

Micobiota en el cultivo del *frijol* (*Phaseolus vulgaris* L.) en Cuba

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

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

Estudios de biocontrol *in vitro* del hongo fitopatógeno *Sarocladium oryzae* con cepas de *Bacillus subtilis*

Contenido

DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO

Diagnóstico de virus y bacterias en el sistema de micropropagación del cultivo del plátano en Cuba
Gloria González, Zenaida Amat, Miriam Castro, Ana L. Echemendía y Yadira Alfonso 5

Determinación del contenido de ácidos grasos de tubérculos de papa afectados por *Ralstonia solanacearum*
y *Erwinia chrysanthemi* 11
B. Suárez y Marusia Stefanova

Micobiota del cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Cuba 15
Ileana Sandoval y María O. López

ECOLOGÍA

Comportamiento de la mosca blanca (*Bemisia* spp.), sus parasitoides y el virus que transmite en tres agroecosistemas
de la región del Valle del Cauto 21
J. Machado, María Fonseca, Diana Bruqueta, J. Pérez Fajardo, C. Tornés, Ana Puertas, H. Cándido González y L. Rodríguez

Principales malas hierbas en zonas urbanas de Guantánamo 27
Noris López

Regionalización del comportamiento de *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera:Aphididae) en papa en la provincia de La Habana 31
S. F. Jiménez, J. Cortiñas, Lérica Almaguez y Guadalupe Gómez

Comparación de trampas de diferentes colores en la captura de *Trips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae)
en el cultivo de cebollino (*Allium schoenoprasum* Lin.) 37
E. Rodríguez y L. L. Vázquez

CONTROL QUÍMICO

Residualidad de malation, metamidfos, paration-metilo y zineb en cebolla (*Allium cepa* L.) 41
R. Hernández, A. Sisino y A. Lazo

Sensibilidad de especies de hongos fitopatógenos a los inhibidores de la biosíntesis de ergosterol (IBE) 45
Berta L. Muiño, A. Hernández y Ángela Porras

Interacción de los hongos ectomicorizógenos y fungicidas sobre la enfermedad mancha parda en posturas
de *Pinus maestrensis* Bisse 49
Anairad Ferrer, Rosa Alonso, V. Arévalo, M. Betancourt, Emelina Rengifo y J. Montalvo

Estabilidad físico-química del insecticida dimetoato durante su almacenamiento 55
A. Bécquer

Obtención de extractos vegetales asistidos por la energía de las microondas. Comparación con métodos convencionales 59
C. R. Romeu, T. A. González, A. L. Marrero, A. Martín, V. Millán, G. Iglesias y H. Campaña

CONTROL BIOLÓGICO

Estudios de biocontrol *in vitro* del hongo fitopatógeno *Sarocladium oryzae* con cepas de *Bacillus subtilis* 65
A. Miguel, L. A. Torres, Tania Bonilla y Zenaida Amat

Antagonismo de *Trichoderma harzianum* A34 hacia *Macrophomina phaseolina* y otros patógenos fúngicos del frijol 69
Ileana Sandoval y María O. López

Conservación de preparados líquidos de *Trichoderma harzianum* cepa A34 73
Argelia Cejas, Orietta Fernández-Larrea, Raiza Díaz, Carmen Nieves y R. Fuentes

Evaluación de fuentes nutricionales alternativas para la reproducción masiva de la cepa LBT-3 de *Bacillus thuringiensis*
variedad *karstaki* 77
Orietta Fernández-Larrea y A. Díaz

Evaluación de cepas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para el combate de *Atta insularis* (Güerin) 81
Zofía Trujillo, R. Pérez, Miriam López, Carmen N. Zamora y Cristina Ocaro

Comportamiento de las poblaciones de la chinchita *Cyrtopeltis tenuis* Reuter (Heteroptera: Miridae) en el cultivo del tomate
infestado con la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Homoptera:Aleyrodidae) 85
L. L. Vázquez y Dinorah López

<i>Pheidole megacephala</i> (F.), hormiga depredadora de la garrapata <i>Boophilus microplus</i> (Canestrini) Esperanza Rijo, Teresa Rodríguez, Elena Vitorde y M. Gómez	89
MANEJO INTEGRADO	
Generalización en Cuba del programa de manejo integrado del ácaro rojo <i>Tetranychus tumidus</i> en plátano Lerida Almaguel, R. Pérez, Mayra Ramos, Zuleika Martínez, R. Pérez, J. Ovies, Bárbara Roselló, Misleibis Márquez, Isabel Suárez, Elina Massó, R. Chico, Ermita Feitó y J. Cortiñas	93
COMUNICACIÓN PARA LA FITOPROTECCIÓN	
Bosquejo histórico de los trabajos realizados para el establecimiento del control biológico de la mosca prieta de los cítricos en Cuba R. Martínez, Nilda Blanco y Caridad de la Torre	99
RESEÑA	
<i>Phytomonas</i> : protozoos flagelados de plantas Ingrid Paz	107

Contents

PHYTOSANITARY DIAGNOSTIC

Pathogens diagnosis in the micropropagation system of banana in Cuba Gloria González, Zenaida Amat, Miriam Castro, Ana L. Echemendía and Yadira Alfonso	5
--	---

Determination of the content of fatty acids of potato tubers affected by <i>Ralstonia solanacearum</i> and <i>Erwinia chrysanthemi</i> B. Suárez and Marusia Stefanova	11
---	----

Mycobiota of cultivation of the bean (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) in Cuba Ileana Sandoval and María O. López	15
--	----

ECOLOGY

Behavior of the white fly (<i>Bemisia</i> spp.), their parasitoides and the virus that transmits in three agroecosystems of the Cauto Valley region	21
--	----

J. Machado, María Fonseca, Diana Bruçqueta, J. Pérez Fajardo, C. Tornés, Ana Puertas, H. Cándido González and L. Rodríguez

Main weeds in urban areas of Guantánamo Noris López	27
--	----

Zonification of the behavior of <i>Myzus persicae</i> (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) in potato crop in La Havana province S. F. Jiménez, J. Cortiñas, Lérica Amaguel and Guadalupe Gómez	31
--	----

Comparison of different colors traps in the capture of <i>Thrips tabaci</i> Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) in chive cultivation (<i>Allium schoenoprasum</i> Lin.) Ernesto Rodríguez and Luis L. Vázquez	37
--	----

CHEMICAL CONTROL

Residuality of Malathion, Methamidophos, Parathion-methyl y Zineb on onion (<i>Allium cepa</i> L.) R. Hernández, A. Sisino and A. Lazo	41
--	----

Sensibility of phytopathogens fungus species to the Ergosterol Biosynthesis Inhibitors (EBI) Berta Lina Muiño, Alexis Hernández and Ángela Porras	45
--	----

Interaction of the ectomycorrhizal fungus and fungicides on the illness «brown spot» in postures of <i>Pinus maestrensis</i> Bisse Anairad Ferrer, Rosa Alonso, V. Arévalo, M. Betancourt, Emelina Rengifo and J. Montalvo	49
---	----

Physical-chemical stability of the insecticide dimethoate during their storage A. Bécquer	55
--	----

Obtaining of vegetable extracts attended by the energy of the microwaves. Comparison with conventional methods C. R. Romeu, T. A. González, A. L. Marrero, A. Martín, V. Millán, G. Iglesias and H. Campañá	59
--	----

BIOLOGICAL CONTROL

Biocontrol studies <i>in vitro</i> of phytopatogen fungus <i>Sarocladium oryzae</i> with stumps of <i>Bacillus subtilis</i> A. Migue, L. A. Torres, Tania Bonilla and Zenaida Amat	65
---	----

Antagonism of <i>Trichoderma harzianum</i> A34 toward <i>Macrophomina phaseolina</i> and other pathogenic fungus of bean Ileana Sandoval and María O. López	69
--	----

Conservation of liquid preparations of <i>Trichoderma harzianum</i> stump A34 Argelia Cejas, Orietta Fernández-Larrea, Raiza Díaz, Carmen Nieves and R. Fuentes	
--	--

Evaluation of alternative nutritional sources for the massive reproduction of <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> stump LBT-3 Orietta Fernández-Larrea and A. Díaz	77
--	----

Evaluation of stumps of entomopathogenic fungus <i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill. for the control of <i>Atta insularis</i> (Güerin) Zoiia Trujillo, R. Pérez, Miriam López, Carmen N. Zamora and Cristina Ocano	81
---	----

Behavior of <i>Cyrtopeltis tenuis</i> Reuter (Heteroptera: Miridae) populations in the tomato cultivation infested with the white fly <i>Bemisia tabaci</i> (Homoptera: Aleyrodidae) L. L. Vázquez and Dinorah López	85
---	----

<i>Phaidole megacephala</i> (F), predator ant of the tick <i>Boophilus microplus</i> (Canestrini) Esperanza Rijo, Teresa Rodríguez, Elena Vitorte and M. Gómez	89
---	----

INTEGRATED MANAGEMENT

- Generalization in Cuba of integrated management program of the mite red *Tetranychus tumidus* in banana 93
Lérida Almaguel, R. Pérez, Mayra Ramos, Zuleika Martínez, R. Pérez, J. Ovies, Bárbara Roselló, Misleibis Márquez, Isabel Suárez, Elina Massó,
R. Chico, Ermita Feitó and J. Cortiñas

PHYTOPROTECTION COMUNICACION

- Historical outline of works for the establishment of biological control of black fly of citrus in Cuba 99
R. Martínez, Nilda Blanco and Caridad de la Torre

REVIEW

- Phytomonas: flagellate protozoan of plants 107
Ingrid Paz

DIAGNÓSTICO DE VIRUS Y BACTERIAS EN EL SISTEMA DE MICROPROPAGACIÓN DEL CULTIVO DEL PLÁTANO EN CUBA

Gloria González, Zenaida Amat, Miriam Castro, Ana L. Echemendía y Yadira Alfonso

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

RESUMEN

Las posibilidades que brinda la técnica de micropropagación *in vitro* han permitido obtener vitroplantas de interés económico, como el plátano (*Musa sp.*) en países de América y Europa. Esta forma de producción presenta ventajas, pero también constituye un riesgo por la posible diseminación de enfermedades virales y bacterianas. En Cuba existen numerosas biofábricas destinadas a este cultivo, por lo que es necesario poseer sistemas de diagnóstico que permitan la eliminación de materiales infectados antes de la micropropagación. Para esto se realizaron purificaciones, aislamientos, obtención de juegos diagnóstico y estandarización de las técnicas ELISA-DAS y ELISA-Indirecto para *Erwinia chrysanthemi*, agente causal de la necrosis del corno y el virus del mosaico del pepino (CMV). Los análisis realizados permitieron la detección de ambos patógenos en diferentes provincias de Cuba, incluso en donantes asintomáticos, lo que conllevó a la confección de una norma de estricto cumplimiento para su control fitosanitario, lo que representa una medida más en el programa de manejo integrado en el cultivo del plátano.

Palabras claves: diagnóstico de cultivo de tejido, *Erwinia chrysanthemi*, virus del mosaico del pepino, ELISA-DAS, ELISA-Indirecto, inmunoensayo

ABSTRACT

The opportunities which offer the micro-propagation techniques "in vitro" have facilitated to obtain vitroplants of economic crops, like banana (*Musa sp.*) in several countries of America and Europe. This type of reproduction has many advantages, but also is a risk as a mean of spread both virus and bacterial diseases. In Cuba, there are many tissue culture laboratories propagating bananas, which represents the need to own an efficient diagnosis system to eliminate any infected material before micropropagation. In order to this, we isolated *Erwinia chrysanthemi* bacteria causal agent of Rhizome necrotic and performed purification of Cucumber Mosaic Virus particles, causal agent of banana common mosaic and develop and standardized diagnostic kits for ELISA-DAS and ELISA- Indirect immunoassay. Results showed the presence of CMV and *E. chrysanthemi* in several provinces and in symptomless donors. For this cause, we proposed guideline rules which must be executed to control these pathogens.

Key words: tissue culture diagnostic, *Erwinia chrysanthemi*, Cucumber mosaic virus, ELISA-DAS, ELISA-Indirect, immunoassay

INTRODUCCIÓN

La demanda cada vez mayor de semillas de diferentes cultivos de importancia económica y las posibilidades que ofrece la técnica de micropropagación, han permitido la obtención de plantas como caña de azúcar, papa y plátano, en condiciones *in vitro* o en laboratorio [Smith y Hamill, 1991].

Debido a esto, es muy importante que los donantes que aparentemente estén libres de virus y bacterias sean sometidos a técnicas sensibles de diagnóstico antes de la micropropagación para evitar las posteriores afectaciones en las plantaciones.

En Cuba, en los últimos años, se ha incrementado el número de laboratorios dedicados a la producción comercial de vitroplantas (biofábricas) destinadas principalmente al cultivo del plátano, ubicadas en diferentes

provincias, lo que hace posible que se incorporen al proceso de micropropagación materiales infectados con el virus del mosaico del pepino (CMV) y con la bacteria *Erwinia chrysanthemi*, patógenos distribuidos en el país y que causan reducciones en los rendimientos en un 30 y 54,7% respectivamente.

Por esta causa, y considerando la importancia que posee asegurar el estado fitosanitario de las vitroplantas para su comercialización y lograr un alto nivel de saneamiento en las plantaciones, se realizaron investigaciones encaminadas a la estandarización de técnicas de diagnóstico de alta sensibilidad, cumpliendo los siguientes objetivos:

1. Preparación del inmunógeno, obtención de inmunoseros y estandarización de la técnica ELISA-DAS

[Clark y Adams, 1977] para el diagnóstico de *E. chrysanthemi*, y la comparación en cuanto a la sensibilidad con la siembra en el medio de cultivo OVM [Rivera *et al.*, 1987].

2. Método de purificación, obtención de inmunosue-ros y estandarización de la técnica ELISA-Indirecto para el diagnóstico del CMV.

3. Sensibilidad de las técnicas de diagnóstico utilizadas ante diferentes grados de infección en los donantes de plátano.

4. Comprobación de la aplicación de las técnicas de diagnóstico en diferentes provincias mediante mues-treos a determinadas plantaciones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación del inmunógeno, obtención de immuno-sue-ros y estandarización de la técnica ELISA-DAS [Clark y Adams, 1977] para el diagnóstico de *E. chrysanthemi* y la comparación en cuanto a la sensibilidad con la siembra en medio de cultivo OVM [Rivera *et al.*, 1987].

Para los estudios realizados se utilizó la cepa Ech-84 de *E. chrysanthemi* procedente de la colección del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal de Cuba.

El inmunógeno se obtuvo a partir de la recolección de cultivos de esta cepa con 48 horas de crecimiento en agar nutriente, los que se resuspendieron en solución fisiológica al 0,85%. Se centrifugaron a 7 000 rpm por 10 minutos, tomando el pellet por resuspensión y eli-minando el sobrenadante, operación que se repitió tres veces. Finalmente se resuspendió en solución salina y se ajustó la concentración en un espectrofotómetro a valores de 0,46 DO.

Para la inmunización a conejos se emulsificaron 2,5 mL de la suspensión bacteriana con 2,5 mL de adyuvante incompleto de Freud, comenzando con una primera inyección de forma intramuscular. A los 20 días más tarde se iniciaron las inyecciones intravenosas con intervalos de dos días hasta llegar a seis en total, con sus-pensiones bacterianas de 2,5; 0,5; 1; 2; 3 y 4 mL respectivamente. Después de siete días de la última in-yección, se hizo la titulación del inmunosero obteni-do. Los animales fueron sacrificados y la sangre fue mantenida a 37°C durante dos horas, y más tarde a 4°C por 16 horas. Al separarse el plasma del coágulo se centrifugó a 2 000 rpm por 10 minutos, conservándola en recipientes con azida sódica al 0,03%.

La calidad del suero obtenido se verificó por aglutina-ción en tubo y por inmunofluorescencia indirecta.

Las muestras de los rizomas se prepararon tomando asépticamente tejido de las yemas laterales y del cuello, hasta completar 2 g por cada uno. Seguidamente se ho-mogeneizó con 2 mL de PBS más 0,05% de tween, 1%

de polivinil pirrolidona y 0,2% de ovoalbúmina a pH 7,4.

Estos extractos fueron también utilizados para la siem-bra en el medio de cultivo OVM, y las placas fueron in-cubadas a 30°C durante 48 horas, después de las cuales se realizó el conteo en un microscopio estereoscópico.

La técnica ELISA-DAS se realizó según Clark y Adams (1977), y como controles positivos se utilizaron sus-pensiones bacterianas de *E. chrysanthemi* a concentra-ciones de 10^8 ufc/mL, ajustadas en espectrofotómetro y evaluadas por conteo de colonias. A partir de estas sus-pensiones se hicieron ocho diluciones decimales, que se valoraron por la técnica ELISA y en el medio de cul-tivo OVM con el fin de establecer la sensibilidad del método empleado.

La confiabilidad del método se determinó por el análi-sis de 94 muestras, 48 con síntomas y 46 asintomáti-cas, y se establecieron los límites de los valores en cada caso.

Método de purificación, obtención de inmunosue-ros y estandarización de la técnica ELISA-Indirecto para el diagnóstico del CMV

El aislado del CMV utilizado procedió de plantas de plátano infectadas, y fue mantenido en plantas de *Ni-cotiana tabacum* L. variedad Xanthy-nc en condiciones de casa de cristal, las que constituyeron el inóculo para realizar las purificaciones virales. Para la purificación se utilizó el método de Castro y Ezavin (1992).

La obtención del inmunosero se realizó mediante un esquema de inmunización de cuatro inyecciones sub-cutáneas y de una intravenosa a intervalos semanales, con una concentración de 1 mg/mL. La calidad del sue-ro obtenido se verificó por la técnica de doble immuno-difusión en agar.

Las muestras se prepararon por maceración de 1g de tejido de hojas de plátano, con 1 mL de tampón PBS-tween, más 2-mercaptoetanol al 0,05%.

La técnica ELISA-Indirecto se realizó según Clark y Adams (1977), y como controles positivos y negativos se utilizó la purificación viral, así como plantas de plátano sanas e infectadas con el virus. Las muestras se prepararon por maceración de 1g de tejido de hojas de plátano, con 1 mL de tampón PBS-tween, más 2-mercaptoetanol al 0,05%.

La sensibilidad se determinó mediante una curva de dosificación de la purificación viral, mientras que la es-pecificidad y confiabilidad por la comparación del análi-sis de 47 muestras por la técnica de dot-blot.

Sensibilidad de las técnicas de diagnóstico utilizadas ante diferentes grados de afectación de los donantes

Con el objetivo de conocer la sensibilidad de las téc-nicas de diagnóstico para la detección del CMV y de *E. chrysanthemi* se tomaron muestras de rizomas y de hi-

jos de 30 plantas de plátano asintomáticas y con diferentes grados de afectación, en áreas de este cultivo ubicadas en las provincias de Ciego de Ávila y La Habana, las que fueron sometidas al proceso de obtención de vitroplantas.

Para el diagnóstico de estos patógenos se utilizaron las técnicas ELISA-DAS, siembra en medio de cultivo OVM y ELISA-Indirecto.

Comprobación de la aplicación de las técnicas de diagnóstico en diferentes provincias mediante muestreos a determinadas plantaciones de plátano

Se evaluó la aplicación de estos métodos en las biofábricas y laboratorios provinciales de Sanidad Vegetal a posibles donantes en determinadas plantaciones de plátano en las provincias de Villa Clara, Ciego de Ávila, Camagüey, La Habana, Pinar del Río, Sancti Spíritus, Holguín, Las Tunas, Santiago de Cuba, Guantánamo y Granma.

El número de donantes seleccionado estaba en dependencia de la cantidad de materiales que cada biofábrica podría asumir en su proceso de micropropagación.

El diagnóstico de CMV se realizó por la técnica ELISA-Indirecto a las hojas de los hijos de las plantas donantes, mientras que la determinación de *Erwinia chrysanthemi* se realizó por la técnica ELISA-DAS o medio OVM al material obtenido del rebajado del corno. Ambos análisis se realizaron anteriormente a la entrada de los donantes al área estéril de las biofábricas.

Se verificó, durante el desarrollo de este trabajo, la posibilidad de realizar los muestreos de forma coordinada entre el personal de las biofábricas y los especialistas de los laboratorios de Sanidad Vegetal, la rapidez en el

procesamiento de las muestras y la eliminación de aquellas que presentaban infección por virus y/o bacteria.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Preparación del inmunógeno, obtención de inmunosueros y estandarización de la técnica ELISA-DAS [Clark y Adams, 1977] para el diagnóstico de E. chrysanthemi y la comparación con la siembra en medio de cultivo OVM [Rivera et al., 1987]

El título del inmunosuero obtenido de *E. chrysanthemi* fue de 1/2 560 por aglutinación, y de 1/6 400 por inmunofluorescencia.

En la determinación de los parámetros de trabajo de la técnica ELISA, los mejores resultados se obtuvieron con el recubrimiento de la IgG G purificada a concentraciones de 4 µg/mL, y el conjugado con fosfatasa alcalina en una dilución de 1/200.

El suero utilizado no reconoció los cultivos de los sa-prófitos que ofrecieron valores desde 0,01 hasta 0,05 de DO (densidad óptica).

Las cuarenta y ocho que mostraron síntomas fueron todas positivas por ELISA y por siembra en el medio de cultivo OVM. Los valores de absorbancia en la primera estuvieron en un rango desde 0,49 a 1,65 de densidad óptica, y el conteo poblacional en OVM fue desde $4,1 \times 10^5$ hasta 9×10^8 ufc/mL.

De las 46 muestras sin síntomas, 17 resultaron positivas en OVM, y tres en ELISA, y sus poblaciones iban desde $2,1 \times 10^6$ hasta $1,6 \times 10^7$ ufc/mL. Las 14 muestras negativas en ELISA tenían niveles poblacionales por debajo de 10^4 (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados obtenidos al analizar los materiales infectados con *E. chrysanthemi*

Síntomas	Cantidad de muestras	ELISA-DOS		Medio OVM	
		Por ciento de muestras	Por ciento de muestras (-)	Por ciento de muestras	Por ciento de muestras (-)
Sintomáticas	48	100	0	100	0
Asintomáticas	46	6,5	3,4	37	63

Método de purificación, obtención de inmunosueros y estandarización de la técnica ELISA-Indirecto para el diagnóstico del CMV

En las purificaciones realizadas del CMV se obtuvo una concentración de 3mg/mL. El título del inmunosuero obtenido fue de 1/16, y las mejores diluciones de la IgG y del conjugado con fosfatasa alcalina fueron de 1/1 000 y 1/2 000 respectivamente.

La sensibilidad de la técnica ELISA-Indirecto fue de 3µg/mL, y la sensibilidad, especificidad y confiabilidad

con la técnica del dot-blot fue de 96%, 88,8% y 96,9% en cada caso.

Sensibilidad de las técnicas de diagnóstico utilizadas ante diferentes grados de afectación de los donantes

Los resultados obtenidos al analizar donantes de plátano provenientes directamente de la producción se reflejan en la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados obtenidos al procesar donantes de plátano procedentes de áreas de producción

Muestras	Donantes	Con CMV	Con <i>E. chrysanthemi</i>	Por ciento de vitroplantas libres de	
				CMV	<i>E. chrysanthemi</i>
Asintomáticas	20	5	15	40	66
Rizomas afectados	10	-	10	-	-
Hojas afectadas	10	10	-	5	-
Total	40				

Las muestras asintomáticas manifestaron infecciones por el CMV y por la bacteria *E. chrysanthemi*, la que fue puesta en evidencia mediante las técnicas de diagnóstico utilizadas.

En ambos casos se obtuvieron vitroplantas en cultivo *in vitro*, libres de virus y bacterias (Tabla 2) con diferentes valores en la efectividad del tratamiento. Los rizomas infectados presentaron grados 2 y 3, correspondientes a afectaciones del 25 al 50%, y mayor del 50% causados por *E. chrysanthemi*, que no pudieron ser obtenidas en el proceso de micropropagación debido a la misma infección que provocó su muerte.

Las diez muestras con síntomas de mosaico en forma de rayas cloróticas perpendiculares al nervio central y

a veces discontinuas, correspondieron al virus del mosaico del pepino. El total de ellas fue obtenido en cultivo *in vitro*, pero sólo el 50% resultó estar liberadas del virus.

Comprobación de la aplicación de las técnicas de diagnóstico en diferentes provincias mediante muestreos a determinadas plantaciones de plátano

Como resultado de la aplicación de las técnicas de diagnóstico se detectó la presencia de donantes infectados por virus y bacterias (Tabla 3), los cuales no presentaban síntomas visuales y fueron retirados del proceso de micropropagación.

Tabla 3. Determinación de donantes infectados antes del proceso de multiplicación del plátano

Provincias	No. de donantes	CMV(+)	<i>E. chrysanthemi</i> (+)
Villa Clara	975	-	-
La Habana	838	10	11,5
Ciego de Ávila	93	-	9,3
Camagüey	173	17,3	-
Pinar del Río	20	-	-
Sancti Spíritus	24	-	-
Holguín	65	-	-
Las Tunas	100	-	-
Santiago de Cuba	2 376	-	-
Guantánamo	150	-	-
Granma	1 381	-	-
Total	5 314		

En el caso de las bacterias, Hayward (1974) planteó que el desconocimiento de infecciones latentes o sin presencia de síntomas se debía a la baja sensibilidad de los métodos aplicados para su detección.

Autores como Cooke *et al.* (1992) indicaron que diferentes especies de plantas, inoculadas con *Agrobacterium tumefaciens* y *Xanthomonas campestris*, se desarrollaron satisfactoriamente durante el proceso de micropropagación, para después, al ser transferidas al campo, mostrar síntomas de agallas en el cuello, manchas y necrosis en las hojas, características de estos patógenos.

Chueca *et al.* (1997) apuntaron que el riesgo de obtener vitroplantas infectadas por bacterias, al utilizar donantes libres de estas es aún mayor, si se considera que en ocasiones no hay signos visibles ni en los tejidos ni en el medio de cultivo, ya que estos patógenos no crecen en los medios usuales de cultivo de tejidos.

Otros investigadores informan la importancia de la detección de enfermedades bacterianas latentes en la introducción de materiales en un país, ya que vitroplantas con *Pseudomonas solanacearum*, sin síntomas visibles, fueron enviadas a países como Hawái y Australia [Robinson, 1994].

En el estudio realizado, las técnicas ELISA-DAS y medio selectivo OVM, son capaces de detectar concentraciones de 10^5 y 10^9 ufc/mL respectivamente [Rivera *et al.*, 1987] que aseguran un alto nivel de detección, lo que fue comprobado por Rivera y Larrinaga en 1990 al detectar 17 muestras de plátano infectadas, de un total de 46 que no mostraban síntomas.

El CMV puede presentarse indistintamente en diferentes partes de las plantas de plátano, y sólo aparece generalmente cuando estas tienen bien desarrollados varios hijos, por lo que a veces los jóvenes retoños no presentan síntomas [Yot-Dauthy y Bové, 1966].

Al procesar materiales infectados con virus y bacterias se obtuvieron vitroplantas en cultivo *in vitro*, libres de estos patógenos, con valores en la efectividad del tratamiento, que coinciden con lo señalado por Sarga (1988) y Cooke *et al.* (1992), cuando sólo detectaron un 67,6% de plantas liberadas del virus del mosaico del pepino y el mantenimiento de infecciones latentes por las bacterias respectivamente, lo que nos indicó que por sí solo el cultivo de meristemo no es un método de saneamiento total de materiales infectados.

Por otra parte, la no obtención de vitroplantas provenientes de rizomas infectados coincidió con lo observado por Cooke *et al.* (1992), al inocular cuatro especies de bacterias en plantas de delphinium y áster.

En lo relativo a las plantas infectadas por virus, los resultados reafirman las ideas planteadas por Berg y Bustamante (1974), Gupta (1986) y Sarga (1988), sobre

la no posibilidad de obtener un saneamiento total de plantas infectadas por virus.

Durante el estudio realizado en condiciones de producción no se detectó una alta incidencia de virus y bacterias, pero si consideramos que de cada donante se obtienen 10 000 vitroplantas como producción final de cada biofábrica, la garantía de comercializar materiales sanos y la seguridad de producir plantas de plátano con alto nivel fitosanitario sustenta la incorporación de las técnicas de diagnóstico antes de iniciar el proceso de micropropagación. Además, se pudo verificar en la práctica la posibilidad de realizar este trabajo coordinado con las partes interesadas, así como eliminar del proceso aquellos materiales infectados.

CONCLUSIONES

- Los análisis realizados permitieron la detección de *Erwinia carysanthemi* y del virus del mosaico del pepino (CMV) en diferentes provincias de Cuba, incluso en donantes asintomáticos de vitroplantas de plátano.

REFERENCIAS

- Berg, L. A.; M. Bustamante: «Heat Treatment and Meristem Culture for the Production of Virus Free Bananas», *Phytopathology* 64:320-322, 1974.
- Castro, M.; M. Ezavín: «Diagnóstico del virus del mosaico del pepino en el cultivo del plátano mediante la técnica ELISA-Indirecto», VII Forum de Ciencia y Técnica, INISAV, 1992.
- Chueca, M. C.; M. C. Escorial; H. Sixto: «Cultivos *in vitro* libres de contaminación», *Phytoma* 85: 26-30, 1997.
- Clark, M. F.; A. N. Adams: «Characteristics of the Microplate Method of Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA) for the Detection of Plant Viruses», *J. Gen. Virol.* 34: 475-483, 1977.
- Cooke, D. L.; V. M. Maitis; D. C. Sigue; H. A. S. Epton; C. Leipert: «Plant Pathogenic Bacteria», Versailles (France) June 9-12, Ed. INRA. Paris *Les Colloques* 66, 1005-1010, 1992.
- Gupta, P. P.: «Eradication of Mosaic Disease and Rapid Clonal Multiplication of Bananas and Plantains Through Meristem Tip Culture», *Plant. Cell. Tissue and Organ Culture* 6: 33-39, 1986.
- Hayward, A. C.: «Latent Infections by Bacteria», *Ann. Rev. Phytopathology* 12: 87-97, 1974.
- Rivera, Felipe; María Larrinaga; M. Ezavín: «Aspectos epidemiológicos y de diagnóstico sobre la enfermedad necrosis del corno del plátano», Segunda Jornada Científica Técnica de Sanidad Vegetal, La Habana, 1987.
- Robinson, A.: The Detection and Identification of *Pseudomonas solanacearum*. A Technical Workshop, CENSA, La Habana, 1994.
- Smith, M. K.; S.D. Hamill: «Use of Tissue Culture for the Propagation and Improvement of Bananas and Plantains», *Banana diseases in Asia and the Pacific*, INIBAP, Network for Asia and the Pacific, 1991.
- Sarga, J. G.: «Obtención de plantas libres del virus del mosaico del pepino por cultivo de ápices meristemáticos aislados *in vitro* de dos cultivares de banano», *Fitopatología Venezolana* 1: 69-72, 1988.
- Yot-Dauthy, D.; J. M. Bové: «Identification et Purification de Diverses Souches du Virus», *Fruits*. 21(9): 449-466, 1966.

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ÁCIDOS GRASOS DE TUBÉRCULOS DE PAPA AFECTADOS POR *RALSTONIA SOLANACEARUM* Y *ERWINIA CHRYSANTHEMI*

B. Suárez y Marusia Stefanova

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

RESUMEN

Por cromatografía gaseosa se realizó el análisis de los ácidos grasos en tubérculos de papa con diferentes grados de afectación por *Ralstonia solanacearum* y *Erwinia chrysanthemi*. En los tubérculos afectados por el primer patógeno se detectaron los ácidos 14:0, 16:0, 18:0, 16:1, 18:1, 17:0 cic y 14:0 3OH, con una mayor participación (59,5%) del ácido 18:1 en el perfil del grado 1 (coloración parda de los haces vasculares). Los tubérculos dañados por *E. chrysanthemi*, del grado 1, presentaron un perfil compuesto por 16:0, 16:1, 18:1 y 14:0 3OH, el correspondiente a los grados 2 y 3 de afectación (tejidos blandos) además incluyó una pequeña cantidad del ácido 14:0. La diferencia cualitativa entre los tubérculos afectados por ambos patógenos está dada por la presencia de 17:0 cic para *R. solanacearum* y el 14:0 3OH para *E. chrysanthemi*. El perfil de los ácidos grasos de los tubérculos sanos resultó compuesto por 16:0 y 18:1.

Palabras claves: *Erwinia chrysanthemi*, *Ralstonia solanacearum*, ácidos grasos, papa, cromatografía gaseosa

ABSTRACT

A gas chromatography analysis was made of the fatty acids confined in potato tubers affected at various degrees by *Ralstonia solanacearum* and *Erwinia chrysanthemi*. In the tubers bearing the first of these bacteria the following acids were detected: 14:0, 16:0, 17:0 cyc and 18:1, the latter with larger participation 59.5% in the degree profile (brown colouring of vascular bundles). The tubers damaged by *E. chrysanthemi* at degree 1 presented a profile made up of 14:0 3OH, 16:1 and 18:1, corresponding to degrees of affectation 2 and 3 (soft tissues) including moreover a small amount of 14:0. The qualitative difference between the tubers affected by both pathogens reside in the 14:0 3OH present in those bearing *E. chrysanthemi* and in the 17:0 cyc for *R. solanacearum*. The fatty acids profile of the healthy tubers was compound by 16:0 and 18:1.

Key words: *Erwinia chrysanthemi*, *Ralstonia solanacearum*, fatty acids, potato, gas chromatography

INTRODUCCIÓN

Entre las bacterias fitopatógenas que afectan a la papa (*Solanum tuberosum* L.) y se transmiten por los tubérculos se encuentran las especies *Erwinia chrysanthemi* Burk *et al.*, y *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuchi *et al.*, esta última objeto de cuarentena en el país.

La importancia de la calidad fitosanitaria de las semillas ha motivado el desarrollo de técnicas de procedimientos rápidos de detección e identificación combinadas con la especificidad y la capacidad de analizar un mayor número de muestras.

Las técnicas cromatográficas en la última década han demostrado que es posible distinguir a los microorganismos sobre la base de los ácidos grasos presentes en la pared celular [De Boer and Sasser, 1986; Roy, 1988; Wells *et al.*, 1993]. La composición de sus perfiles ha permitido también diferenciar cepas virulentas, profundizar en la clasificación infra e intraespecífica de las bacterias, definir el origen de la infección detectada y tipificar poblaciones bacterianas en las plantas o la

flora del suelo [Fatty *et al.*, 1989; Samson and Saurier, 1987; Janse, 1991; Kori *et al.*, 1992; Zhrebilo *et al.*, 1992; Zhrebilo and Vyshtalyuk, 1992].

En un estudio anteriormente realizado se determinó la composición de los ácidos grasos de cepas de *R. solanacearum* y *E. chrysanthemi*, y se demostró su homogeneidad dentro de una misma especie y la marcada diferencia de su contenido entre las especies estudiadas [Suárez y Stefanova, 1992].

Analizar la posibilidad de la cromatografía gaseosa para determinar la presencia de las bacterias fitopatógenas anteriormente mencionadas en tubérculos de papa, fue el objetivo del presente trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

La primera parte se desarrolló con tubérculos de papa de la variedad Desiree, inoculados artificialmente con

las bacterias *R. Solanacearum* (cepa P-420) y *E. Chrysanthemi* (cepa L-31), según el método de De Boer and Kelman (1978); en la segunda se emplearon tubérculos naturalmente infectados con diferentes grados de afectación. Para el análisis se tomaron de manera aseptica pequeñas porciones de tejido en la zona del anillo vascular próxima al estolón. Se analizó un total de 50 muestras de tubérculos con afectación producida por *R. solanacearum*, de ellas 30 inoculadas y 20 afectadas naturalmente por el patógeno. Igual número de muestras fue procesado para la bacteria *E. chrysanthemi*. Se empleó el método de Miller and Berger (1985) consistente en una saponificación seguida por una metilación donde los ácidos grasos liberados se convierten en ésteres metílicos para ser procesados por cromatografía gaseosa.

El análisis se realizó en un cromatógrafo gaseoso CARLO ERBA Modelo FRACTOVAP 2450, con doble columna de 3 m x 2 mm ID rellenas con SP-2100 al 3% sobre Chromosorb W HP DMCS 100/120 mesh, detector de ionización por llama y programador de temperatura.

Se calculó el porcentaje de participación de cada uno de los ácidos grasos sobre la base del área ocupada por ellos en los perfiles hallados. Se comparó la composición de ácidos grasos de las muestras enfermas y sanas.

De cada una de las muestras procesadas se efectuó el aislamiento en medio de cultivo, con vistas a comprobar la presencia de ambos patógenos por el método tradicional. Para *E. chrysanthemi* se utilizó el medio KB [King *et al.*, 1954] y para *R. solanacearum* el medio TZC [Kelman, 1954].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observó diferencia cualitativa en la composición de ácidos grasos correspondiente a los grados 1, 2 y 3 de afectación por *R. solanacearum*, y fue constituida por los ácidos 14:0, 16:0, 16:1, 18:1, 17:0 cic y 14:0 3OH con una mayor participación del 18:1 en el perfil del grado 1 (59,5%) y de 50,0% en los grados 2 y 3. Se notó un pequeño cambio cuantitativo en los ácidos 17:0 cic y 16:1, cuya cantidad se incrementó ligeramente en estos grados de afectación (Tabla 1).

Tabla 1. Perfiles de ácidos grasos de tubérculos de papa con diferentes grados de afectación por *Ralstonia solanacearum*

Ácidos grasos	Tubérculos sanos	Tubérculos Grado 1	Tubérculos Grados 2-3	Aislamientos <i>R. solanacearum</i>
14:0		2,6	4,0	2,84
16:0	31,0	29,5	29,2	32,22
18:0	-	-	-	0,5
16:1	-	3,5	6,4	26,54
18:1	63,0	59,5	50,0	21,80
17:0 cic	-	6,3	10,2	9,47
14:0 3OH	-	-	-	3,31

Los tubérculos con los grados 2 y 3 de afectación por *E. chrysanthemi* presentaron una composición conformada por cinco ácidos 14:0, 16:0, 16:1, 18:1 y 14:0 3OH, entre los cuales se destacan el 18:1 con un 55,4% y el 16:0 con un 25,1%. El ácido 14:0 no se encontró en el perfil correspondiente al grado 1 de afectación, además hubo un incremento del 18:1 y 16:0 en comparación con los grados 2 y 3 (Tabla 2).

Si se compara la composición de ácidos grasos de las muestras de tubérculos de papa afectados por *R. solanacearum* y por *E. chrysanthemi* se puede observar que, a pesar de que existe una similitud respecto a los dos ácidos de mayor incidencia (16:0 y 18:1), también hay una diferencia cualitativa dada por la presencia

del 17:0 cic en el perfil de los afectados por *R. solanacearum*, los que no están presentes en el perfil de los afectados por *E. chrysanthemi* (Tablas 1 y 2). La diferencia cuantitativa radica en el ácido 16:1 con una participación de 11,2% en los tubérculos afectados por *E. chrysanthemi* y de 6,4% para los de *R. solanacearum*. Este ácido graso está ausente en los tubérculos sanos que presentaron un perfil compuesto por dos ácidos solamente, 16:0 y 18:1.

Los perfiles de los ácidos grasos extraídos directamente del tejido vegetal resultaron algo diferentes de sus semejantes obtenidos a partir de cultivos puros (Tablas 1 y 2), lo cual concuerda con lo señalado por Roy (1988) para casos semejantes.

Tabla 2. Perfiles de ácidos grasos de tubérculos de papa con diferentes grados de afectación por *Ralstonia solanacearum*

Ácidos grasos	Tubérculos sanos	Tubérculos Grado 1	Tubérculos Grados 2-3	Aislamientos <i>E. chrysanthemi</i>
14:0	-	-	2,3	3,02
16:0	31,0	28,9	25,1	29,12
18:0	-	-	-	-
16:1	-	7,8	11,2	35,91
18:1	63,0	59,7	55,4	20,32
14:0 3OH	-	2,8	3,4	7,14

En el cultivo de la papa, tanto *R. solanacearum* como *E. chrysanthemi* afectan los haces vasculares de los tubérculos, y pueden estar en forma latente causando una decoloración de los tejidos en el sitio del estolón. La diferencia entre los ácidos grasos en tubérculos con grado 1 de afectación por las bacterias señala que mediante esta técnica puede ser reconocida la infección por uno o por el otro microorganismo cuando sintomatológicamente no pueden ser distinguidos. El análisis de ácidos grasos celulares ha sido señalado por Janse (1991) para la determinación de razas, biovars y en la discriminación de aislamientos avirulentos de *R. solanacearum*. Aunque los resultados de este estudio son preliminares resulta importante continuar la investigación para conocer el alcance real de la técnica como método de diagnóstico para ambos patógenos, e incluir a *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* y *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, especies que también afectan la papa.

CONCLUSIONES

- Los perfiles de los ácidos grasos de tubérculos afectados por *R. solanacearum* y *E. chrysanthemi* mostraron diferencia cuantitativa y cualitativa, por lo que se hace necesario continuar y ampliar los ensayos para confirmar la repetibilidad y estabilidad de los resultados que la técnica ofrece para el diagnóstico de estas bacterias en papa.

