.
- Du Teau, N. M.; J. F. Leslie: «A Simple, Rapid Procedure for Isolation of DNA for PCR from *Gibberella fujikuroi* (on Line)», <http://www.protocolonline.net/molbio/DNA/simple-rapid-dna-extraction.htm> (consulta: diciembre 1999)
- Sandoval, Ileana et al.: «Primer reporte en Cuba de la enfermedad de la pudrición de la vaina del arroz por *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams & Hawk», *Fitosanidad* (La Habana) 3(4): 7-11, 1999.
- Williams, J. G. K. et al.: «DNA Polymorphism Amplified by Arbitrary Primers are Useful As a Genetic Markers», *Nucl. Acids Res.* 18.22: 6531-6535, 1990.

ESTUDIOS SOBRE EL EMPLEO DE ELICITORES PARA LA INHIBICIÓN DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL TABACO EN PLANTAS DE TOMATE

Ana L. Echemendía y G. González

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

En los últimos años muchos países, entre los cuales se encuentra Cuba, se dedican al estudio de sustancias que inhiben muchas de las enfermedades que afectan a cultivos de importancia económica. Generalmente las plantas responden ante las distintas enfermedades, a través de la acumulación de diferentes metabolitos secundarios; entre estos se destacan las fitoalexinas, compuestos de bajo peso molecular, que pueden o no resultar tóxicos para una amplia gama de microorganismos. Estos se acumulan en los sitios de infección en cantidades suficientemente grandes como para inhibir el crecimiento de microorganismos invasores, y el origen de esta acumulación es la existencia de ciertas moléculas de origen biótico y abiótico (elicitores) que estimulan, aun en la ausencia de microorganismos, la producción y acumulación de fitoalexinas [Dixon y Harrison, 1990 y Heath, 1991].

Los elicitores son utilizados como una medida de lucha contra enfermedades producidas fundamentalmente por virus y hongos, disminuyendo la propagación de estos en los cultivos. La acción de los inhibidores de la virosis en las plantas puede ser de dos tipos: inhibidor de la infección o inhibidor de la multiplicación; estos también se pueden clasificar en exógenos y endógenos, en dependencia de su procedencia. Dentro de esta última clasificación se encuentra el MSB, que se ha empleado en la inhibición de *Fusarium oxysporum* variedad *cubensis*, en plantaciones de papaya con un control de más del 95% [Borges y Fernández, 1993].

En rangos de concentraciones bajas, la preparación del glucano induce a la protección en un rango de 50-100% contra TMV en plantas de *Nicotiana* sp., no obteniéndose los mismos resultados en otros cultivos [Koop *et al.*, 1989 y Rouhier *et al.*, 1995]. Otro elicitador muy utilizado es la Quitosana, que protege a las plan-

tas contra infecciones sistémicas y locales, causadas por virosis transmitidas mecánicamente. La gran actividad antiviral de la quitosana es observada en plantas de frijol y, menos eficientemente, en tabaco.

Actualmente existe una gran expectativa en los sistemas de manejo integrado de plagas por la aplicación práctica del proceso de inmunización de plantas, ya que se considera una de las aproximaciones biocontroladoras que ofrece mejores perspectivas para proteger las plantas contra las infecciones microbianas, reduciendo al mismo tiempo la contaminación ambiental.

El objetivo de este trabajo fue probar el efecto inhibitorio del MSB combinado con la quitosana ante el virus de mosaico del tabaco (TMV) en dos variedades comerciales de tomate. En el experimento se utilizaron cuatro variantes (MSB a 100 y 1 000 ppm, MSB a 30 ppm + quitosana a 250 ppm, MSB a 125 ppm + quitosana a 100 ppm), y para cada una de ellas se emplearon 20 réplicas, las que fueron plantas de tomate *Lycopersicon esculentum*, Mill. variedades Campbell-28 y Floradel. Las aplicaciones se realizaron asperjando con un aspersor manual 24 horas antes de inocular las plantas con el virus. Posteriormente se hicieron observaciones diarias para chequear la aparición de los síntomas, y quince días después se aplicó la técnica ELISA indirecto para detectar la presencia del TMV [Echemendía *et al.*, 1995].

En el análisis de las plantas tratadas por la técnica ELISA, los resultados demostraron que en todos los casos estaba presente el TMV. Esto señala que el empleo de MSB sólo y combinado con quitosana no fue efectivo para la inhibición del virus en plantas de tomate, ya que no protegió a estas contra su infección. Los resultados obtenidos no coinciden con autores que reportan desde un 40-50 % de inhibición del TMV en varieda-

des de tabaco (*Nicotiana tabacum*, L.), con el empleo de quitosana al 0,1% asperjada 24 horas antes de inocular el virus. Otros autores también señalan la falta de inhibición de este virus cuando se incuba la solución de quitosana con el TMV durante diez minutos antes de su inoculación, encontrándose condicionado el resultado inhibitorio de esta enfermedad a varios factores, como son la frecuencia, modo y concentraciones de los elicitores empleados [Pospieszny *et al.*, 1991]. Se sugiere ensayar el uso de otras variantes de diluciones, formas y frecuencias de aplicación de estos elicitores en plantas de tomate.