REFERENCIAS

- De Boer S. H.; A. Kelman: «Influence of Oxygen Concentration and Storage Factor on Susceptibility of Potato Tubers to Bacterial Soft Rot (*Erwinia carotovora*)», *Potato Res.* 21: 65-80, 1978.
- De Boer, S. H.; M. Sasser: «Differentiation of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on the Basis of Cellular Fatty Acid Composition», *Canadian Journal Microbiol.* 32: 796-800, 1986.
- Fatty, P. C.; M. Gillings; J. K. Bradley; A. Diafioff; S. J. Singh: «Use of Fatty Acid Profiles and Restriction Fragment Length Polymorphism to Trace a Quarantine Outbreak of *Pseudomonas avenae* on French and Italian Millet», Abstracts 7th International Confer. on Plant Pathogenic Bacteria, Budapest, Hungary, 1989., p. 137.
- Janse, J. D.: «Infra and Intraspecific Classification of *Pseudomonas solanacearum* Strains, Using Whole Cell Fatty Acid Analysis», *System Appl. Microbiol.* 13, 335-345, 1991.
- Kelman, A.: «The Relationship of Pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to Colony Appearance on a Tetrazolium Medium», *Phytopathology* 44: 693-695, 1954.
- King, E. O.; M. K. Ward; D. E. Raney: «Two Simple Media for the Demonstration of Pyocyanin and Fluorescein», *J. Lab. Clin. Med.* 44: 301-307, 1954.
- Kori Y.; N. Furuya; K. Tsuno; N. Matsuyama: «Differentiation of *Erwinia chrysanthemi* and *E. carotovora* subsp. *carotovora* by the Cellular Fatty Acid Analysis», *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.* 37 (2), 173-178, 1992.
- Miller, Lindy; T. Berger: «Bacterial Identification by Gas Chromatography of Whole Cell Fatty Acids», *Hewlett-Packard Application Note*: 228-24, 1985.
- Roy, Margaret: «Use of Fatty Acid for the Identification of Phytopathogenic Bacteria», *Plant Disease* 72(5): 460, 1988.
- Samson, Régine; M. Saunier: «Identification of Bacteria by Fatty Acid Profiles», *EPPO Bulletin* 2:317, 1987.
- Suárez, B.; Marusia Stefanova: «Determinación del contenido de ácidos grasos en aislamientos de *Pseudomonas solanacearum* y *Erwinia chrysanthemi*», *Revista Protección Vegetal*, 7: 1-3, 1992.
- Weils, J. M.; J. E. Butterfield; I. G. Revear: «Identification of Bacteria Associated with Postharvest Diseases of Fruit and Vegetables by Cellular Fatty Acid Composition: An Expert System for Personal Computers», *Phytopathology* 83: 445-455, 1993.
- Zherebilo, O. E.; R. I. Gvozdyak; N. M. Vishtalyuk: «Cellular Fatty Acid Composition of Pectobacteria as Evidence of Their Separate Position Each from Other and From the Species of the Genus *Erwinia*. *Plant Pathogenic Bacteria*», 8 International Conference, June 2-12, Versailles, France, 259-264, 1992.

MICROBIOTA DEL CULTIVO DEL FRIJOL (*PHASEOLUS VULGARIS* L.) EN CUBA

Ileana Sandoval 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

En este trabajo se informan los principales hongos patogénicos y epifíticos que se presentan en las diferentes partes de las plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) registrados para Cuba. Se ofrece una breve descripción de algunas especies y se comenta la naturaleza parasítica, epifítica o antagonista de las especies tratadas. Se considera que siete de las especies encontradas de naturaleza epifítica y patogénica son nuevos registros para el cultivo, y cinco de ellas constituyen nuevos registros para la micoflora cubana.

Palabras claves: frijol, microbiota patogénica, microbiota epifítica, microbiota antagonista, Cuba

ABSTRACT

In this paper several pathogenic and epiphytic species presented on different parts of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) are registered in Cuba. Some species are briefly described and their parasitic, epiphytic or antagonistic nature is discussed. Seven species are new records to this crop, and five of them are new records to Cuban bean mycobiota.

Key words: bean, pathogenic mycobiota, epiphytic mycobiota, antagonistic mycobiota, Cuba

INTRODUCCIÓN

El cultivo del frijol tiene una gran distribución en las áreas tropicales y subtropicales del mundo, y principalmente en América constituye un importante alimento, fuente de proteínas y calorías. La producción de este cultivo se ve afectada por una gran cantidad de enfermedades, y entre las de origen fúngico se destacan como principales la roya, la antracnosis, el mildew polvoriento, la mancha anular y el tizón sureño [Farr *et al.*, 1985].

Para Cuba han sido descritas numerosas enfermedades que han provocado daños de importancia en este cultivo [Fernández, 1973; Arnold, 1986].

Tomando en cuenta estos elementos, este trabajo tiene como objetivo relacionar y actualizar las enfermedades fúngicas que se han registrado para Cuba, comentar las de mayor frecuencia y aparición, y registrar la presencia de nuevas especies de interés para el cultivo, tanto epifíticas, patogénicas y otras que han mostrado actividad antagonista hacia *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. agente causal del tizón ceniciento del frijol.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la detección de los hongos se realizó la siembra en agar-agua y transferencias de las colonias para agar de papa-dextrosa, incubados a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Las muestras de suelo de la rizosfera de las plantas se analizaron según Domsch *et al.* (1980) para el registro de especies de *Trichoderma*, así como por el método de Mihail y Alcorn (1982) para registrar la presencia de *M. phaseolina*. Se utilizó además la cámara húmeda de hojas, tallos y raíces para la observación del crecimiento de los hongos a partir de los síntomas presentes.

Las especies de hifomicetos demaciáceos se identificaron según los criterios de Ellis (1971, 1977) Carmichael *et al.* (1980). Para los celomicetes se siguieron los criterios de Sutton (1980). En la identificación de especies de *Fusarium* se utilizaron los trabajos de Booth (1971, 1997); Gerlach y Nirenberg (1982); Nelson *et al.* (1983). Para las especies de *Trichoderma* se utilizó a Bissett (1983, 1991) y para las de *Aspergillus* se consultó a Raper y Fennell (1965).

Se revisaron los registros de las intercepciones de la red de Laboratorios de Sanidad Vegetal de todas las provincias, donde se reflejan dichos datos. Se precisa además la fecha de su registro o en su lugar el número de la cepa, la cual fue depositada en el Cepario Central del INISAV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 51 especies de hongos registradas en Cuba según la *Tabla 1* en el cultivo del frijol en nuestro país, 29 de ellas fueron encontradas en nuestro trabajo en las variedades Velasco Largo e ICA-PIJAO.

Aspergillus flavus; *A. niger*; *A. ochraceus* y *A. sclerotiorum* se registraron asociados a daños en la semillas y la mayoría con actividad antagonista. En las pruebas de antagonismo realizadas en cultivo dual agar papa dextrosa se registró actividad antagonista fuerte de *A. niger* sobre *M. phaseolina*, ya que una de las causas de la inhibición del crecimiento de *M. phaseolina* es debido a la acidificación que se produce en el sustrato, con valores de pH no tolerables para el crecimiento de este patógeno, según los criterios de Hsi (1968). *A. niger* produce diferentes compuestos, entre los que predominan el ácido cítrico, oxálico y glucónico, que acidifican fuertemente el medio de cultivo. *A. sclerotiorum* y *A. ochraceus* fueron también antagonistas a *M. phaseolina*.

Corynespora cassiicola, patógeno de amplio rango de hospedantes, es un organismo que causa daños foliares y tizones [Miller, 1993; 1995]. Puede transmitirse por semillas según los registros de Neergaard (1977) para el caso de la soya (*Glycine max* (L.) Merr), ajonjolí (*Sesamum indicum* L.), *Vigna sinensis* (Toner) Savi y en especies de *Phaseolus* [Nath *et al.*, 1970].

Arnold (1986) registró en Cuba la presencia de *Corynespora* sp. con daños en las vainas. En nuestro caso se identifica *C. cassiicola* sobre las vainas y con daños en las semillas. En las cámaras húmedas las semillas presentan un micelio compacto algodonoso gris oscuro con tonalidades oliváceas que las cubren completamente, y consecuentemente inhiben su germinación.

Choanephora cucurbitarum se ha registrado en plantas de *Phaseolus* causando manchas en las hojas y flores, sin embargo no se había informado como causante de tizón en plántulas. En nuestro caso observamos su presencia en plantas de 20 días de crecidas de la variedad Velasco Largo, que bajo condiciones experimentales en casa de cristal fue capaz de provocar destrucción completa de las plantas como consecuencia del atizamiento.

Aunque no registramos la presencia de la enfermedad carbón de la hoja, merece hacer mención de este patógeno en nuestro país, ya que desde 1981-1986 se ha registrado esporádicamente en la zona oriental en la provincia de Holguín (1987). El diagnóstico se consi-

deró como *Entyloma* sp. con sospecha de *E. petuniae*, pero no pudo confirmarse la especie por no contar con las descripciones al respecto, aunque Latorre *et al.* (1985) mencionan que *E. petuniae* causa la enfermedad carbón de la hoja del frijol. Los síntomas se caracterizan por la presencia de soros con gran cantidad de teliosporas marrón a negras, con presencia de un halo clorótico alrededor del síntoma.

Piepenbring (1996) registra en Costa Rica sobre *P. vulgaris* a *E. vignae* Batista, Bezerra, Ponte & Vasconcelos. El carbón del frijol es una nueva enfermedad para Cuba que no había sido informada con anterioridad, y sería conveniente continuar su búsqueda en diferentes variedades y regiones del país para definir si se trata de *E. petuniae* o *E. vignae*.

Lasiodiplodia theobromae no había sido informada en el frijol en Cuba, y se registró en muestras de semillas de la variedad Velasco Largo después de su incubación en cámaras húmedas. Los picnidios son negros e irrumperentes en el tegumento. Pocas fueron las semillas afectadas del total del lote y no presentaban germinación.

Macrophomina phaseolina es un patógeno del suelo que afecta a las raíces y la base de los tallos del frijol. Produce lesiones pardo oscuras que finalmente adquieren un color cenizo con presencia de los esclerocios negros del hongo. Ataca además las semillas y reduce su germinación. Las semillas obtenidas de vainas infectadas por el hongo muestran síntomas típicos de esta patógeno que incluyen decoloración del tejido y presencia de picnidios y esclerocios. Las semillas seriamente afectadas fallan en germinar, y aquellas procedentes de vainas asintomáticas pueden registrar hasta un 28% de infección [Abawi y Pastor-Corrales, 1992].

Está registrado en Cuba desde 1960 por Urriaga, según González (1986) y se encuentra ampliamente distribuido en el país; sin embargo ha constituido un problema importante en el cultivo, fundamentalmente en las provincias orientales, específicamente Holguín, en las variedades Velasco Largo principalmente, así como en ICA-PIJAO. Ha causado daños de importancia con pérdidas en las cosechas.

Periconia macrospinoso se registró como epifítico sobre las vainas de *Phaseolus*. Esta especie creció en agar papa dextrosa formando sobre el sustrato un césped de conidióforos negros, semejante al crecimiento de *A. niger*. *P. macrospinoso* se encuentra por primera vez en Cuba y constituye un registro mundial para *P. vulgaris*.

Trichurus spiralis se encontró como epifítico en las raíces. Las colonias en agar papa dextrosa presentan un micelio afieltrado y blanco. A los 10 días de incubación a 25 ± 2 °C se observó la presencia de los sinemas negros, característicos de la especie. Estos crecieron dispersos, pero con tendencia a la agrupación en forma concéntrica. Esta especie constituye un nuevo registro para el cultivo del frijol en Cuba.

Tabla 1. Relación de especies de hongos detectados en Cuba en el cultivo del frijol

Hongos	Síntomas
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler*	Manchas foliares
<i>Alternaria tenuissima</i> (Nees ex Fr.) Wiltshire	En vainas [Urtiaga, 1986]
<i>Alternaria</i> sp.	Manchas foliares [Arnold, 1986; González, 1984]
<i>Aspergillus flavus</i> Lk *	Asociado a daños en semillas [González, 1984]
<i>A. niger</i> v. Tiegh (*,NR)	Asociado a daños en semillas, antagonista
<i>A. ochraceus</i> Wilhelm *	Asociado a daños en semillas, antagonista
<i>A. sclerotiorum</i> Huber (*,NR,NMC)	Asociado a daños en semillas, antagonista
<i>Cercospora canescens</i> Ell. & Martin *	Mancha en la hoja y vaina [Arnold, 1986; González, 1984; Urtiaga 1986]
<i>C. columnaris</i> Ell. & Ev.	Manchas en las hojas [Arnold, 1986]
<i>Cercospora</i> spp.	Mancha de la hoja [González, 1984]
<i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (Sacc. & Magn.) Briosi & Cav. *	Antracnosis [Fernández, 1973; Arnold, 1986; González, 1984; Urtiaga, 1986]
<i>Corynespora</i> sp.	En vainas [Arnold, 1986]
<i>C. cassicola</i> (Berk. & Curt.) Wei *	Daños en semillas y vainas
<i>Cladosporium oxysporum</i> Berk. & Curt. *	Moho de la vaina [Fernández, 1973; Arnold, 1986; González, 1984; Urtiaga, 1986]
<i>Chaetomium</i> sp. *	Epifítico en semillas
<i>Choanephora cucurbitarum</i> (Berk. & Rav.) Thaxt. *	Manchas en las hojas y flores [González, 1984] Tizón en plántulas (casa de cristal)
<i>Elsinoe phaseoli</i> Jenkins	Verruga de las habas de Lima [Fernández, 1973; Arnold, 1986; González, 1984]
<i>Entyloma</i> sp.	Carbón [Pupo, 1987]
<i>Erysiphe polygoni</i> D.C.	Mildew polvoriento [Fernández, 1973; Arnold, 1986; González, 1984]
<i>Fusarium culmorum</i> (Smith) Sacc.	Asociado a daños en semillas [Martínez, 1988]
<i>F. oxysporum</i> Schiecht f.sp. <i>phaseoli</i> Kendrick y Snyder*	Marchitamiento, daños en raíces [González, 1984]
<i>F. pallidoroseum</i> (Cooke) Sacc. *	Epifítico en raíces
<i>F. solani</i> (Mart) Appel y Wr. f.sp. <i>phaseoli</i> (Burk) Snyder & Hans. *	Pudrición de la raíz [González, 1984]
<i>F. ventricosum</i> Appel & Wollenw. *	Epifítico en raíces
<i>Graphium</i> sp. *	Epifítico en raíces
<i>Lasiodiplodia theobromae</i> (Pat.) Griffin & Maubl. *	Daños en semillas, antagonista.
<i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goid. *	Tizón ceniciento del tallo y raíces [Fernández, 1973; Arnold, 1986; González, 1984; Urtiaga, 1986]
<i>Metanospora</i> sp. *	Epifítico en semillas
<i>Myrothecium verrucaria</i> Ditmar ex Fr. (*,NR)	Epifítico en raíces
<i>Oidium</i> sp. *	Mildew polvoriento [Urtiaga, 1986]
<i>Pellicularia filamentosa</i> (Pat.) Rogers	Pudrición del tallo y raíces [Fernández, 1973; Arnold, 1986]
<i>Periconia macrospinoso</i> Lefevre & Johnson (*,NR,NMC)	Epifítico en vainas
<i>Phaeosariopsis griseola</i> (Sacc.) Ferraris	Mancha angular de la hoja [Fernández, 1973; Arnold, 1986; González, 1984; Urtiaga, 1986]
<i>Phaeosaria clematidis</i> (Fuckel.) Hughes (*,NR)	Epifítico en raíces
<i>Phoma exigua</i> Desm. var. <i>exigua</i> *	Mancha de la hoja
<i>Phomopsis phaseoli</i> (Dezmaiz.) Sacc.	Tizón de la vaina [Fernández, 1973; Arnold, 1986]
<i>Phyllosticta phaseolina</i> Sacc.	Mancha de la hoja [Fernández, 1973; Arnold, 1986]
<i>Ramularia</i> sp.	Manchas en hojas primarias [González, 1984]
<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn *	Pudrición de la raíz [Fernández, 1973; Arnold, 1986; González, 1984]
<i>R. microsclerotia</i> Macz.	Rhizoctonia del follaje [Pupo, 1987]
<i>Rhizopus</i> sp.	Pudrición de la raíz [González, 1984]
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehr. ex Fr.) Lind & R. *	Epifítico en raíces, asociado a daños en la semilla
<i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc. *	Tizón sureño [Fernández, 1973; Arnold, 1986; González, 1984]
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) DBy.	Pudrición del tallo [González, 1984]
<i>Stemphyllium</i> sp. (cf. <i>botryosum</i>)	Manchas en las hojas [González, 1984]
<i>Thanatephorus cucumeris</i> (Frank) Donk	Manchas en la hoja, tallo y vainas [Pupo, 1987; Urtiaga, 1986]
<i>Thielaviopsis basicola</i> (Berk. & Br.) Ferr.	Raíz negra [González, 1984]
<i>Trichurus spiralis</i> Hasselbring (*,NR,NMC)	Epifítico en raíces
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai (*,NR,NMC)	Rizosfera, antagonista
<i>T. longibrachiatum</i> Rifai (*,NR,NMC)	Rizosfera, antagonista
<i>Uromyces appendiculatus</i> (Pers.: Pers.) Unger*	Roya [Fernández, 1973; Arnold, 1986; González, 1984; Urtiaga, 1986]

* : Encontrados en este trabajo.

NR : Nuevos registros para el cultivo.

NMC: Nuevos registros para la micoflora cubana.

T. longibrachiatum y *T. harzianum* aisladas de la rizosfera de plantas de frijol de la variedad ICA-PIJAO han mostrado actividad antagónica *in vitro* e *in vivo* hacia diversos patógenos del suelo, como *Phytophthora parasitica*; *P. capsici*; *Pythium aphanidermatum*; *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* entre los principales agentes productores del *damping-off* de semilleros y marchitez de plantas en los cultivos hortícolas [Sandoval *et al.*, 1995; 1997; Rodríguez y Sandoval, 1998].

Relación de las especies más importantes colectadas en el frijol en Cuba

Alternaria alternata (Fr.) Keisler: A partir de manchas foliares de *P. vulgaris*, La Coloma, CPA Antonio Guiteras, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 12.79 INISAV; Granja Cuajani, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 12.81 INISAV; Empresa de Cultivos Varios Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 7.86 INISAV; Empresa Juan Casanueva, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 5.88 INISAV; Empresa Pecuaría G. Fraga, Las Tunas, col. G. Bermúdez, no. 35.86, INISAV.

Aspergillus niger v. Thieg: A partir de semillas variedad Velasco Largo. Las Delicias, Alquizar, La Habana, col. I. Sandoval, no. 66.88, INISAV.

Aspergillus ochraceus Wilhelm: A partir de semillas variedad ICA-PIJAO. Las Delicias, Alquizar, La Habana, col. I. Sandoval y M. O. López, no. 59.88, INISAV.

Aspergillus sclerotiorum Huber: A partir de semillas variedad Velasco Largo. Las Delicias, Alquizar, La Habana, col. I. Sandoval y M. O. López, no. 58.88, INISAV.

Colletotrichum lindemuthianum (Sacc. & Magn.) Briosi & Cav: A partir de vainas con antracnosis. Finca Las Mercedes, Mantua, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 39.84; Campo Paula Fernández, Viñales, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 1.86; Las Delicias, La Habana, col. A. Estrada, no. 36.81; La Cuba, Ciego de Ávila, col. M. Milanés, no. 41.85; CPA Orlando Expósito, Ciego de Ávila, col. M. Milanés, no. 210.86; Banes, Holguín, col. E. Pupo, no. 131.75, no. 83.78; Gibara, Holguín, col. E. Pupo, no. 78.88, INISAV.

Corynespora cassiicola (Berk. & Curt.) Wei: A partir de semillas de la variedad ICA-PIJAO. Las Delicias, Alquizar, col. I. Sandoval y R. Chávez, no. 80.84, INISAV.

Entyloma sp. (cf. *petuniae*): Sobre hojas de la variedad Velasco Largo. Gibara, Holguín, col. E. Pupo, no. 2/10/81, Gibara, Holguín, col. E. Pupo, no. 3/2/85, Holguín, col. E. Pupo, no. 4/4/86, INISAV.

Fusarium culmorum (Smith) Sacc: A partir de semillas. Empresa de Semillas de Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 6.88, INISAV.

Fusarium chlamydosporum Wollenw. & Reinking: A partir de suelo Ferralítico Rojo y raíces de la variedad

ICA-PIJAO. Las Delicias, Alquizar, La Habana, col. I. Sandoval y M. O. López, no. 16.87, INISAV.

Fusarium pallidoroseum (Cooke) Sacc.: Sobre raíces variedad Velasco Largo. Las Delicias, Alquizar, La Habana, col. M. O. López, no. 64.88, INISAV.

Lasiodiplodia theobromae (Pat.) Griffin & Maubl: A partir de semillas variedad Velasco Largo. Las Delicias, Alquizar, La Habana, col. I. Sandoval, no. 28.87, INISAV.

Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid: A partir de tallos y semillas. CPA Félix Rojas, Velasco, Holguín, col. E. Pupo, no. 3.83; CPA José Ávila, Velasco, Holguín, col. E. Pupo, no. 19.84; CPA Olo Pantoja, Holguín, col. E. Pupo, no. 25.84, El Caribe, Distrito 3, C-46, Los Palacios, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 27.81; Lote Campo Hermoso, San Juan y Martínez, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 8.87; Chambas, Ciego de Ávila, col. M. Milanés, no. 82.86; CPA Pedro Valdivia, Ciego de Ávila, col. M. Milanés, no. 143.86; CCS Sierra Alta, Ciego de Ávila, col. M. Milanés, no. 110.88; ECV Dumañuecos, Las Tunas, col. G. Bermúdez, no. 171.83; Las Delicias, Alquizar, La Habana, col. I. Sandoval, no. 11.83, no. 15.90, 23.90; ECV 19 de Abril, Quivicán, La Habana, col. A. Estrada, no. 18.85, no. 41.82, INISAV.

Myrothecium verrucaria Ditmar ex Fr: A partir de raíces Las Delicias, Alquizar, La Habana, col. M. O. López e I. Sandoval, no. 26.87, INISAV.

Periconia macrospinoso Lefevre & Jonson: A partir de vainas de la variedad Velasco Largo. Las Delicias, Alquizar, La Habana, col. I. Sandoval y M. O. López, no. 73.87, INISAV.

Phaeoisaria clematidis (Fuckel) Hughes: A partir de raíces de la variedad ICA-PIJAO. Las Delicias, Alquizar, La Habana, col. M. O. López e I. Sandoval, no. 89.87, INISAV.

Pythium sp.: A partir de raíces. ETTP. San Cristóbal, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 19.81, INISAV, Empresa Hermanos Saíz, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 6.87, INISAV, Estación Experimental de Tabaco Negro, San Juan, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 5.87, INISAV. CPA Desembarco del Granma, Ciego de Ávila, col. M. Milanés, no. 18.87, INISAV.

Rhizoctonia solani Kühn: A partir de tallos, raíces y semillas. Empresa Hermanos Saíz, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 27.80; Hermanos Saíz, L-3, Distrito 2, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 19.80; Sector Campesino, Minas, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 27.82; El Cuajani, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 73.83, INISAV.

Sclerotium rolfsii Sacc: A partir de daños en tallos y raíces. Empresa Cultivos Varios Bahía Honda, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 21.81, INISAV, Par-

cela de Provocación no.1 San Cristóbal, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 16.84, INISAV. A partir de semillas. Empresa de Semillas Candelaria, Pinar del Río, col. M. L. Martínez, no. 26.84, INISAV. Las Delicias, Alquizar, col. I. Sandoval, no. 17.87, no. 67.89, INISAV.

Trichurus spiralis Hasselbring: A partir de raíces de frijol. Las Delicias, Alquizar, La Habana. Sandoval y M. O. López, no. 35.87, INISAV.

Trichoderma harzianum Rifai: A partir de raíces de la variedad ICA-PIJAO. Las Delicias, Alquizar, La Habana I. Sandoval y col. no.102.87, INISAV.

Trichoderma longibrachiatum Rifai: A partir de la rizosfera de plantas de la variedad Velasco Largo. Las Delicias, Alquizar, La Habana. col. I. Sandoval y M. O. López, no.105.87, INISAV.

CONCLUSIONES

- Siete de las especies encontradas de naturaleza epifítica y patogénica son nuevos registros para el cultivo del frijol, y cinco de ellas constituyen nuevos registros para la micoflora cubana.

REFERENCIAS

Abawi, G. S.; M. A. Pastor-Corrales: «Seed Transmission and Effect of Fungicides Seed Treatments Against *Macrophomina phaseolina* in Dry Edible Beans». *Seed Pathology and Microbiology* 3 (48): 6, 1992.

Arnold, G. R. W.: *Lista de hongos fitopatógenos de Cuba*, Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1986.

Bissett, J.: «A Revision of the Genus *Trichoderma* I. Section *Longibrachiatum* Sec. Nov.», *Can. J. Bot.* 62: 924-931, 1983.

———: «A Revision of the Genus *Trichoderma* II Infrageneric Classification», *Can. J. Bot.* 69: 2357-2372, 1991.

Booth, C.: *The Genus Fusarium*, CMI, Kew Surrey, 1971.

———: *The Fusarium*, CMI, Kew Surrey, 1977.

Carmichael, J. W.; W. B. Kendrick; J. L. Connors; L. Sigler: *Genera of Hyphomycetes*, The University of Alberta Press, 1980.

Domsch, K. H.; W. Gams; Anderson Traute-Heide: *Compendium of Soil Fungi*, vol. 1, Aca. Press, 1980.

Ellis, M. B.: *Dematiaceous Hyphomycetes*, CMI, Kew Surrey, 1971.

———: *More Dematiaceous Hyphomycetes*, CMI, Kew Surrey, 1977.

Farr D. F., F. B. Gerald; G. P. Chamuris; A. Y. Rossman: *Fungi on Plants and Plant Products in the United States*, APS Press, The American Phytopathological Society, St. Paul Minnesota, USA, Second Edition, 1995, pp. 413-415.

Fernández Roseñada, M.: *Catálogo de enfermedades de plantas cubanas*, Serie Agrícola no. 27, Academia de Ciencias de Cuba, 1973.

Gerlach, W.; Helgard Nirenberg: *The Genus Fusarium. A Pictorial Atlas*, Paul Parey, Berlin und Hamburg, 1982.

González, Mirta: «Principales enfermedades del frijol de origen fungoso en Cuba», Informe para curso de posgrado, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, 1984.

Hsi, D. C.: «Antagonistic Effects of *Aspergillus niger* on *Macrophomina phaseoli*», *Phytopathology* 58(6): 729, 1968.

Latorre, B. A.; J. Apablaza; M. A. Vaughan: *Guía para el control de plagas de las leguminosas alimenticias*, Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe, Santiago de Chile, 1985.

Martínez, M. L.: *Catálogo de enfermedades fungosas 1978-1988*, Informe del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, MINAGRI, Pinar del Río, Cuba, 1988.

Mihail, J.; S. M. Alcorn: «A Quantitative Recovery of *Macrophomina phaseolina* Sclerotia from Soil», *Plant Disease* 66: 662-663, 1982.

Nath, R.; S. Mathur; P. Neergaard: «Seed Borne Fungi of Mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb) from India and Their Significance», *Proc. Int. Seed Test Ass.* 35(1): 225-241, 1970.

Neergaard, P.: *Seed Pathology*, vol.1, The Mc.Millan Press, 1977.

Nelson, P. E.; T. A. Toussoun; W. F. O. Marasas: *Fusarium species. An illustrated Manual for Identification*, The Pennsylvania State University Press / University Park and London, 1983.

Piepenbring, Meike: *Smut Fungi (Ustilaginales and Tilletiales) in Costa Rica*, Nova Hedwigia, Beiheft 113, Berlin Stuttgart, 1996.

Pupo, Elsie: *Catálogo actualizado de enfermedades fungosas que inciden en la provincia de Holguín. 1970-1981*, Informe del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de la Provincia de Holguín, MINAGRI, Cuba, 1987.

Raper, B. K.; FD.I. Fennell: *The Genus Aspergillus*, The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 1965.

Rodríguez, F.; I. Sandoval: «Efectividad de diferentes productos químicos y del biopreparado de *Trichoderma harzianum* Rifai: contra enfermedades fúngicas del tomate de hidropónico», *Fitosanidad* vol.2, nos. 1 y 2:51-56, 1996.

Sandoval, Ileana; M. O. López; D. García; I. Mendoza: «*Trichoderma harzianum* (cepa A34): un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomate y del pimiento», *Boletín Técnico* 4, CID-INISAV, 1995.

Sandoval, Ileana; M. Stefanova; M. O. López; D. García; B. Bernal; M. Neyra; F. Rodríguez: «Una alternativa ecológica y efectiva para el biocontrol de enfermedades fúngicas con la utilización de *Trichoderma harzianum* (A-34)», Resúmenes II Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal, 23-27 Junio, La Habana, 1997, pp. 127-128.

Sutton, B. C.: *The Coelomycetes*, CMI, 1980.

Urriaga, R.: *Índice de enfermedades en plantas de Venezuela y Cuba*, Impreso Nuevo Siglo, Barquisimeto, 1986.

COMPORTAMIENTO DE LA MOSCA BLANCA (*BEMISIA* SPP.), SUS PARASITOIDES Y EL VIRUS QUE TRANSMITE EN TRES AGROECOSISTEMAS DE LA REGIÓN DEL VALLE DEL CAUTO

J. Machado, María Fonseca, Diana Bruqueta, J. Pérez Fajardo, C. Tornés, Ana Puer-
tas, H. Cándido González y L. Rodríguez

Instituto de Investigaciones Agropecuarias Jorge Dimitrov, Bayamo, Granma

RESUMEN

Se estudió el comportamiento de la mosca blanca (*Bemisia* spp.), sus parasitoides y el virus que transmite en tres localidades de la región del Valle del Cauto (E.C.V. Veguitas, E.C.V. Cautillo y la E.C.V. Cauto Cristo) durante las campañas 1995-1996, 1996-1997 y 1997-1998. Se tomaron como criterio de evaluación la incidencia de la mosca blanca (*Bemisia* spp.) y sus parasitoides, y la incidencia de la enfermedad causada por geminivirus. La plaga se presentó en todas las zonas estudiadas con poblaciones altas, los adultos y las ninfas prefieren el nivel inferior de la planta y las hembras prefieren el nivel superior para depositar los huevos. Sus parasitoides se presentaron con poblaciones bajas. En relación con la enfermedad, estuvo presente en los tres agroecosistemas estudiados, manifestándose los síntomas a los 14 días después del trasplante, con niveles de infección que oscilan entre 1 y 100 %.

Palabras claves: *Bemisia* spp., geminivirus, tomate

ABSTRACT

The behavior of Whitefly (*Bemisia* spp.), its parasitoids and the virus transmitting were studied in three localities of the Valle del Cauto region (E.C.V. Veguitas, E.C.V. Cautillo y la E.C.V. Cauto Cristo) during 1995-1996, 1996-1997 and 1997-1998 seasons. The incidence of Whitefly (*Bemisia* spp.), its parasitoids and the incidence of the disease were evaluated. The populations of the pest were high in all of the studied regions. The adults and nymphs prefer the low level of the plant and the female prefer the high level of the plant for deposit the eggs. The whitefly parasitoids were present with low populations. The disease transmitted by whitefly was present in all of the studied agro ecosystems and the symptoms started to appear 14 days after the transplant with infection levels among 1 and 100 %.

Key words: *Bemisia* spp., geminiviruses, tomato

INTRODUCCIÓN

En los últimos años las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) se han convertido en enemigos importantes de los cultivos agrícolas, no sólo por sus daños como fitófagos, sino también por su eficiencia en la transmisión de enfermedades causadas por geminivirus [Vázquez, 1995].

El tomate es susceptible a más de doscientas enfermedades provocadas por bacterias, hongos o virus. Para combatir estos patógenos se han desarrollado métodos de control químico o biológico, medidas culturales y estrategias basadas en el empleo de resistencia genética. La eficiencia de estas medidas es variable en cada caso. En lo que respecta a los virus, el panorama es más complejo, puesto que no existen métodos curativos, siendo las medidas de control esencialmente preventivas [Nuez *et al.*, 1998].

Bemisia spp. desarrolló importantes niveles poblacionales en áreas tomateras del municipio de Cauto Cris-

to en 1989, y aunque estaba presente en los demás municipios, sus poblaciones en esos momentos no eran elevadas, incrementándose en los años 1990-93 y 1996-98.

Para lograr un control eficaz es necesario conocer el comportamiento del vector y la enfermedad que transmite en las condiciones concretas de cada región, como aspecto esencial para establecer su manejo integrado.

La finalidad de este trabajo es conocer el comportamiento de *Bemisia* spp., sus parasitoides y la incidencia de geminivirus en el cultivo del tomate en tres Empresas de Cultivo Varios de Granma.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en tres zonas: Empresa de Cultivos Varios Veguitas, Empresa de Cultivos Varios

Cautillo, durante las campañas 1995-96, 1996-97 y 1997-98, en la variedad Campbell 28 y en la Empresa de Cultivos Varios Cauto Cristo (campaña 1997-98) en la variedad Lignon.

Los muestreos se realizaron semanalmente a partir del momento del trasplante a 33 plantas por campo tomadas al azar, donde se observan 99 hojas distribuidas en los tres niveles de la planta y se adiciona una del nivel superior para completar las 100 hojas [Murguido y otros, 1996]. Se tomaron tres folíolos por planta y se trasladaron al laboratorio del Departamento de Sanidad Vegetal del I.I.A. Jorge Dimitrov, y con el auxilio de un microscopio-estereoscopio se cuantificó por niveles de la planta el número de huevos, ninfas sanas y parasitadas. Los parasitoides colectados se conservaron en alcohol para su posterior identificación.

Se tomaron como criterios de evaluación tres aspectos: incidencia de mosca blanca y sus parasitoides, y la incidencia de geminivirus.

Para la evaluación se tomaron etapas bien definidas: desde la primera ramificación del tallo principal hasta

el inicio de la floración del tercer racimo [CATIE, 1996].

Los datos relacionados con el comportamiento de los estadios de la plaga en los niveles de la planta se procesaron mediante pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis. Se establecieron curvas relacionales con los datos de la incidencia de la plaga, sus parasitoides y la enfermedad causada por geminivirus.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Fig. 1 se muestra el comportamiento de *Bemisia* spp. en las tres zonas de mayor producción de tomate en la provincia de Granma, donde se observa que la plaga está presente en estas regiones, con poblaciones que oscilan entre 0,5-4,5 adultos por plantas. Estos niveles poblacionales son considerados altos para un vector como *Bemisia* spp., que transmite de forma muy eficiente el virus del encrespamiento amarillo de las hojas del tomate [Hilje *et al.*, 1993].

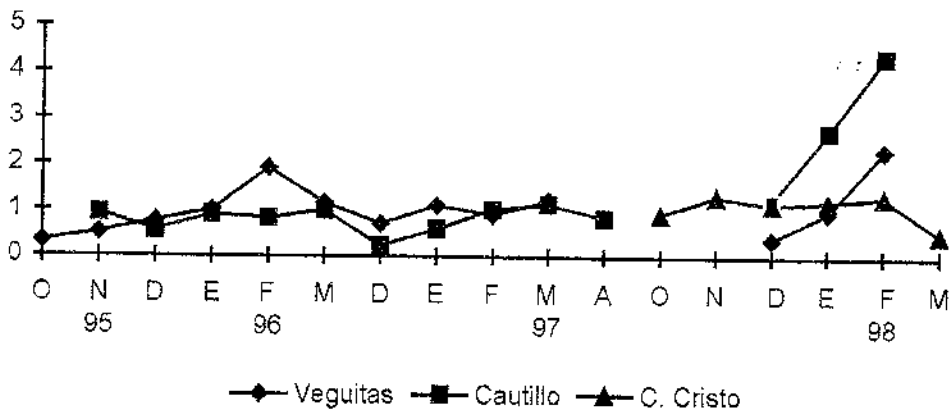


Figura 1. Comportamiento de *Bemisia* spp. en el cultivo del tomate en tres zonas de la provincia Granma de 1995 a 1998.

En Veguitas y Cautillo existe una tendencia al incremento de la plaga en los meses de enero, febrero y marzo. Este comportamiento puede estar atribuido a una mayor sequía en los meses de diciembre y enero, lo cual crea condiciones favorables para un incremento de la plaga en este período (Tabla 1). Esas condiciones motivan una disminución del tiempo generacional y un aumento de la fecundidad del insecto, lo que conduce a que se eleven sus poblaciones [Hilje *et al.*, 1993].

Los gradientes de temperaturas en el período son bajos, y la humedad relativa osciló entre 75 y 85 %, considerada óptima para el desarrollo de la plaga [Gerling *et al.*, 1986]. En Cauto Cristo las poblaciones se mantuvieron altas durante todo el período, disminuyendo en marzo con el cierre del ciclo del cultivo.

Los adultos y las ninfas prefieren el nivel inferior de la planta, y arrojan diferencias significativas con el medio

y el superior en los adultos, y con el superior en las ninfas (Fig. 2).

La hembra prefiere depositar sus huevos en el nivel superior de la planta a pesar de que sus valores no manifestaron diferencias significativas con el nivel medio y el inferior.

Este comportamiento está unido al propio desarrollo del cultivo, ya que los huevos son depositados preferentemente en el nivel superior, donde las hojas son más tiernas y contienen bastantes azúcares y nitrógeno [Van Lenteren y Noldus, 1990]. Al eclosionar estos y desarrollarse los estadios ninfales, la planta continúa creciendo, y lo que era nivel superior para los huevos es nivel medio e inferior para los diferentes estadios ninfales [Dubón *et al.*, 1993]. En el caso de los adultos prefieren el nivel inferior para protegerse de las radiaciones solares y del viento.

Tabla 1. Variables climáticas durante el período de evaluación en las tres localidades

Meses	Veguitas		Cautillo		Cauto Cristo	
	Temperatura (°C)	Precipitación (mm)	Temperatura (°C)	Precipitación (mm)	Temperatura (°C)	Precipitación (mm)
Octubre 1995	26,1	136	-	-	-	-
Noviembre 1995	25,2	52,1	25,7	35,3	-	-
Diciembre 1995	24,3	20,2	24,8	27,2	-	-
Enero 1996	24,1	30,5	24,5	33,4	-	-
Febrero 1996	24,0	58,4	24,3	34,1	-	-
Marzo 1996	25,6	90,7	26,0	53,4	-	-
Diciembre 1996	24,8	19,5	25,2	26,7	-	-
Enero 1997	24,5	15,0	24,7	24,5	-	-
Febrero 1997	25,1	59,6	25,3	31,2	-	-
Marzo 1997	25,6	68,4	25,9	43,4	-	-
Abril 1997	25,9	123,2	26,6	52,3	-	-
Octubre 1997	26,3	131,0	26,5	90,4	27,5	93,3
Noviembre 1997	25,4	50,2	25,5	41,3	27,1	46,3
Diciembre 1997	24,7	16,4	24,9	22,4	26,8	6,8
Enero 1998	24,4	24,2	24,6	16,5	27,4	24,4
Febrero 1998	24,1	43,1	24,4	27,6	26,7	37,3
Marzo 1998	25,2	59,3	25,3	51,9	27,5	83,9

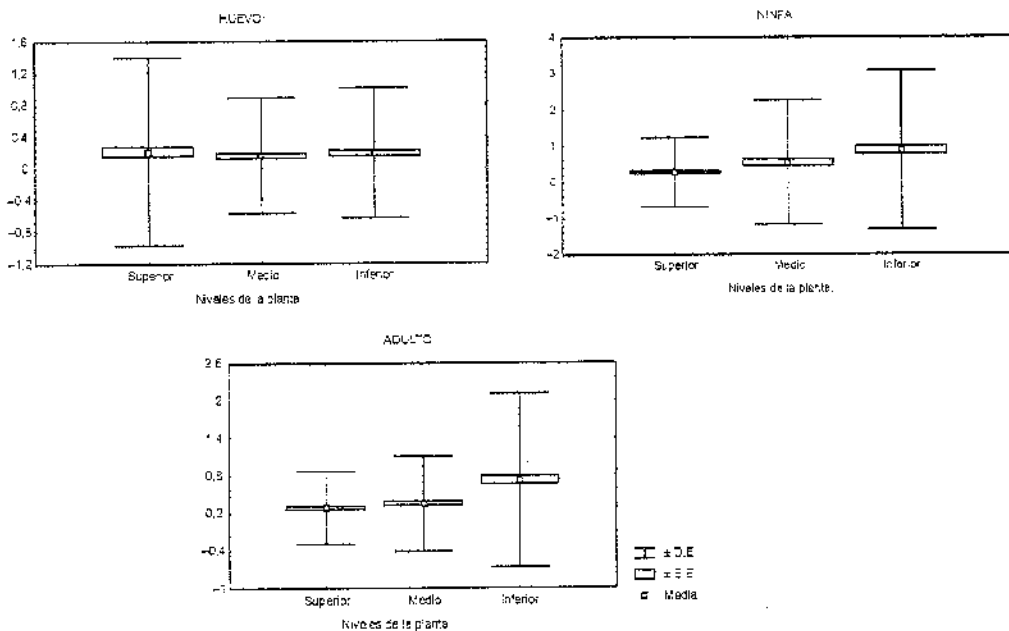


Figura 2. Distribución de huevos, ninfas y adultos de *Bemisia* spp. en los niveles de la planta.

Plana *et al.* (1995) detectaron una mayor incidencia de los adultos de este insecto en las hojas de la parte media de la planta, con diferencias significativas del resto; sin embargo, Rodríguez *et al.* (1998) observaron mayor densidad de adultos y huevos en el nivel superior, sin diferencias estadísticas con el medio e inferior, mien-

tras que las ninfas las encontraron desplazadas en los estratos inferiores.

Las poblaciones de parasitoides fueron bajas en todas las localidades, oscilando entre 2 y 14 % (Fig. 3). Se observa que los mayores por cientos se alcanzan en los meses de febrero y marzo, coincidiendo con los incrementos de la plaga, que es parte de su fuente de alimento.

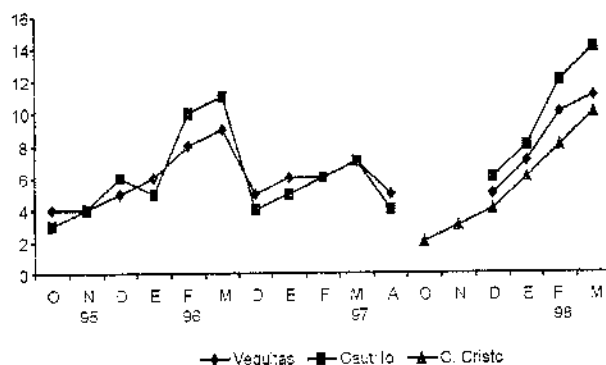


Figura 3. Porcentaje de parasitismo de *Bemisia* spp. en el cultivo del tomate en tres zonas de la provincia Granma en los años del 95 al 98.

En las diferentes áreas evaluadas se observó que los parasitoides incrementan sus poblaciones en la etapa final del cultivo. Esto nos indica que por sí solo ellos no son capaces de controlar esta plaga, pero pueden ser utilizados como parte del manejo integrado.

Cave (1994) señala que los enemigos naturales no pueden reducir suficientemente las poblaciones de la plaga para evitar la transmisión del virus en el cultivo.

En relación con la enfermedad (Fig. 4), está presente en los tres agroecosistemas estudiados, manifestán-

dose los síntomas a los 14 días después del trasplante, con niveles de infección que oscilan entre 1 y 100 %. La enfermedad se incrementa con el ciclo del cultivo.

En las tres zonas la mayor incidencia se manifiesta en los meses de febrero y marzo. Este comportamiento es similar a la que presentó el vector, aunque se puede dar el caso que exista alta población del vector y baja incidencia de la enfermedad, ya que esto depende de la existencia de un inoculo cercano [Hilje *et al.*, 1993].

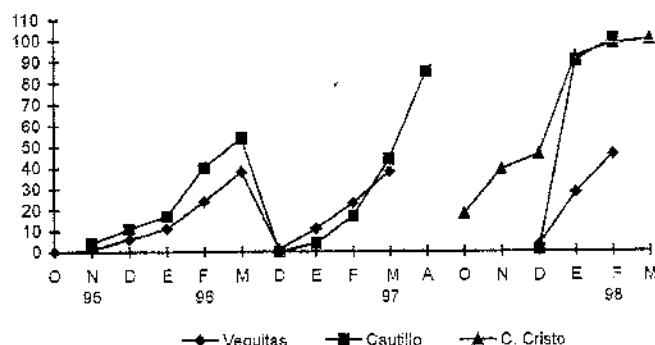


Figura 4. Comportamiento de la incidencia del geminivirus en el cultivo del tomate en tres zonas de la provincia de Granma de 1995 a 1998.

En las campañas 1995-96 y 1996-97 la zona de Cautillo alcanzó mayor valor de incidencia del virus que Veguitas. En la campaña 1997-98 Cauto Cristo y Cautillo alcanzaron la mayor incidencia del virus.

CONCLUSIONES

- La plaga está presente en todas las zonas estudiadas durante todo el ciclo del cultivo, con poblaciones altas. Los adultos y las ninfas prefieren el nivel inferior de la planta, y las hembras prefieren el nivel superior para depositar los huevos.
- Las poblaciones de los parasitoides son bajas en todas las localidades, y alcanzan un ligero incremento en la etapa final del cultivo.
- La enfermedad está presente en los tres agroecosistemas estudiados, manifestándose los síntomas a los 14 días después del trasplante, con niveles de infección que oscilan entre 1 y 100 %. La enfermedad se incrementa con el ciclo del cultivo.

REFERENCIAS

Cave R. D.: «Es viable el control biológico de un vector de geminivirus, como *Bemisia tabaci*», *Manejo Integrado de Plagas* (Costa Rica). (34):18-22, 1994.

CATIE: *Metodologías para el estudio y manejos de moscas blancas y geminivirus*. Serie Materiales de Enseñanzas, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Unidad de Fitoprotección, Turrialba, Costa Rica, 1996.

Dubon, R.; V. Salguero; G. Pareja: *Metodología para muestrear mosca blanca en tomate. Manejo Integrado de Plagas en tomate. Fase 1: 1991-1992*, Proyecto de MIP-ICTA-CATIE-ARF, Guatemala, 1993, pp. 53-74.

Gerling, D.; A. Horowitz; J. Baungaertner: «Autecology of *Bemisia tabaci*», *Agriculture, Ecosystems and Environment* (17): 5-19, 1986.

Hilje, L.; R. Lastra; T. Soebisch; G. Calvo; L. Segura; L. Barrante; D. Alpijar; R. Amador: «Las moscas blancas en Costa Rica. Las moscas blancas (*Homoptera: Aleyrodidae*) en América Central y el Caribe», CATIE, Serie Técnica, *Informe Técnico* (205): 58-63, 1993.

Hilje, L.: «Aspectos bioecológicos de *Bemisia tabaci* en Mesoamérica», CATIE, *Manejo Integrado de Plagas*, Costa Rica, (35): 46-54, 1995.

Murguido, C.; Gloria González; L. Vázquez; Carmen Nieves: *Preguntas y respuestas sobre la mosca blanca (*Bemisia tabaci* Gennadius) transmisora del virus del encrespamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)*, INISV, MINAGRI, La Habana, 1996.

Nuez, F.; S. Rosello; Belén Pico: «La conservación y recuperación de nuestro patrimonio hortícola. Mejorar para conservar», *Revista Agrícola Verdel*, Ediciones y Promociones, España (194): 3-5, 1998.

Plana, L.; M. Suris; M. A. Pino; E. Quintana; Y. Fernández; M. A. Martínez: «Incidencia de *Bemisia tabaci* Genn. En tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), asociado a maíz como cultivo protector, en época no óptima», *Rev. Protección Veg.* 10:2, 129-132, 1995.

Rodríguez, H.; M. A. Pino; A. León; E. Terry: «Efecto de la asociación tomate-maíz en el comportamiento de *Bemisia tabaci* (Gennadius) en época óptima», *Rev. Protección Veg.* 13:2, 97-102, 1998.

Serrano, L.; J. L. Sermeño; J. L. Larios: «Las moscas blancas en El Salvador», *Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe*, CATIE, Serie Técnica, *Informe Técnico* (205): 42-49, 1993.

Van Lenteren, J. C.: L. Noldus: «Whitefly-Plant Relationships: Behavioural and Ecological Aspects», *Their Bionomics, Pest Status and Management*, D. Gerling (edition), New Castle, Reino Unido, Atheneum, pp. 47-89, 1990.

Vázquez, L.; G. González; Olimpia Gómez: *Taller regional de producción intensiva de hortalizas en los trópicos húmedos*, 1995.

PRINCIPALES MALAS HIERBAS EN ZONAS URBANAS DE GUANTÁNAMO

Noris López

Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera Santiago de Cuba Km 2½, Guantánamo

RESUMEN

Desde 1996 a 1999 se muestrearon áreas hortícolas representativas de los organopónicos y huertos como modalidades de producción intensiva de la agricultura urbana en la ciudad de Guantánamo, con el objetivo de dar a conocer las principales malezas que afectan a los cultivos. Se informa una flora constituida por 16 familias, 35 géneros y 40 especies, donde el 65% de las malezas fueron dicotiledóneas. Las principales especies con la frecuencia de incidencia más alta fueron *Portulaca oleracea* L. (verdolaga), *Eleusine indica* L. Gaertn. (pata de gallina), *Cyperus rotundus* L. (cebollita) y *Boerhavia erecta* L. (tostón).

Palabras claves: malezas, huertos, muestreos

ABSTRACT

From 1996 to 1999, representative areas were sampled in organoponics and orchards as a nature of Agriculture intensive production for determine the major weeds affecting bean crops, where the local flora reported include 16 families, 35 genera, and 40 species; where the 65% were the dicotyledonous weeds. The prevailing weed species were: *Portulaca oleracea* L. (verdolaga); *Eleusine indica* L. Gaertn. (pata de gallina); *Cyperus rotundus* L. (cebollita) and *Boerhavia erecta* L. (tostón).

Key words: weeds, orchards, sampling

INTRODUCCIÓN

En los últimos años en Cuba ha tenido lugar un fuerte movimiento de distintas modalidades de producción agrícola en pequeñas áreas, basado fundamentalmente en el uso de los recursos disponibles en cada territorio [Campanioni *et al.*, 1997].

Hay que decir que en la mayoría de las provincias se lleva a cabo un intenso trabajo en este sentido, lo cual en estos momentos adquiere una importancia estratégica en el autoabastecimiento de hortalizas como fuente de vitaminas y como extensor de nuestra alimentación. Este sistema de producción en la agricultura urbana es una manera actual de obtener de forma intensiva vegetales y condimentos para el consumo fresco de la población, en el cual la incidencia de malezas constituye un enemigo potencial, pues reducen el rendimiento de los cultivos cuantitativa y cualitativamente al competir con ellos por la luz, la humedad, el espacio y los nutrientes [Robbins, W *et al.*, 1967; y Pérez, 1983], o por efectos alelopáticos [Pérez, 1983]. Además, son hospederas de plagas [Manual, 1993], pueden ocasionar afectaciones en cualquier fase de su desarrollo [Cuba, 1983]

y constituyen riesgos naturales dentro de los intereses y actividades del hombre [Mortimer, 1990; citado por Labrada, 1996].

Labrada *et al.* (1979) resaltan la importancia del estudio de esta competencia de las malas hierbas con los cultivos vegetales, dada la precocidad de su ciclo vegetativo, así como por el porte bajo de tales plantas cultivables.

El presente trabajo tiene como objetivo el estudio de la flora adventicia en zonas urbanas para conocer las principales malezas y el comportamiento de los tipos de enyerbamiento que invaden las áreas hortícolas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de todas las malezas en áreas destinadas a huertos intensivos de la Empresa Cultivos Varios La Confianza y organopónicos de la localidad, todos en la llanura del municipio de Guantánamo con predominio de suelos pardos con carbonato.

Se muestreó el 5% de las áreas que representan 3,76 ha de los huertos intensivos y 3,98 de organopónicos.

Se tuvo en cuenta el sustrato utilizado para valorar la incidencia de malezas, observando como predominio el estiércol vacuno y humus.

Los registros y evaluaciones de las malezas se realizaron utilizando el método de estimación visual del por ciento de cobertura de Maltsev referido por Pérez *et al.* (1986) con la siguiente escala de grados:

Grado 1. Malezas aisladas, débil enmalezamiento, hasta un 5% de cobertura.

Grado 2. Mediano enmalezamiento, entre 6-25%.

Grado 3. Fuerte enmalezamiento, entre 26-50%.

Grado 4. Muy fuerte enmalezamiento, más del 50% del área.

Las malezas se agruparon según clasificación botánica en familias, géneros y especies, determinadas por el LPSV, anotando el grado de cobertura.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el análisis sistemático de las malezas que incidieron en las áreas muestreadas se encontraron 40 especies, las que se agruparon en 16 familias botánicas y 35 géneros, donde la familia *Poaceae* es la que reúne el mayor número de malezas (Tabla 1). Analizando el grado de cobertura observamos que no son muchas las especies que ocasionan grandes pérdidas económicas a esos cultivos.

Tabla 1. Organización sistemática de las malezas en las diferentes modalidades de producción intensivas (huertos y organopónicos)

Clase	Familia	Especies	Nombre vulgar	Grado de cobertura	Ciclo de vida
Monocotiledóneas	Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i>	Cebolleta	3	Perenne
		<i>Eieusine indica</i>	Pata de gallina	3	Anual
	Poaceae	<i>Echinochloa colona</i>	Mete bravo	2	Anual
		<i>Leptochloa panicea</i>	Plumilla	1	Anual
		<i>Brachiaria extensa</i>	Gambutera	1	Anual
		<i>Chloris barbata</i>	Barba de indio	1	Anual
		<i>Digitaria sanguinalis</i>	Pata de gallina	1	Anual
		<i>Cenchrus ciliaris</i>	Guizaso	1	Anual
		<i>Cenchrus echinatus</i>	Guizaso	1	Anual
		<i>Sporobolus indicus</i>	Espartillo	1	Anual
		<i>Cynodon dactylon</i>	Hierba fina	2	Perenne
		<i>Sorghum halepense</i>	Don Carlos	1	Perenne
		<i>Paspalum conjugatum</i>	Cañamazo amargo	1	Perenne
		<i>Andropogon pertusus</i>	Camagüeyana	1	Perenne
		Dicotiledóneas	Portulacaceae	<i>Portulaca oleracea</i>	Verdolaga
Nictaginaceae	<i>Boerhavia erecta</i>		Tostón	3	Anual
	<i>Amaranthus dubius</i>		Bledo	2	Anual
Amaranthaceae	<i>Amaranthus spinosus</i>		Bledo espinoso	1	Anual
	<i>Achryranthes áspera</i>		Rabo de gato	1	Anual
	<i>Chamaesyce hirta</i>		Lechera	2	Anual
Euphorbiaceae	<i>Chamaesyce hyssopifolia</i>		Hierba lechosa	2	Anual
	<i>Euphorbia heterophylla</i>		Corazón de María	1	Anual
	<i>Bidens pilosa</i>		Romerillo	1	Anual
Asteraceae	<i>Parthenium hysterophorus</i>		Escoba amarga	1	Anual
	<i>Melanthera deltoidea</i>		Botón de plata	1	Anual
Caparidaceae	<i>Vernonia cinerea</i>		Machadita	1	Anual
Solanaceae	<i>Cleome viscosa</i>		Volantín	1	Anual
Acanthaceae	<i>Ruellia tuberosa</i>		Salta Perico	1	Anual
Verbenaceae	<i>Bouchea prismática</i>		Verbena cimarrona	1	Anual
Malvaceae	<i>Urena lobata</i>		Malva blanca	1	Anual
	<i>Wissadula amplissima</i>		-	1	Anual
	<i>Sida acuta</i>		Malva de caballo	1	Perenne
	<i>Sida spinosa</i>		Malva de caballo	1	Perenne
	<i>M. coromandelianum</i>		Malva negra	1	Perenne
Cruciferae	<i>Lepidium virginicum</i>		Mastuerzo	1	Anual
	<i>Macroptillum lathyroides</i>		Pico de aura	1	Anual
Fabaceae	<i>Desmodium canum</i>		Empanadilla	1	Perenne
	<i>Walteria indica</i>		Malva blanca	1	Perenne
Sterculiaceae	<i>Merremia umbellata</i>		Aguinaldo amarillo	1	Perenne
					1

Se obtiene además que del total de malezas registradas el 65% son dicotiledóneas y el 35% monocotiledóneas, las cuales están relacionadas con el sustrato utilizado. Esto se corresponde con lo planteado en el *Manual*

(1993) en relación con la incidencia de malezas en los organopónicos y huertos intensivos.

Las especies predominantes (*Tabla 2*) presentan los mayores grados de cobertura con predominio en el área de observación.

Tabla 2. Especies predominantes por la escala de Maltsev en dichas modalidades

No.	Especies	Nombre vulgar	Grado de cobertura	Ciclo de vida
1	<i>Cyperus rotundus</i> L.	Cebolleta	3	Perenne
2	<i>Eleusine indica</i> (L.) Gaertn	Pata de gallina	3	Anual
3	<i>Echinochloa colona</i> (L.)	Mete bravo	2	Anual
4	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	Hierba fina	2	Perenne
5	<i>Portulaca oleracea</i> L.	Verdolaga	3	Anual
6	<i>Boerhavia erecta</i>	Tostón	3	Anual
7	<i>Amaranthus dubius</i> Mart.	Biedo	2	Anual
8	<i>Chamaesyce hirta</i> (L.)	Lechera	2	Anual
9	<i>Chamaesyce hysopifolia</i> (L.) Small	Hierba lechosa	2	Anual

Las gramíneas *Eleusine indica* (L.) Gaertn, *Echinochloa colona* (L.), *Cynodon dactylon* (L.) Pers. ocupan un lugar preferencial junto a las dicotiledóneas *Portulaca oleracea* L., *Amaranthus dubius* Mart., *Boerhavia erecta* L. y *Chamaesyce hirta* (L.), así como la especie perenne *Cyperus rotundus* L. [Roig, 1975], las que unidas determinan tres tipos fundamentales de enyerbamiento: especies anuales gramíneas y dicotiledóneas, especies anuales y monocotiledóneas perennes, y gramíneas perennes y dicotiledóneas anuales.

Dentro de las gramíneas *Cynodon dactylon* (L.) Pers. (hierba fina) y *Eleusine indica* (L.) Gaertn (pata de gallina) son consideradas por Labrada *et al.* (1979) como malezas de difícil control. Además, la especie perenne *Cyperus rotundus* L. (cebolleta) mantiene su dominancia habitual, y puede ser causante de pérdidas en esos cultivos, por lo que se debe trabajar en las medidas para su control. Todas estas especies pueden llegar a impedir el total desarrollo de los cultivos, si no hay de ellas un manejo efectivo.

En la *Fig. 1* aparecen los principales tipos biológicos determinados por la dominancia de las especies según su ciclo de vida, destacándose las dicotiledóneas anuales con el 50%, seguido de las monocotiledóneas anuales

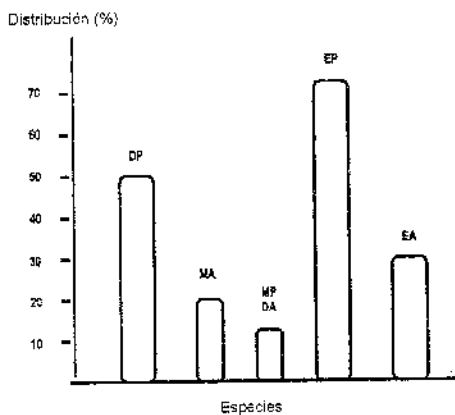
con un 20% y, por último, las monocotiledóneas y dicotiledóneas perennes con el 15% de distribución.

Esto se corrobora con lo planteado por Pérez *et al.* (1986) de que en las dicotiledóneas anuales se agrupa el mayor número de las malezas que invaden las áreas hortícolas.

La composición de la flora está representada en un 70% de carácter anual y un 30% perennes.

CONCLUSIONES

- La flora adventicia en estas modalidades de producción intensiva la determinaron 40 especies agrupadas en 16 familias y 35 géneros, donde el 65% de las malezas fueron dicotiledóneas.
- Las principales especies que afectan a los cultivos son *Portulaca oleracea* L., *Eleusine indica* (L.) Gaertn, *Cyperus rotundus* L. y *Boerhavia erecta* L., al presentar la frecuencia de incidencia más alta.
- En las áreas se distinguen tres tipos de enyerbamiento: especies anuales gramíneas y dicotiledóneas, especies anuales y monocotiledóneas perennes, y gramíneas perennes y dicotiledóneas anuales.
- El tipo de enyerbamiento que predomina corresponde a especies anuales gramíneas y dicotiledóneas.



MA: Monocotiledóneas anuales
 MP: Monocotiledóneas perennes
 DA: Dicotiledóneas anuales
 DP: Dicotiledóneas perennes
 EA: Especies anuales
 EP: Especies perennes

Figura 1. Composición de la flora en tipos biológicos.

REFERENCIAS

Campanioni, N. et al.: *La agricultura urbana. Su desarrollo y principales componentes*, INIFAT, MINAGRI, 1997.

Cuba. *Instructivo técnico del cultivo de la cebolla*, Direc. Nac. de Cult. Varios. MINAGRI, La Habana. 1983.

Labrada, R. et al.: *Metodología sobre maíces hierbas. III*, IISV. MINAGRI, La Habana. 1979.

—: *Manejo de malezas para países en desarrollo*, FAO, Roma, 1996.

MINAGRI. *Manual para organopónicos populares*, junio, 1993.

Pérez, E.: *Combate de malezas en el cultivo del café*, IISV. CIDA, 1983.

Pérez, E. et al.: *Metodología para el sistema de evaluación y registro de malezas en los cultivos*. IISV, 1986.

Pérez, E. et al.: *Manejo Integrado de malezas*, Informe, INISAV, 1992.

Robbins, W. et al.: *Destrucción de malas hierbas*, Ediciones R, La Habana, 1967.

Roig, J. T.: *Diccionario botánico de nombres vulgares cubanos*, 4a. ed., t. I y II, La Habana, 1975.

REGIONALIZACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE *MYZUS PERSICAE* (SULZER) (HOMOPTERA: APHIDIDAE) EN PAPA EN LA PROVINCIA DE LA HABANA

S. F. Jiménez, J. Cortiñas, Lérica Almaguel y Guadalupe Gómez

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

RESUMEN

Se tomaron los datos sobre comportamiento de *M. persicae* provenientes de campos de papa de la provincia de La Habana para el período 1985-86, 1996-97, y se caracterizaron según las variables: momento de aparición, número de individuos en la aparición, momento en que se alcanza la población máxima, total de individuos en el pico poblacional, población promedio por parcela y tasa de incremento poblacional. Una regionalización de las áreas paperas de la provincia se logró a partir de la caracterización del territorio según los registros de temperatura media del aire para el período noviembre-marzo, pues de estudios realizados con la dinámica de la especie en condiciones experimentales se obtuvo, mediante análisis de regresión, una ecuación estadísticamente significativa ($\ln Po = 0,1033 T_{med} - 2,0651$) que relaciona los incrementos poblacionales con las variaciones de la temperatura media del aire. La zonificación a partir de la temperatura media del territorio dio como resultado cuatro zonas diferentes, y mediante análisis discriminantes se asociaron los datos correspondientes a los campos estacionarios según las cuatro zonas de comportamiento de dicha variable, obteniéndose un alto por ciento de individuos bien clasificados, lo que demostró que en la provincia existen cuatro áreas diferentes de incremento de las poblaciones de *M. persicae* con mayores posibilidades hacia el centro-oeste de su territorio, y menores hacia el sur, correspondiendo a las dos áreas ubicadas al sur-este las posibilidades intermedias.

Palabras claves: zonificación, papa, *M. persicae*, temperatura media, regresión, análisis discriminante

ABSTRACT

Data of the behavior of *M. persicae* in potato survey plots from the province of La Havana were analyzed. Periods between 1985-86 and 1996-97 were used for the analysis. A characterization was done according to the following aspects: appearance time, number of individuals in the appearance, time when highest population is found, total amount of individuals in the population peaks, mean population per plot and population increase rate. A distribution by region was made for potato producing areas of the province as of the characterization of territories according to air's mean temperature during the period comprised between November-March. In relation to this a statistically significant equation ($\ln Po = 0.1033 \text{ Mean Temp} - 2.0651$) had been obtained by means of a regression analysis, which relates the population increases with the variations of the air's mean temperature. Zonation as of the mean temperature of the territory showed four different regions and by means of a discriminant analysis, data obtained from survey plots were associated according to the four behavioral regions obtained for the referred variable. A high percent was obtained for the well-classified individuals which demonstrated that four different regions of population increase exist for *M. persicae*. Higher possibilities were observed for the central-western part of the province while lower possibilities were registered for its southern part. Intermediate possibilities matched with the two regions located to the south-eastern part of the province.

Key words: Zonation, potato, *M. persicae*, mean temperature, regression analysis, discriminant analysis

INTRODUCCIÓN

En Cuba se han realizado diversos trabajos de regionalización climática que diferencian territorios del país en dependencia de la manifestación de variables climáticas, así como también trabajos de regionalización para cultivos tales como los cítricos [Lima *et al.*, 1988], los pastos [Paretas, 1990] y forestales y frutales [Acosta, Paretas y Herrero, 1998], a través de los cuales se definieron las regiones con mejores posibilidades para su ubicación. Estudios semejantes se han llevado a cabo recientemente en relación con el ataque de insectos plagas [Jiménez *et al.*, 1995], en los cuales se parte de la asociación del comportamiento observado en di-

ferentes territorios y la manifestación en ellos de las variables climáticas que lo condicionan, con vistas a definir la selección adecuada de los sitios de monitoreo permanente para el trabajo de protección de plantas.

La dinámica poblacional de *M. persicae* ha sido estudiada en Cuba por diversos investigadores [Bécquer, 1981; Gómez *et al.*, 1975; Jiménez, 1980; León *et al.*, 1985], y en los resultados se señala a la temperatura y/o la amplitud térmica como los principales responsables de las variaciones poblacionales de este insecto. También ha sido estudiada la influencia de la temperatura y la

fenología en la primera aparición del pulgón verde del melocotonero, así como el ciclo biológico y la reproducción en condiciones controladas [Jiménez, 1980] y ambientales [Jiménez y Montero, 1995], donde se demostró la relación entre la temperatura y la velocidad de desarrollo de esta especie. Existen en la literatura universal diversos artículos cuyos resultados concuerdan en general con los obtenidos por investigadores cubanos.

Las Estaciones Territoriales de Protección de Plantas (ETPP) de la provincia de La Habana poseen una abundante información acumulada acerca del comportamiento de los áfidos en el cultivo de la papa, obtenida periódicamente a través del trabajo de monitoreo de la plaga, en sitios fijos de muestreo o campos estacionarios (CE), que establecen las metodologías de señalización elaboradas para el seguimiento y control de plagas y enfermedades en las áreas de producción.

Este trabajo se llevó a cabo con la finalidad de zonificar las áreas de producción de papa partiendo de los resultados investigativos existentes, la información climática de la red de estaciones meteorológicas (EM) del Instituto de Meteorología y la información acumulada por las ETPP de la provincia de La Habana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron los datos experimentales acerca de la dinámica poblacional de *M. persicae* obtenidos en ensayos realizados en 37 parcelas sembradas en las tres épocas del calendario para el cultivo de la papa en Cuba, ubicadas en Alquizar, La Habana, durante un período de 10 años (1974-85), y se calculó el incremento de población entre evaluaciones, así como la temperatura media del aire y la amplitud térmica del intervalo de siete días previos a cada evaluación, con los cuales se efectuaron análisis de regresión lineal para determinar cuál de las variables climáticas caracterizan mejor el crecimiento de la plaga.

Se procesaron los registros de temperatura media, dado que esta variable describe el comportamiento de *M. persicae*, obtenidos por las EM de Melena del Sur, Güines, Güira, Santiago de las Vegas, Artemisa, Bauta, Batabanó y La Sabana correspondientes al intervalo noviembre-marzo para una serie de seis años, y mediante análisis de varianza se realizó una caracterización del territorio dedicado a la producción de papa de la provincia de La Habana de acuerdo con el comportamiento de dicha variable en la etapa de cultivo de la papa, que posteriormente se verificó con los parámetros de población de la plaga calculados de las tarjetas informativas de 34 CE pertenecientes a las ETPP de Güines, Güira y Artemisa, que abarcan las Empresas de Cultivos Varios (ECV) de Güines, Melena, Güira, Alquizar, Batabanó, 19 de Abril, Artemisa y el sector privado de San Antonio de los Baños, del período

1985-86 a 1996-97, y se elaboró un fichero con las variables: momento de aparición, total de individuos en el pico poblacional, población promedio por parcela y tasa de incremento poblacional, con el objetivo de realizar un análisis discriminante para verificar si el comportamiento poblacional de *M. persicae* respondía a las diferencias climáticas existentes en el territorio, y de este modo lograr la zonificación de la especie para el cultivo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al analizar el comportamiento de las poblaciones de áfidos en la dinámica, se escogieron como parcelas tipo representativas las correspondientes a la etapa intermedia del calendario, y con ellas se llevaron a cabo los análisis matemáticos partiendo de los antecedentes conocidos respecto a la relación existente entre dicha dinámica con la amplitud térmica, así como con la temperatura media.

Como resultado del análisis de regresión entre el incremento de la población (InPo) de áfidos entre evaluaciones semanales y la amplitud térmica (Ampli) correspondiente a dichos períodos, se obtuvo la ecuación $\text{InPo} = -0,054 \text{ Ampli} + 0,6837$, lo cual implica que para que se produzca un decrecimiento de la población, la amplitud debe ser menor de $12,66^\circ\text{C}$. Este resultado concuerda con los señalados por otros investigadores en Cuba [Gómez *et al.*, 1975; León *et al.*, 1985].

El análisis de regresión efectuado con el incremento de la población de *M. persicae* entre evaluaciones y la temperatura media (Tmed) del aire dio como resultado la ecuación $\text{InPo} = 0,1033 \text{ Tmed}$, de donde se deduce que para que se produzca un aumento de la población de la plaga, la temperatura media debe ser superior a $19,99^\circ\text{C}$, lo cual concuerda con los requerimientos térmicos de la especie según los resultados obtenidos en los estudios sobre la acción de la temperatura sobre su ciclo biológico [Jiménez, 1980], así como con la temperatura óptima para su incremento.

De acuerdo con los resultados obtenidos, ambas variables pueden servir para explicar las variaciones poblacionales de *M. persicae*.

Se seleccionó a la temperatura media del aire para caracterizar, por su comportamiento, a la provincia de La Habana, y el análisis de varianza efectuado demostró (Tabla 1) la existencia de diferencias significativas entre los registros de temperatura media de las EM de La Habana, que hacen que se diferencien cuatro zonas, con los valores más elevados en Artemisa y La Sabana ($22,98 - 22,92^\circ\text{C}$), y los más bajos en Batabanó, Güira de Melena y Bauta ($22,1 - 21,9^\circ\text{C}$), lo que presupone que en el período de cultivo de la papa -noviembre a marzo-, las poblaciones de áfidos alcanzan incrementos más discretos en las empresas paperas del centro-sur de la provincia (ECV Batabanó, Quivicán, Güira de Melena y Alquizar) (Fig. 1).

Tabla 1. Caracterización de las áreas paperas de La Habana según la temperatura media del aire

Estaciones meteorológicas	Grupo	Temperatura media del aire
Artemisa	I	22,954 a
La Sabana	I	22,92 a
Güines	II	22,52 b
Santiago de las Vegas	III	22,312 bc
Melena	III	22,28 bc
Batabanó	IV	22,194 c
Güira	IV	22,146 c
Bauta	IV	21,99 c
Error estándar		0,1
Coefficiente de variación		0,1268

El análisis discriminante demostró, dado el alto porcentaje de CE bien clasificados obtenidos (88,2%), que los incrementos poblacionales de la especie responden

a las variaciones climáticas que existen en el territorio, lo cual se reafirma en la representación gráfica (Fig. 2) de los centros de gravedad de los grupos.

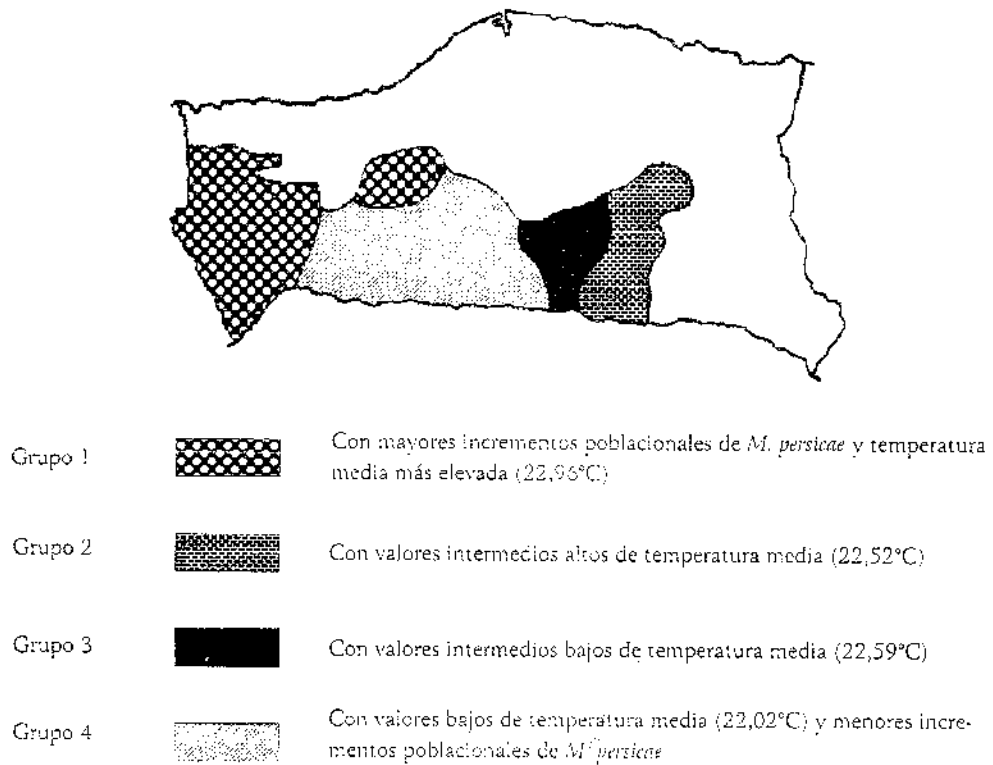


Figura 1. Zonificación del comportamiento de *M. persicae* en papa.

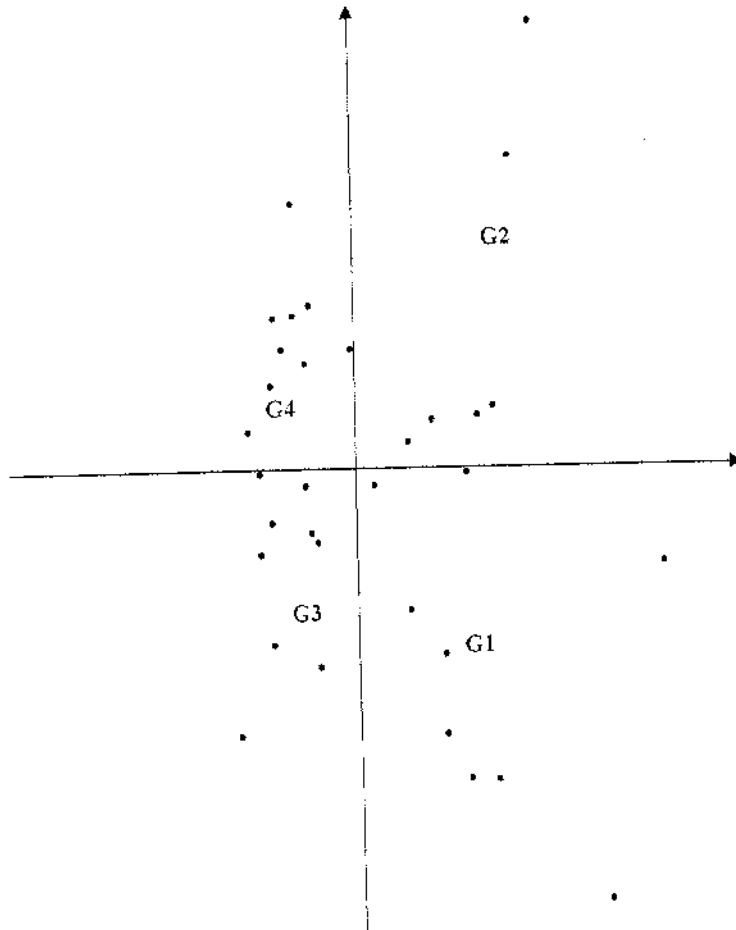


Figura 2. Representación de los grupos en los ejes discriminantes.

Hasta fecha reciente, los trabajos de zonificación publicados en la literatura científica internacional se han referido a la diferenciación de áreas geográficas de determinados territorios con la finalidad de establecer aquellas donde se localizan las mejores posibilidades de obtener altos rendimientos, de acuerdo con las necesidades de cultivos específicos, y se basan generalmente en el análisis de variables edafo-climáticas [Alves y Olivera, 1995] o climáticas solamente [Ernst y Hoffman, 1996], asumiendo la mayor o menor posibilidad de la acción de plagas y enfermedades por asociación y no por inclusión de este factor como una variable más en la zonificación. En Cuba, de modo particular, se han estado realizando trabajos de este tipo, pero referidos al comportamiento no sólo de insectos plaga, sino también de enfermedades producidas por hongos, en áreas destinadas tradicionalmente a determinados cultivos como el tabaco [Llanes, 1997] y la papa [Gómez, 1998], y los resultados obtenidos brindan la posibilidad de trazar estrategias en la toma de decisiones para la protección sanitaria en las áreas dedicadas a ellos.

CONCLUSIONES

- El territorio dedicado a la producción de papa en la provincia de La Habana se diferencia en cuatro zonas.

según el incremento que se registra en las poblaciones de *M. persicae* en el período noviembre-marzo.

- Las zonas con mayores posibilidades de incrementos poblacionales se ubican al centro-oeste de la provincia, y las de menores, hacia el sur, correspondiendo a los territorios del sur-este las posibilidades intermedias.

REFERENCIAS

- Alves de A., H.; S. Oliveira: «Seleção de zonas edafo-climáticas para o cultivo da pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) no sul da Bahia», *Boletim Técnico* 178, Centro de Pesquisas da Cacaú. Ilhéus, Bahia, 1995.
- Acosta, R.; J. J. Paretas; J. Herrero: «Regionalización de especies forestales y frutales de interés pecuario», II Congreso Forestal de Cuba. Resúmenes, pp. 199-200.
- Bécquer, Aydeé: «Fluctuaciones de las poblaciones del pulgón *Myzus persicae* en plantaciones de *Solanum tuberosum*», *Ciencias de la Agricultura* 9:9-15, 1981.
- Ernst, O.; E. Hoffman: «Cultivos de invierno en el norte uruguayo: su historia y sus posibilidades», *Canqué* 8:4-6, 1996.
- Gómez, Josefina; S. Mayea; J. Gómez; R. Toledo: «Comportamiento de la población de *Myzus persicae* Sulz. y su relación con las enfermedades virales que atacan a la papa (*Solanum tuberosum* L.) en Cuba», *Centro Agrícola* 2(1):13-22, 1975.

- Gómez, Guadalupe: «Clasificación bioclimática del tizón temprano de la papa en Cuba», INISAV, La Habana, 1988.
- Jiménez, S.: «Estudio biocológico y control químico de *Myzus persicae* (Sulzer) en papa». Informe Final, Problema Principal Estatal 04, INISAV, MINAGRI, Cuba, 1980.
- Jiménez, S.; J. Cortiñas; M. Suárez; L. Almaguel; G. Gómez: «Regionalización de *Mocis latipes* (Guenée) (Lepidoptera, Noctuidae) en las zonas productoras de pastos de la provincia de La Habana», *Agrotecnia de Cuba* 27(1):80-85, 1997.
- Jiménez, S.; J. Cortiñas; L. Almaguel; G. Gómez; M. Suárez; M. Santos; I. Figueroa; R. Vázquez; L. Alarcón: «Regionalización del falso medidor (*Mocis latipes*) en pastos artificiales: una metodología generalizada», *ACPA*, año 15, no. 1: 49-53, 1997.
- Jiménez, S. F.; C. Montero; J. Roscándido: «Ciclo biológico y reproducción de *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera:Aphididae) en condiciones ambientales», 1995.
- León, R.; Luz M. Samaniego; W. Olivera; D. Ruiz: «Dinámica poblacional de *Myzus persicae* (Sulz.) (Homoptera:Aphididae) en tres variedades de papa durante tres cosechas», *Revista de Ciencias Biológicas* 16(1):41-48, 1985.
- Lima, H.; María Teresa Cornide; Miriam Álvarez; E. Frómata: «Clasificación edafoclimática de las localidades citricolas de Cuba», *Agrotecnia de Cuba* 20 (2): 63-74, 1988.
- Llanes D., Liudmila: «Validación del índice de peligrosidad modificado, método de pronóstico a corto plazo para el moho azul del tabaco (*Peronospora hyoscyami* de Bary f. sp. *tabacina*) y su utilización en algunos análisis bioclimáticos en Cuba», Trabajo de Diploma, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, 1997.
- Pareta, J. J.: *Écosistemas y regionalización de pastos*, Instituto de Investigaciones de Pastos y Forrajes, Ministerio de la Agricultura, La Habana, 1990.

COMPARACIÓN DE TRAMPAS DE DIFERENTES COLORES EN LA CAPTURA DE *TRIPS TABACI* LINDEMAN (THYSANOPTERA: THIRIPIDAE) EN EL CULTIVO DE CEBOLLINO (*ALLIUM SCHOENOPRASSUM* LIN.)

E. Rodríguez y L. L. Vázquez

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

RESUMEN

Thrips tabaci Lindeman constituye uno de los mayores problemas entomológicos para los cultivos de cebollino, ajo y cebolla. Las trampas de colores pueden resultar un método de diagnóstico y monitoreo muy útil para esta plaga. El experimento se realizó en un huerto urbano en el cultivo de cebollino, donde se ensayaron los colores blanco, amarillo, rojo y azul para la atracción de *Thrips tabaci*. También se analizaron dos alturas para la colocación de las trampas (20 y 40 cm del suelo). Los colores más efectivos para la captura de *Thrips tabaci* fueron el blanco y el azul, los cuales presentaron diferencias significativas con respecto a los demás colores. También se pudo comprobar que no existen diferencias en cuanto a la captura de insectos entre las alturas evaluadas.

Palabras claves: *Thrips tabaci*, trampas de colores, monitoreo, *Allium schoenoprasum*

ABSTRACT

Thrips tabaci Lindeman constitutes one of the main entomological troubles for chive, garlic and onion. Color traps can be a useful method of diagnosis and monitoring for this pest. Experiment was made in an urban orchard in chive culture, where were assayed the colors white, yellow, red and blue for the attraction of *Thrips tabaci*. Also were analyzed two heights for trap positioning (20 and 40 cm at soil). More effective colors for the capture of *Thrips tabaci* were white and blue. They presented significant differences respect to other colors. Besides it could be proved that it didn't exist differences in capture of insects between evaluated heights.

Key words: *Thrips tabaci*, colors traps, monitoring, *Allium schoenoprasum*

INTRODUCCIÓN

La trampa de colores para la atracción de insectos es una técnica muy empleada en la agricultura. Específicamente de los insectos pertenecientes al orden Thysanoptera existen numerosos trabajos relacionados con los colores que ejercen mayor atracción sobre ellos. Los resultados de estos ensayos son contradictorios, encontrándose entre los colores informados como atraentes el blanco [Ataiza y González, 1989], el amarillo [Torres *et al.*, 1990] y el azul [Cabello *et al.*, 1991].

En el presente experimento se pretendió determinar el color que más atracción ejerce sobre poblaciones de *Thrips tabaci*, además de comparar la influencia de dos alturas de trampa sobre su captura, como elementos básicos para la utilización de estas en el monitoreo de las poblaciones en huertos urbanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en un huerto urbano de alto rendimiento (organopónico) del INRE en Plaza de la Re-

volución, Ciudad de La Habana, en el cultivo de cebollino en estadio de tres hojas. Las trampas de colores se hicieron de cartón, con 15 cm de ancho por 10 cm de alto. Al cartón se le adhirió por cada cara una cartulina de color. Luego se forraron con plástico transparente, y se recubrió de goma entomológica. Los colores utilizados fueron blanco, azul, rojo y amarillo.