REFERENCIAS

Borges, A. P.; M. F. Fernández: *Composiciones para inducir resistencia a traqueomicosis en plantas*, Patente 93 ES-9301711, 1993.

Dixon, R. A.; M. J. Harrison: «Activation Structure and Organization of Genes Involved in Microbial Defence in Plant», *Adv. Genet.* 28: 165-234, 1990.

Echemendía, A. L.: «Aplicación de la técnica ELISA indirecto en el diagnóstico de tobamovirus en semillas de tomate», *Fitosanidad* 3(4): 3-6, La Habana, 1999.

Heath, M. C.: «Evolution of Resistance to Fungal Parasitism in Natural Ecosystems», *New Phytol.* 119: 331-343, 1991.

Koop, M. *et al.*: «Host-Pathogen Interaction XXXII. A Fungal Glucan Preparation Protects *Nicotianae* Against Infection by Viruses», *Plant Physiology* 90: 208-216, 1989.

Pospieszny, H.; S. Chirkov, J. Atabekov: «Induction of Antiviral Resistance in Plant by Chitosan», *Plant Sci.* 79: 63-68, 1991.

Rouhier, P.: «Structural Features of Fungal-D Glucons for the Efficient Inhibition of the Initiation of Virus Infection on *Nicotiana tabacum*», *Phytochemistry*, 39.1: 57-62, 1995.

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO Y DIAGNÓSTICO DE LA MICROBIOTA PATÓGENA DE LA CAÑA DE AZÚCAR (*SACCHARUM SP. HÍBRIDA*) EN CUBA

María O. López Mesa

Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrupocuarías

En la caña de azúcar, nuestro principal cultivo, se presentan numerosos hongos causantes de enfermedades que pueden destruir las plantaciones o provocar grandes daños.

La caña de azúcar en el mundo se afecta por 137 patologías de origen fúngico, de las cuales oficialmente en Cuba aparecen registradas 33 enfermedades, a pesar de tenerse fuertes evidencias de la existencia de otras que pasan inadvertidas.

El presente trabajo se realizó con el objetivo de ampliar el conocimiento sobre la presencia de las patologías de origen fúngico en las principales áreas cañeras del país y su caracterización taxonómica; determinar los aspectos taxonómicos que pudieran facilitar la identificación de las especies de los géneros *Bipolaris*, *Fusarium*, *Phoma* y *Colletotrichum*, que son los que con mayor frecuencia se presentaron y los que ofrecen mayores dificultades para la determinación; y, a partir del conocimiento de las especies y de su taxonomía, proponer un sistema de claves, descripciones e ilustraciones de los hongos patógenos presentes en el país para simplificar su diagnóstico.

Se detectaron 100 hongos, de los cuales 50 son nuevos registros y 36 son patógenos de la caña de azúcar.

Se registran e informan por primera vez para el cultivo en Cuba los hongos patógenos *Cerebella andropogonis*, *Curvularia senegalensis*, *Fusarium equiseti*, *Leptoxiphium axillatum*, *Lophodermium* sp., *Macrophomina phaseolina*, *Myrothecium roridum* y *Pythium aphanidermatum*.

Se comprobó por primera vez en el mundo la patogenicidad en el cultivo de la caña de azúcar del hongo *Bipo-*

laris bicolor y la de *Curvularia senegalensis* en hojas de plantas de caña.

Se demostró que las mejores condiciones para el cultivo de las especies del género *Bipolaris* con fines de identificación son en agar agua con fragmentos de hojas de caña, hierba de Guinea o Don Carlos, expuestas alternativamente a la luz y a la oscuridad.

Resultó novedoso haber demostrado que los aislamientos del género *Fusarium* cultivados en condiciones alternas de luz-oscuridad formaron conidios que permitieron una correcta determinación específica, y el mejor desarrollo de clamidosporas se obtuvo cuando los aislamientos se cultivaron en la oscuridad. El mejor medio de cultivo para la conservación de estos hongos fue el de agar de papa con fragmentos de papel de filtro.

El medio de extracto de malta y la incubación a 20°C y a 25°C, respectivamente, resultaron válidos para la determinación de las especies de *Phoma* y *Colletotrichum* aisladas de caña, y el medio de papa-zanahoria para la formación de los apresorios de los hongos de este último género.

Se elaboraron ocho claves para la determinación de los grupos, géneros y especies, y las descripciones e ilustraciones de 43 especies de hongos.

Se propone una nueva combinación para *Leptosphaeria sacchari* Breda de Haan, agente causal de la mancha anular, que se reubica en el género *Phaeosphaeria* Miyake, por lo que la especie quedaría como *Phaeosphaeria sacchari* (Breda de Haan) M. O. López & I. Sandoval, lo cual constituye un nuevo aporte para la ciencia.