Las trampas se colocaron a dos alturas: 20 y 40 cm del suelo, y se distribuyeron de manera aleatoria a lo largo de los canteros, cuyas dimensiones eran 40 x 1,5 m. Se situaron cinco trampas de cada color a las dos alturas utilizadas.

Las evaluaciones se realizaron una vez por semana. En ellas se retiró el plástico transparente con los insectos pegados y se sustituyó por otro nuevo. En el laboratorio se realizó la cuantificación de los individuos utilizando el microscopio estereoscópico y, en caso de ser necesario, se realizaron montajes para la identificación en el microscopio óptico, para lo cual se empleó la clave de Palmer y Mound (1989).

Los datos de capturas de insectos para los diferentes colores y alturas fueron analizados utilizando un diseño univariado completamente aleatorizado para un 5% de probabilidad de error. Para la comparación de medias y la formación de grupos homogéneos se utilizó la prueba Newman Keuls. Los datos fueron transformados por $\sqrt{x + 1}$ para su normalización.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mayor atracción de las poblaciones de *Thrips tabaci* se obtuvo con los colores azul y blanco (Tabla 1), difiriendo significativamente con la atracción ejercida por los colores rojo y amarillo.

Tabla 1. Número de adultos de *Thrips tabaci* capturados por trampa en cebollino en las evaluaciones realizadas

Color	1ra. eval. 10/1/96	2da. eval. 18/1/96	3ra. eval. 25/1/96
Azul	19,65 a	16,25 a	14,99 a
Blanco	17,25 a	14,05 a	10,35 a
Rojo	6,55 b	6,77 b	5,99 b
Amarillo	6,45 b	6,25 b	5,35 b
	CV=33,3	CV=31,4	CV=28,7

Este resultado es muy similar al obtenido por Fernández y Lucerna (1990), quienes evaluaron la atracción de *T. tabaci* a diferentes colores en el cultivo de cebolla, y hallaron que el color blanco atrae más individuos que los colores violeta, rojo y verde.

En otros estudios realizados con diferentes especies de trips, Moffitt (1964), Beavers *et al.* (1971) y Yudin *et al.* (1987) comprobaron que el color blanco es más atractivo para *Frankliniella occidentalis* (Pergande) que el rojo y el amarillo, en trabajos realizados en perales, naranjos y lechuga, respectivamente.

También Cárdenas y Corredor (1989) encontraron en Colombia que el color blanco es el más atractivo en la captura de trips, en un experimento en el que se

ensayaron los colores amarillo, naranja, rojo, verde y morado sobre cultivo de crisantemo. Brodsgaad (1989) evaluó diferentes colores y tonos, y determinó que una gama de azul era la óptima para la atracción de trips en una experiencia en invernadero en el cultivo de Saint Paulias. Se refiere además preferencia por el color azul en *Thrips citratus*, *T. vulgaris* [Kirk, 1984] y *T. palmi* Karny [Kawai y Kitamura; 1987, 1990].

Respecto al efecto de la altura de las trampas sobre la captura de trips, se determinó que no hubo diferencias significativas entre las dos alturas ensayadas (Tabla 2). Esto permite al productor colocar las trampas en el rango de 20 a 40 cm del suelo, una altura ligeramente superior a la del cultivo en su fase de cosecha, con el mismo efecto.

Tabla 2. Número de adultos de *Thrips tabaci* capturados por trampas colocadas a dos alturas diferentes

Altura	1ra. eval. 10/1/96	2da. eval. 18/1/96	3ra. eval. 25/1/96
20 cm	12,50	10,50	10,00
40 cm	12,22	10,22	8,50

En trabajos realizados en otros cultivos, las trampas se colocaron a la altura superior del cultivo, con gran efectividad de captura de trips; así, Medina *et al.* (1994), para la captura de *F. occidentalis* en pompón, colocaron las tram-

pas a 10 o 15 cm por encima del cogollo terminal de las plantas. Torres *et al.* (1990) ensayaron en rosas con alturas de 60, 125 y 160 cm, donde se obtuvieron mejores resultados a 125 cm en la atracción de *F. occidentalis*.

CONCLUSIONES

- Los colores azul y blanco ejercieron mayor atracción sobre poblaciones de *Thrips tabaci* que el amarillo y el rojo.
- Las trampas colocadas a 20 cm del suelo no difieren en la cantidad de individuos capturados con respecto a las colocadas a 40 cm del suelo.

REFERENCIAS

- Atalza, R.; N. González: «Preferencia cromática de los trips». *Flora-mérica S.A.*, Bogotá, Colombia, 1989.
- Cabello, T.; M. M. Abad; F. P. Pascual: «Captura de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) en trampas de distintos colores en cultivo en invernaderos». *Bol. San. Veg. Plagas* 17(2): 265-270, 1991.
- Beavers, J. B.; A. G. Shaw; R. B. Hampton: «Color and Height Preference of the Citrus Trips in a Navel Orange Grove», *J. Econ. Entomol.* 64:1112-1113, 1971.
- Brodsgaad, H. F.: «Coloured Sticky Traps for *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thy. Thripidae) in Glasshouses», *J. Appl. Entomol.* 107: 136, 1989.
- Cárdenas, E.; D. Corredor: «Preferencia cromática de los trips (Thys: Thripidae) hacia las trampas de colores en un invernadero de flores de la sabana de Bogotá», *Agronomía Colombiana* 6 (1-2): 78-01, 1989.
- Fernández, S.; C. Lucerna: «Evaluación de trampas adhesivas de diferentes colores en la atracción de *Thrips tabaci* Linderman (Thysanoptera: Thripidae) en cucurbitáceas en cultivo protegido», *J. Econ. Ent.* 83 (3): 971-975, 1990.
- Kirk W. D. J.: «Ecologically Selective Coloured Traps», *Ecol. Entomol.* 9:35-41, 1984.
- Kawai, A.; C. Kitamura: «Studies on Population Ecology of *Thrips palmi* Karny XV. Evaluation of Effectiveness of Control Methods Using Simulation Model», *Appl. Ent. Zool.* 22: 292-302, 1987.
- Kawai, A.; C. Kitamura: «Studies on Population Ecology of *Thrips palmi* Karny XV.18 Evaluation of Effectiveness of Control Methods of Trips on Eggplant and Sweet Pepper Using Simulation Model», *Appl. Ent. Zool.* 25: 161-175, 1987.
- Medina, G.; J. H. Escobar; A. Acosta: «Evaluación de la población de trips (Thysanoptera:Thripidae) con trampas acrílicas comerciales de diferentes colores en cultivo comercial del pompón», *Revista Entomológica Colombiana* 20(4): 215-224, 1994.
- Moffitt, H. R.: «Color Preference of the Western Flower Trips *Frankliniella occidentalis*», *Jour. Econ. Entomol.* 57: 604-605, 1964.
- Palmer, J. M.; L. A. Mound; G. L. Heaume: *CIE Guides to Insects of Importance to Man. 2-Thysanoptera*: CAB International Institute of Entomology-British Museum Natural History, London, 1989.
- Torres, R.; A. Camero; L. González-Andujar: «Preferencia de color de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) en invernadero», *Bol. San. Veg. Plagas* 16(1): 363-370, 1990.
- Yudin, L. S.; W. C. Mitchell; J. J. Cho: «Color Preference of the Trips (Thy: Thripidae) With Reference to Aphids (Homoptera: Aphididae) and Leafminers in Hawaiian Lettuce Farms», *Jour. Entomol.* 80: 51-55, 1987.

RESIDUALIDAD DE MALATION, METAMIDOFOS, PARATION-METILO Y ZINEB EN CEBOLLA (*ALLIUM CEPA* L.)

R. Hernández, A. Sisinno y A. Lazo

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 estudió la cinética de degradación de los plaguicidas malation, metamidofos, paration-metilo y zineb en cebolla de la variedad Red Creole, aplicados sobre el cultivo 15 días antes de la cosecha, en un área de 160 m² y a las dosis de 1,14 kg i.a./ha (malation); 0,60 kg i.a./ha (metamidofos); 1,0 kg i.a./ha (paration-metilo) y 2,25 kg i.a./ha (zineb), sobre suelo Ferralítico Rojo. Para realizar los análisis de residuos se llevaron a cabo cinco muestreos durante un periodo de 14 días. Malation, metamidofos y paration-metilo se analizaron por cromatografía gaseosa, mientras que los análisis de zineb se efectuaron por espectrofotometría UV. Los resultados demostraron que malation, metamidofos y metilparation, en ningún momento después de la aplicación, dejan residuos por encima de los límites máximos de residuos (LMR) establecidos (0,05 mg/kg; 0,1 mg/kg y 0,5 mg/kg, respectivamente), mientras que los residuos de zineb se mantuvieron por encima del LMR establecido (2,0 mg/kg), por más de seis días después de la aplicación.

Palabras claves: cinética de degradación en cebolla, cromatografía gaseosa, términos de carencia

ABSTRACT

It was studied the kinetic of degradation of the pesticides malathion, methamidophos, parathion-methyl and zineb in onion of the variety Red Creole, applied on the cultivation 15 days before the harvest, in an area of 160 m² and at the rate of 1.14 kg a.i./ha (malathion); 0.60 kg a.i./ha (methamidophos); 1.0 kg a.i./ha (parathion-methyl) and 2.25 kg a.i./ha (zineb), on Red Ferralitic soil. To carry out the analytical stage they were taken five samples during a period of 14 days. Malathion, methamidophos and parathion-methyl were analyzed by Gas Chromatography; while the analysis of zineb were effected by UV spectrophotometry. Malathion, methamidophos and parathion-methyl residues after the application were below the Maximum Residue Limits, (0.05 mg/kg; 0.1 mg/kg and 0.5 mg/kg respectively); while the zineb residues were maintained by above of the MRL (2.0 mg/kg), until 6 days after the application.

Key words: kinetic of degradation in onion; gas chromatography; pre-harvest intervals.

INTRODUCCIÓN

La cebolla [*Allium cepa* L.] es un cultivo de gran importancia, ya que brinda un condimento rico en vitaminas y aceites esenciales, lo que le confiere muy buenas cualidades nutritivas y gustativas [MINAGRI, 1983].

Para lograr buenos rendimientos en este cultivo es preciso controlar adecuadamente la incidencia de plagas y enfermedades, fundamentalmente antes de la formación de los bulbos.

Entre las plagas más importantes que afectan el cultivo se encuentran los trips, larvas de lepidópteros, chinches y minador, entre otras, que se combaten satisfactoriamente mediante el uso de insecticidas, tales como malation, metamidofos y paration-metilo. En relación con las enfermedades que inciden sobre el cultivo, una de las fundamentales es la mancha púrpu-

ra, cuyo agente causal, *Alternaria porri* (Ell.), se suele combatir con el fungicida zineb [MINAGRI, 1983], [Registro Central de Plaguicidas, 1995-96].

Una vez realizado el control químico de plagas y enfermedades, resulta necesario conocer la residualidad de los compuestos utilizados al efecto sobre la parte comestible del cultivo para saber si, al efectuar la cosecha, los residuos no sobrepasan los límites máximos de residuos (LMR) [Comisión del Codex Alimentarius, 1987], [GIFAP, 1988].

Para predecir la presencia de determinados niveles de residuos de plaguicidas en alimentos de origen agrícola, se suelen establecer los términos de carencias (experimentales) o períodos precosecha. Es este precisamente el objetivo del trabajo que aquí se informa, en relación con algunos de los plaguicidas utilizados en cebolla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se llevaron a cabo en dos campañas consecutivas, y tuvieron lugar en la Empresa de Cultivos Varios 19 de Abril, sobre cebolla de la variedad Red Creole.

En todos los casos se utilizaron parcelas de 40 m² replicadas cuatro veces, además de un testigo sin tratamientos, empleado con la finalidad de verificar la eficiencia de los métodos analíticos de residuos, así como para conocer la posible residualidad de plaguicidas antes de las aplicaciones fitosanitarias.

El cultivo recibió las atenciones culturales y fitosanitarias establecidas al efecto [MINAGRI, 1983] durante el ciclo vegetativo.

Las aplicaciones de plaguicidas destinadas a estudiar su residualidad en la parte comestible del cultivo se efectuaron 15 días antes de la cosecha, con una mochila Birchmeier modelo Senior y boquilla de 1,6 mm.

En la *Tabla 1* se presentan los plaguicidas utilizados al efecto, así como las dosis de aplicación. En general se emplearon 200 L/ha de solución final.

Tabla 1. Plaguicidas y dosis utilizadas en los tratamientos fitosanitarios

Plaguicidas	Dosis (kg i.a./ha)
Malation	1,14
Metamidofos	0,60
Paration-metilo	1,00
Zineb	2,25

Para estudiar la cinética de desaparición de los plaguicidas ensayados se realizó un primer muestreo dos horas después de la aplicación en cada caso (tiempo cero). Los restantes muestreos se llevaron a cabo a los 4, 7, 11 y 14 días después de la aplicación fitosanitaria.

Para conocer el valor de blanco o testigo se realizó un muestreo sobre la parcela preparada con ese fin.

Todos estos muestreos se efectuaron siguiendo la metodología establecida a tal efecto [NRAG, 1981], [Codex Alimentarius, 1996], y las muestras tomadas se prepararon despojándolas de la parte foliar, las raíces y las superficies apergaminadas [Codex Alimentarius, 1992], para conservarlas en congelación hasta el momento de realizar los análisis de residuos, los que se llevaron a cabo por los métodos cuyos principios se describen a continuación.

Malation y paration-metilo: Los ingredientes activos se extraen mediante maceración con acetona, seguido de partición líquido-líquido con cloroformo para después de la evaporación de este último, realizar la de-

terminación simultánea en un cromatógrafo de gases con detector termiónico y un límite de determinación para ambos plaguicidas de 0,01 mg/kg [NRAG, 1981].

Metamidofos: El método se basa en la extracción del ingrediente activo de la muestra mediante maceración con acetato de etilo en presencia de sulfato de sodio anhidro, seguido de evaporación del solvente. Se disuelve el extracto en acetona y se realiza la determinación por cromatografía gaseosa con detector termiónico. El límite de determinación es 0,05 mg/kg [NC, 1991].

Zineb: El ingrediente activo es hidrolizado en medio ácido. El bisulfuro de carbono liberado se disuelve en hidróxido de potasio metanólico, donde se convierte en el xantato correspondiente. Este se determina directamente en un espectrofotómetro a 302 nm contra solución de hidróxido de potasio en metanol. El límite de determinación es de 0,5 mg/kg [NC, 1987].

Una vez realizados los análisis de residuos, los resultados correspondientes se correlacionaron con los tiempos transcurridos desde el día de la aplicación, para obtener el tiempo en que los residuos no sobrepasan el LMR en cada caso. Finalmente se calculó el término de carencia buscado, aplicando un margen de seguridad al tiempo determinado anteriormente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los análisis practicados sobre los frutos correspondientes a las parcelas testigo no se encontraron residuos de los plaguicidas utilizados en el estudio.

En la *Tabla 2* se presentan los resultados analíticos de los experimentos, así como los LMR relativos a cada uno de los plaguicidas estudiados en cebolla. Estos resultados corresponden a los valores promedio de los dos experimentos efectuados.

Por la *Tabla 2* se puede apreciar, a primera vista, que en ningún momento los residuos de malathion son superiores al límites de determinación del método analítico (0,01 mg/kg), lo que por supuesto es considerablemente menor que el LMR correspondiente. Ello está dado fundamentalmente por el carácter no sistémico de dicho insecticida [The Pesticide Manual, 1994].

Metamidofos presentó en todo momento residuos inferiores al LMR establecido, a pesar de que es un producto sistémico y que, en comparación con otros insecticidas fosfóricos, es bastante estable ante procesos de hidrólisis y al calor [Moihoff, 1971]. Este comportamiento debe estar condicionado por el hecho de que se aplica a una dosis muy baja.

Los residuos de parathion-metilo son inferiores al LMR en cebolla desde el mismo día de su aplicación, lo que hace que sus aplicaciones no impliquen riesgo toxicológico; pero además se observa en la *Tabla 2* una rápida disminución de dichos residuos con el

transcurso de pocos días, pues a los cuatro la concentración inicial se reduce a la mitad, y 14 días después se encuentra por debajo del límite de determinación del método analítico. Esto se comprende si se tienen en cuenta que metilparathion es altamente sensible a la hidrólisis, mediante la cual se transforma en sustancias que no son biológicamente activas [Molhoff, 1968].

El fungicida zineb, como plantea la *Tabla 2*, deja inicialmente una concentración de residuos apreciable, de acuerdo con una dosis mayor que los demás plaguicidas; además, a los 6,5 días, dicha concentración se reduce a la mitad, alcanzando el nivel correspondiente al LMR establecido. Se conoce que este fungicida es susceptible de degradarse rápidamente, pues es bastante sensible a la humedad y la luz [*The Pesticide Manual*, 1994].

Tabla 2. Residuos de plaguicidas en cebolla y LMR correspondientes

Plaguicidas	Residuos (mg/kg) (días)					LMR (mg/kg)
	0	4	7	11	14	
Malation	ND	ND	ND	ND	ND	0,05
Metamidofos	0,05	ND	ND	ND	ND	0,1
Paration-metilo	0,45	0,22	0,048	0,024	ND	0,5
Zineb	3,9	3,0	1,6	1,0	ND	2,0

Nota: No se detectan residuos por encima del límite de determinación del método analítico correspondiente.
ND: No detectable.

En este caso, y dadas las características del cultivo, en el que una parte del fruto queda bajo la superficie del suelo, es muy probable que ocurra una estabilización de residuos al no estar expuesto el plaguicida a las radiaciones solares.

Se debe señalar que no hubo precipitaciones el día de la aplicación fitosanitaria en ninguno de los experimentos realizados, y además, durante los 14 días correspondientes a la etapa de muestreos, las precipitaciones resultaron mínimas. Esto, por supuesto, favorece la calidad del estudio, pues lo importante en estos casos es que se desarrolle en condiciones de producción en las que haya un margen de seguridad según las orientaciones de instituciones internacionales de amplia experiencia en la especialidad [FAO, 1981], [FAO, 1990].

CONCLUSIONES

- Cuando se aplica malation a razón de 1,14 kg i.a./ha, en ningún momento posterior al tratamiento aparecieron residuos del insecticida por encima del límite de determinación del método analítico (0,01 mg/kg).
- Aplicaciones de metamidofos a 0,6 kg i.a./ha no dejan residuos por encima del LMR (0,1 mg/kg) en ningún momento, y al transcurrir cuatro días fueron inferiores al límite de determinación del método analítico (0,05 mg/kg).

- Si se realizan aplicaciones de paration-metilo, los residuos son inferiores al LMR (0,5 mg/kg), incluso desde el mismo día de la aplicación, y llegarán a ser inferiores al límite de determinación del método analítico (0,01 mg/kg) 14 días después.
- Siempre que se aplique zineb a 2,25 kg i.a./ha habrá que esperar 6,5 días para que los residuos del fungicida se reduzcan al nivel del LMR (2,0 mg/kg). Dichos residuos serán inferiores al límite de determinación del método de análisis (0,5 mg/kg) 14 días después de la aplicación.

REFERENCIAS

- MINAGRI: *Instructivo técnico del cultivo de la cebolla*, Dirección Nacional de Cultivos Varíos, La Habana, 1983.
- Registro Central de Plaguicidas: *Lista oficial de plaguicidas autorizados*, 1995-96.
- Comisión del Codex Alimentarius: *Límites máximos del Codex para residuos de plaguicidas*, 2a. ed. CAC/vol. XIII, Roma, 1987.
- GIFAP: *A Gifap Manual for the Agrochemical Industry, Working with the JMPR and CCPR*, London, 1988.
- MINAGRI: *NRAG 165. Determinación de residuos de plaguicidas. Técnica de muestreo. Productos agrícolas en el campo*, Cuba, 1981.
- Comisión del Codex Alimentarius: *CX/PR 96/7. Revisión de los métodos recomendados de muestreo para la determinación de residuos de plaguicidas*, 1996.
- Codex Alimentarius Commission: *Codex Alimentarius*, vol. II, Section 4.1 «Portion of Commodities to Which Codex MRLs Apply and Which is Analyzed», Rome, 1992.

NRAG 463: *Plaguicidas organofosforados. Determinación de residuos*, Cuba, 1981.

NC29:16: *Plaguicidas. Metamidofos. Determinación de residuos en material vegetal*, Ciudad de La Habana, 1991.

NC29:13: *Plaguicidas. Ditiocarbamatos. Determinación fotométrica de residuos*, 1987.

The Pesticide Manual. A World Compendium. Incorporating the Agrochemical Handbook, 3a. ed., Crop Protection Publications. Clive Tomlin, 1994.

Molhoff, E.: «Método para la determinación gascromatográfica de residuos de tamarón en plantas», *Pflanzenschutz Nachrichten*, Bayer 24 (2), 1971.

—: «Metabolitos de ésteres fosfóricos insecticidas y su determinación analítica en productos alimenticios», *Pflanzenschutz Nachrichten*, Bayer 21, 4, 1968.

FAO: *Boletín fitosanitario*, vol. 29, 1981.

—: *Guidelines on Producing Pesticide Supervised Trials*. Rome, 1990.

SENSIBILIDAD DE ESPECIES DE HONGOS FITOPATÓGENOS A LOS INHIBIDORES DE LA BIOSÍNTESIS DE ERGOSTEROL (IBE)

Berta L. Muiño, A. Hernández y Ángela Porras

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 estudió la sensibilidad de los patógenos *Fusarium subglutinans* (Wr & Rein) P. E. Nelson, T. A. Tousson & Marazas, *Chalara paradoxa* (De Seyn) Sacc, los cuales provocan pudriciones severas en diferentes fases del cultivo de la piña, y de *Mycosphaerella musicola* Leach, causante de la sigatoka amarilla en el banano, a los fungicidas triadimenol, propiconazol, difenoconazol, tebuconazol, hexaconazol, hepoxiconazol y bitertanol. Se obtuvieron cultivos monospóricos de los hongos, y para las pruebas de sensibilidad se empleó el método del crecimiento radial de la colonia sobre medio de papa-dextrosa-agar (PDA), corregido con diferentes soluciones de los ingredientes activos a concentraciones desde 0,001 hasta 5 mg i.a./L para las dos primeras especies, y para *M. musicola* se utilizó el método de crecimiento de la colonia en medio líquido de papa-dextrosa. Los valores de DL_{50} de los triazoles estudiados sobre *F. subglutinans* se encuentran entre 0,02 y 1,91 mg i.a./L, resultando el difenoconazol el más activo. Respecto a *C. paradoxa*, las DL_{50} oscilan entre 0,001 y 0,66 mg i.a./L, siendo el más activo el hexaconazol. En relación con *M. musicola*, para el propiconazol la DL_{50} es de 0,009, y para el bitertanol es de 0,015 mg i.a./L. En general los fungicidas triazoles se consideran altamente activos sobre estas especies de hongos. Los métodos de laboratorio comprobados resultaron efectivos y confiables, los cuales pueden ser utilizados para determinar cambios en la sensibilidad de poblaciones de campo sometidas a tratamientos sistemáticos con estos compuestos, teniendo en cuenta los parámetros de sensibilidad establecidos.

Palabras claves: *Fusarium subglutinans*, *Chalara paradoxa*, *Mycosphaerella musicola*, fungicidas, resistencia a fungicidas

ABSTRACT

Sensitivity of the pathogens *Fusarium subglutinans* (Wr & Rein) P. E. Nelson, T. A. Tousson & Marazas, *Chalara paradoxa* (De Seyn) Sacc which caused severe rotting in different phases on pineapple crop and *Mycosphaerella musicola* Leach, which is the causing agent of yellow Sigatoka in banana was studied for the fungicides triadimenole, propiconazole, difenoconazole, tebuconazole, and bitertanole. Monosporic cultures were obtained for the fungi, while the radial colony growing method was used for sensitivity test. Potato-dextrose-agar (PDA) was the medium employed, which was amended with different solutions of the active ingredients at rates of 0.01 up to 5 mg i.a./l for the first two species while the colony growing method in potato-dextrose liquid medium was utilized for *M. musicola*. LD_{50} values of triazoles studied over *F. subglutinans* were between 0.02 and 0.91 mg i.a./l, being difenoconazole the most active one. Regarding *C. paradoxa* LD_{50} values ranged from 0.001 up to 0.66 mg i.a./l being hexaconazole the most active one. With respect to *M. Musicola* LD_{50} was 0.009 mg i.a./l for propiconazole while for bitertanol it was 0.015 mg i.a./l. In general triazoles are considered highly active over these fungi species. Laboratories methods tested were effective and reliable and could be used to determined sensitivity changes in fungi field populations submitted to systematic treatments with this compounds, taking into account the sensitivity parameters established.

Key words: *Fusarium subglutinans*, *Chalara paradoxa*, *Mycosphaerella musicola*, fungicides, fungicide resistance

INTRODUCCIÓN

En el cultivo de la piña, *Fusarium subglutinans* (Wr & Rein) P. E. Nelson, T. A. Tousson & Marazas y *Chalara paradoxa* (De Seyn) Sacc, provocan pudriciones severas en diferentes partes de las plantas, que limita considerablemente la obtención de altos rendimientos. Por otra parte, *Mycosphaerella musicola* Leach, agente causal de la sigatoka amarilla, es la enfermedad más importante, después de la sigatoka negra, en el cultivo del banano.

Para el control de estas enfermedades se emplean en la actualidad los fungicidas inhibidores de la biosíntesis de ergosterol, entre estos los triazoles, como una alternativa muy factible, fundamentalmente en las áreas donde se aplican sistemáticamente los benzimidazoles u otros compuestos de alto riesgo de resistencia [Lyt, 1995].

Este grupo de fungicidas, junto a varios compuestos de otras clases, fueron sintetizados a finales de la dé-

cada del sesenta con características heterogéneas desde el punto de vista químico, sin embargo, con sitio de acción similar en el metabolismo fúngico [Lyr, 1995], es decir, interfieren en la biosíntesis de ergosterol mediante la inhibición de la desmetilación del lanosterol en la posición 14 o 24-methylene dihydro-lanosterol, los cuales son precursores de los esteroides en los hongos [Buchenauer, 1987].

A pesar de su heterogeneidad química, el espectro de actividad de los inhibidores de la biosíntesis de ergosterol (IBE), tanto *in vitro* como *in vivo* tiene sus semejanzas. Estudios *in vitro* han demostrado que la mayoría de los hongos pertenecientes a las subdivisiones Ascomycetes, Basidiomycetes y Deuteromycetes son más o menos sensibles a los IBE. Progresos sustanciales se han obtenido a nivel mundial en tratamientos a las semillas de cereales, patógenos del suelo, así como contra patógenos foliares tales como mildius, royas, etc. [Kuck *et al.*, 1995].

En Cuba estos fungicidas se emplean ampliamente en el cultivo del banano y plátano [Pérez, 1996], y más recientemente se han extendido a los cítricos, papa, hortalizas y piña, entre otros, con lo cual se ha logrado una adecuada protección fitosanitaria contra las enfermedades.

A pesar de sus ventajas evidentes, es necesario señalar que con el incremento de su uso en la práctica, desde los inicios de la década del ochenta, en estudios de campo para los mildius pulverulentos en cucurbitáceas y cereales, y para el caso de la sigatoka amarilla en banano, mostraron un incremento de las informaciones sobre reducción de la sensibilidad en poblaciones de campo [Muiño *et al.*, 1993; Schepers, 1983; Steva, 1992].

Por tal motivo, los objetivos del presente trabajo fueron dirigidos a comprobar la sensibilidad de tres especies de hongos a los triazoles, para establecer las líneas base de sensibilidad y disponer de métodos confiables y sencillos para la determinación de los cambios en la sensibilidad en poblaciones de campo sometidas a tratamientos consecutivos con estos compuestos en los cultivos de piña y plátano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron aislamientos monospóricos de *F. subglutinans* y *C. paradoxa* a partir de fracciones de tallo de plantas de piña afectadas y de *M. musicola* a partir de fragmentos de hojas con lesiones de sigatoka en IV estadio. Estas muestras fueron colectadas de áreas experimentales, donde no se habían realizado tratamientos anteriores con fungicidas. Se estudió el triadimenol, propiconazol, difenoconazol, tebuconazol, hexaconazol, hepoxyconazol y bitertanol.

La sensibilidad de *F. subglutinans* y *C. paradoxa* se determinó mediante el método del crecimiento radial de la colonia [FAO, 1982; Muiño *et al.*, 1994] sobre me-

dio de cultivo papa dextrosa agar envenenado con soluciones de los ingredientes activos a concentraciones de 0,0001; 0,001; 0,01; 0,025; 0,05; 0,1; 1; 1,25; 1,75; y 5 mg i.a./L, incluyendo un testigo sin tratamientos. Se montaron tres réplicas por cada concentración; la incubación se realizó a 25°C y a los siete días se midió el crecimiento radial de la colonia en centímetros. Se calculó el porcentaje de mortalidad mediante la fórmula de Abbott [Bayer, 1966]. Estos valores de mortalidad fueron transformados a unidad de Probit [Bliss, 1934], y los datos de concentración a logaritmo de la concentración. Se ajustó una ecuación de regresión y se determinó la DL₅₀. Todo este procedimiento se realizó mediante un programa computarizado.

La sensibilidad de *M. musicola* se determinó para los fungicidas propiconazol y bitertanol mediante el desarrollo de colonias en medio líquido de papa dextrosa, corregido con las concentraciones de fungicidas antes mencionados. Se montaron cinco réplicas por cada concentración, incluyendo una variante testigo sin tratamiento. Se preparó una suspensión de inóculo a partir de los aislamientos obtenidos y se ajustó la concentración a 10-15 conidios o fragmentos de micelio por campo visual de 100 x. Después de diluido el fungicida en el medio de cultivo se adicionó 0,5 mL de la suspensión de inóculo a cada erlenmeyer. La incubación se realizó a 25°C con régimen de luz fluorescente de 3 000 lux veinticuatro horas al día.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

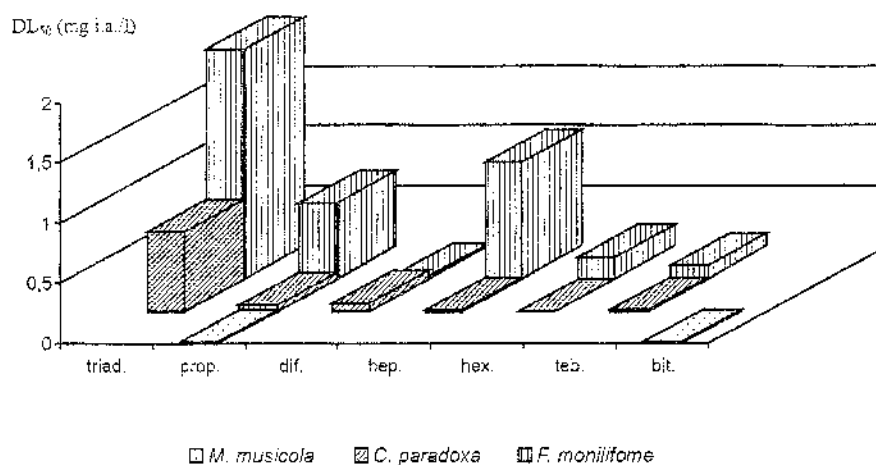
En la *Tabla 1* se muestran los valores de DL₅₀ de cada combinación hongo-fungicida, lo cual confirma la alta actividad biológica de los triazoles sobre las especies de hongos estudiadas, aunque es importante señalar que los valores más altos de DL₅₀ se registraron de manera general para *F. subglutinans*, lo que indica que es menos sensible que las otras dos especies, fundamentalmente para el triadimenol, hepoxyconazol y propiconazol. La sensibilidad más alta se demostró para *M. musicola* respecto al propiconazol y bitertanol, así como para *C. paradoxa* respecto al hexaconazol.

Los resultados muestran una alta correlación entre la concentración del fungicida y la mortalidad del hongo con valores del coeficiente de determinación altamente significativos, desde 0,81 hasta 0,97, lo cual demuestra la alta confiabilidad de los métodos utilizados. Los valores de DL₅₀ obtenidos en el presente estudio representan las líneas básicas de sensibilidad para su monitoreo en poblaciones de campo.

Estableciendo un análisis entre los diferentes fungicidas estudiados (*Fig. 1*), para *F. subglutinans* el más activo resultó el difenoconazol, con un valor de DL₅₀ de 0,02 mg i.a./L, y el valor más alto se observó para el triadimenol, con 0,91 mg i.a./L; respecto a *C. paradoxa* el valor más bajo de DL₅₀ correspondió al hexaconazol, con 0,001 mg i. a./L, y el más alto al triadimenol, con 0,66 mg i.a./L. Para *M. musicola* el valor de DL₅₀ del propiconazol es de 0,009 mg i.a./L, y para el bitertanol de 0,015 mg i.a./L.

Tabla 1. Valores de DL₅₀ de fungicidas IBE sobre *F. subglutinans*, *C. paradoxa* y *M. musicola*

Fungicida	Hongo	Ec. de regresión	R ²	DL ₅₀ (mg i.a./L)
Triadimenol	<i>F. subglutinans</i>	$y = 0,31x + 4,9$	0,88	1,91
	<i>C. paradoxa</i>	$y = 1,45x + 3,26$	0,86	0,66
Propiconazol	<i>F. subglutinans</i>	$y = 0,60x + 5,12$	0,95	0,63
	<i>C. paradoxa</i>	$y = 0,91x + 6,22$	0,95	0,05
Difenoconazol	<i>M. musicola</i>	$y = 5,57x + 16,33$	0,88	0,009
	<i>F. subglutinans</i>	$y = 0,25x + 5,42$	0,82	0,02
Hepoxiconazol	<i>C. paradoxa</i>	$y = 1,73x + 7,02$	0,81	0,07
	<i>F. subglutinans</i>	$y = 1,87x + 5,01$	0,86	0,96
Tebuconazol	<i>C. paradoxa</i>	$y = 0,94x + 6,89$	0,92	0,01
	<i>F. subglutinans</i>	$y = 1,25x + 5,9$	0,88	0,17
Bitertanol	<i>C. paradoxa</i>	$y = 1,48x + 3,05$	0,90	0,001

Figura 1. Sensibilidad de *F. subglutinans*, *C. paradoxa* y *M. musicola* a los IBE

Resultados similares han sido informados por Shepers (1983), quien determinó una DL₅₀ de 1,5 mg i.a./L para la combinación bitertanol-*Sphaeroteca fuliginea*. Por otra parte, en Costa Rica, Chin *et al.* (1996) establecieron una línea base para *M. musicola* con una DL₅₀ promedio de 0,023 mg i.a./L. Estos valores resultaron ligeramente superiores a los determinados en el presente estudio, por lo que se confirma que los aislamientos salvajes presentes son altamente sensibles a los triazoles de manera general.

A nivel mundial existen evidencias de pérdidas de la sensibilidad de diferentes especies de hongos a estos

fungicidas, aunque a pesar de su uso intensivo en algunos cultivos, los niveles y extensión de la resistencia no han sido drásticos [Lyr, 1995]. En Cuba se demostró una reducción de la sensibilidad de *M. musicola* al propiconazol en la localidad de Ciego de Ávila en el cultivo del banano [Muñoz *et al.*, 1993]. Por otra parte, Koller y Wubben (1989) presentaron una evidencia clara de resistencia cruzada entre los fungicidas inhibidores de la biosíntesis de ergosterol del grupo I. Por tanto, se hace necesario la realización de chequeos sistemáticos de la sensibilidad de las poblaciones de campo bajo tratamientos con los fungicidas IBE en cultivos de importancia económica.

CONCLUSIONES

- Los fungicidas IBE son altamente activos *in vitro* sobre los hongos *F. subglutinans*, *C. paradoxa* y *M. musicola*.
- *F. subglutinans* resultó el menos sensible a los fungicidas IBE.
- El difenoconazol resultó el fungicida más activo sobre *F. subglutinans* con una DL₅₀ de 0,02 mg i.a./L, para *C. paradoxa* el hexaconazol con un valor de DL₅₀ de 0,001 mg i.a./L, y para *M. musicola* el propiconazol y bitertanol con valores de 0,009 y 0,015 mg i.a./L, respectivamente.
- Los métodos de laboratorio estudiados para la determinación de la sensibilidad a los IBE resultaron efectivos y confiables.

REFERENCIAS

- Bayer AG: *Las bases para ensayos fitosanitarios*. Bayer AG (Alemania) 16 (3), 1986.
- Bliss, C. I.: «The Calculation of Dosage Mortality Curva», *Ann of spp. Biol.* 135-167, 1934.
- Buchenaue, H.: «Mechanism of Action of Triazole Fungicides and Related Compound», *Modern Selective Fungicides*, Group UK Ltd. London, 1987.
- Chin, K.; T. Arroyo; B. Forster; C. Steden: «Sensitivity of *Mycosphaerella fijiensis* to Demethylation-Inhibitors in Central America: Testing Methodology and Cross Resistance». Proceedings of XII Reunion ACORBAT, oct. 28- nov. 1, Rep. Dominicana, 1996.
- FAO: «Detección y medición de la resistencia a los fungicidas. Principios generales. Método FAO # 24-30», *Plant Prot. Bull.* 30 (2):47-71, 1982.
- Koller, W.; J. P. Wubben: «Variable Resistance Factors of Fungicides Acting As Sterol Demethylation Inhibitors», *Pesticide Science* 26:133-145, 1989.
- Kuck H.; Kalt Scheinpflug; R. Pontzen: «DMI fungicides», *Modern Selective Fungicides*, 2nd Edition, 1995, pp. 205-258.
- Lyr H.: *Modern Selective Fungicides*, 2nd Edition, 1995.
- Muñoz Berta L.; L. Pérez; M. Iglesias: «Reduced Sensitivity to Propiconazol in *Mycosphaerella musicola*», Proceedings VII International Congress of Plant Pathology, Montreal, Jul. 28- Ago. 5, 1993.
- Muñoz, Berta L.; F. Rodríguez; E. Parra: *NRAG 1117. Plaguicidas. Alternaria spp. Determinación de resistencia al iprodione*, 1994.
- Pérez, L.: *Manual para el manejo integrado de sigatoka negra (Mycosphaerella fijiensis Morelet) y sigatoka amarilla (Mycosphaerella musicola Leach ex Mulder) en banano y plátano*, FAO, MINAGRI-INISAV, 1996.
- Schepers H. T.: «Decreased Sensitivity of *Sphaerotheca fuliginea* to Fungicides Which Inhibit Ergosterol Biosynthesis», *Neth. J. PL. Path.* 89:185-187, 1983.
- Steva, Hervé et al.: «Resistance de l'oidium de la vigne aux fungicides IBS. Situation en France en 1991», *Phytoma. La defense des vegetaux* 435: 52-54, 1992.

INTERACCIÓN DE LOS HONGOS ECTOMICORRIZÓGENOS Y FUNGICIDAS SOBRE LA ENFERMEDAD MANCHA PARDA EN POSTURAS DE *PINUS MAESTRENSIS* BISSE

Anairad Ferrer, Rosa Alonso, V. Arévalos, M. Betancourt, Emelina Rengifo y J. Montalvo

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

RESUMEN

La acción de los fungicidas sobre la simbiosis ectomicorrizógena en posturas de *Pinus maestrensis* Bisse para el control del agente patógeno *Lecanosticta acicola* (Thum) Syd. fue nuestro objeto de estudio. Se aplicaron dos fungicidas: oxiclóruo de cobre y benomyl, y dos fuentes de inóculo ectomicorrizógenas: suelo de pinar y esporas de *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch adicionados al suelo de pinar. Se evaluaron la biomasa foliar-radical, la infección ectomicorrizógena y el grado de incidencia del agente patógeno. El oxiclóruo de cobre, conjuntamente con la adición de esporas de *P. tinctorius* en suelo de pinar, fue el tratamiento más efectivo para el desarrollo de la simbiosis ectomicorrizógena y el control de la enfermedad mancha parda, provocado por *L. acicola* en las posturas de *P. maestrensis*.

Palabras claves: *Pinus maestrensis*, *Lecanosticta acicola*, simbiosis ectomicorrizógena, fungicidas, enfermedades fungosas, control

ABSTRACT

It is studied of fungicides on ectomycorrhizal symbiosis in *Pinus maestrensis* Bisse seedlings for controlling the pathogenic agent *Lecanosticta acicola*. Three fungicides were applied: fundazol and copper oxychloride and two mycorrhizal inoculation methods: pinar soil and *Pisolithus tinctorius* spores in pinegrove soil. Foliar-radical biomass, mycorrhizal infection and incidence of pathogenic agent were evaluated. Copper oxychloride mixed with spores of *Pisolithus tinctorius* on pinegrove soil was the most effective treatment for mycorrhizal development and for controlling "brown stained" disease caused by *Lecanosticta acicola* in the seedlings of *Pinus maestrensis*.

Key words: *Pinus maestrensis*, *Lecanosticta acicola*, ectomycorrhizogen symbiosis, fungicides, fungal diseases, control

INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrizógenos se encuentran naturalmente en el suelo interactuando simbióticamente con el sistema radical del 85% de las especies del reino vegetal, y son considerados biofertilizantes que actúan como biocontroladores de enfermedades y plagas en las plantas.

Existe una tendencia a nivel mundial de sustituir total o parcialmente la aplicación de productos químicos como los fungicidas por productos biológicos para combatir las enfermedades de los cultivos y, de esta forma, contribuir a la conservación y manejo sostenible de la biodiversidad.

En Cuba, hasta el momento, no conocemos investigaciones referentes al uso de los hongos ectomicorrizógenos como producto biológico capaz de actuar como agente biocontrolador, a pesar de que existen extensas zonas de plantaciones forestales, a menudo monoespecíficas y de similar edad que, conjuntamente con las ca-

racterísticas climáticas propias de un país tropical, favorecen el rápido desarrollo de agentes patógenos que reducen la obtención de productos derivados del bosque [Hochmut y col. 1968].

En las dos últimas décadas se ha demostrado la influencia positiva de especies ectomicorrizógenas en el control de enfermedades provocadas por agentes patógenos que ocasionan daños considerables en posturas y plantaciones [Kais, 1985; Unestam *et al.*, 1987; Chakravarty *et al.*, 1991; Unestam y Dam, 1994 y Hwang *et al.*, 1995], como es el caso del agente patógeno *Lecanosticta acicola* (Thum) Syd, que provoca la enfermedad mancha parda, la cual fue reportada por primera vez sobre *Pinus caribaea* [González, 1967] y posteriormente en *Pinus cubensis* Griseb y *Pinus maestrensis* Bisse por Lentovyc (1972), Delgado (1982) y Alonso (1991).

Por todo lo antes expuesto es que consideramos necesario abordar esta temática con el objetivo de explotar

los hongos ectomicorrizógenos como agentes biocontroladores que nos permitan eliminar o disminuir la aplicación de productos químicos (fungicidas) para contrarrestar la enfermedad mancha parda en posturas de *Pinus maestrensis* Bisse.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se desarrolló en el vivero de la Estación Experimental Forestal de Guisa, provincia de Granma, durante 1992 hasta 1994. Las actividades realizadas se describen a continuación en orden cronológico:

1) En bolsa de polietileno negro de 12 x 20 cm que contiene una mezcla de suelo, cachaza y suelo de pinar en proporción 8:1:1, se sembró *Pinus maestrensis* Bisse en febrero de 1993.

2) A los diez meses de edad de las posturas se inoculó el sustrato mencionado anteriormente con esporas de *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Couch & Coker. Las esporas se disolvieron en agua con cinco gotas de tween 20, cuya concentración fue de 209 g/7,5 L de agua y se adicionó 50 mL/bolsa. Los cuerpos fructíferos de *P. tinctorius* se colectaron en plantaciones de *Pinus cubensis* de tres años de edad, en Pinares de Mayarí, provincia de Holguín.

3) Se colocaron uniformemente alrededor de las posturas sanas ramas infestadas con un 50% (grado 2) aproximadamente de incidencia de la enfermedad mancha parda provocada por el agente patógeno *L. acicola*, con el objetivo de infestar las posturas, y una vez alcanzado el grado 2 poder asperjar los fungicidas referidos en la *Tabla 1*.

Tabla 1. Funciones asperjadas

Nombre químico	Nombre comercial	Dosis (kg/ha)
Benomyl 50%	Fundazol p.h. 50%	0,2
Oxicloruro de cobre 50%	Cupravit p.h. 50%	0,5

Los fungicidas fueron aplicados con asperjadora manual GN-16 con boquilla de cono de 3 mm con una solución final de 500 L/ha de caldo.

4) Se desmontó el experimento a los 17 meses de haberse realizado la siembra de la especie forestal y se

evaluaron los índices: peso seco foliar-radical (g), infección ectomicorrizógena (%), según el método de Marx y Ruehle (1991), así como la cuantificación del grado de incidencia del agente patógeno *Lecanosticta acicola* en el follaje de las posturas, según lo referido por Alonso (1991) (*Tablas 2 y 3*).

Tabla 2. Gradiente de micorrización basado en el porcentaje de infección en el sistema radical de posturas

Grado	Porcentaje	Sintomatología
0	0	Posturas no micorrizadas
1	1-24	Posturas pobremente micorrizadas
2	25-50	Posturas moderadamente micorrizadas
3	51-75	Posturas bien micorrizadas
4	76-100	Posturas excelentemente micorrizadas

Tabla 3. Gradiente de infección por *Lecanosticta acicola* en el follaje de las posturas

Grado	Porcentaje	Sintomatología
0	0	Posturas no infestadas
1	1-25	Enfermedad localizada en las acículas con pequeños puntos rojos
2	26-50	Enfermedad localizada en la mitad del follaje de la postura
3	51-75	Enfermedad localizada en casi todo el follaje de la postura
4	76-100	Enfermedad localizada en todo el follaje de la postura. Comienza la necrosis y muerte de la postura

Las variantes experimentales estudiadas fueron:

Fuentes de inóculo ectomicorizógenas:

- *Inóculo 1*: Suelo de pinar.
- *Inóculo 2*: Esporas de *Pisolithus tinctorius* adicionadas a suelo de pinar.

Fungicidas:

- Oxícloruro de cobre.
- Benomyl.

El experimento se distribuyó según un factorial sobre un diseño completamente aleatorizado con 100 réplicas/tratamiento, realizándose el análisis de varianza para los indicadores evaluados. El contraste de las medias fue realizado a través de la prueba de rangos de Newman-Keuls con un nivel de significación al 1 y 5%.

cas/tratamiento, realizándose el análisis de varianza para los indicadores evaluados. El contraste de las medias fue realizado a través de la prueba de rangos de Newman-Keuls con un nivel de significación al 1 y 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza para las interacciones fungicida x micorriza en el indicador biomasa foliar reflejaron diferencias significativas (Tabla 4), donde los valores promedios más altos se correspondieron con el inóculo 1, benomyl + inóculo 1 y el oxícloruro de cobre + inóculo 2.

Tabla 4. Promedios de las interacciones fungicida x micorriza para la biomasa foliar de las posturas

Tratamiento	Valores promedios (g)	Grupos
Inóculo 1 (SP)	5,66	A
Benomyl + (SP)	4,63	A B
Oxícloruro de cobre + (E + SP)	4,27	A B C
Inóculo 2 (E + SP)	3,72	B C
Oxícloruro de cobre + (SP)	3,68	B C
Benomyl + (E + SP)	3,20	B C

Dentro del grupo homogéneo, letras iguales no presentan diferencias significativas al 5%. (SP): Suelo de pinar.

Halgren y Derris (1995) demostraron que el benomyl en bajas concentraciones (0,5) incrementa la supervivencia y la biomasa foliar de *Pinus echinata* Mill.

En cuanto a la biomasa seca radical no hubo diferencias significativas para las variantes experimentales.

De igual forma, estadísticamente para la infección ectomicorizógena no se detectaron diferencias significativas, aunque por la importancia que representa la presencia de los hongos ectomicorizógenos en el sistema radical de las plantas para su crecimiento, como para el control de enfermedades y plagas, es que consideramos mostrar en la Tabla 5 los valores promedios de las interacciones.

Tabla 5. Promedios de las interacciones fungicida x micorriza para la infección ectomicorrizógena

Tratamiento	Valores promedios (%)
Oxicloruro de cobre + (E - SP)	82,5
Benomyl + (SP)	80,0
Inóculo 1 (SP)	60,0
Benomyl + (E + SP)	60,0
Oxicloruro de cobre + (SP)	57,5
Inóculo 2 (E + SP)	55,0

(SP): Suelo de pinar.

(E+SP): Esporas de *Pisolithus tinctorius* adicionadas al suelo de pinar.

Las fuentes de inóculo ectomicorrizógenos ensayadas fueron efectivas, por cuanto las posturas obtuvieron como promedio un 55% para el inóculo 1 y un 60% para el inóculo 2. Marx y Ruehle (1991) plantean que si el sistema radical de una planta está micorrizado en más del 50% del total, puede considerarse que la planta sobrevivirá perfectamente cuando sea transplantada del vivero al campo, por lo que, en nuestro caso, además de estas fuentes de inóculos, las interacciones mostraron una micorrización superior al 50%; y específicamente el oxicloruro de cobre con el inóculo 2, así como el benomyl con el inóculo 1, sus infecciones fueron mayores que las fuentes de inóculo 1 y 2.

En relación con la infección provocada por el agente patógeno *L. acicola* en el follaje de las posturas de *Pinus maestrensis*, observamos diferencias altamente significativas en sus interacciones (Tabla 6), donde las posturas que crecen inoculadas con especies ectomicorrizógenas presentes en el suelo de pinar (inóculo 1), no son capaces de actuar como agentes biocontroladores, por lo que se hace necesario la aplicación de productos químicos como los fungicidas o, en su defecto, adicionar una fuente de inóculo ectomicorrizógena lo suficientemente efectiva para disminuir total o parcialmente la propagación de la enfermedad.

Tabla 6. Promedios de las interacciones fungicida x micorriza para la infección del agente patógeno *Lecanosticta acicola*

Tratamiento	Valores promedios (%)	Grupos
Inóculo 1 (SP)	55,0	A
Benomyl + (SP)	47,5	A B
Benomyl + (E + SP)	20,0	C
Inóculo 2 (E + SP)	20,0	C
Oxicloruro de cobre + (SP)	20,0	C
Oxicloruro de cobre + (E + SP)	15,0	C

Dentro del grupo homogéneo, letras iguales no presentan diferencias significativas al 5%.

(SP): Suelo de pinar.

(E+SP): Esporas de *Pisolithus tinctorius* adicionadas al suelo.

En este experimento las aplicaciones de dosis subletales del oxicloruro de cobre con ambas fuentes de inóculo ectomicorrizógenos, el benomyl con la adición de esporas de *P. tinctorius* al suelo de pinar, y esta fuente de inóculo sin la aplicación de fungicida, posibilitaron disminuir el grado de infección por el agente patógeno de un 26 a un 50%, a un 20 y un 15%.

Tradicionalmente en los viveros de coníferas de nuestro país se aplica 1,5 kg/ha de oxicloruro de cobre si las posturas se encuentran infestadas entre un 26 y 50% por el agente patógeno, pero como resultado de esta investigación hemos obtenido que puede asperjarse dosis subletales para esta finalidad, siempre que se combine con fuentes de inóculos ectomicorrizógenas que haya

sido probada su eficacia en este sentido. lo que de esta forma trae como ventajas un ahorro económico en dólares y moneda nacional por concepto de producto químico, así como una reducción de la fitotoxicidad a la planta, fauna y microorganismos existentes en el suelo y, por supuesto, al ser humano.

Por último, con respecto a la efectividad de los fungicidas en el control de la enfermedad mancha parda se recomienda, al igual que Bayer (1990), Faz y Fernández Cossío (1983), la aplicación de un producto químico de contacto seguido de un sistémico, como puede ser el oxiclóruo de cobre y el benomyl, ya que el primero actúa como protector con menos duración en su acción que el benomyl, el cual prolonga su efectividad por períodos más largos, puesto que uno depende del crecimiento de la planta y el otro del metabolismo de la especie vegetal.

CONCLUSIONES

- La selección de las fuentes de inóculo ectomicorrizógenas—suelo de pinar y esporas de *Pisolithus tinctorius*, adicionadas al suelo de pinar—propiciaron obtener posturas adecuadamente micorrizadas.
- Las dosis subletales de los fungicidas oxiclóruo de cobre y benomyl no inhibieron la simbiosis ectomicorrizógena en el sistema radical de las posturas de *Pinus maestrensis*.
- Los mejores tratamientos para el control de la enfermedad mancha parda provocada por el agente patógeno *Lecanosticta acicola* fueron esporas de *Pisolithus tinctorius* adicionadas al suelo de pinar, oxiclóruo de cobre y benomyl asociado a la fuente de inóculo anterior, y oxiclóruo de cobre combinada con suelo de pinar.

La introducción y la efectividad de dosis subletales de productos químicos como los fungicidas, conjuntamente con productos biológicos como los hongos ectomicorrizógenos para contrarrestar la enfermedad

mancha parda, indiscutiblemente contribuyen a la conservación de la biodiversidad.

REFERENCIAS

- Alonso, R.: *Dinámica de Lecanosticta acicola en condiciones naturales*, Instituto de Investigaciones Forestales, Cuba 1991.
- Bayer, J.: *Fitosanidad vegetal, los nichos del mundo*, División de Productos Fitosanitarios, Alemania, 1990, 36 p.
- Chakravarty, P., R. H. Peterson; B. E. Ellis: «Interaction Between the Ectomycorrhizal Fungus *Pacillus involutus*, Damping off Fungi and *Pinus resinosa* Seedlings», *Phytopathol.* 32: 207-218, 1991.
- Dalgado, A. I.: «Efectos de tres fungicidas, diferentes dosis y comportamiento de tres especies de pinos frente al patógeno *Lecanosticta acicola* (Thum) Syd. en condiciones de vivero», 1982 (inédito).
- Faz, A.; C. Fernández: *Principios de protección de plantas*, Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1983.
- Hochmuct, R.; E. Valdés; B. Mellado; M. Hernández; A. Labrada: *Guía para la determinación de plagas y enfermedades forestales*, Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1988.
- Hwang, S. F.; P. Chakravarty; K. F. Chang: «Effect de deux champignons ectomycorhiziens, le *Pacillus involutus* et le *Suillus tomentosus* et du *Bacillus subtilis* sur la fonte des semis du pin gris», *Phytoprotection* 76: 57-66, 1995.
- Kais, A. G.: «Recent Advances in Control of Brown Spot in Longleaf Pine», *34 th Annual Forestry Symposium*, edited by R.A. Gayerrand J.P. Jones in Louisiana State University Agricultural Center: 83-90, 1985.
- Leontovyc, R.: *Informe final de fitopatología*, Centro de Investigación Forestal, La Habana, 1972.
- Marx, D. H.; J. H. Ræhle: «Methods for Standing Nursery and Field Response of Trees to Specific Ectomycorrhiza», Chapter 17, *Methods in Microbiology*, vol. 23, J. R. Morris, D. J. Need and A. K. Vermag (eds.) Academic Press, London, 1991.
- Perrin, R.: «Mycorrhizes Desw Arbres Plantes Cultivees», Chapter III, *Technique et Documentation*, Lavoisier, 1991.
- Registro de plaguicidas*, República de Cuba, 1991.
- Unestam, T.; P. Chakravarty; E. Damm: «Mycorrhizal Protection of Pine Roots Against Pathogens», *Proceeding of Workshop, 7th ACOM*: 267-268, 1987.
- Unestam, T.; E. Damm: «Biological Control of Seedlings Diseases by Ectomycorrhizae. Diseases and Insects in Forest Nurseries», Dijon (France), october 3-10, les Colloques no. 68, 1994.

ESTABILIDAD FÍSICO-QUÍMICA DEL INSECTICIDA DIMETOATO DURANTE SU ALMACENAMIENTO

A. Bécquer

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 un estudio con el fin de conocer el tiempo en que el formulado de dimetoato puede estar almacenado bajo las condiciones climáticas de nuestro país (elevada temperatura y humedad relativa) sin modificar significativamente sus propiedades físicas y químicas, y de esta manera mantener su eficacia biológica. El desconocimiento del tiempo que realmente el formulado puede estar almacenado provoca pérdidas económicas, puesto que en muchos casos se desea utilizar un determinado plaguicida que ha sufrido un almacenamiento prolongado y presenta un efecto biológico deficiente. Este estudio adquiere una gran importancia en el momento actual por la necesidad que tiene nuestro país de importar plaguicidas de numerosas firmas comerciales, donde sus formulaciones no presentan características equivalentes y recomiendan un tiempo de almacenamiento que no se ajusta a la calidad del producto. Se demostró que el formulado de dimetoato en forma de concentrado emulsionable puede estar almacenado en nuestro país como máximo un año, y conservar sus propiedades físico-químicas aceptables y mantener una buena efectividad biológica.

Palabras claves: dimetoato, insecticidas, estabilidad en almacenamiento

ABSTRACT

We were carried out a study with the purpose of knowing the time that the formulation of dimethoate can be stored under the climatic conditions of our country (high temperature and relative humidity) without modifying significantly their physical and chemical properties and this way to maintain their biological effectiveness. The ignorance of the time that really the pesticide formulations can be stored causes economic losses, since in many cases if we want to use a certain pesticide with a prolonged storage it shall not present a good biological effect. This study acquires a great importance in the current moment for the necessity that our country has to buy pesticides of numerous commercial signatures where its formulations don't present characteristic equivalent and they recommend a time of storage that it is not correspond to the quality of the product. It was demonstrated that the dimethoate formulation in form of emulsifiable concentrate it can be stored in our country one year like maximum and it conserve their acceptable properties physique-chemical and it maintains a good biological effectiveness.

Key words: dimethoate, insecticides, storage stability

INTRODUCCIÓN

En los últimos años ha resultado vital el uso de plaguicidas en la agricultura cubana con el objetivo de combatir las plagas, enfermedades y malezas, que atacan a un gran número de cultivos y de esta forma obtener mayores rendimientos en las diferentes cosechas [Manuel, 1979].

Los productos fitosanitarios se aplican sólo contadas veces en forma pura o técnicamente pura (como ingrediente activo). Quedan mas bien «formulados», es decir, elaborados de manera que obtienen una forma aplicable.

Tales formulaciones pueden ser polvos o granulados que contienen generalmente de 5 a 10 % de ingrediente activo, o se puede tratar de polvos

mojables, concentrados solubles, suspensiones o emulsiones concentradas, cuyo contenido en ingrediente activo se eleva por lo general al 40-80% [Barberá, 1974].

La aplicación de productos que no reúnen las condiciones adecuadas presentan los siguientes riesgos: a) falta de efectividad biológica; b) provocación de efectos fitotóxicos de distintos grados; c) crear resistencia en los organismos perjudiciales a los tratamientos posteriores [Niessen, 1974].

Las principales deficiencias que presentan los formulados de plaguicidas son de índole química y física. Dentro de las irregularidades químicas se puede presentar que el contenido de ingrediente activo sea más bajo

que lo establecido, o también pueden aparecer alteraciones en la constitución del producto debido a reacciones ocurridas durante el almacenamiento

Una degradación del contenido de ingrediente activo superior al 10 % disminuiría la eficacia biológica, o se tendría que incrementar la dosis de aplicación, lo cual encarecería el tratamiento fitosanitario [Basebery, 1985]. Un producto se ha deteriorado cuando: *a*) ha sufrido cambios químicos y/o físicos que tienen como resultado efectos fitotóxicos en el cultivo al que está destinado, o un peligro inaceptable para la salud humana o el medio ambiente; *b*) ha sufrido una pérdida inaceptable de su eficacia biológica a causa de la degradación de su ingrediente activo u otros cambios químicos o físicos; *c*) sus propiedades físicas se han modificado hasta tal punto que no puede seguir aplicándose con el equipo de aplicación habitual o estipulado [FAO, 1988].

Entre los factores que más influyen en el comportamiento físico-químico de los plaguicidas durante su al-

macenamiento se incluyen la temperatura, la humedad relativa, el tipo de envase y la calidad de la formulación [FAO, 1988; GIFAP, 1982; GIFAP, 1988; GIFAP, 1988; Theodor, 1995].

El dimetoato es un insecticida-acaricida sistémico de acción por contacto e ingestión caracterizado por inhibir la colinesterasa.

En Cuba este plaguicida se usa en aguacate (aspersión al follaje contra ácaros, cóccidos y áfidos), ajo (aspersión al follaje contra minador), arroz (aspersión al follaje contra salta hojas), berenjena (aspersión al follaje contra ácaros, minador y áfidos), boniato (aspersión al follaje contra araña roja, tetuán y minador de la hoja) y cacao (aspersión al follaje contra cocidos) [CNSV, 2000].

El dimetoato es relativamente estable en medio acuoso a pH 2-7, pero se hidroliza en soluciones alcalinas y se descompone con el calor [British Crop Protection Council, 1995].

Las principales propiedades físicas y químicas se exponen a continuación en la *Tabla 1*.

Tabla 1. Principales propiedades físicas y químicas de los formulados de plaguicidas

Fórmula empírica	$C_5H_{12}NO_3PS_2$
Fórmula estructural	$(CH_3O)_2 - \overset{\overset{S}{\vdots}}{\underset{\vdots}{P}} - S - CH_2 - \overset{\overset{O}{\parallel}}{C} - NH - CH_3$
Formulaciones	Aerosoles, polvos, concentrados emulsionables y concentrados ULV
Nombre común	Dimetoato
Nombre químico	O,O-dimethyl S-methylcarbamoylmethyl phosphorodithioate
Peso molecular	229,2
Solubilidad	Muy soluble en cloroformo, cloruro de metilo, benceno, tolueno, alcoholes, éster, cetonas. Ligeramente soluble en xileno, tetrachloruro de carbono y hidrocarburos alifáticos
Toxicidad	Oral aguda LD_{50} 290-325 mg/kg Dermal aguda LD_{50} > 800 mg/kg

En todas las especificaciones de compra se establece una garantía de dos años [FAO, 1999], pero realmente se desconoce en la mayoría de los formulados de plaguicidas si bajo las condiciones climáticas de nuestro país (elevada temperatura y humedad relativa) esto se cumple.

Esta situación provoca en la práctica grandes pérdidas económicas, fundamentalmente en divisas, por desconocimiento del tiempo que realmente el formulado puede estar almacenado, y tratar de utilizar un determinado plaguicida que ha perdido sus propiedades físicas y químicas motivado por un almacenamiento prolongado.

56/fitosanidad

La necesidad de conocer el tiempo que el insecticida dimetoato puede estar almacenado en nuestro país motivó la realización de este estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales empleados fueron los siguientes:

- Formulado de dimetoato 40 EC
- Cloruro de calcio anhidro
- Cloruro de magnesio hexahidratado
- Metanol anhidro
- Reactivo Karl-Fisher

- Acetona
- Columna de vidrio de un metro de longitud y tres milímetros de diámetro interno rellena con DC-200 al 10 % sobre Chromosorb W AW 60/80 mesh.
- Chromosorb
- Patrón analítico de dimetoato
- Malathión como patrón interno
- Cristalería de uso común en el laboratorio
- Cromatógrafo gaseoso equipado con detector FID
- pH-metro
- Equipo Karl-Fisher para determinar la humedad
- Hygrómetro
- Termómetro de 0 a 100 °C
- Pomos de 500 mL con tapa

El formulado de dimetoato se envasó en nueve recipientes apropiados (pomos de 500 mL con tapa) y almacenados en lugares bajo techo y a temperatura ambiente, manteniendo un control diario de la temperatura y la humedad relativa.

Cada tres meses se realizaron los análisis físico-químicos correspondientes para estudiar la estabilidad del dimetoato durante un período de dos años.

Estos consistieron en:

- Determinación del contenido de ingrediente activo (NRAG 345)
- Estabilidad de la emulsión (WHO/M/13 WHO 1967)
- Determinación del pH (NC-29-01 1981)
- Determinación del contenido de agua (CIPAC 1970 vol. I)
- Determinación de la densidad de los líquidos (CIPAC 1970 vol. I)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación exponemos los resultados obtenidos durante los dos años de estudio para conocer la estabilidad física y química del formulado de dimetoato.

En la *Tabla 2* se puede apreciar que el dimetoato se degradada considerablemente en los dos años de almacenamiento, y al cabo de un año (desde sep./97 hasta sep./98) alcanza un 10 % de degradación, lo cual constituye el valor máximo permisible para su utilización agrícola, o de lo contrario se tendría que aumentar la dosis de aplicación con riesgo de crear fitotoxicidad en el cultivo a causa de los subproducto de la descomposición del insecticida [FAO, 1988].

Tabla 2. Comportamiento físico-químico del dimetoato 40 EC durante dos años

Tipo de análisis	Número de análisis físicos y químicos realizados a la muestra durante dos años									Especificaciones de calidad
	Año 1997		Año 1998			Año 1999				
	Sep.	Dic.	Mar.	Jun.	Sep.	Dic.	Mar.	Jun.	Sep.	
Contenido de ingrediente activo (% P/V)	42,12	39,46	37,16	36,95	35,56	31,54	30,56	29,43	29,16	38-42
Estabilidad de la emulsión (mL de crema o sedimento)	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0,6	Máx. 2 mL
pH	4,9	4,9	4,8	4,0	4,5	4,0	3,9	3,9	3,75	4-5
Densidad (g/mL)	1,067	1,060	1,060	1,051	1,049	1,050	1,050	1,049	1,049	1,05-1,06
Humedad (%)	0,01	0,01	0,03	0,03	0,05	0,06	0,08	0,08	0,09	Máx. 1

Se reporta que la estabilidad química del dimetoato se garantiza durante un año a temperaturas menores de 25°C [Farm Chemical, 2000], y de acuerdo con los valores obtenidos según la *Fig. 1* están por encima de la temperatura antes mencionada.

La temperatura fue el factor principal que afectó la estabilidad del dimetoato en este estudio, puesto que el envase se mantuvo hermético y sin sufrir roturas todo el tiempo, lo cual impidió un aumento del contenido de agua a causa de los por cientos elevados de humedad relativa reportados en el área de estudio según se aprecia en la *Fig. 2*.

El resto de los parámetros físicos se mantienen dentro de los valores permisibles que garantizan su utilización.

CONCLUSIONES

- El formulado de dimetoato en forma de concentrado emulsionable puede estar almacenado en nuestro país como máximo un año, y conservar sus propiedades físico-químicas aceptables y mantener una buena efectividad biológica.

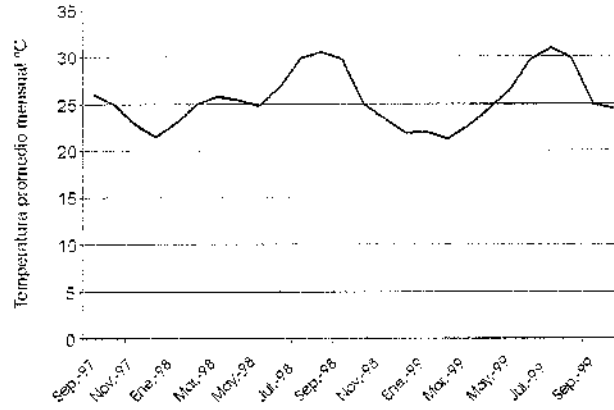


Figura 1. Temperatura registrada durante los dos años.

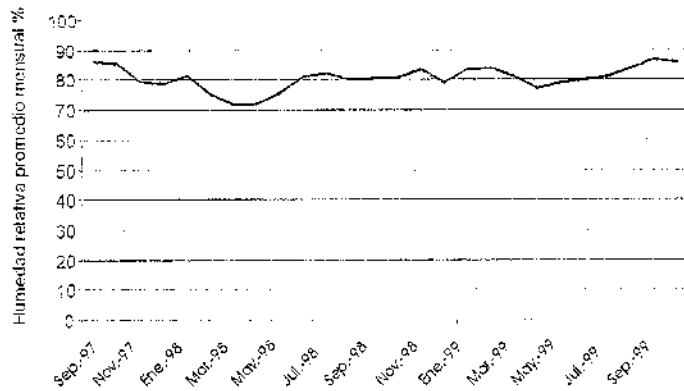


Figura 2. Informes de la humedad relativa durante los dos años de estudio.

REFERENCIAS

- Manuel, C.; Isidro Rodríguez: *Plaguicidas agrícolas*, Ed. Pueblo y Educación, 1979.
- Barberá, C.: *Pesticidas agrícolas*, 2a. ed., Ed. Omega, Barcelona, 1974.
- Basebery, G. D.: *Options for Ensuring Quality in Stored Pesticide Products*, GIFAP, 1985.
- British Crop Protection Council: *Pesticide Manual*, ed. 1995.
- CNSV: *Lista oficial de plaguicidas autorizados*, Registro Central de Plaguicidas, La Habana, 2000.
- FAO: *Guidelines on Good Practice for Ground and Aerial Application of Pesticides*, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, October, 1988.
- : *Manual sobre elaboración y empleo de las especificaciones de la FAO para productos destinados a la protección de las plantas*. Preparado para el Grupo de Expertos en Especificaciones de Plaguicidas de la FAO, 1999.
- : *Farm Chemical Handbook*, 2000.
- GIFAP: *Normas para la manipulación segura de plaguicidas durante su formulación, envasado, almacenamiento y transporte*, 1982.
- : *Normas para el transporte seguro de los plaguicidas*, 1988.
- : *Normas para el almacenamiento seguro de los plaguicidas*, Agrupación Internacional de Asociaciones Nacionales de Fabricantes de Productos Agroquímicos, 1988.
- Niessen, H.: «Formulation of Pesticides. Possibilities and Limitations», *Pflanzenschutz Nachrichten*, Bayer 1974/1.
- Theodor, F.: *Servicio de Ingeniería Agrícola (AGSE). La actuación de la FAO con respecto a la tecnología de aplicación para agroquímicos*, Rome, 1995.

OBTENCIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES ASISTIDOS POR LA ENERGÍA DE LAS MICROONDAS. COMPARACIÓN CON MÉTODOS

C. R. Romeu,¹ T. A. González,³ A. L. Marrero,² A. Martín,¹ V. Millán,² G. Iglesias² y H. Campaña²

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

² Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Avenida 25 y Calle 158, Cubanacán, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

³ Universidad de La Habana, Facultad de Biología, Calle 25 e/ I y J, Vedado, Plaza, Ciudad de La Habana (estudiante)

RESUMEN

Para la obtención de extractos vegetales para su posterior utilización en la agricultura como plaguicida o en la medicina, es imprescindible utilizar métodos de extracción que sean eficientes y selectivos respecto a los metabolitos que muestran actividad biológica, pero que además sean rápidos y económicos. En el presente trabajo se comparan algunos métodos convencionales de extracción (maceración y re-percolación), con un método no convencional asistido por la energía de las microondas. En él se investigó la influencia de los parámetros: tiempo de irradiación, nivel de potencia y grado de humectación del material vegetal respecto a la efectividad de la extracción, para lo cual se realizaron análisis cromatográficos. Se empleó como material vegetal hojas de *Lantana camara* L., y como extrayente se utilizó agua. Se comprobó que el proceso asistido por microondas redujo el tiempo de extracción de horas a segundos respecto a los convencionales. Se optimizó la extracción a través del ajuste de los parámetros estudiados.

Palabras claves: extractos vegetales, análisis cromatográficos, métodos de extracción, microondas

ABSTRACT

To obtain vegetable extracts for its ulterior utilization in agriculture as pesticide or in medicine is indispensable to use efficient and selective extraction methods respect to metabolites that shows biological activity. Also they have to be rapid and economic methods. In the present paper are compared some conventional extraction methods (maceration and re-percolation), with a non-conventional method assisted by microwave energy. Influence of parameters: irradiation time, power level and humectation degree of vegetal material respect to effectivity of extraction was analyzed. Chromatographic analysis were made. Leaves of *Lantana camara* L. were used as vegetable material and as extractor was used water. The extraction was optimized through the adjustment of the studied parameters.

Key words: vegetable extracts, chromatographic analysis, extraction methods, microwave

INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas botánicos representan una vía alternativa para el control de plagas por su efectividad, bajo costo y su propiedad de ser, en general, menos agresivos al medio ambiente.

La obtención de extractos vegetales por métodos convencionales no exhaustivos, como por ejemplo, maceración y percolación, son procesos, en general, lentos; la maceración requiere de 2-14 días para la obtención del extracto, la percolación al menos de dos días.

Cuando se realiza la prospección de especies vegetales para evaluar su actividad plaguicida, es necesario preparar gran número de extractos con diferentes extrayentes para realizar bioensayos en una amplia gama de organismos, por lo que resulta fundamental dismi-

nuir el tiempo de extracción para poder contar con un gran número de muestras que facilite la dinámica del cribado biológico; por esto es indispensable utilizar métodos de extracción eficientes y selectivos respecto a los metabolitos activos, pero que a su vez sean rápidos y económicos.

Las microondas (MO) o hiperfrecuencias son ondas electromagnéticas. Estas ondas se caracterizan por tener frecuencias entre 300 MHz y 30 GHz [Paré, 1991]. El calentamiento por microondas está basado en la propiedad de interacción del campo eléctrico con las sustancias. Bajo la acción del campo eléctrico alternante las moléculas se orientan y forman dipolos, los cuales tienden a seguir la variación del campo eléctrico.

Esto produce una agitación molecular que origina el calentamiento de las sustancias [Paré, 1997]. Se ha verificado que la eficiencia de este proceso tiende a ser proporcional a la constante dieléctrica del material irradiado. De esta forma, el agua y otras sustancias que contienen grupos polares (OH, NH₂, COOH, halógenos y otros) se calientan rápidamente bajo la acción de las MO; sin embargo, compuestos apolares como el n-hexano o el tetracloruro de carbono son transparentes a las microondas, es decir, prácticamente no absorben esta energía [Paré, 1994].

La extracción de productos naturales a partir del material vegetal utilizando las MO como fuente energética se logra a partir de una tecnología muy particular, la cual consiste en que el calentamiento producido por la absorción de la radiación eleva la temperatura en el «interior» del material vegetal, aumentando así la presión interna de la células; en un corto período de tiempo se expanden las paredes celulares y se origina la excreción de los metabolitos [Paré, 1994].

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección del material vegetal

La recolección de *Lantana camara*, L. se realizó en la Estación Experimental Finca Las Delicias, del municipio de Alquizar, provincia de La Habana. Se utilizó la parte aérea de la planta. El material vegetal se secó primeramente al aire en un lugar fresco y ventilado durante 48 horas, y luego en la estufa con temperatura fija de 35 °C durante 24 horas.

Con el material seco se procedió a su trituración en un molino de cuchillas, con tamiz de 5mm.

Métodos de extracción

Convencionales

Maceración: En un recipiente de vidrio de 250 mL de capacidad se adicionaron 10 g de las hojas secadas, trituradas y tamizadas. A continuación se le adicionó 30 mL de agua destilada. Pasado el tiempo de humectación (una hora) se completó el volumen a 100 mL, se tapó y dejó en reposo a temperatura ambiente durante 18 horas, agitándose periódicamente. Posteriormente se filtró, y el filtrado se dejó en reposo a bajas temperaturas (4-12°C) durante cuatro horas. Se filtró nuevamente y se envasó en frasco ámbar con tapa esmerilada.

Percolación: 10 g del material vegetal se humectaron con 30 mL de agua destilada en un vaso de precipitado de 200 mL, el cual se tapó con una placa de vidrio. Pasada una hora se cargó el percolador de vidrio, de 250 mL de capacidad y se completó el volumen a 100 mL. A las 18 horas se abre la llave de la parte inferior del percolador y se recoge el extracto a razón de 1-3 mL/min, se deja en reposo a bajas temperatura (4-12°C) durante cuatro horas. Se filtra y se guarda en frasco ámbar con tapa esmerilada.

No convencional asistida por la energía de las MO

Horno multimodo: Se utilizó un horno doméstico Gold Star con frecuencia de 2 450 MHz y potencia de salida de 850 W. A un vaso de precipitado de 100 mL se le adicionaron 6g de las hojas desecadas, pulverizadas y humectadas con 18 mL de agua destilada durante una hora. A continuación se colocó en el horno de MO y se completó el volumen a 60 mL. Cada experimento se realizó por duplicado, empleándose diferentes potencias (280 y 435 W) y tiempos (uno y tres minutos) de irradiación.

Reactor monomodo: Fue utilizado un reactor marca Maxidigest MX 350. Se adicionaron 6g de hojas desecadas, pulverizadas y humectadas, y 60 mL de agua destilada al tubo de cuarzo del reactor. Los experimentos se realizaron por duplicado a diferentes potencias (30 y 60 W) y tiempos (uno y tres minutos) de irradiación. Se procedió como en los epígrafes anteriores.

La concentración de todos los extractos fue de 10⁻⁷% (p/v). A los extractos se le determinó pH, índice de refracción (n), densidad (dr) y porcentaje de sólidos extraíbles según NRSP (1992). Este último parámetro se tomó como medida del rendimiento del proceso de extracción.

Optimización de la extracción por microondas

Para el horno doméstico multimodo se realizó un diseño de experimentos 2³ considerando como variables el tiempo de irradiación, humectación y potencia. Los niveles de potencia fueron de 280 y 435 W, y los tiempos de irradiación fijados fueron uno y tres minutos.

Para el reactor monomodo el diseño fue 2² utilizando como variables tiempo de irradiación (uno y tres minutos) y potencia, en este caso 30 y 60 W.

Para ver si el efecto de las radiaciones de MO es determinante para la extracción o es el efecto térmico el responsable de la obtención de los productos, se procedió a obtener los extractos acuosos por maceración a 80°C, que fue la temperatura que alcanzó el agua en el proceso de extracción por MO, durante uno y tres minutos.

Cromatografía de placa delgada

Se realizó la cromatografía en capa delgada empleando como fase estacionaria gel de sílice G-60 (láminas cubiertas de 0,25 mm de grosor Merck). Como fases móviles se utilizaron benceno: éter dietílico (8:2, v/v), benceno: metanol: acetato de etilo (119:14:7, v/v) [Sharma, 1980], y para la bidimensionales se usó en la primera corrida cloroformo: metanol (9:1) [Scott, 1984] y benceno: éter dietílico (8:2, v/v), como agente revelador luz UV (366 nm) y vainillina al 1 % en ácido perclórico. Los extractos fueron particionados en acetato de etilo y se aplicaron a la placa 20 µL de cada uno.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como métodos convencionales se utilizaron la maceración y la percolación, por ser los más usados en la práctica diaria para la obtención de extractos.

En la *Tabla 1* se muestra su caracterización química-física. Se corrobora que el proceso de percolación es más eficiente que el de maceración respecto al por ciento de sólidos (rendimiento) para cada caso.

Tabla 1. Caracterización química, física, químico-física de los extractos acuosos al 10% de *Lantana camara*, L. obtenidas por maceración y percolación

Métodos	Densidad	Índice de refracción	pH	Rendimiento*
Maceración	1,02 ± 0,02	1,36 ± 0,01	6,48 ± 0,5	1,54 ± 0,03
Percolación	1,05 ± 0,04	1,38 ± 0,02	6,50 ± 0,4	1,70 ± 0,05

* Rendimiento: Por ciento sólido extraído.

Extracción en el horno multimodo (doméstico)

La caracterización química-física de las extractos al 10% se muestra en la *Tabla 2*. El rendimiento de los

extractos (por ciento de sólido) es superior a los obtenidos mediante los métodos clásicos (*Tabla 1*).

Tabla 2. Características físicas, químicas y físico-químicas de los extractos al 10% de *Lantana camara* L. obtenidos por MO en un horno multimodo

No. de experimento	Humectación	Tiempo	Potencia	Rendimiento *	Densidad	Índice de refracción	pH
1	No	1	280	1,99 ± 0,03	1,10 ± 0,03	1,37 ± 0,01	6,45 ± 0,4
2	Sí	1	280	1,97 ± 0,04	1,09 ± 0,03	1,37 ± 0,01	6,46 ± 0,5
3	No	3	280	2,38 ± 0,06	1,12 ± 0,04	1,38 ± 0,02	6,45 ± 0,5
4	Sí	3	280	2,41 ± 0,05	1,13 ± 0,02	1,37 ± 0,01	6,44 ± 0,4
5	No	1	435	2,13 ± 0,04	1,10 ± 0,03	1,37 ± 0,02	6,46 ± 0,4
6	Sí	1	435	2,23 ± 0,03	1,10 ± 0,04	1,38 ± 0,02	6,44 ± 0,5
7	No	3	435	2,30 ± 0,05	1,12 ± 0,03	1,38 ± 0,01	6,45 ± 0,6
8	Sí	3	435	2,34 ± 0,04	1,12 ± 0,03	1,38 ± 0,02	6,45 ± 0,5

*Rendimiento: Por ciento sólido extraído

Se obtuvo que cuando se humectaba la droga previamente a la extracción se obtenían mejores rendimientos, ya que de esta manera las células vegetales absorben parte del agua que habían perdido, y favorecen la excreción de sus metabolitos bajo la acción de las MO [Le Ngoe, 1996]. Es posible utilizar la planta fresca, pero presenta el inconveniente de que ocupa mucho volumen en el horno, por lo que es aconseja-

ble utilizar el material vegetal pulverizado y seco, realizando antes de la extracción la humectación durante una hora aproximadamente.

Optimización de la extracción en medio acuoso asistido por la energía de las MO en horno multimodo

Del análisis factorial de este plan (2³) se obtuvieron los coeficientes siguientes del polinomio

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{123}x_1x_2x_3$$

B ₀	2,21875	B ₁₃	0,01625
B ₁	0,01875	B ₂₃	-0,06875
B ₂	0,13875	B ₁₂₂	-0,01375
B ₃	0,03125		

Según estos valores, la variable que más influye en el rendimiento es el tiempo de irradiación (X_1): a mayores tiempos, mayores rendimientos. Además, es recomendable humectar la planta y emplear el nivel de potencia superior ensayado (435 W): no fue posible realizar la experiencia a mayor potencia (850 W) debido a que aumentaba excesivamente el volumen, se forma espuma y se derrama la mezcla.

Con el fin de comprobar si la radiación de MO es determinante para el proceso de extracción, se comparó el

rendimiento con el obtenido por el método de calefacción, para lo cual se graduó un baño de María a 80 °C (temperatura que alcanza el extracto en las MO) y se sumergieron los balones que contienen el material vegetal en agua durante uno y tres minutos respectivamente.

Se aprecia en la *Tabla 3* que los rendimientos con el método de calefacción son inferiores respecto al de MO multimodo.

Tabla 3. Comparación de las MO con la calefacción

Extracción	Por ciento de sólido (1 min)	Por ciento de sólido (3 min)
Calefacción	0,89 ± 0,05	0,98 ± 0,03
Microondas	2,04 ± 0,04	2,41 ± 0,04

Extracción en el reactor monomodo

En este reactor el haz de MO está focalizado en una zona del espacio y es constante durante el tiempo, lo que lo hace más eficiente que el horno multimodo (doméstico), donde la radiación es heterogénea durante el período de trabajo. Los experimentos se realizaron a dos niveles de potencia: al 10 y al 20% (30 y 60 W).

durante uno y tres minutos. La caracterización de los extractos se muestran en la *Tabla 4*. Como se aprecia, los rendimientos son superiores respecto a los obtenidos en el horno multimodo y, por consiguiente, a la maceración y la percolación, para una potencia de 30 W. Cuando se incrementa la potencia, los resultados no son los esperados; en estos casos se produjeron ebulliciones violentas y derrames de los extractos.

Tabla 4. Propiedades químicas y químico-físicas de los extractos acuosos obtenidos en el horno monomodo

No. de experimento	Potencia	Tiempo	Rendimiento*	Índice de refracción	Densidad	pH
1	30	1	2,56 ± 0,05	1,38 ± 0,02	1,12 ± 0,02	6,45 ± 0,6
2	30	3	2,39 ± 0,03	1,35 ± 0,02	1,10 ± 0,03	6,50 ± 0,5
3	60	1	1,85 ± 0,05	1,37 ± 0,01	1,08 ± 0,04	6,48 ± 0,4
4	60	3	1,41 ± 0,04	1,38 ± 0,02	1,07 ± 0,04	6,46 ± 0,3

* Rendimiento: Por ciento sólido extraído.

Optimización de la extracción en medio acuoso asistida por la energía de las MO en horno monomodo

Del diseño experimental 2^2 se obtuvo el siguiente polinomio:

$$Y = 2,5 - 0,15 X_1 - 0,42 X_2 - 0,07 X_1 X_2$$

Los coeficientes significativos son los siguientes:

$$B_0 = 2,5$$

$$B_1 = -0,15$$

$$B_2 = 0,42$$

$$B_{12} = -0,07$$

La variable que más influye es la potencia (X_2). De acuerdo con el valor del coeficiente, este indica que se

debe trabajar a bajos niveles de potencia y tiempo de irradiación (-0,15), ya que la interacción entre los dos es negativa, por lo que se aconseja no bajar demasiado los dos parámetros y disminuir el tiempo de irradiación mucho menos que la potencia.

Como se puede observar de las *Tablas 2, 3 y 4*, el porcentaje de sólido (rendimiento del extracto) cuando se emplean las MO es superior a los otros métodos. En el caso del no convencional, el multimodo es inferior al monomodo.

Métodos cromatográficos

Para comparar de forma cualitativa la efectividad de la extracción por los diferentes métodos, se realizaron las cromatografías en capa delgada (CCD). Teniendo en

cuenta que el extracto usado fue en agua, debía esperarse entonces que los metabolitos extraídos tengan cierta polaridad. Sin embargo, con el método de las MO también aparecen compuestos menos polares; no sólo se extraen los solubles, sino también los difundidos por la explosión de las glándulas secretoras.

Por la complejidad de los extractos se realizó la CCD con tres sistemas de eluyentes, así como la bidimensional para detectar si las manchas corresponden a uno o varios compuestos.

Cuando se empleó el sistema de eluyentes benceno: éter dietílico (8:2, v/v), para la maceración y la percolación se observaron cinco manchas. Cuando la placa se reveló con vainillina/HClO₄ y se calentó a 110 °C por un minuto, la mancha 1 (Rf 0,8) se tornó rosada [Scott, 1984] y las restantes, 2(0,73), 3(0,44), 4(0,21), 5 (en el punto de aplicación), revelaron con coloración azul-violeta intensa. En los extractos provenientes del método no convencional asistido por la energía de las MO se observaron dos manchas más, cuyos Rf fueron 0,88 y 0,64, las cuales también revelaron rosadas.

Con el sistema benceno:metanol:acetato de etilo (119:14:7, v/v), para los métodos convencionales (maceración y percolación) se observaron 11 manchas: 1 (0,9), 2 (0,86), 3 (0,8), 4 (0,75), 5 (0,62), 6 (0,47), 7 (0,41), 8 (0,34), 9 (0,31), 10 (0,17), 11 (0,09). La 2 y la 8 revelaron con coloración rosada, y la 4, 5 y la 7 con coloración azul-violeta intenso; la 9 reveló con coloración amarilla. Para las MO aparecieron tres manchas más, 0,98; 0,95; 0,88, las que revelaron rosadas. La mancha 5 coincide con el Rf citado por Sharma en 1980 para el lantadeno A (0,64).

Cuando se utilizó como sistema de eluyentes cloroformo:metanol (9:1, v/v), en el cromatograma aparecieron 10 manchas, según valores decrecientes de Rf: 1(0,76), 2(0,66), 3(0,60), 4(0,56), 5(0,52), 6(0,48), 7(0,41), 8(0,33), 9(0,26), 10(0,20). Las manchas 1, 3 y 7 se

tornaron amarillas; la 2 y la 8 revelaron con coloración azul-violeta intenso.

Se realizó la CCD bidimensional para el extracto de MO, en el sistema de eluyentes cloroformo: metanol (9:1, v/v) se observaron tres manchas más que con los métodos convencionales, 0,88; 0,84 y 0,81, esta última (0,81) tenía coloración verde y reveló azul-violeta intenso; las dos restantes revelaron rosado. Como segunda fase se empleó el sistema de eluyentes benceno: éter dietílico (8:2, v/v). Se observó un corrimiento de la mancha 2 y reveló con coloración amarilla, la 6 se desdobra en dos y reveló rosado, la 11 se fraccionó en 5 manchas y la 13 en 5, de las cuales 3 de Rf 0,78; 0,71; 0,43 revelan azul-violeta intenso [Barre, 1997].

CONCLUSIONES

- El método de extracción asistido por la energía de microondas demostró ser más efectivo y eficiente que los métodos convencionales de maceración y percolación.

REFERENCIAS

- Barre, J.T.; B. F. Bowden; J. C. Coll; J. Dejesus; V. E. de la Fuente; et al.: «A Bioactive Triterpene from *Lantana camara*, L.», *Phytochemistry*, May, 45 (2): 321-324, 1997.
- Le Ngoc, Tilach: «Microwave-Assisted Extraction Process of the Basil oil (South-Vietnam)», *Tap Chi Hoaboe*, 34, 2, 94, 1996.
- Paré J.; J. M. R. Bélaguer: *Trends in Analytical Chemistry*, 13: (4), 1994.
- Paré J.: *PE 0397898*, 1991.
- : «MAP. Novel approaches», II Simp. Int. de la Sección de América Latina y el Caribe de la AOAC International, MORI, 1997.
- Scotch, Th. A.: *Plant Drug Analysis. A. Thin-Layer Chromatography Atlas* (Springer-Verlag, New York, Tokyo), 1984, pp. 226-54.
- Sharma, O. P.; H. P. S. Makkar: «Thin-Layer Chromatography of Lantadene. A and Some Related Triterpenoids», *J-Chromatography* 196 (3):515-517, 1980.
- NRSP 312: *Tinturas y extractos fluidos. Procesos tecnológicos*, Ed. MINSAP.

ESTUDIOS DE BIOCONTROL *IN VITRO* DEL HONGO FITOPATÓGENO *SAROCLADIUM ORYZAE* CON CEPAS DE *BACILLUS SUBTILIS*

A. Miguel, L. A. Torres, Tania Bonilla y Zenaida Amat

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

RESUMEN

El control biológico emerge como una estrategia promisorio en el manejo de las enfermedades de las plantas. Algunas bacterias han mostrado un potencial elevado en el control de fitopatógenos, y dentro de estas el género *Bacillus* está considerado como muy efectivo. Para la realización del trabajo se tomaron aislados de diversas fuentes; sin embargo, las cepas de *Bacillus subtilis* provenientes de semillas contaminadas con *Sarocladium oryzae* mostraron el control más eficaz de este hongo mediante pruebas *in vitro* y en bacterización de semillas. Su identificación se realizó mediante pruebas morfológicas, bioquímicas y fisiológicas. Se continúan los trabajos y se amplían los ensayos, ya que también se observó una disminución de otros hongos en semillas tratadas respecto a los controles.

Palabras claves: control biológico, *Bacillus subtilis*, *Sarocladium oryzae*, semillas

ABSTRACT

Now days, biological control arises as an important strategy in the control of Plant pathogens. Some bacteria have shown potential against phytopathogens and inside those microorganisms, species of the genus *Bacillus* are considered as very effective ones. From contaminated soils and seeds with *Sarocladium oryzae* were isolated bacterial strains that were used *in vitro* in tests. The identification of those microorganisms was supported through classical probes in bacteriology. Two strains of *Bacillus subtilis* have shown an important control of the fungus *in vitro* and in artificially infected seeds. The studies continue against other fungi because treated seed are shown a remarkable diminution of fungal pathogens.

Key words: Biological control, *Bacillus subtilis*, *Sarocladium oryzae*, seeds

INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa* L.) se encuentra dentro de los cultivos de mayor importancia en el ámbito mundial. Se conoce que los rendimientos en la producción son afectados por el ataque de varias enfermedades transmitidas por semillas, por lo que en todo el mundo se hacen grandes esfuerzos para mantener su calidad.

Dentro de las principales enfermedades transmisibles por semillas en este cultivo encontramos la pudrición de la vaina, cuyo agente causal es el hongo *Sarocladium oryzae* (Sawada) W. Gams & D. Hawksw., el cual, en la actualidad, incrementa su distribución mundial y sus potencialidades destructivas, reportándose pérdidas de cosecha entre un 3-85% en Taiwán, 9,6-26% en India y más del 50% en Filipinas, además de ser considerada la enfermedad más importante del África occidental en este cultivo [Agarwal y col., 1989].

El tratamiento de semillas con productos químicos se viene empleando desde hace varias décadas en el con-

trol de patógenos transmisibles por esta vía, pero los efectos adversos en la protección de las plantas, así como del medio ambiente, son cada día más evidentes; es por ello que el control biológico emerge como una estrategia promisorio para el manejo de fitopatógenos [Bettiol y Kimati, 1990; Subramanya, 1998].

Bacillus subtilis (Ehrenberg) Cohn ha sido usado en los últimos años en intentos de controlar fitopatógenos y de incrementar el vigor de las plantas; esta bacteria ha demostrado sus potencialidades en diversas enfermedades en varios cultivos como remolacha, trigo, frutas, hortalizas y arroz [Turner y Backman, 1990].

La aplicación de *B. subtilis*, microorganismo nativo del suelo, rizoplano y filoplano, presenta muchos atractivos, propiciándose con el tratamiento de semillas basado en esta bacteria el control de patógenos del suelo [Marissonia y col., 1995].

El objetivo del presente trabajo consistió en aislar y caracterizar bacterias de diversas fuentes y enfrentarlas, a través de pruebas *in vitro* y en semillas artificialmente infectadas, al hongo fitopatógeno *S. oryzae* con la finalidad de obtener un posible control biológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron aislamientos de bacterias tomando como base semillas y suelos de campos con presencia de *S. oryzae* provenientes del Instituto de Investigaciones del Arroz. Se emplearon además cepas de *Pseudomonas fluorescens*, pertenecientes al laboratorio, debido a que este microorganismo se encuentra ampliamente registrado en la literatura como control biológico de patógenos vegetales [Subramanya, 1998].

Los aislados se probaron *in vitro* contra el hongo empleando el medio triptona soja agar (Oxoid). Una vez preparado el medio de cultivo, este se dejó enfriar hasta 45°C, y se inoculó con una suspensión de conidios del patógeno antes de ser plaqueado. A las 36 horas se depositaron, en un pocillo abierto previamente con un obturador en el centro del medio agarizado, 25 µL de una suspensión bacteriana con una concentración aproximada de 10⁸ UFC/mL.

Las placas se incubaron a 25°C, y a las 72 horas de inoculadas se midieron los halos de inhibición provocados, los cuales se chequearon también a los 5, 7, 9 y 15 días.

Con las cepas de mejores resultados para este experimento se procedió a realizar pruebas de bacterización en semillas de la variedad J-104 artificialmente infectadas con *S. oryzae*. Se introdujeron estas en una suspensión bacteriana (10³ UFC/mL) por espacio de tres horas, se dejaron secar y se incubaron según metodología de Agarwal *et al.* (1989). Se incluyeron como controles semillas infectadas y sanas tratadas con agua destilada estéril. Desde los siete días se confrontaron los resultados respecto al porcentaje de semillas infectadas y las germinadas.

Después de estos resultados se realizó la identificación de las cepas de mejores resultados mediante comprobaciones morfológicas y fisiológicas, basando el trabajo en el *Manual de bacteriología sistemática* de Bergey (1986).

Con las bacterias identificadas se comprobó *in vitro* la producción de metabolitos termoestables de acción antimicrobiana activos. Para ello se inocularon con las cepas de mejores resultados hasta el momento, erlenmeyers con 100 mL de caldo-triptona-soja (Oxoid) se incubaron con agitación por espacio de siete días a 30°C, y luego se autoclavearon a 121°C y 1,5 atm por tiempo de 15 minutos.

Se prepararon placas de medio papa dextrosa-agar (PDA) envenenadas con un 20% del cultivo líquido ob-

tenido autoclaveado, y se sembró el hongo fitopatógeno por medio de discos en su centro, tomando como control placas del mismo medio sin envenenar. A los siete días de incubación a 25°C se comprobaron los resultados de acuerdo con el diámetro de la colonia fúngica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con la prueba de antagonismo *in vitro*, los mejores resultados se obtuvieron con las siguientes cepas (72 horas):

Cepas	Diámetro promedio del halo (mm)
1L (aislada de semillas)	27
1R (aislada de semillas)	22
Z3 (aislada de suelo)	13
<i>P. fluorescens</i> A1 (cepa de laboratorio)	10

Los halos de inhibición se mantuvieron en las cepas 1L y 1R por más de quince días de chequeo. El antagonismo provocado por la cepa Z3 se comenzó a perder a la semana, mientras que para este tiempo el provocado por la cepa *P. fluorescens* A1 ya había desaparecido debido a la colonización del hongo.

Las cepas 1L y 1R muestran los mejores resultados debido a que el promedio de los halos de inhibición fue mayor de 20 mm y se pudo mantener sin poder ser colonizado por el hongo, lo que presupone la producción y secreción al medio de metabolitos de acción antifúngica.

De acuerdo con estos resultados se tomaron las cepas con mayor antagonismo *in vitro* y se realizó con ellas la prueba de bacterización de semillas artificialmente infectadas. Los resultados obtenidos son los siguientes:

Variantes	Por ciento de infección	Por ciento de germinación
Cepa 1L	41	98
Cepa 1R	43	94
Cepa Z3	50	95
Control inoculado	98	92
Control no inoculado	00	99

La cepa de mejores resultados en general fue la 1L, la cual controló el hongo en casi el 60% de las semillas inoculadas sin influir negativamente en la germinación, de donde se comprueba su acción positiva como antagonista.

La cepa 1R mostró también buenos resultados respecto a la acción directa sobre *S. oryzae*, pero no tan así sobre la germinación de las semillas, mientras que la cepa Z3 muestra una acción algo más limitada sobre el fitopatógeno.

Los resultados para la cepa 1L son realmente promisorios si tenemos en cuenta que los porcentajes de semillas infectadas naturalmente rara vez sobrepasan la mitad de un lote, y usualmente se encuentran entre un 5-50% del total [Sandoval y col., 1999]. También se observó una disminución de la proliferación de otros hongos en las semillas tratadas respecto al testigo sin inocular.

Por estos resultados se tomaron para la identificación las cepas 1L y 1R, las cuales muestran características coloniales típicas del grupo *subtilis* dentro del género *Bacillus* [Williams & Wilkins, 1986].

La observación al microscopio (24 horas) revela que ambas cepas poseen formas bacilares y son Gram positivas, mientras que a las 48 horas se muestran esporas ovales en posición central. Los resultados de las pruebas bioquímicas se muestran a continuación:

Pruebas	1R	1L	<i>B. subtilis</i>
Almidón	+	+	+
NaCl 5, 7 y 10%	+	-	+
Crecimiento 50°C	+	-	+
Arginina dihidrolasa	-	-	-

Dadas las características señaladas y las pruebas bioquímicas realizadas, podemos proponer que las cepas en cuestión pertenecen a la especie *Bacillus subtilis*. Los resultados obtenidos para comprobar la producción de metabolitos termoestables de acción antimicrobiana, efectivos contra *S. oryzae*, son los siguientes:

Antimetabolito	Diámetro promedio de la colonia fúngica
<i>B. subtilis</i> 1L	10 mm
<i>B. subtilis</i> 1R	7 mm
Control	27 mm

El control mostró una colonia típica de *S. oryzae*, mientras que el crecimiento del hongo en las placas envenenadas se mostró reprimido, comprobándose así la producción de metabolitos termoestables de acción antifúngica por parte de ambas cepas.

Es importante destacar que el microorganismo *B. subtilis* esta reconocido internacionalmente como potenciador de la germinación y el vigor de las plántulas, así como que favorece el desarrollo del sistema radical en diversos cultivos [Turner y Backman, 1991], al inhibir el desarrollo de más de cuarenta patógenos vegetales, incluyendo los de mayor importancia dentro de los de origen fúngico en el arroz [Bettiol y Kimati, 1990].

Su acción se debe fundamentalmente a la producción de hormonas, antibióticos y metabolitos termoestables de acción antimicrobiana, además de impedir físicamente el establecimiento de otros microorganismos patogénicos [Bettiol y Kimati, 1990; Ruz, 1994; Marissonia *et al.*, 1995].

CONCLUSIONES

- Las cepas de *Bacillus subtilis* 1R y 1L mostraron los mejores resultados en las pruebas *in vitro* realizadas contra el hongo fito patógeno *Sarocladium oryzae*.
- El resto de las bacterias aisladas y las cepas de *Pseudomonas fluorescens* del laboratorio no mostraron una acción sostenida sobre el patógeno.
- Las cepas de *B. subtilis* 1L y 1R lograron eliminar alrededor del 60% de la infección por este hongo en las semillas de arroz artificialmente inoculadas; sin embargo, el mejor resultado respecto a la germinación se alcanzó empleando la primera.
- Se comprobó la producción de metabolitos termoestables de acción antimicrobiana efectivos contra *S. oryzae* por parte de ambas cepas de *B. subtilis*.

REFERENCIAS

- Agarwal, P. C.; C. N. Mortensen; S. B. Mathu: *Seed-Borne Diseases and Seed Testing of Rice*, Danish: Government Institute of Seed Pathology, 1989, pp. 10-12 y 39-42.
- Bettiol, W.; H. Kimati: «Efeito de *Bacillus subtilis* sobre *Pyricularia oryzae* agente causal da brusone do arroz», *Pesq. Agrop. Bras.* (Brasil) 25 (8): 1165-1174, 1990.
- Williams & Wilkins. «Genus *Bacillus*», *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 9th ed. EUA, Williams & Wilkins Company, 1996, t. 2, pp. 1105-1139.
- Lazzarette, E.; J. Menten; W. Bettiol: «Tratamento de semente de trigo com *Bacillus subtilis* o controle de *Pyricularia oryzae*, *Bipolaris sorokiniana* e *Alternaria tenuis*», *Grupo Paulista de Fitopatologia* 21 (2): 163-167, 1995.
- Marissonia, A. N.; J. M. Sami; L. R. Rosa: «Efeito do tratamento de sementes de caupi com *Bacillus subtilis* no controle de *Rhizoctonia solani*», *Fitopatol. Bras.* 20 (2): 174-178, 1995.

Sandoval, I.; M. O. López; T. Bonilla; Y. Tomas: «Primer registro en Cuba de la pudrición de la vaina del arroz por *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams & Hawk», *Fitosanidad* (La Habana) 3(4): 7-12, 1999.

Subramanya, S.: *Biological Seed Treatment for the Management of Seed-Borne Plant Pathogens Using Pseudomonas fluorescens*, Danish: Government Institute of Seed Pathology, 1998, pp. 1-10.

Ruz, W.C.: «Efeito da microbiolização de sementes no rendimento e controle da podridão comum das raízes e de patógenos das sementes de trigo», *Fitopatol. Bras.* 19(2): 174-178, 1994.

Turner, J. T.; P. A Backman: «Factors Relating to Peanut Yield Increases After Seed Treatment with *Bacillus subtilis*», *Plant Disease* 75: 347-353, 1991.

ANTAGONISMO DE *TRICHODERMA HARZIANUM* A34 HACIA *MACROPHOMINA PHASEOLINA* Y OTROS PATÓGENOS FÚNGICOS DEL FRIJOL

Ileana Sandoval y María O. López

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

RESUMEN

El hongo *Macrophomina phaseolina*, agente causal del tizón ceniciento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y el complejo de hongos que causa el damping-off, marchitamiento y tizón sureño, son una amenaza permanente en este cultivo. El aislamiento de *Trichoderma harzianum* (cepa A34) probado contra *Rhizoctonia solani*; *Fusarium solani*; *F. oxysporum*; *Sclerotium rolfsii* y *Macrophomina phaseolina* mostró una marcada actividad antagonista e hiperparasítica in vitro. Se comprobó que el antagonista redujo la colonización de *M. phaseolina* en las raíces de las plantas de la variedad Velasco Largo en más de un 50%. Estos resultados muestran la potencialidad que presenta *T. harzianum* A34 en el biocontrol de estos patógenos para su inclusión en los programas de manejo de las enfermedades del frijol.

Palabras claves: *Macrophomina phaseolina*, tizón ceniciento, frijol, antagonista, hiperparásito, *Trichoderma harzianum*

ABSTRACT

The pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* cause charcoal rot in soybeans (*Phaseolus vulgaris* L.) and the complex of fungi which causes damping-off, wilt and southern blight in soybeans is a permanent threat to this crops. A promisory strain of *Trichoderma harzianum* (A 34 strain) showed a marked antagonistic and hyperparasitic effect against *Rhizoctonia solani*; *Fusarium solani*; *F. oxysporum*; *Sclerotium rolfsii* and *Macrophomina phaseolina* when it was tested in vitro. *T. harzianum* reduced the root colonization by *M. phaseolina* and the incidence of charcoal rot disease in Velasco Largo variety was less than 50% when the soils of the plots were protected by *Trichoderma harzianum* A34 strain in the soybean diseases management programs.

Key words: *Macrophomina phaseolina*, charcoal rot disease, soybean, antagonistic, hyperparasite, *Trichoderma harzianum*

INTRODUCCIÓN

Las especies de *Trichoderma* son habitantes del suelo. La mayoría de los aislamientos se caracterizan por hiperparasitar diversos hongos fitopatógenos como *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp., productores del damping-off en diversos cultivos [Wilson et al., 1988].

Algunos aislamientos de *Trichoderma harzianum* han resultado efectivos en el control de diversas patologías, por lo que su aplicación ha reducido significativamente la incidencia de las enfermedades con incremento en los rendimientos [Singh, 1991]. Igualmente se ha comprobado la capacidad competitiva de algunas cepas de *T. harzianum* en la colonización de semillas, rizofera y sustrato cuando han sido aplicadas a través de las semillas [Smith et al., 1990; Harman, 1992].

Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid. es un patógeno de suelo que afecta a las raíces y la base de los tallos del frijol, y provoca el síntoma conocido como tizón ceniciento del frijol, daña a las semillas y reduce su germinación. Las afectaciones serias provocan fallos en la germinación, y aquellas procedentes de vainas asintomáticas pueden registrar hasta un 28% de infección [Abawi y Pastor-Corrales, 1992].

Esta enfermedad está registrada en Cuba desde hace varios años y se encuentra ampliamente distribuida en el país. Sin embargo, ha constituido un problema importante para las provincias orientales en la variedad Velasco Largo principalmente, así como en ICA-PIJAO, con daños de importancia y pérdidas en las cosechas.

En este trabajo se muestran los resultados obtenidos sobre la efectividad del aislamiento de *Trichoderma harzianum* cepa A34, perteneciente a la micoteca del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal en la reducción de las poblaciones de *M. phaseolina* en las raíces de las plantas de frijol y consecuentemente su actividad beneficiosa en el desarrollo de las plantas.

MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de la siembra de síntomas de tallos y raíces de plantas de frijol, variedad ICA PIJAO y Velasco Largo se obtuvieron diferentes aislamientos de patógenos fúngicos (*Rhizoctonia solani*; *Fusarium solani*; *F. oxysporum*; *Sclerotium rolfsii* y *Macrophomina phaseolina*) que

se enfrentaron en cultivo dual agar papa dextrosa con la cepa de *Trichoderma harzianum* (cepa A34), la que ha manifestado buena efectividad antagónica e hiperparasítica hacia diversos patógenos fúngicos del suelo en los cultivos de las hortalizas. Para estudiar la efectividad que ejerce este aislamiento en el control del tizón ceniciento del frijol por *M. phaseolina* se efectuaron pruebas en parcelas que contenían suelo Ferralítico Rojo inoculadas con el patógeno de referencia. La reproducción del inóculo de este organismo nocivo se realizó en caldo Sabouraud, incubado a 30 °C. A los 10 días se filtró, se secó y se obtuvo un polvo de esclerocios. Este polvo se adicionó a la superficie de las parcelas o canteros (70 x 25 x 25 cm³) a razón de 1 g/10 cm², removiéndose en los primeros 10 cm de profundidad. Se sembraron en cada parcela tres surcos de frijol de la variedad Velasco Largo, y por cada variante se montaron tres réplicas. Posteriormente se añadió en el momento de la siembra el cultivo de *Trichoderma* con título de 4-5 x 10⁶ con/mL.

Se realizó el conteo de la germinación a la semana de la siembra. Se registró además el porcentaje de plantas vivas en relación con el testigo no tratado con el biopreparado, así como el pesaje de las plantas por parcela a los 20 días después de la germinación. La colonización de las raíces por *M. phaseolina*, tanto en las variantes tratadas con *T. harzianum* como las testigos, fueron registradas en el medio selectivo de Meyer *et al.* (1973) cuando se sembraron 10 porciones de raíces por cada réplica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con las pruebas *in vitro*, el aislamiento A34 de *T. harzianum* mostró un elevado nivel de competencia por el sustrato, hiperparasitó las colonias de los patógenos parcial o totalmente, e incrementó el nivel de esporulación al crecer sobre ellas mismas (Tabla 1).

Tabla 1. Prueba de antagonismo *in vitro* con el aislamiento A34 *T. harzianum* hacia diferentes patógenos del frijol

Aislamientos	Crecimiento de la colonia (mm)	
	Patógenos	<i>T. harzianum</i>
<i>R. solani</i>	2,5	6,5
<i>F. solani</i>	2,6	6,4
<i>F. oxysporum</i>	3,4	5,6
<i>Sclerotium rolfsii</i>	3	6
<i>Macrophomina phaseolina</i>	3,8	5,2

Estos resultados obtenidos son debido a la potencialidad hiperparasítica de las especies del género de ser buenos competidores por el sustrato, con una actividad metabólica muy particular que les permite ser eficientes hiperparasitos de las estructuras fúngicas de los hongos [Ghisalverti

y Sivasithamparam, 1991; Deane *et al.*, 1993; Huang *et al.*, 1995].

Por otra parte, en las pruebas de parcelas infectadas con *M. phaseolina* y protegidas por *Trichoderma* se alcanzó un mayor porcentaje de plantas germinadas de más del 93% en relación con el testigo (Fig. 1).

Plantas germinadas (%)

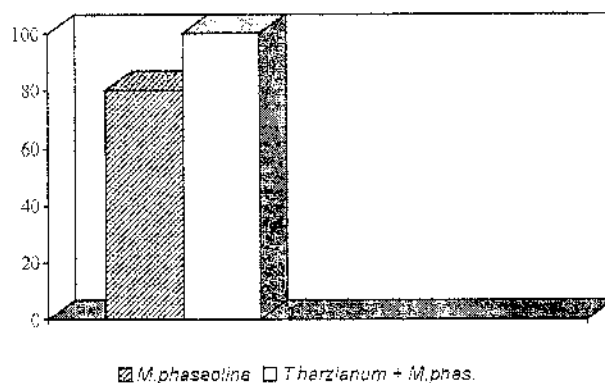


Figura 1. Efectividad del tratamiento de *T. harzianum* (A34) en la germinación de plantas de frijol de la variedad Velasco Largo.

Al comprobar el nivel de colonización de las raíces utilizando el sustrato selectivo se constató que las variantes protegidas con el biopreparado de *Trichoderma* lograron un mayor número de porciones de raíces no afectadas por este patógeno, por lo que se confirma una vez más su acción de ser un antagonista rizosfera competente.

tal y como ha sucedido para el biocontrol de patógenos del suelo en las plantas de tomate y pimiento tratadas con este antagonista una vez aplicado al suelo o a las semillas [Sandoval *et al.*, 1995]. En cambio, las variantes no protegidas por *T. harzianum* registraron más del 90% de raíces colonizadas por este hongo (Fig. 2).

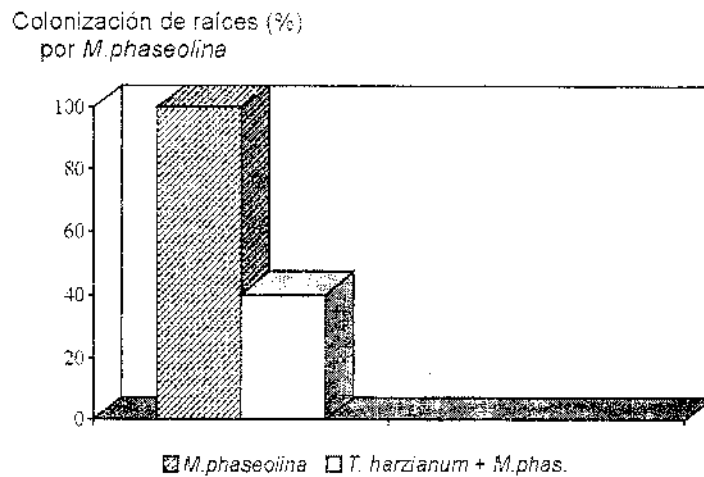


Figura 2. Efecto de *T. harzianum* (A34) en la acción de reducir la colonización de *M. phaseolina* en las raíces de plantas de frijol

El peso de las plantas de las variantes protegidas por el antagonista aumentó, con mayores registros en cuanto al vigor y desarrollo (Fig. 3), lo que consecuentemente asegura una mayor potencialidad productiva, ya que este patógeno es

capaz de ir debilitando las plantas de frijol debido a la colonización de sus raíces desde los primeros días después de la germinación, con efectos muy nocivos cuando las plantas alcanzan la fase de fructificación.

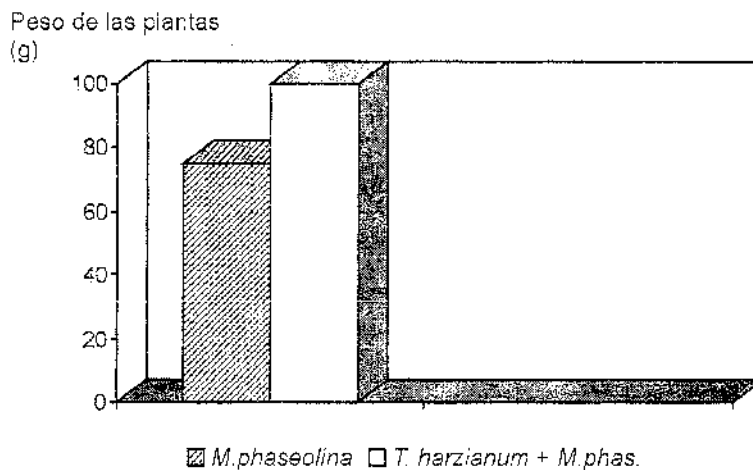


Figura 3. Efecto del tratamiento de *T. harzianum* (A34) sobre el vigor de plantas de frijol bajo la acción de *M. phaseolina* en el suelo

Los efectos beneficiosos que inducen los biopreparados de *Trichoderma* en el cultivo del frijol han sido constatados por Elad *et al.* (1986), quienes argumentan a favor del uso combinado de prácticas culturales con estas aplicaciones con el fin de reducir la invasión del patógeno en las raíces desde los prime-

ros momentos del crecimiento de las plantas, por lo que estos resultados confirman estos criterios y la posibilidad de introducir a través del suelo o las semillas la aplicación de biopreparados de *Trichoderma* para el control de patógenos fúngicos del suelo que afectan al cultivo del frijol.

CONCLUSIONES

- El aislamiento de *Trichoderma harzianum* (cepa A34) probado contra *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Sclerotium rolfsii* y *Macrophomina phaseolina* mostró una marcada actividad antagonista e hiperparasítica *in vitro*.
- El antagonista redujo la colonización de *M. phaseolina* en las raíces de las plantas de la variedad Velasco Largo en más de un 50 %.
- *T. harzianum* A34 presenta potencialidad en el biocontrol de estos patógenos para su inclusión en los programas de manejo de las enfermedades del frijol.

REFERENCIAS

- Abawi, G. S.; M. A. Pastor-Corrales: «Seed Transmission and Effect of Fungicides Seed Treatments Against *Macrophomina phaseolina* in Dry Edible Beans», *Seed Pathology and Microbiology*, vol. 3 (no. 48), 1992, p. 6.
- Deane, E.; J. Whipps Reberdy, J. Lynch: «Isolation and Cloning of a Chitinase Gene From *Trichoderma Harzianum*», Abstracts 6th International Congress of Plant Pathology, July 28-August 5, Palais de Montreal, Canadá, 1993, p. 295.
- Elad, Y.; Y. Zvieli; I. Chet: «Biological Control of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. by *Trichoderma harzianum*», *Crop Protection* 5(4): 288-292, 1986.
- Ghisalverti, E. L.; K. Sivasithamparam: «Antifungal Antibiotics Produced by *Trichoderma* spp.», *Soil Biol. Biochem.*, 23: 1010-1020, 1991.
- Harman, G. E.: «Development and Benefits of Rhizosphere Competent Fungi for Biological Control of Plant Pathogens», *Journal of Plant Nutrition*, 15 (6/7): 835-843, 1992.
- Huang, Q.; Y. Tezuka ; T. Kikuchi ; A. Nishi; K. Tubaki ; K. Tanaka. «Studies on Metabolites of Mycoparasitic fungi, Metabolites of *Trichoderma koningii*», *Chem. Pharm. Bull.*, 43: 223-229, 1995.
- Meyer, W. A.; J. P. Sinclair; ; M. N. Khane. «Biology of *Macrophomina phaseolina* in Soil Studied with Selective Media», *Phytopathology*, 63 (5): 613-620, 1973.
- Sandoval, Ileana; M.O. López; D. García; I. Mendoza. «*Trichoderma harzianum* (cepa A34): un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomate y del pimiento». *Boletín Técnico* 4, CID-INISAV, 1995.
- Singh, D.: «Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary by *Trichoderma harzianum*», *Trop. Pest. Manage* 37 (4):374-378, 1991.
- Smith, V. L.; W. F. Wilcox; ; G. E. Harman. «Potential for Biocontrol of *Phytophthora* Root Rot Crown Rots of Apple by *Trichoderma* and *Gliocladium* spp.», *Phytopathology*, 80: 880-885, 1990.
- Wilson, M; E. K. Crawford; R. Campbell: «Biological Control by *Trichoderma harzianum* Damping-off of Lettuce Caused by *Rhizoctonia solani*», *EPPO Bulletin*, 18(1): 83-89, 1988.

CONSERVACIÓN DE PREPARADOS LÍQUIDOS DE *TRICHODERMA HARZIANUM* CEPA A34

Argelia Cejas, Orietta Fernández-Larrea, Raiza Díaz, Carmen Nieves y R. Fuentes

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

RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo mejorar la calidad de los biopreparados que se obtienen por cultivo estático en los Centros de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos y de caldos de fermentación. Se determinó la compatibilidad del hongo con diferentes preservantes: ácido sórbico, alumbre, sulfato de cobre y ácido cítrico. Se evaluó la formulación del cultivo líquido de *Trichoderma harzianum* con los preservantes que dieron mejor compatibilidad. La estabilidad del producto en el tiempo se comprobó a los 8, 32 días y 4 meses. La efectividad del formulado se realizó mediante cultivo dual en agar papa dextrosa frente a hongos fitopatógenos del suelo. El producto formulado que se obtuvo contiene ácido sórbico y alumbre. Se conservó con un porcentaje de germinación de 94% a los cuatro meses en condiciones de almacenamiento a temperaturas entre 10-15°C, además de que mantuvo su efectividad en el control de los hongos fitopatógenos.

Palabras claves: *Trichoderma harzianum*, preservantes, compatibilidad, formulación

ABSTRACT

The present work has as objective to improve the quality of the biopesticides obtained from static cultivation in the Reproduction Centers of Entomophages and Entomopathogens and from fermentation broths. The fungus compatibility was studied with different preservatives: C₆H₈O₂, KAl(SO₄)₂, CuSO₄ and C₆H₈O₇. The formulation of *Trichoderma harzianum* in liquid fermentation media was determined with preservatives that showed better compatibilities. The formulation stability in time was checked at 8 and 32 days and at 4 months. The effectiveness of formulation was performed by dual culture in Potato Dextrose Agar with against phytopathogens fungi of soil. Formulated product contained C₆H₈O₂ and KAl(SO₄)₂. The viability of the preserved product had a percentage of germination of 94% after four months in storage conditions at temperatures between 10-15°C; in addition, it maintained its efficiency in the control of phytopathogens.

Key words: *Trichoderma harzianum*, preservatives, compatibility, formulation

INTRODUCCIÓN

Los preparados fúngicos líquidos a base de *Trichoderma harzianum* se usan para la protección de las plantas contra hongos fitopatógenos del suelo, como son: *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora capsici*, *Pythium aphanidermatum* y *Sclerotium rolfsii*, entre otros. Estos son los principales agentes productores de la pudrición de semilleros y marchitez de las plantas en cultivos de café, hortalizas, tabaco, plantas ornamentales y otros [Papavizas y Bowers, 1981; Harman y Lunsden, 1990; Stefanova y Sandoval, 1995; Sandoval et al., 1996; Muñiz et al., 1996].

El método más común de reproducción de *Trichoderma* es sobre soporte sólido, donde se utilizan como medios de cultivo la cebada, arroz, almidones, trigo, cabecilla de arroz, entre otros [Jacques, 1976, 1987; Fernández-Larrea, 1995; Rodríguez et al., 1997]. Con las producciones sólidas se obtienen grandes concentraciones de conidios que resultan muy estables en el tiempo, con lo que se garantiza el almacenamiento de la biomasa [Samsinakova y Kalakova, 1981]. Otros métodos de reproducción son mediante cultivos líquidos estáticos y agitados, en los que se pueden utilizar

como nutrientes diferentes sales de amonio, levaduras, nitratos, sacarosa y melaza, entre otros [Hartman et al., 1994; Fernández-Larrea, 1995].

Para la conservación de los productos líquidos se conocen algunos trabajos en los que esto se realiza por la conservación del hongo mediante encapsulamiento de este [Jack et al., 1997]. También se ha trabajado en el secado de la biomasa al vacío [Hartman et al., 1994].

La estabilidad de los biopreparados líquidos de *Trichoderma* obtenidos en Cuba es de 15 días a temperatura de refrigeración [Fernández-Larrea et al., 1992], y en ocasiones se necesita almacenar por un mayor tiempo en los CREE, así como los que en un futuro se obtendrán en las plantas semindustriales de biopreparados existentes. Los cultivos líquidos de los hongos tienen la característica de formar una capa superficial del hongo después de finalizada la fermentación debido al contenido residual del medio, lo que le da un aspecto desagradable y favorece la degradación del producto. Debido a esto nos proponemos como objetivo mejorar la calidad de los biopreparados que se obtienen por cultivo líquido estático en los Centros de Reproducción de

Entomófagos y Entomopatógenos y de los cultivos agitados con el uso de preservantes, manteniendo su efectividad en la reducción de las poblaciones de hongos fitopatógenos del suelo, sin la concebida contaminación ambiental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon cultivos líquidos agitados obtenidos por fermentación sumergida según Fernández-Larrea *et al.*, (1994), los cuales se obtuvieron a partir de la cepa A34 de *T. harzianum*, perteneciente a la colección de microorganismos del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal de la República de Cuba.

Para el estudio de los preservantes se utilizaron compuestos con características fungistáticas y bactericidas. Ellos son: sulfato de cobre (CuSO_4), ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), ácido sórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_2$) y alumbre ($\text{KAl}(\text{SO}_4)_2$). Cada uno de ellos se probó a tres concentraciones: 1, 5 y 10% peso/volumen.

Se realizó una prueba *in vitro* en la que se envenenó el medio papa dextrosa agar (PDA) con los compuestos a las concentraciones en estudio por triplicado; se sembró un ponchete del hongo en el centro de la placa y se observaron las características de crecimiento conjuntamente con el testigo, que consistió en el crecimiento de *T. harzianum* en medio PDA. Para comprobar si este

mantiene sus características de crecimiento, se pasó a placas con medio PDA y se observó a los cuatro y siete días.

La prueba de estabilidad en el tiempo se realizó mezclando el caldo fermentado de *T. harzianum* (concentración entre 1×10^8 - 5×10^8 con/mL) con ácido sórbico y el alumbre a concentraciones de 1, 5 y 10% con pH de 2 a 3. Se obtuvieron ocho formulaciones que se mantuvieron a temperatura de 12 y 26°C. Se les evaluó el porcentaje de germinación a los 18, 32 días y 4 meses.

La efectividad *in vitro* de los formulados con mejores resultados con respecto al testigo se determinó mediante el cultivo dual. Para esto se sembraron los formulados y el testigo en placa Petri con PDA; se mantuvieron a 27°C durante siete días para lograr un cultivo esporulado, y se enfrentaron en medio PDA con hongos fitopatógenos (*Phytophthora parasitica*; *Pythium aphanidermatum* y *Sclerotium rolfsii*).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los experimentos en placa Petri del medio envenenado con los diferentes compuestos no se observó crecimiento con el sulfato de cobre para las concentraciones probadas, a los dos y siete días de crecimiento. Para el alumbre y el ácido sórbico se inhibió la esporulación y el crecimiento a 10 y 5%, y con el ácido cítrico hubo muy poca inhibición de la esporulación (Tabla 1).

Tabla 1. Crecimiento de las colonias del hongo *T. harzianum* en medios envenenados

Compuesto	Concentración		Crecimiento y características	
	Por ciento	peso/volumen	2 días (mm)	7 días (mm)
Sulfato de cobre	10		0 NE	0
	5		0 NE	0
	1		0 NE	0
Ácido cítrico	10		3 NE	18 PE
	5		15 NE	Todo PE
	1		30 NE	Todo E
Ácido sórbico	10		4 NE	29 NE
	5		7 NE	28 NE
	1		9 NE	Todo E
Alumbre	10		5 NE	27 NE
	5		7 NE	34 NE
	1		11 NE	Todo E
Testigo	-		33 NE	Todo E

NE: No esporulación.

PE: Poca esporulación.

E: Esporulación.

Cuando se comprobó si el hongo mantenía sus características de crecimiento en medio PDA, se obtuvieron para el ácido sórbico y el alumbre crecimientos y esporulaciones similares al testigo; con el ácido cítrico, poca esporulación, y para el sulfato de

cobre, no crecimiento. Por ello se determinó utilizar el ácido sórbico y el alumbre en la formulación, ya que tenían las características de crecimiento del hongo similares a la del testigo. Estos compuestos también fueron utilizados para la conservación de

formulados líquidos a base de *Bacillus thuringiensis* [Fernández-Larrea *et al.*, 1994].

La prueba de estabilidad en el tiempo se realizó mezclando el caldo fermentado de *T. harzianum* con ácido sórbico y alumbre a concentraciones entre 1 y 10%; se obtuvieron ocho formulaciones. Estos dos compuestos fueron escogidos por inhibir el crecimiento y la

esporulación, además de mantener la viabilidad. Para el formulado 1, el porcentaje de germinación estuvo por encima del testigo, demostrando su efectividad; el formulado 2 presentó un porcentaje de germinación de los conidios por encima del 60%, que, aunque es aceptable, está por debajo del testigo (formulado 9), y el resto tiene resultados muy inferiores al testigo al cabo de los cuatro meses, como se observa en la *Tabla 2*.

Tabla 2. Viabilidad de los formulados de *T. harzianum* mantenidos a 12°C

Formulado	Concentración Por ciento peso/volumen)			Por ciento de germinación de los conidios		
	Ácido sórbico	Alumbre		18 días	32 días	4 meses
1	1	1	3	100,0	90,59	94,19
2	1	5	3	79,20	69,12	64,97
3	1	10	2	50,05	32,40	8,43
4	5	1	3	100,0	81,82	10,74
5	5	5	2	72,00	52,40	10,60
6	5	10	2	49,60	30,04	8,00
7	10	1	3	71,55	51,05	12,00
8	10	5	2	70,13	50,95	3,85
9	0	0	6	100,0	62,90	75,00

A los cuatro meses se obtuvo porcentaje de germinación muy bajo (por debajo de 3%) cuando se almacenó a 26 °C, y, con el producto almacenado a 12 °C se obtuvieron mejores resultados, es decir, que estos formulados se conservaron mejor a bajas temperaturas. Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Jack *et al.* en 1997 con la conservación en cápsulas de

alginate, que midió a las 24 semanas las unidades formadoras de colonia (UFC) para tres cepas de *Trichoderma* almacenadas a 5 y 25°C; estos se conservaron sólo a bajas temperaturas ya que a 25°C las UFC fueron por debajo del 5% (12).

Los resultados de la efectividad *in vitro*, mediante cultivo dual, de los formulados 1 y 2 respecto al testigo se observan en la *Tabla 3*.

Tabla 3. Efecto del crecimiento de los fitopatógenos en presencia de *T. harzianum*

Formulado	Crecimiento de la colonia (mm)	
	<i>Sclerotium</i>	<i>Trichoderma</i>
1	30	75 (invasión total)
2	24	69 (zi = 21)
9 testigo	30	69 (zi = 25)
	<i>Pythium</i>	
1	20	62 (zi = 12)
2	20	75 (invasión total)
9 testigo	22	67 (zi = 14)
	<i>Phytophthora</i>	
1	10	75 (invasión total)
2	11	75 (invasión total)
9 testigo	10	75 (invasión total)

zi: Zona de la colonia del fitopatógeno invadida por *Trichoderma*.

Ambos formulados ejercieron un control sobre los hongos fitopatógenos *P. parasitica*, *P. aphanidermatum* y *S. rolfii*, similar al testigo. En el caso de *Phytophthora* se obtuvo invasión total de la colonia por *Trichoderma* para los formulados y el testigo. Debe tomarse en cuenta que la colonia de este hongo no se desarrolla formando un césped en la placa, sino que forma pequeñas colonias. Para *Pythium*, el testigo no ejerció invasión total como el formulado 2; y el formulado 1 quedó con una zona de invasión por debajo de este. En el cultivo dual con *Sclerotium* se obtuvo invasión total con el formulado 1; el testigo y el formulado 2 presentaron igual tamaño de crecimiento de la colonia de *Trichoderma*, pero mayor zona de invasión por el testigo. Estos resultados coinciden con los de Sandoval *et al.* (1995), quienes obtuvieron ciento por ciento de patógenos hiperparasitados, y la colonia de *Trichoderma* creció 6,7 cm como promedio.

Se recomienda, por todo lo visto anteriormente, hacer las pruebas *in vitro* con semillas de cultivos que sean afectados por los hongos fitopatógenos de suelo, probar la persistencia del formulado en el campo y compararla con el testigo, y almacenar los cultivos líquidos de *T. harzianum* con 1% de ácido sórbico y 1% de alumbre a temperaturas de 12°C.

REFERENCIAS

- Fernández-Larrea, O.; A. Calderon; M. Fraga: «Propuesta de metodologías de reproducción de cepas de *Trichoderma* para el control de hongos fitopatógenos», Informe Técnico, INISAV, La Habana, 1992.
- Fernández-Larrea, O. *et al.*: «THURISAV, biopesticida de *Bacillus thuringiensis*», Memorias, IX Forum de Ciencia y Técnica, II EXPOCREE, 25 al 27 de octubre, INISAV, La Habana, 1994, p. 85.
- Fernández-Larrea, O.: «Microorganismos entomopatógenos y antagonistas. Posibilidades de producción», *Boletín Técnico*, La Habana, 1: 1-5, 1995.
- Harman, G.; J. Lumsden: *The Rhizosphere*, Lynch Ed. Jwiley & Sonns, 1990, pp. 259-280.
- Harman, G.; X. Jin; T. Stasz; G. Peruzzotti; A. Leopold; A. Taylor: *Method of Increasing the Percentage of Viable Dried Spores of a Fungus*, E.U., 1994.
- Jack, L.; G. Papavizas; W. Connick: «Preparation of Pellets Containing Fungi and Nutrient for Control of Soilborne Plant Pathogens», PN 4668512, E.U., 1997.
- Jacques, R.: «Improvements in Or Relating to Mycofungicidal Products», PN 1573350, E.U., 1976.
- Jacques, J.: «Method of Using Immunizing Commensals», PN 4678669, E.U., 1987.
- Muñiz, Y.; B. Martínez; S. De Paula: «Efecto antagónico de *Trichoderma* sp. y *Curvularia* sp. aislados de vitroplántulas de caña», Memorias, II Congreso Latinoamericano de Micología, 23 al 26 de octubre, 1996, Instituto Pedro Kourf, La Habana, p.135.
- Papavizas, G.; J. Bows: «Comparative Fungitoxicity of Captofol and Metalaxyl to *Phytophthora capsici*», *Phytopathology* 71: 123-128, 1981.
- Rodríguez, J. A.; F. Domenech; M. León; D. E. Rodríguez; Villar, M.: «Consideraciones acerca de la fermentación en estado sólido empleando *Trichoderma harzianum* para la obtención de esporas», Memorias, III Seminario Científico Internacional, La Habana, 1997, pp. 23-27.
- Samsinakova, A.; S. Kalakova: «Mass Production of *B. bassiana*», *J. of Inv. Pathology* 169-174, 1981.
- Sandoval, I.; D. García; I. Mendoza: «Epidemiología de la marchitez del pimiento por *Phytophthora capsici* y biocontrol de la enfermedad con un biopreparado de *Trichoderma harzianum*», Memorias, II Congreso Latinoamericano de Micología, 23 al 26 de octubre, Instituto Pedro Kourf, La Habana, 1995, p. 132.
- Sandoval, I.; O. López; D. García; I. Mendoza: «*Trichoderma harzianum* (cepa A34): un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomate y del pimiento», *Boletín Técnico* (La Habana) (4): 3, 1995.
- Stefanova, M.; I. Sandoval: «Efectividad de biopreparados de *Trichoderma* spp. en el control de hongos fitopatógenos de suelo», *Boletín Técnico*, (La Habana) (2): 2, 1995.

EVALUACIÓN DE FUENTES NUTRICIONALES ALTERNATIVAS PARA LA REPRODUCCIÓN MASIVA DE LA CEPA LBT-3 DE *BACILLUS THURINGIENSIS* VARIEDAD *KURSTAKI*

Orietta Fernández-Larrea y 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

Se determinó la concentración de esporas y cristales/mL obtenidas después de 48 horas de cultivo agitado en zaranda a 28-30° C de la cepa LBT-3 de *Bacillus thuringiensis* variedad *kurstaki* en 13 medios de cultivos de diferente composición. Los nutrientes ensayados fueron: almidón de maíz, levadura panadera, jugo de pepino, harina de maíz, harina de soya, melaza de caña, mosto de cervecería, fosfato dibásico de amonio, carbonato de calcio y sulfato de potasio, los cuales se utilizaron a diferentes concentraciones y combinaciones. La concentración de esporas y cristales/mL osciló entre $6,5 \times 10^6$ y $6,6 \times 10^9$. El medio compuesto por 35 g/L de levadura torula, 5 g/L de almidón, 2 g/L de fosfato de amonio y 0,1 g/L de sulfato de potasio resultó el mejor. Los bioensayos con larvas del III instar de *Plutella xylostella* demostraron que cuando se utilizaron concentraciones de 10^8 esporas/mL, el porcentaje de mortalidad fue de 100 a las 72 horas para las cuatro variantes de medio de cultivo con las cuales se obtuvieron las concentraciones de esporas y cristales más elevados.

Palabras claves: *Bacillus thuringiensis*, reproducción, medios de cultivo

ABSTRACT

Concentration of spores and crystals/mL obtained after 48 hours of culture agitated in zaranda at 28-30° C of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* LBT-3 strain in 13 culture medium of different composition. Nutrient tested were: starch of corn, yeast baker, cucumber juice, flour of corn, soy flour, cane molasses, brewery must, dibasic ammonium phosphate, calcium carbonate and potassium sulfate, which were used to different concentrations and combinations. The concentration of spores and crystals/mL oscillated between 6.5×10^6 and 6.6×10^9 . The medium composed by 35 g/L of torula yeast, 5 g/L of starch, 2g/L of ammonium phosphate and 0.1 g/L of potassium sulfate were the best. Bioassays with III instar larvae of *Plutella xylostella* demonstrated that when concentrations of 10^8 spores/mL were used the mortality percentage was 100 at 72 hours for the four variants of culture medium with which the higher concentrations of spores and crystals were obtained.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, reproduction, culture medium

INTRODUCCIÓN

La producción de un bioplaguicida a partir de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) requiere de un medio de cultivo que, además de permitir un buen rendimiento de esporas y cristales tóxicos, resulte de fácil adquisición y económico [Bernhard y Utz 1993, Ibarra 1997]. Para lograr esto se reporta el uso de varias fuentes naturales que proveen el nitrógeno y el carbono necesario, así como las sales y otros elementos. Ejemplos de estas fuentes son las harinas de soya, maíz, pescado, licor del remojo del maíz, melazas, sacarosa, levaduras y diversos tipos de almidones [Vanderkar y Dulmage, 1983; Devisetty, 1993; Morris *et al.*, 1996, 1997].

Aun cuando se ha planteado por diversos autores que para cada cepa de *Bt* debe diseñarse un medio de cultivo específico [Dulmage y Rodees, 1971; Muga, 1983; Galán, 1996], también se conoce que algunas fuentes resultan eficaces para la reproducción de diferentes cepas de *Bt* [Bernhard y Utz, 1993; Morris *et al.*, 1995]

Con la finalidad de valorar la posibilidad de utilizar diferentes fuentes nutritivas naturales de fácil adquisición, se diseñaron y evaluaron 13 medios de cultivo a partir de ocho productos naturales diferentes y tres sales inorgánicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepa: Fue empleada la cepa LBT-3 de *Bt* variedad *kurstaki*, perteneciente al cepario del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), la cual fue mantenida en cuñas con agar nutriente en forma de cultivos esporulados a 4° C durante el transcurso de los experimentos.

Condiciones de cultivo: Los cultivos fueron realizados utilizando frascos erlenmeyers de 500mL de capacidad, a los cuales se añadieron 100mL de los diferentes medios de cultivo ensayados. Se cultivaron en condiciones de agitación después de inoculados con 1 mL de una sus-

presión de 10^8 esporas por mL obtenidas por el arrastre de un cultivo esporulado con solución salina estéril de NaCl al 0,85%. La agitación se llevó a cabo durante 48 horas a 28-30° C y 140 rpm en una zaranda orbital termostataada,

Los medios ensayados (Tabla 1) fueron esterilizados a 121° C durante 40 minutos, con excepción del que contenía jugo de pepino, que se esterilizó durante 20 minutos a igual temperatura. En todos los medios el valor del pH inicial se ajustó a 6,8.

Tabla 1. Composición de los medios de cultivo ensayados

Nutriente	Medios												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Almidón	20	10			3			5	2,5	10			
Levadura torula			30	30	35	20		35	5	15	35	5	5
Levadura panadera							10		2,5	5		2,5	2,5
Jugo de pepino	200	200											
Harina de maíz			15	25									
Harina de soya				5				3			5		
Melaza caña						10	20					2,5	10
Mosto cerveza						10							
PO ₃ H(NH ₄) ₂					2	2	2	2			2		
CaCO ₃	0,3		3	3		0,3				0,3			
K ₂ SO ₄					1		1	1			1		

Análisis de las muestras: Los análisis se realizaron en los cultivos de 48 horas, en los cuales se determinó la concentración de esporas y cristales por mililitro, mediante conteo en Cámara de Neubauer bajo un microscopio de contraste de fase a 400 x aumento. Las características de los cultivos y la verificación de la presencia de esporas y cristales se determinó mediante observación al microscopio a 1 000 x de una preparación teñida con solución de cristal violeta al 0,5%.

Bioensayos: Se emplearon larvas del III instar de *Plutella xylostella*. El alimento consistió en hojas de col impregnadas con una solución acuosa que contenía 10^8 esporas y cristales/mL, obtenida a partir del cultivo de las cuatro mejores variantes de los medios ensayados. El conteo de larvas muertas se realizó a las 24, 48 y 72 horas de montado el bioensayo. Se montaron tres réplicas por variante con 10 insectos cada una; se mantuvo un testigo en el cual el alimento se impregnó sólo con agua. Fue determinado el porcentaje de mortalidad por la fórmula de Abbott.

Análisis estadísticos: Los valores de las concentraciones de esporas y cristales obtenidos fueron transformados a valores logarítmicos, y las medias calculadas se sometieron a un análisis de varianza simple y comparación de las medias por la prueba de Duncan con un 95% de significación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un criterio importante para la producción de *Bt* es la cantidad de endotoxina o cristal tóxico que se produzca y su actividad; esta producción se encuentra asociada

a la fase de esporulación durante el desarrollo de esta especie bacteriana, por lo cual la determinación de la concentración de esporas y cristales puede resultar un criterio útil para la evaluación y selección primaria de un medio de producción para *Bt* [Bernhard y Utz, 1993].

En la Tabla 2 se muestran los valores de las concentraciones obtenidas en las diferentes variantes de medios de cultivo ensayados. Los valores más elevados corresponden con las variantes 5, 11, 6 y 3, en las cuales coincide que la fuente de nitrógeno es la levadura torula a concentraciones entre 20-35 g/L, y en estos mismos medios la fuente de carbono resultó baja en las variantes 3 y 11, a diferencia de los medios 5 y 6, en los cuales se empleó más de una fuente de carbono.

La presencia de sales que pudieran actuar como tampón no se encontraban en las mejores variantes, lo cual indica que los nutrientes utilizados pueden suministrar las sales necesarias para el buen desarrollo de la cepa empleada.

Los resultados del bioensayo (Tabla 3) demostraron que los cultivos obtenidos con las cuatro mejores variantes de medios producían ciento por ciento de mortalidad a las 72 horas en *Plutella xylostella* cuando se emplearon concentraciones de 10^8 esporas/mL. Este resultado confirma la validez de los medios seleccionados, ya que Dulmage (1970) alertó que no necesariamente una elevada concentración de biomasa de *Bt* compuesta por esporas y toxinas, tiene que coincidir con una elevada actividad insecticida, y que en todos los casos esta debe ser comprobada mediante bioensayos, aun cuando resulte válido utilizar el criterio de concentración para la selección de un medio en una primera etapa de trabajo.

Tabla 2. Concentraciones de esporas y cristales en los diferentes medios de cultivo ensayados

Medio	Concentración esporas y cristales /mL
5	$6,4 \times 10^9$ a
11	$5,8 \times 10^9$ a
6	$4,4 \times 10^9$ ab
3	$3,75 \times 10^9$ abc
10	$2,7 \times 10^9$ bc
4	$2,3 \times 10^9$ c
9	$1,3 \times 10^9$ cd
7	$6,68 \times 10^8$ d
12	$5,6 \times 10^8$ d
8	$5,22 \times 10^8$ d
1	$4,46 \times 10^8$ d
13	$4,04 \times 10^8$ d
2	$6,46 \times 10^6$ e
	CV 12%
	ES 0,18

Tabla 3. Porcentaje de mortalidad de *Plutella xylostella* con los cultivos de *Bt* de las cuatro mejores variantes

Variante (medio)	Por ciento de mortalidad 24h	Por ciento de mortalidad 48h	Por ciento de mortalidad 72h
5	40	80	100
11	35	80	100
6	30	70	100

Los resultados obtenidos concuerdan con otros autores, los cuales indican que la fuente de nitrógeno resulta esencial para una buena producción de esporas y cristales, y reportan concentraciones de 10-40 g/L en medios industriales [Vanderkar y Dulmage 1983; Divesitty, 1993; Bernhard y Utz, 1993; Ibarra, 1997; Morris, 1997].

Estos mismos autores coinciden en que las harinas de soya, maíz, semilla de algodón y otros granos resultan las mejores fuentes de nitrógeno para la producción de *Bt*, aunque también han utilizado algunos tipos de levaduras, de las cuales se considera que la mejor resulta la levadura panadera [Ejiofar y Okater, 1989; Yoon *et al.*, 1987]. Por su parte, Salama *et al.* (1983) obtuvieron concentraciones más elevadas de esporas y cristales cuando emplearon levadura forrajera, mientras que otros consideran que la adición de extracto de levadura en los medios de producción de *Bt* incrementan los rendimientos de esporas y cristales [Vanderkar y Dulmage, 1983; Goldberg *et al.*, 1980; Xie *et al.*, 1990]

Las sales minerales tales como fosfatos, sulfatos y carbonatos se utilizan frecuentemente en los medios de producción de *Bt*; en el caso de los fosfatos se considera importante su efecto tampón para mantener el equilibrio del pH [Divesitty 1993]. Se reporta también la importancia del calcio y el manganeso para la esporulación de *Bt* [Bernhard y UTZ 1993; Foda *et al.*, 1995].

En relación con los carbohidratos, tanto los monosacáridos como la glucosa, los di y polisacáridos como los almidones y sacarosa, y las fuentes combinadas como las melazas, han sido muy utilizados en estas producciones, pero en todos los casos si la concentración resulta elevada puede conducir a una brusca disminución de los valores del pH con la consiguiente inhibición del crecimiento y esporulación [Vanderkar y Dulmage, 1983; Foda *et al.*, 1995; Galán *et al.*, 1996]. Otros efectos tales como alargamiento del cristal fueron observados por Sherer *et al.* (1980) cuando la concentración de carbohidratos se incrementó de 0,1 a 0,6 %. Por su par-

te, Carreras *et al.* (1998) encontraron que concentraciones superiores a 15 g/L de carbohidratos inducían lisis por fago en una cepa lisogénica de *Bt*, lo cual no ocurría a concentraciones de 10 g/L.

CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos nos permiten considerar la posibilidad de utilizar fuentes nutritivas naturales alternativas de fácil adquisición y económicas para la producción industrial de *Bt*.
- Las mejores fuentes resultaron la levadura forrajera, la harina de soya y el almidón para la producción de la cepa LBT-3 de *Bacillus thuringiensis* variedad *kurstaki*.

REFERENCIAS

- Bernhard K.; R. Utz: «Production of *B. thuringiensis* Insecticides for Experimental and Commercial Uses in *Bacillus thuringiensis* an Environmental Biopesticides», *Theory and Practice*, Ed. Enswistle, 1993, pp. 75-83.
- Carreras, B.; O. Fernández-Larrea; M. Stefanova: «Influencia de la fuente de carbohidratos en la expresión de lisis por fago de *B. thuringiensis*», *Rev. Prot. Vegetal* 13 no. 3, 1998, pp. 137-142.
- Diversity, B. N.: «Production and Formulation Aspects of *Bacillus thuringiensis*», Proceeding of the 2nd Canberra Meeting of *B. thuringiensis*, Sep.193, pp. 95-101.
- Dulmage, H. T.; R. A. Rhodes: «Production of Entomopathogens in Artificial Media», *Microbial Control of Insects and Mites*, Ed. Burgess and Hussey, Acad. Press. London, 1971, pp. 507-538.
- Ejiofor A; N. Oaker: «Production of Mosquitoes Larvicidal *B. thuringiensis* Serotypes H14 on Raw Material Media from Nigeria», *J. Applied Bacteriol* 67(1) 5-10, 1989.
- Foda, M. S; H. Salama; A. Seleem: «Factors Affecting Growth Physiology of *B. thuringiensis*», *Eur. Journal Microbiol. And Biotechnol.* 22:50-52, 1995.
- Galán, L. J.; J. A. García; M. E. Santa; I. Quintero: «Producción de *Bacillus thuringiensis*», *Avances recientes en la biotecnología de Bacillus thuringiensis*, Ed. Galán-Rodríguez-Olvera, Universidad Nuevo León, México, 1996, pp. 139-155.
- Goldberg, I.; B. Sneh; E. Battat; D. Klein: «Optimization of Medium for High Yields Production of Spores-Crystal Preparation of *B. thuringiensis* Effective Against the Egyptian Cotton Leaf Worm *Spodoptera littoralis*», *Biotechnol. Letters* 2:419-426, 1980.
- Ibarra, J.: «Producción, control de calidad y uso de *B. thuringiensis*», Memorias II Curso-Taller de Producción Masiva de Agentes de Control Microbiano, Tecomán, México 9-11 abril 1997. pp. 75-86.
- Morris, O. N.; P. Kanagaratman; V. Converse: «Effect of Cultural Conditions on Spores-Crystal Yields and Toxicity of *B. thuringiensis*», *Journal of Inv. Pathology* 77:129-136, 1996.
- Morris O. N.; P. Kanagaratman; V. Converse: «Suitability of 30 Agricultural Products and By-Products as Nutrient Source for Laboratory Production of *B. thuringiensis* Subsp Aizawai», *Journal of Inv. Pathology* 70: 113-120, 1997.
- Muga, G. M.: «Toxicidad de *B. thuringiensis* GM-2 en diferentes medios de cultivo», Tesis Fac. Ciencias Biológicas UANL, Nuevo León, México, 1983.
- Salama, H. S; M. Foda; S. Selim: «Utilization of Fodder Yeast and Agroindustrial Byproducts in Production of Spores and Endotoxins from *B. thuringiensis*», *ZH.Mikrobiol.* 138:553-563, 1983.
- Scherer, P.; P. B. Luthy; V. Thrump: «Production of Endotoxins by *B. thuringiensis* as a Function of Glucose Concentration», *Appl. Microbiol.* 25: 644-646, 1980.
- Vanderkar, H. M.; H.T. Dulmage: *Guidelines for Production of B. thuringiensis H14*, UNDP/World Bank/WHO, Geneva, Switzerland, 1983.
- Xie, T.; J. Jung; B. Zhong; G. Wu: «Commercial Production and Application of *B. thuringiensis* insecticides in China», Proceeding Vth International Colloq. Invertebrate Pathology, Adelaide, Australia, 1990, pp. 16-25.
- Yoon, K; H. Han; D. Yu: «Production of the Spores-Crystal Complex *B. thuringiensis* Var. *Israelensis* with Some Natural Media», *Korean Journal Entomol.* 17(4): 237-243, 1997.

EVALUACIÓN DE CEPAS DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS.) VUILL. PARA EL COMBATE DE *ATTA INSULARIS* (GÜERIN)

Zolla Trujillo, R. Pérez, Miriam López, Carmen N. Zamora y Cristina Ocano

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 condiciones de laboratorio se valoró el efecto de diferentes cepas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., perteneciente a la micoteca del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), sobre obreras de *Atta insularis*. Los ensayos realizados demostraron que la cepa MB-1 resultó efectiva para el combate de *Atta insularis*, con valores de 76 y 100 % de efectividad técnica, a las 24 y 72 horas posteriores a los tratamientos, valores que difirieron del resto de las variantes en estudio. Esta cepa obtuvo valores superiores de conidiogénesis en los cadáveres de los insectos, en comparación con el resto de las cepas estudiadas, lo que indica el efecto patogénico de este entomopatógeno sobre esta plaga.

Palabras claves: *Atta*, cepas, *B. bassiana*, entomopatógeno

ABSTRACT

In laboratory conditions the effectiveness of workers ants of *Atta insularis* was evaluated from different strains of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. all strains belong to the national the entomopathogenic fungi cultive collection. The experiments have shown that the MB-1 strain is effective to control *Atta insularis*, with a 76 and 100 % of technical effectiveness in 24 and 72 hours after the treatments. These percentage differ in relation to previous studies carried out using others strains of the same fungus. This *B. bassiana* strains gave a better potential control with higher percentages of mortality showing that pathogenic effect on the pest.

Key words: *Atta*, strains, *B. bassiana*, entomopathogenic

INTRODUCCIÓN

Atta insularis (Güerin) es la bibijagua más común que habita nuestra isla, y se encuentra distribuida en todo el territorio nacional incluyendo la Isla de la Juventud. Representa un grave peligro para diferentes cultivos, ya que estos insectos pueden defoliar plantas completas en poco tiempo debido a que cortan las hojas para llevarlas a sus nidos, donde cultivan un hongo del cual se alimentan; prácticamente ataca cualquier especie vegetal. Esta plaga constituye un gran azote en las viviendas, ya que en las excavaciones que realizan para construir sus nidos afectan los cimientos de estas y los sembrados de patios y jardines. Esta plaga es activa durante todo el año.

La organización social, la estructura de la colonia, la comunicación sobre localización, cantidad y cualidad del forrajeo y la defensa del territorio, hace que se torne una plaga de difícil control [Vilela y Della-Lucia, 1987].

Para combatir este insecto se han usado muchos métodos, entre ellos el combate por medios mecánicos, quemadura, inundación, gases venenosos, aplicando soluciones insecticidas a las entradas de los nidos y, por último, el uso del cebo envenenado nombrado Mirex [Hoh y Roche, 1975].

El método más generalizado para el combate de esta plaga ha sido exclusivamente con productos químicos, con la desventaja de poseer alta toxicidad, destrucción de la fauna, incluyendo enemigos naturales, además de seleccionar genotipos resistentes a estos productos [Cherret, 1986], lo cual hace necesario desarrollar técnicas de lucha biológica contra el género *Atta*, por ofrecer un combate más efectivo y duradero sobre este insecto plaga [De Bach, 1968; Gallo *et al.*, 1978].

Los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. y *Metarhizium anisopliae* (Metc) Sor, son los causantes de las llamadas enfermedades moscardinas, que atacan a más de doscientas especies de artrópodos [De Bach, 1969]. Ambos patógenos pertenecen a la familia Moniliaceae del orden Moniliales, que incluye la clase Deuromicotina [Robert y Yendol, 1970; Shasvel, 1976].

Machado *et al.*, (1988), en estudios realizados sobre la inoculación de *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre algunas especies de *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae), observaron que, a partir de los tres y diez días de aplicados estos patógenos, las colonias de estas especies abandonaron los huecos y se redujo la actividad externa.

La infección del hospedante se produce a partir de la germinación de las esporas de los entomopatógenos sobre la cutícula del insecto, seguida de la penetración del tubo germinativo en el hemocele, donde se desarrollan hifas hasta la muerte del insecto, después de lo cual las conidiosporas salen a la cutícula y cubren al hospedante [CMI, 1979; WHD, 1980].

Teniendo en cuenta estos antecedentes, el objetivo de este trabajo estuvo encaminado a evaluar cepas del hongo entomopatógeno *B. bassiana* en condiciones de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el período comprendido entre marzo y agosto de 1994 se evaluaron diferentes cepas del hongo entomopatógeno *B. bassiana* sobre *Atta insularis* en el Departamento de Toxicología del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal.

Para evaluar el efecto de las cepas en estudio se utilizaron obreras de *Atta insularis* colectadas en áreas de cultivos afectados por esta plaga. Las variantes valoradas se describen a continuación:

Variantes	Concentración de conidios/mL		
MB-1	$1,2 \times 10^7$	$1,2 \times 10^8$	$1,2 \times 10^9$
MB-4	$1,7 \times 10^7$	$1,7 \times 10^8$	$1,7 \times 10^9$
MB-5	$1,84 \times 10^7$	$1,84 \times 10^8$	$1,84 \times 10^9$
MB-9	$1,01 \times 10^7$	$1,01 \times 10^8$	$1,01 \times 10^9$
MB-16	$1,2 \times 10^7$	$1,2 \times 10^8$	$1,2 \times 10^9$
Testigo	-		

A partir de las colonias de los hongos mantenidas en medios de cultivo se prepararon las suspensiones de conidios con agua estéril.

Para cada variante se utilizaron cinco placas Petri con papel de filtro, humedecido con 2 mL de la suspensión de conidios, y para el testigo, 2 mL de agua estéril; posteriormente se depositaron 10 obreras de *A. insularis* por cada placa. Para mantener la humedad se añadieron 2 mL de agua estéril con el objetivo de facilitar el desarrollo del hongo. Los insectos se mantuvieron con régimen de ausencia de alimentos.

La experiencia se realizó en un local con temperaturas de 24°C y un fotoperíodo de 11 horas luz.

Se realizaron observaciones diarias sobre la mortalidad. Los insectos muertos se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0,5% y lavado con agua estéril, y fueron mantenidos en cámara húmeda para comprobar la emergencia del hongo entomopatógeno.

La mortalidad se calculó mediante la fórmula de Abott [Ciba-Geigy, 1981]. Los datos de las evaluaciones se transformaron a \sqrt{xy} procesados mediante análisis de varianza con un 95 % de confiabilidad [Snedecor, 1948] y se establecieron las diferencias significativas según las pruebas de Newman-Keuls [Dagnelle, 1984].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todas las cepas del entomopatógeno *B. bassiana* valoradas para el combate de *Atta insularis* alcanzaron efectividad biológicas superiores al 50%. La cepa MB-1

mostró los mejores resultados, ya que a las 72 horas logró el ciento por ciento de mortalidad y mayor porcentaje de insectos micosados, lo cual se observó a partir de los seis días posteriores a los tratamientos, valores que difirieron significativamente del resto de las variantes en estudio (Tabla 1).

Los resultados obtenidos con la cepa MB-1 de *B. bassiana* sobre obreras de *Atta insularis* indicaron que los conidios de este entomopatógeno germinaron sobre la cutícula del insecto y penetraron en su interior para provocar su muerte, verificándose el proceso de conidiogénesis, lo que evidencia la acción patógena de esta cepa.

Cada cepa valorada mostró variabilidad en relación con el porcentaje de mortalidad e insectos micosados. La explicación de esto puede estar relacionada, según lo planteado por Tigano y Riba (1990) en que cada línea de *B. bassiana* se caracteriza por un conjunto de isoesterasas que aparecen en forma de bandas, y constituye un perfil enzimático. Estas bandas muestran una variabilidad importante por especie. Es importante el número de isoesterasas tanto a nivel de especies como de líneas, ya que esto puede estar relacionado con la adaptabilidad ecológica y parasítica de estos hongos [Boucías y col., 1982].

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Diehl Fleig y Luchesse (1991) en la selección de diferentes líneas del hongo entomopatógeno *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre *Atta sexdens piriiventris*. Estos autores observaron reducción en el tiempo letal medio entre 2,72 y 3,33 días. Alves y Sosa (1988) constataron pa-

togenicidad de una línea de *B. bassiana* y *M. anisopliae* aisladas de la reina *Atta sexdens rubripilosa*, y no se observaron diferencias significativas sobre la sensibilidad entre soldados y obreras de la misma especie.

La acción patogénica de la cepa MB-1 sobre *A. insularis* observada en nuestra experiencia se verificó con la esporulación del hongo sobre la cutícula del insecto, lo que evidencia la agresividad y virulencia de este entomopatógeno.

Tabla 1. Efecto de diferentes cepas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre obreras de *Atta insularis* Gûerin

Variantes	Concentración de conidios/mL	Porcentaje de mortalidad		Insectos micosados (%)
		48 horas	72 horas	
MB-1	1,2 x 10 ⁷	76 bc	100 a	80
MB-1	1,2 x 10 ⁸	80 b	100 a	100
MB-1	1,2 x 10 ⁹	92 a	100 a	100
MB-4	1,7 x 10 ⁷	32 cf	64 bc	8
MB-4	1,7 x 10 ⁸	39 def	72 bc	8
MB-4	1,7 x 10 ⁹	64 bc	76 bc	12
MB-5	1,84 x 10 ⁷	24 f	68 bc	44
MB-5	1,84 x 10 ⁸	44 bcdef	76 bc	44
MB-5	1,84 x 10 ⁹	56 bcdef	80 bc	32
MB-9	1,01 x 10 ⁷	24 f	72 bc	28
MB-9	1,01 x 10 ⁸	60 bcdef	80 bc	32
MB-9	1,01 x 10 ⁹	64 bcde	84 b	8
MB-16	1,2 x 10 ⁷	44 cdef	68 c	64
MB-16	1,2 x 10 ⁸	32 def	72 bc	52
MB-16	1,2 x 10 ⁹	64 bcd	84 b	56
Testigo	-	8 g	8 d	0

CV = 21,1 %
ES = 0,35

CV = 17,0 %
ES = 0,37

CONCLUSIONES

• La cepa MB-1 del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* alcanzó los mejores resultados de efectividad sobre *A. insularis*, con la que se obtuvo valores superiores de conidiogénesis con respecto al resto de las cepas evaluadas.

REFERENCIAS

- Alves, S. V.; G. D. R. Sosa: «Virulencia do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Beauveria bassiana* (Bals. Vuill) para duas castas de *Atta sexdens rubripilosa* [Foul, 1908]», *Poliagro* 5 (1): 1-9, 1983.
- Boucías, D. G.; E. A. Schoborg; G. E. Allen: «The Relative Susceptibility of Six Noctuid Species to Infection by *Nomuraea rileyi* Isolate from *Anticarsia gemmatilis*», *J. Invertebrate Pathology* 39: 238-240, 1982.
- Cherrett, J. M.: *The Control of Injurious Animals*, London, 1986.
- C. M. I.: *Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria* no. 609-612, 1979.
- Ciba-Geygi: *Manual de ensayos de campo*, 1981.
- Dagnelie, P.: *Theorie et Methodes Statistiques*. (Grenbloux): Les Presses Agronomiques, vol. 2, 1984, pp. 242-250.
- Da Silva, E. M.; Elena Diehl-Fleig: «Avaliação de diferentes linhagens de fungos entomopatogênicos para el controle da Formiga *Atta sexdens piriventris* [Santochi, 1919] (Hymenoptera: Formicidae)», *Ann. Soc. Ent. Brasil* 17 (2): 263-269, 1988.
- De Bach, P.: *Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas*, Compañía Editorial Continental, México, 1969, p. 949.
- Diehl-Fleig, Elena; María Emilia de Paula Lucchese: «Reacción en el comportamiento de operarias de *Acromyrmex striatus* (Hymenoptera: Formicidae) en presencia de hongos entomopatógenos», *Revista Brasileña de Entomología* 35(1): 101-107, 1991.
- Gallo, D.; O. Nakano; S. Silverira Nito; R. P. L. Cavalho; S.B. Batista: *Manual de entomología agrícola*, Sao Paulo, Ed. Agron. Ceres, 1978.
- Hoh, I.; R. Roche: «Estudios preliminares sobre la biología, hábitos y métodos de lucha de la bibijagua *A. insularis*», Simposium sobre la sanidad vegetal en el cultivo de cítricos, Isla de la Juventud, 1975.
- Machado, Vilmar; Elena Diehl-Fleig; Marcia Eloisa da Silva; María E. P. Lucchese: «Reacciones observadas en colonias de algunas especies de *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) inoculadas con hongos entomopatógenos», *Ciencia y Cultura* 40(11): 1106-1108, 1988.
- Roberts, D. W.; G. W. Yendot: «Use of Fungi for Microbial Control of Insect and Mites», Academies Press Sendon, New York, 1970, pp. 125-149.
- Shabelli, H. G.: «Oral Infestions of *Hylobius* Paper by *Metarhizium anisopliae*», *Journal of Invertebrate Pathology* 27(23): 377-383, 1976.

Snedecor, G. W.: *Métodos de estadística. Su aplicación a experimentos en agricultura y biología*, Acme Agency. Soc., Buenos Aires, 1948.

Tigano Miriam, S.; G. Riba: «Polimorfismo das -a-esterasas e da patogenicidade do Fungo, Entomopatogénico *Beauveria bassiana* (Bals.) (Vuill.)», *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* no. 2., 1990, pp. 315-327.

Vilela, E. F.; T. M. C. Deila-Lucia: *Feromônias de insectos: biologia, química e emprego no manejo de pragas*, Imprensa Universidade Federal de Viçosa, 1987.

WHD: «Report to World Health Organization VBC 8-758», documento mecanografiado, Ginebra, Suíza, 1980.

COMPORTAMIENTO DE LAS POBLACIONES DE LA CHINCHITA *CYRTOPELTIS TENUIS* REUTER (HETEROPTERA: MIRIDAE) EN EL CULTIVO DEL TOMATE INFESTADO CON LA MOSCA BLANCA *BEMISIA TABACI* (HOMOPTERA: ALEYRODIDAE)

L. L. Vázquez y Dinorah López

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

Los microheterópteros de la familia Miridae tienen hábitos zoofitófagos, ya que se alimentan de plantas y predan algunos insectos. Esta particularidad ha sido estudiada por diferentes autores, los que le atribuyen poca importancia como fitófagos y una eficiente actividad depredadora. De hecho, son utilizados en programas de manejo integrado contra moscas blancas, trips y otras plagas.

Desde que se presentaron los problemas con moscas blancas en cultivos agrícolas a finales de 1989, la chinchita *Cyrtopeltis tenuis* Reuter (Miridae) se observa con relativa frecuencia, asociada a poblaciones de *Bemisia tabaci*. Por ello, en áreas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en la agricultura urbana de Ciudad de La Habana y de diferentes cultivos agrícolas en La Habana, se realizaron evaluaciones de la incidencia de esta especie y su relación con la presencia de la mosca blanca. En el huerto urbano estudiado, las siembras de tomate correspondientes a los períodos menos calurosos (febrero-abril y octubre-diciembre) mostraron las mayores densidades poblacionales de la chinchita depredadora. En todas las siembras las poblaciones más altas se presentaron en la etapa final del cultivo, en coincidencia con mayor follaje y flores en la planta, así como mayores poblaciones de larvas de la mosca blanca. En áreas de la provincia de La Habana, la chinchita es frecuente, principalmente en las localidades de Güines, Melena del Sur, Alquizar y San Antonio de los Baños, donde predominó en campos de tomate, pepino (*Cucumis sativus*) y papa (*Solanum tuberosum*).

Palabras claves: Heteroptera, Miridae, *Cyrtopeltis tenuis*, Homoptera, Aleyrodidae, *Bemisia tabaci*, tomate, depredador

ABSTRACT

The microheteroptera from the Miridae family have zoophytophagous habits as they feed on plants and also predate some insects. This particularity has been studied by different authors who do not give them much importance as phytophages but think they are efficiently active as predators. In fact, they are used in the integrate management of whiteflies, thrips and other pests. Since the appearance of problems with whiteflies in agricultural crops at the end of 1989, the minute bug *Cyrtopeltis tenuis* Reuter was quite frequently observed associated with populations of *Bemisia tabaci*. This is why, in tomato (*Lycopersicon esculentum*) areas in the urban agriculture of Havana City and different crops in the Havana province, evaluations were made of the incidence of this species and its relation with the whitefly presence. In the urban vegetable garden we studied, the tomato beds corresponding to the less warm period (february-april and october-december) showed the highest densities of the minute predatory bug. In all fields, the highest populations appeared in the final stage of crop development, coinciding with the most abundance of foliage and flowers in the plants, as well as with the highest populations of whitefly larvae. In Havana province areas the minute bug is frequently, mainly in Güines, Melena del Sur, Alquizar and San Antonio localities, where was more predominant in tomato, cucumber (*Cucumis sativus*) and potato (*Solanum tuberosum*) fields.

Key words: Heteroptera, Miridae, *Cyrtopeltis tenuis*, Homoptera, Aleyrodidae, *Bemisia tabaci*, tomato, predator

INTRODUCCIÓN

La mosca blanca (*Bemisia tabaci*) se considera en la actualidad una de las plagas más importantes del cultivo del tomate, principalmente por su efectividad en la transmisión de geminivirus. La lucha contra esta plaga en Cuba se ha sustentado en un programa de manejo integrado, en el que se establecen diferentes tácticas agrotécnicas, legales y de control, básicamente la utilización de tabaquina (suspensión acuosa del polvo de la hoja del tabaco) y de *Verticillium lecanii* (biopreparado de producción nacional) [Murguido *et al.*, 1997].

Aunque se han referido varias especies de biorreguladores de esta plaga [La Rosa *et al.*, 1992], se ha señalado que los parasitoides no tienen un efecto significativo so-

bre las poblaciones; sin embargo, no se ha evaluado la efectividad de los depredadores.

En otros países se ha documentado el efecto de los míridos (Heteroptera) depredadores, principalmente de los géneros *Macrolophus*, *Cyrtopeltis* y *Dicyphus* [Goula y Alomar, 1994]. Estos microheterópteros presentan la particularidad de su régimen alimenticio mixto, zoófago y fitófago [Dolling, 1991], aunque según refiere Puchkov (1961), citado por Goula y Alomar (1994), la fitofagia no necesariamente implica un daño económico para el cultivo. Y agregan que, aún así, la relación entre la abundancia de este tipo de depredadores con los niveles de daños no es simple, habiéndose observado

que la nutrición en la planta está relacionada con la falta de presa alternativa.

En Cuba existe una interesante referencia sobre este particular, pues Bruner y Scaramuzza (1938) observaron la presencia de *Cyrtopeltis varians* Dist. en el tabaco al final de la temporada, especialmente en los lotes florecidos para semilla. Estos autores citaron que los cosechadores no les atribuían importancia como fitófagos; no obstante, conocían que chupaban también los jugos internos de insectos pequeños y consideraban que esta chinchita resultaba más útil que dañina, pues la habían observado con frecuencia chupando huevos y larvitas pequeñas del cogollero del tabaco (*Heliothis virescens* F.). Apuntaban además que la colectaron en el tomate, pero que en esta planta encontraron más comúnmente a *C. tenuis*.

Precisamente, ante la presencia reiterada de una chinchita de esta familia en las áreas de tomate de La Habana y en los huertos urbanos de Ciudad de La Habana, consideramos oportuno profundizar en el comportamiento de las poblaciones en tomate infestado con moscas blancas.

MATERIALES Y MÉTODOS

En 1994 se evaluaron cuatro unidades de 20 canteros cada una en el huerto urbano (organopónico) de la DAAFAR, Ciudad de La Habana, que fueron plantadas con tomate, a saber: unidad 41 (variedad INCA 70, de febrero a abril), unidad 37 (variedad Lignon, de abril a junio); unidad 6 (variedad Placero, de mayo a junio) y unidad 37 (variedad Rossell, de octubre a diciembre).

En cada unidad se efectuaron muestreos cada 7-10 días en cinco canteros y cinco plantas por cantero al azar. Cada planta fue observada durante aproximadamente un minuto, anotándose el número de adultos de moscas blancas y de la chinchita; además, se tomaban tres hojas al azar por planta, las que se trasladaban al laboratorio para cuantificar el número de huevos y ninfas de ambos insectos, labor que se realizó con el auxilio de

un microscopio-estereoscopio. De igual forma se registraron todas las aplicaciones de insecticidas y bioplaguicidas realizadas en dichas unidades.

Durante este año y los siguientes se visitaron productores de tomate y otras hortalizas en los municipios de la provincia de La Habana, donde se realizaron observaciones y evaluaciones de la presencia de inmaduros de la mosca blanca y de poblaciones de la chinchita.

Los especímenes de míridos recolectados fueron identificados por el Luis M. Hernández del Instituto de Ecología y Sistemática, y por comparación con la colección entomológica de dicho instituto.

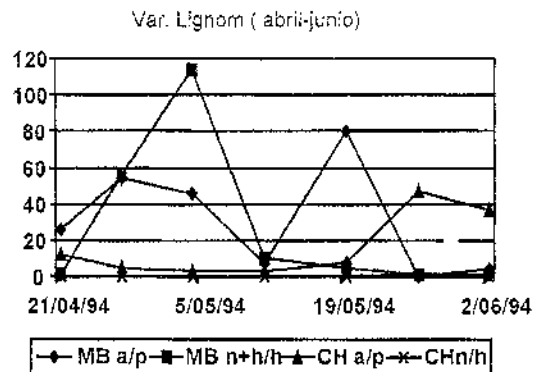
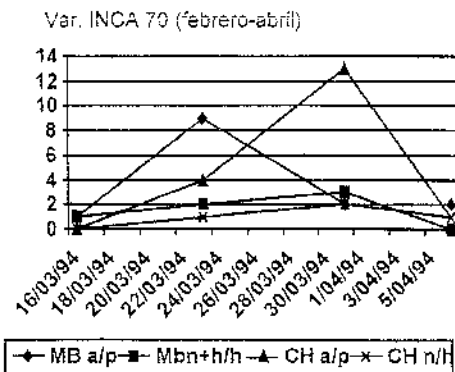
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las recolectas de la chinchita mírida se correspondieron con la especie *Cyrtopeltis tenuis* Reuter (Heteroptera: Miridae: Dicyphinae).

Las ninfas de *C. tenuis* son de coloración verde-carmelitas, destacándose el carmelita claro en los extremos de los muñones de alas, así como el de las patas y las antenas, siendo por tanto más verdosos el pronoto y el abdomen.

Los adultos miden unos cuatro milímetros de longitud. La cabeza con el tilo, los ojos y una banda en el borde posterior son de coloración negra. Las antenas presentan también bordes negros en cada segmento. El pronoto se muestra algo oscurecido en los ángulos externos posteriores. El escutelo es oscuro en el ápice y el corion es algo oscuro en su borde externo. Los hemiólitros son grisáceos, translúcidos, con algunas manchas oscuras. Las patas son grisáceas, con la base y la punta de las tibias, así como los tarsos oscurecidos.

En el huerto evaluado se presentó un comportamiento diferente para las fechas de siembra del tomate, pues en general los períodos menos calurosos mostraron las mayores densidades poblacionales de la chinchita, como se apreció en las unidades cultivadas en febrero-abril (Fig. 1a) y octubre-diciembre (Fig. 1d), en contraste con las de mayo-julio (Fig. 1c) en que se mantuvieron bajas.

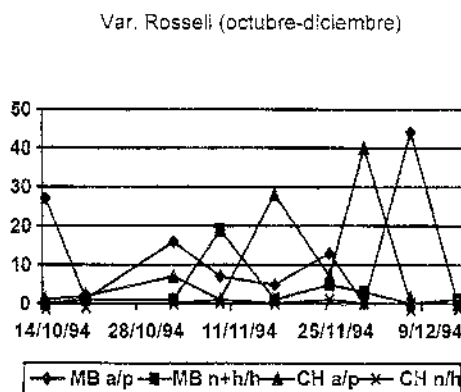
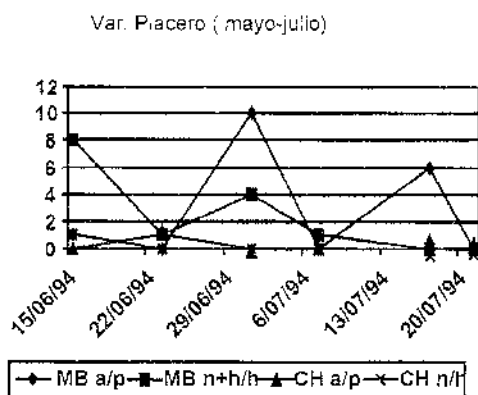


Figuras 1a y 1b. Comportamiento de las poblaciones de *Bemisia tabaci* y *Cyrtopeltis tenuis* en tomate cultivado en huertos urbanos (Ciudad de La Habana, 1994).

Desde luego, en todas estas siembras se observaron bajas poblaciones en la etapa inicial del cultivo, debido a la protección realizada contra *Bemisia tabaci* en el periodo crítico, que sin duda tuvo un efecto sobre las poblaciones de la chinchita; no obstante, como se demuestra en las Figs. 1a, 1b y 1d, este insecto se recupera y manifiesta un incremento de sus poblaciones hacia el período de

floración-fructificación, en coincidencia con la disminución en el uso de insecticidas.

Aquí es necesario apuntar que las siembras continuas pudieran favorecer el movimiento de las poblaciones de *C. tenuis*, lo cual se observa en las Figs. 1a y 1c, donde hubo una correspondencia entre las poblaciones de final e inicio de dichas unidades respectivamente.



Figuras 1c y 1d. Comportamiento de las poblaciones de *Bemisia tabaci* y *Cyrtopeltis tenuis* en tomate cultivado en huertos urbanos (Ciudad de La Habana, 1994)

Respecto a la relación entre la chinchita y la mosca blanca (Tabla 1), en el cultivo de febrero-abril (Fig. 1a) *Bemisia tabaci* presentó índices bajos en sus colonias (0,14 ind/hoja), al igual que las poblaciones de ninfas de *Cyrtopeltis tenuis*, mientras que los adultos de esta chinchita se incrementaron hacia el final del cultivo. En la siembra de abril-junio (Fig. 1b) hubo mayor índice de mosca

blanca (2,69 ninfas/hoja), y sin embargo las ninfas de *C. tenuis* se presentaron en bajas poblaciones, lo que pudiera estar influido por las dos aplicaciones de insecticidas realizadas al inicio del cultivo, pues los adultos incrementaron también sus poblaciones al final. Desde luego, aquí se puede apreciar claramente una aplicación poco efectiva del insecticida Tamarón.

Tabla 1. Valores medios de las poblaciones de inmaduros de *Bemisia tabaci* y de ninfas y adultos de *Cyrtopeltis tenuis* en las diferentes unidades (siembras) evaluadas

Periodo de cultivo	<i>Bemisia tabaci</i>	<i>Cyrtopeltis tenuis</i>	
	Huevos ÷ ninfas/hoja	Ninfas/hoja	Adultos/planta
Febrero-abril	0,14	0,1	1,71
Abril-junio	2,69	0,02	2,49
Mayo-julio	0,21	0,02	0,01
Octubre-diciembre	0,33	0,03	0,95

Particularmente, la unidad cultivada en mayo-julio (Tabla 1, Fig. 1c), presentó los menores índices para ambas especies, quizás por el hecho de que las condiciones climatológicas no resultaron favorables o debido a las frecuentes aplicaciones de bioplaguicidas a base de *Verticillium lecanii*, que pudieran tener un efecto también sobre la chinchita, lo que requiere ser comprobado.

Finalmente, la siembra de octubre (Fig. 1d) presentó bajos índices de ninfas de ambas especies, mientras que los adultos de la chinchita también manifestaron un incremento en el período floración-fructificación.

Este comportamiento, sin duda influido por el uso de insecticidas y quizás la variedad de tomate cultivada, argumenta una cierta correspondencia entre los índices poblacionales en colonias de *Bemisia tabaci* de ninfas de

C. tenuis, así como entre la etapa de floración-fructificación del tomate y altas poblaciones de adultos de *C. tenuis*, lo que indica que efectivamente la chinchita parece actuar como reguladora de las poblaciones de la mosca blanca, tal y como cita Torres del Castillo (1993) al señalar que su acción contra la mosca blanca depende de la densidad de esta, por lo que su inclusión en programas de lucha todavía es discutida, dado su efecto sobre la planta cuando las poblaciones de moscas blancas disminuyen.

Al respecto, Goula y Arno (1994) refirieron que estos miridos son utilizados desde hace tiempo en programas de lucha integrada en el área mediterránea por ser predadores polifagos, que se utilizan primordialmente por su capacidad predatora de la mosca blanca de los invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum* Westwood), aunque también se alimentan del thrips *Frankliniella occidentalis* Pergande.

Nuestras observaciones nos han permitido comprobar que efectivamente, *C. tenuis* es un zoofitófago, pues hemos apreciado ninfas de este insecto chupando larvas de *Bemisia tabaci* que se encontraban en el envés de las hojas de tomate en el campo, las que luego colectamos y confinamos en placas de Petri en el laboratorio, apreciándose que en pocos minutos dejaban «vacías» las ninfas de la mosca blanca.

Por otra parte, en áreas de tomate de Güines, La Habana, pudimos observar adultos de la chinchita introduciendo su aparato bucal en las flores de la planta. Lo anterior nos indica que posiblemente las ninfas actúan como predadores, y los adultos como fitófagos, todo lo cual pudiera estar correlacionado con la abundancia de la mosca blanca y la fenofase del cultivo.

En general, *C. tenuis* se manifiesta regularmente en todas las zonas donde ocurre *Bemisia tabaci* en la provincia de La Habana, aunque resultó frecuente en los campos más pequeños y en áreas de mayor diversidad

de cultivos, principalmente en Güines, Melena del Sur, Aiquízar y San Antonio de los Baños. Los campos donde se observaron las mayores poblaciones de ninfas y adultos fueron en los de tomate, pepino y papa, aunque en menor cuantía en tabaco, frijol y calabaza.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Efectivamente, la chinchita *Cyrtopeltis tenuis* ha manifestado un incremento de sus poblaciones en los últimos años en el cultivo del tomate, y muestra cierta correspondencia con las poblaciones de inmaduros de *Bemisia tabaci* y la etapa de floración-fructificación del cultivo, lo que contribuye a fundamentar su doble hábito zoofitófago, aspecto que desde luego requiere ser estudiado más detalladamente para poder precisar su posible utilización en programa de MIP contra las moscas blancas.

REFERENCIAS

- Bruner, S. C.; L. C. Scaramuzza: *Reseña de los insectos del tabaco en Cuba*, Circular no. 80, Est. Esp. Agron., Stgo. de las Vegas, La Habana, 1938.
- Dolling, W. R.: *The Hemiptera*, Oxford University Press, New York, 1991.
- Goula, M.; O. Alomar: «Miridos (Homoptera: Miridae) de interés en el control integrado de plagas en el tomate. Guía para su identificación». *Bol. San. Veg. Plagas* 20: 131-143, 1994.
- Goula, M.; J. Arno: «Nota sobre la fauna de miridos (Insecta: Homoptera) hallada en zonas de cultivo de tomate del mediterráneo español». *Prod. y Protec. Vegetales. Fuera de Serie* no. 2, pp. 93-97, dic. 1994.
- La Rosa, J.; C. Ocano; A. Castiñeiras; M. A. Zayas; R. Riverón: «Enemigos naturales de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera: Aleyrodidae) en Cuba». II Taller sobre Diagnóstico de Plagas, 1992, resúmenes, p. 2.
- Murguido C.; L. L. Vázquez; O. Gómez; A. Mateo: «Informe sobre la problemática mosca blanca-geminivirus en Cuba», *Boletín Técnico* no. 5, INISAV, Ciudad de La Habana, 1997.
- Torres del Castillo, R.: «Control integrado de plagas en el cultivo del tomate» *Canarias Agraria* no. 22, 1993, pp. 42-45.

PHEIDOLE MEGACEPHALA (F.), HORMIGA DEPREDADORA DE LA GARRAPATA BOOPHILUS MICROPLUS (CANESTRINI)

Esperanza Rijo,¹ Teresa Rodríguez,² Elena Vitorte³ y M. Gómez⁴

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

² Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de La Habana. Ave. 25A no. 23011 e/ 230 y 234, La Coronela, Playa, Ciudad de La Habana, CP 13600

³ Instituto de Medicina Veterinaria. Calle 12 no. 355 e/ 15 y 17, Vedado, Plaza, Ciudad de La Habana

⁴ Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera de Palmira Km 4 ½, Cierrefuegos, CP 55100

RESUMEN

Se evaluó en el suelo y en terneros de la raza Holstein, de nueve meses de edad, la reducción que provocó el entomófago *Pheidole megacephala* (F.) a las poblaciones de huevos y larvas de la garrapata *Boophilus microplus* (Canestrini) que están presentes en el biotopo pasto. El entomófago reguló el 96% de los huevos de garrapatas. Los bovinos que se encontraban en áreas en que pululaba el entomófago fueron 2,6 veces menos parasitados por el ectoparásito que aquellos que pastaban en áreas en que no se encontraba el biorregulador.

Palabras claves: entomófago, depredador, garrapata, control biológico, *Pheidole*, *Boophilus*

ABSTRACT

An evaluation was made in the soil and on nine-month-old calves of the Holstein breed of the reduction caused by the entomophagous *P. megacephala* F. to the eggs and larvae populations of the tick *Boophilus microplus* (Canestrini) that are present in the biotop pasture. Entomophagous controlled 96% of tick's eggs. Bovines that are in areas where the entomophagous pululated were 2,6 times less parasited by the ectoparasite than those that pastured on areas where there's not biorregulator.

Key words: entomophagous, predator, ticks, biological control, *Pheidole*, *Boophilus*

INTRODUCCIÓN

La garrapata *Boophilus microplus* (Canestrini) está presente en todas las regiones ganaderas de Cuba, pero la mayor incidencia es en la zona central y principalmente en la parte occidental del país. En el período de mayo a septiembre hay un aumento de morbilidad y la mortalidad de los vacunos debido al aumento de los brotes de hemoparásitos, causado por las condiciones favorables para el desarrollo de las garrapatas [Cordovés *et al.* 1986 y 1991].

En Cuba, desde 1986, está vigente la Norma Ramal 241 del Ministerio de Agricultura, en la que se contempla la lucha contra esta plaga, basada, fundamentalmente, en los baños de las reses con acaricidas químicos cada 14 días, lo que implica una frecuencia de baños al menos cinco veces mayor que lo recomendado por Sutherst *et al.* (1979). Esto ha provocado la quimiorresistencia a algunos acaricidas [Serrano *et al.*, 1995].

En la literatura especializada muchos son los entomófagos que se han registrado como reguladores de las

poblaciones de garrapatas. Hay referencias en Australia de los géneros *Iridomyrmex*, *Asphaenogaster* y *Pheidole* como depredadores de adultos ingurgitados [CSIRO, 1959], y posteriormente en Cuba se registra a las especies *Solenopsis germinata* y *Pheidole megacephala* como depredadoras de imagos de *Amblioma cajenense* y *B. microplus* [Cerny, 1969]. Años más tarde De la Vega y Díaz (1982) observaron la actividad reguladora de *P. megacephala* sobre las poblaciones de *B. microplus*.

Castiñeiras *et al.* (1987) evaluaron la acción depredadora de *P. megacephala* sobre *B. microplus* en condiciones de laboratorio y determinaron que las hormigas afectaban el 40,5% de los huevos de la mencionada garrapata.

Por lo anteriormente expuesto, nos propusimos evaluar en condiciones de campo la acción reguladora que ejerce *P. megacephala* a los estados de *B. microplus* en un ecosistema de *Panicum maximum* Jacq.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento consistió en dos etapas. La primera fue evaluar la reducción que ejerce *P. megacephala* sobre los huevos de *B. microplus* en condiciones de campo, y para ello se seleccionaron dos áreas de 15 m² de pastos *P. maximum*, los que fueron muestreados previo a la introducción de la plaga y el entomófago, para conocer de la existencia del depredador. Se comprobó que en una de las parcelas había presencia de la hormiga *P. megacephala*, por lo que fue escogida para incrementar el depredador a razón de 15 colonias/ha [Castiñeiras y Obregón, 1986], y la otra área se consideró como testigo, además de que fue tratada con carbaryl (4kg/ha), producto muy tóxico a la especie *P. megacephala* [Castiñeiras y Obregón, 1985].

En cada área se tuvieron en cuenta cinco parcelas de infestación en las que se colocaron grupos de 50 huevos de *B. microplus* de siete días de desarrollo. La colocación de los huevos se realizó al atardecer (17-18 horas), debido a que el entomófago *P. megacephala* muestra mayor actividad forrajera durante las noches [Castiñeiras y Obregón, 1986].

Pasadas las primeras 24 horas, se hizo la evaluación de las muestras de suelo recogidas en los puntos en que fueron situados los huevos de garrapatas, con el auxilio de un microscopio estereoscópico.

La segunda etapa de la experiencia consistió en la selección de dos áreas de 0,25 ha de pastos *P. maximum* sometidas a riego, en las que se realizó un muestreo previo para conocer la mirmecofauna. Esto permitió

detectar la presencia del regulador biológico *P. megacephala*, y por esta razón fue necesario hacer una aplicación de carbaryl (4kg/ha) en el área considerada como testigo. Pasados veinte días, se inocularon dos gramos de larvas recién eclosionadas de *B. microplus* en cada una de las cinco parcelas en que fueron divididas las áreas.

En cada parcela se introdujo a pastar un ternero de 6 a 10 meses de edad de la raza Holstein, que permanecieron durante siete días expuestos a la acción de la plaga. Posteriormente los bovinos fueron confinados en cuneros debidamente señalizados, durante un período de 15 días, y se procedió al conteo de las ninfas en el cuerpo de los vacunos, según metodología de De la Vega *et al.* (1984).

En ambos ensayos los datos fueron sometidos a la transformación de $(x + 1)^{1/2}$ [Lerch, 1977]. Los datos de los conteos de ambos experimentos fueron sometidos a la prueba de T Student, y para la comparación de medias se utilizó la prueba de Newman Keuls para un 5% de probabilidad de error [Dagnelie, 1984].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la *Tabla 1* se muestra que el número total de huevos encontrados en la parcela tratada con *P. megacephala* es significativamente inferior a los registrados en la parcela en que no se introdujo el entomófago, al ser de 10 y 128,8 huevos como promedio, respectivamente, lo que representó una depredación del 96% de los huevos de *B. microplus* por el entomófago.

Tabla 1. Actividad depredadora de *P. megacephala* a huevos de *B. microplus*

Variantes	Huevos no depredados	Clasificación 5%
Con <i>P. megacephala</i>	10	a
Sin <i>P. megacephala</i>	128,8	b

CV 37.7%

Medias con letras iguales no difieren significativamente, según prueba de Newman Keuls para un 5% de probabilidad de error.

El análisis matemático muestra diferencia altamente significativa entre ambas parcelas, e indica la actividad depredadora de *P. megacephala* sobre los huevos de *B. microplus* en el ecosistema pasto.

Este resultado difiere de lo planteado por De la Vega *et al.* (1984) referente a la no acción depredadora de este entomófago a huevos y larvas de garrapatas de la especie antes mencionada, y ratifica las observaciones hechas por Pérez (1956) en la naturaleza y las evaluaciones bajo condiciones de laboratorio realizadas por Castiñeiras *et al.* (1987).

En este ensayo se obtuvo una reducción del ectoparásito del 92%, lo que duplica lo obtenido por Castiñeiras *et al.* (1987) en condiciones de laboratorio. Este aumento pudo ser debido al hecho de que el entomófago estaba en su medio natural y a que las áreas donde se ejecutó el trabajo estaban sometidas a riego, lo que be-

neficia grandemente al depredador *P. megacephala* en su actividad forrajera.

Estos resultados se corroboran con las evaluaciones hechas a los terneros que pastaban en áreas altamente infestadas con *B. microplus*.

Los bovinos que se encontraban en parcelas sin la presencia del entomófago *P. megacephala* tenían un promedio de 307,3 larvas de garrapatas, mientras los que estaban en áreas de pastos en que pululaban las hormigas depredadoras de la especie objeto de estudio, solamente llegaron a subir al ternero 116 larvas de *B. microplus* como promedio (*Tabla 2*), por lo que la acción reguladora del entomófago provocó una reducción de 2,64 veces el número de ectoparásitos en el cuerpo de los bovinos en relación con los animales que estaban en áreas exentas del regulador biológico.

Tabla 2. Depredación de *P. megacephala* a larvas de *B. microplus* en el agroecosistema pasto

Variantes	\bar{X} de larvas de garrapata/ ternero	Clasificación 5%
Con <i>P. megacephala</i>	116,0	a
Sin <i>P. megacephala</i>	307,3	b

CV 32%

Medias con letras iguales no difieren significativamente, según prueba de Newman Keuls para un 5% de probabilidad de error.

Los resultados obtenidos de la actividad depredadora de la hormiga *P. megacephala* sobre los estados preimaginales de *B. microplus* en condiciones del biotopo pasto (*P. maximum*) en Cuba concuerdan con las observaciones realizadas por CSIRO (1959) sobre la actividad depredadora de especies del género *Iridomyrmex*, *Asphaenogaster* y *Pheidole* a *B. microplus* en Australia, así como con las declaraciones de Falces y Hamann (1991) sobre las hormigas como agentes para la lucha biológica contra *B. microplus*, y el informe de Verrísimo (1995) de la existencia en Brasil de cuatro especies de hormigas depredadoras de los estados de *B. microplus* presentes en el pasto.

CONCLUSIONES

- Se demostró la acción depredadora de la hormiga *P. megacephala* a la garrapata *B. microplus* en condiciones naturales, al provocar disminución del 92% de los huevos colocados en la parcela tratada con el entomófago y reducir la población en el estado parasítico en un 62%.

REFERENCIAS

Castiñeiras, A.; G. Jimeno; Miriam López; Lilliam Sosa: «Efecto de *Beauveria bassiana*, de *Metarrhizium anisopliae* (Hongos Imperfecti) y *Pheidole megacephala* (Hymenoptera: Formicidae) a huevos de *Boophilus microplus* (Acarina: Ixodidae)», *Rev. Salud Animal* 9:288-293, 1987.

Castiñeiras, A.; Olga Obregón: «Toxicidad de carbaryl, metil parathion, dimetoato y metamidophos sobre *Pheidole megacephala* (Hymenoptera: Formicidae) en condiciones de campo», *Cienc. Técn. Agric. Protección Plantas*, 8(2): 107-114, 1985.

—: «Control biológico de *Cylas formicarius elegantulus* (Sunum) con *Pheidole megacephala* a diferentes densidades de colonias por hectárea», *Cienc. Técn. Agric. Protección Plantas*, 9 (1), 1986.

Cerny, V.: *Las garrapatas ectoparásitos del ganado vacuno. Los ectoparásitos de las gallinas*, Serie Ganadera. Instituto de Biología, 1969.

Cordovés C. O.; J. de la Cruz; S. Tamayo; J. Mesejo; R. Fleites. «Experiencia y perspectiva del control y erradicación de las garrapatas en la República de Cuba», *Rev. Cub. Cienc. Veterinario* 17 (1-2), 1-3, 1986.

Cordovés, C. O.; Nilda Fregel; A. Camacho; Abilia Leyva: «Sistema de vigilancia y control de la hemoparasitosis en la República de Cuba», *Rev. Cub. Ciencia Veterinario* 22 (2):197-232, 1991.

CSIRO: *Understanding the Cattle Tick* no. 24, Melbourne, 1-12, 1969.

Dagnelie, P.: «Theorie al metodes statistiques», *Los presses agronomiques de Gembloux* 2: 242-250, 1984.

De la Vega, R.; Graciella Díaz: «Depredación de la garrapata del ganado vacuno, *Boophilus microplus* por la hormiga *Pheidole megacephala*». Reporte preliminar, *Cienc. Técn. Agric. Protección Plantas* 5 (2): 97-100, 1982.

De la Vega, R.; Graciella Díaz; Enma Palacio: «*Pheidole megacephala* como depredador de *Boophilus microplus*. Aspectos cuantitativos y cualitativos», *Rev. Salud Animal* 6: 569-575, 1984.

De la Vega, R.; A. Moreno; Graciella Díaz: «Método de muestreo de la garrapata del ganado vacuno (*Boophilus microplus*) en razas lecheras», *Rev. Salud Animal* 6: 397-406, 1984.

Falces, H. C.; W. O. Hamann: «*Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) the seu controle nos bovinos leiteiros da microrregião fisiográfica de Curitiba-1. Parasitismo de formigas», *Revista Sector Ciências Agrarias* (Curitiba) 11(1-2): 279-281, 1991.

Instituto Medicina Veterinaria: «Evaluación económica del programa de lucha contra las garrapatas desde 1970 hasta 1983», Informe Técnico, 1983.

Lerch, G.: *La experimentación en las ciencias biológicas y agrícolas*, Ed. Científico-Técnica. La Habana, 1977.

Norma Ramal del Ministerio de la Agricultura, (NRAG: 241): *Trabajo Veterinario. Garrapatas, lucha y control*, Vig. Cuba, 1986.

Pérez, J.: *Ixódidos y culicidos de Cuba, su historia natural y médica*. Ciudad de La Habana, 1956.

Serrano, E.; L. Méndez; M. Valdés; G. Senane. «Diagnóstico y situación epizootiológica de las enfermedades de los vacunos asociados a las garrapatas en Cuba», *Vacuna recombinante para el control de la garrapata del ganado vacuno*, Ciudad de La Habana, 44-50, 1995.

Sutherst, R. W.; G. A. Norton; N. P. Barlow; G. R. Conway; M. Birley; H. N. Comins: «An Analysis of Management Strategies for the Cattle Tick (*Boophilus microplus*) Control in Australia», *Journal of Applied Ecology* 16: 359-382, 1979.

Verrísimo, C. J. T.: «Inimigos naturais do carrapato parasita dos bovinos», *Agropecuaria* 8(1): 35-37, Brasil, 1995.

GENERALIZACIÓN EN CUBA DEL PROGRAMA DE MANEJO INTEGRADO DEL ÁCARO ROJO *TETRANYCHUS TUMIDUS* EN PLÁTANO

Lérida Almaguel,¹ R. Pérez,¹ Mayra Ramos,² Zuleika Martínez,⁴ R. Pérez,¹ J. Ovies,¹ Bárbara Roselló,⁵ Misleibis Márquez,¹ Isabel Suárez,³ Elina Massó,¹ R. Chico,² Ermita Feitó¹ y J. Cortiñas¹

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

² Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana

³ Instituto de Meteorología. Apartado 1732, Habana 17, Ciudad de La Habana, CP 11700

⁴ Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, Carretera de Maleza Km 2½, Santa Clara, Villa Clara, CP 50100

⁵ Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera de Palmira Km 4½, Cienfuegos, CP 55100

RESUMEN

Este trabajo es el resultado de quince años (1977-92) de investigación sobre la biología, ecología y control de la arañuela roja del plátano *Tetranychus tumidus* Banks (Acari: Tetranychidae) en Cuba. En 1993 se elaboró y distribuyó la metodología de manejo integrado y se realizaron seminarios a los fitosanitarios vinculados al cultivo del plátano (*Musa* sp.) en las empresas de cultivos varios (ECV) de La Habana (Batabanó, Güines, Melena del Sur, Nueva Paz, Alquizar y Artemisa), Cienfuegos (Juraguá) y Villa Clara (Valle del Yabú). En general el programa fue eficiente, y se observó una reducción drástica de las aplicaciones de acaricidas a partir de abril, debido al control de la plaga por los enemigos naturales, que evitaron los tratamientos, tanto en las áreas de *Bacillus thuringiensis* (cepa LBT-13) como en las de liberación del predador. Se registró una disminución de 50 a 70% de los recursos empleados en muestreos y conteos de la población del ácaro por la utilización del pronóstico de las condiciones favorables para su incremento. La liberación de *Phytoseiulus macropilis* en plantaciones de fomento de Villa Clara fue efectiva, con un efecto económico de 48.10 pesos/campo de cultivo/año. El efecto económico promedio total fue de 187.81 pesos/campo/año, con 62.75 % de disminución de los gastos.

Palabras claves: ácaro, plátano, manejo integrado

ABSTRACT

This paper summarizes the results of 15 years of investigation works (1977-1992) on biology, ecology and control of the red spider mite in bananas *Tetranychus tumidus* Banks (Acari: Tetranychidae), in Cuba. In 1993, a methodology of integrated management was elaborated and distributed. Seminars to the technicians involved in cultivation of banana (*Musa* sp.) were carried out in several Agricultural Enterprises located in Havana province (Batabanó, Güines, Melena del Sur, Nueva Paz, Alquizar and Artemisa), Cienfuegos (Juraguá) and Villa Clara (Valle del Yabú). In general, the program was efficient and a drastic reduction of the acaricides applications was observed at the beginning of April, due to the control of the pest for the natural enemies that avoided the treatments of *Bacillus thuringiensis* (strain LBT-13) as well as the liberation of predator in those areas. A reduction from 50 to 70% of the resources used in samplings and count of population's of the acarus by the prognosis of favorable conditions for their increment was obtained. The liberation of *Phytoseiulus macropilis* in younger plantations in Villa Clara was effective, with an economic effect of 48.10 pesos / field/year. The total average economic impact was of 187.81 pesos / field/year, with 62.75% of decreasing of the expenditures.

Key words: acarus, banana, integrated management

INTRODUCCIÓN

Bruner *et al.* (1945) indicaron la presencia de una araña roja en los platanales, donde observaron daños considerables al cultivo. Es muy probable que este haya sido el primer informe, si se tiene en cuenta que hasta el presente no se conoce otra especie de la familia *Tetranychidae* asociada al cultivo del plátano. En 1957 Valdés informa la presencia de una araña roja sobre plátano, la cual clasifica como *Tetranychus tumidus* Banks, y describe los daños que ocasiona.

Simón (1990) listó los ácaros tetránicos más difundidos en el mundo sobre el follaje del banano, y señaló a las especies *Tetranychus urticae* Koch, *Tetranychus desertorum* Banks, *Tetranychus gloveri* Banks = *Tetranychus tumidus* Banks y *Tetranychus lombi* Pritchard y Baker.

Tetranychus gloveri Banks puede causar serios daños a los sistemas foliares del banano en Antillas Francesas [Simón, 1991]. Esta especie constituye la tercera plaga

de interés en el cultivo del banano en las Indias Occidentales Francesas [Simón, 1993].

Ochoa *et al.* (1991) indicaron que *Oligonychus zeae* McGregor afecta las hojas de *Musa acuminata* Colla, al igual que la especie *Tetranychus abacae* (McGregor), conocida como el ácaro de las musáceas.

Desde 1975 se iniciaron trabajos de investigación sobre *Tetranychus tumidus* en plátano. En esta etapa se determinó el ciclo de vida, fecundidad, longevidad, influencia varietal, distribución, plantas hospedantes y dinámica de población de esta especie; con estos resultados se actualizó la metodología de señalización elaborada en 1978 y se generalizó su uso en el país. Desde 1980-85 se determinaron las pérdidas producidas por *T. tumidus*, así como se continuaron los estudios de dinámica y la definición de los enemigos naturales asociados a este ácaro. Posteriormente se elaboró el pronóstico de las condiciones favorables para el desarrollo del ácaro y se aplicó en las Empresas de Cultivos Varios de La Habana, Villa Clara, Cienfuegos y Las Tunas. Se determinó el papel de los enemigos naturales en la regulación de las poblaciones de este fitófago [Massó, 1978; Sierra *et al.*, 1981; Cáceres *et al.*, 1982; Pérez *et al.*, 1983; Pérez *et al.*, 1985; Almaguel *et al.*, 1990; Pérez *et al.*, 1990; Pérez *et al.*, 1992; Cáceres *et al.*, 1993; Pérez *et al.*, 1997].

En la etapa 1985-90 se introdujo en el país el sistema de riego microjet para el cultivo del plátano, y con esto la aparición de las vitroplantas, viveros y otros cambios en la tecnología del cultivo; y es así que en 1987-88 se presentaron problemas nuevos causados por *T. tumidus* en el cultivo. En plantaciones de 2-3 meses de la ECV de Güines y en otras áreas de La Habana, se observaron niveles muy altos de población del ácaro, y se comprobó la presencia de los daños producidos a las plantas desde el inicio de su desarrollo, y máximos en las de más de 45 días. Almaguel *et al.* (1989) reajustaron el método para la señalización y control de esta plaga, desde la fase de vivero y hasta seis meses de edad del cultivo.

Durante 1990-93 se realizaron estudios sobre la cría masiva de ácaros depredadores, norma y método de liberación en condiciones de laboratorio, casa de malla y en plantaciones de viveros, en las ECV de Batabanó, Güines y Villa Clara [Ramos *et al.*, 1994; Martínez *et al.*, comunicación personal, 1994]. Almaguel *et al.* (1993) determinaron la efectividad de la cepa LBt-13 de *Bacillus thuringiensis* para el control de *T. tumidus* y su compatibilidad con los enemigos naturales y los productos químicos utilizados en el cultivo.

El esquema de manejo integrado establece generalizar la introducción de *Phytoseiulus macropilis* (*Phytoseiidae*) en la fase de vivero para el control de *T. tumidus* y eliminar las aplicaciones químicas, según el índice de población establecido; en la fase de fomento (hasta ocho meses), utilizar la señalización, pronóstico, protección de los enemigos naturales y aplicaciones de *B. thuringiensis*, con la opción de químico

en función de estos factores y edad de la plantación. En los próximos ciclos del cultivo se indica determinar los períodos favorables por el método de pronóstico de *T. tumidus*, observación de los enemigos naturales y su protección. [Almaguel *et al.*, 1995; Pérez *et al.*, 1996].

El objetivo de este trabajo fue demostrar la factibilidad práctica y económica de la introducción del manejo integrado de *T. tumidus* en el país y en áreas demostrativas del cultivo en las empresas de La Habana, Villa Clara y Cienfuegos.

MATERIALES Y MÉTODOS

En este trabajo se exponen los resultados de la introducción del programa de manejo integrado de *T. tumidus*, el cual se elaboró en 1993-94 con los resultados de biología, dinámica de la población, pronóstico de las condiciones favorables para su crecimiento, enemigos naturales y métodos de control químico y biológico de este fitófago en el cultivo del plátano y banano, obtenidos por un numeroso grupo de investigadores desde 1975-93 en Cuba, en las provincias de Villa Clara y Cienfuegos.

La validación del programa de manejo de *T. tumidus* (Tabla 1) y la comparación con el sistema de señalización y los métodos tradicionales de lucha, se realizó en La Habana (Alquizar y Güines) en los ciclos de fomento, primer año de producción, y para Batabanó en el último ciclo. En Villa Clara, en el Valic del Yabú, para fomento-primer ciclo, en dos variantes con aplicación biológica: cepa LBt-13 y liberaciones del ácaro predador *P. macropilis*. En Cienfuegos, en la empresa Juraguá, se evaluó en áreas de fomento y producción, y se utilizó dicofol para el control del ácaro.

Para cada localidad y variante se determinó el número de muestreos realizados en las áreas de manejo integrado en relación con las del método tradicional, con pronóstico favorable, no favorable y con índice de aplicación, además de la relación presa-predador, existentes en condiciones naturales.

Se calculó el efecto económico y el porcentaje de reducción de los gastos por concepto de un menor número de muestreos realizados en el método nuevo con respecto al tradicional, según las siguientes fórmulas:

$$EE = Gb - Gn$$

$$G = \frac{Gb - Gn}{Gb} \times 100$$

donde: EE: Efecto económico
Gb: Gasto del método de señalización tradicional.
Gn: Gasto en la aplicación del manejo integrado.
G: Porcentaje de reducción de los gastos.

Para Villa Clara se calculó como dato adicional los gastos por hectárea para la protección con la cepa LBt-13), *P. macropilis* y Bi-58.

Tabla 1. Validación del programa de manejo integrado de plagas

Fase del cultivo	Actividad técnica	Indicadores	Medidas de protección
Fomento	Monitoreo de <i>T. tumidus</i> y EN	C. favorable 5-20 <i>Tt</i> / EN 20-30 <i>Tt</i> / EN Más de 30 <i>Tt</i> / EN	Protección de EN Aplicar <i>Bt</i> -13 Aplicar dicofol
	Pronóstico de <i>T. tumidus</i>	C. no favorable 5-30 <i>Tt</i> / EN más de 30 <i>Tt</i> / EN	Protección de EN Aplicar <i>Bt</i> -13
Primer año de producción	Monitoreo de <i>T. tumidus</i> y EN	C. favorables Más de 30 <i>Tt</i> / EN	Protección de EN Aplicar <i>Bt</i> -13
	Pronóstico de <i>T. tumidus</i>	C. no favorable	Protección de EN
Cualquier otro ciclo de producción	Ninguna	Ninguno	Protección de EN

EN: Enemigos naturales

Bt: *Bacillus thuringiensis*

Tt: *Tetranychus tumidus*

C: Condiciones

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con la introducción del programa de manejo integrado se obtuvo una disminución significativa en el número de muestreos realizados, en particular para las áreas en fase de producción, donde el programa de manejo de *T. tumidus* indica la no-realización de muestreos, pues la plaga es controlada por los enemigos naturales presentes, así como por la emisión del pronóstico de las condiciones favorables, para las de fomento y primer ciclo de cultivo, que indica cuándo se debe proceder a su realización. En las áreas patrones de las empresas Batabanó y Alquizar, se realizó un mayor número de muestreos, por lo que se incurrió en

más gastos por este concepto. En general, no se presentó índice de aplicación en estas empresas.

En la ECV de Güines, en áreas patrones de producción (sistema tradicional), se presentaron dos muestreos con índice de aplicación. Donde se implantó el sistema de manejo se manifestó una relación favorable presa-depredador, la cual se hizo evidente en los ciclos de fomento y primer año de producción. En general, en las áreas con señalización tradicional se emitieron siete señales de aplicación y sólo tres para las del manejo, que fueron restablecidas por la actividad de los biorreguladores naturales (Tabla 2a).

Tabla 2a. Indicadores para la validación del manejo integrado de *T. tumidus* (provincia de La Habana, 1994-95)

Indicadores	Barabanó	Alquizar		Güines			
	Producción	Fomento	Primer año	Producción	Fomento	Primer año	Producción
% Red-M	100	51,5	50	100	38,9	47	100
M-P. NF	-	9	15	-	11	11	-
M-índice	-	0	0	-	2 (2)	1 (5)	0 (2)
Pres./dep.	13.06	1,5	0,87	0,81	6,9	5,34	2,41

% Red-M: Por ciento de reducción de los muestreos.

M-P. NF: Número de muestreos con pronóstico no favorable.

M-índice: Número de muestreos con índice de aplicación.

No. de aplic.: Número de aplicaciones.-

Pres. / dep.: Relación presa-predador.

(): Datos entre paréntesis índice en el patrón.

En Villa Clara se realizaron dos aplicaciones de *B. thuringiensis* y dos liberaciones de *P. macropilis* contra dos aplicaciones de Bi-58 en las 20 áreas tradicionales. Se observó un control efectivo de la plaga por sus enemigos naturales, que evitaron intervenciones a partir de abril, tanto en las áreas protegidas con el bioplaguicida como en las del predador (Tabla 2b).

Tabla 2b. (ECV Valle del Yabú) Villa Clara, de septiembre a julio de 1995

Indicadores	Fomento-primer año		Producción
	<i>B. thuringiensis</i>	<i>P. macropilis</i>	
% Red-M	26,5	39,4	100
M-P. NF	9,0	11,0	-
M-índice	10,0	5,0	-
No de aplic.	2,0	2,00	-
Pres./dep.	14,0	12,0	-

Como se ha podido observar de los resultados obtenidos con la aplicación del sistema de manejo integrado, es significativa la disminución del número de muestreos realizados en cada empresa en los diferentes ciclos del cultivo, lo cual condujo a una reducción de los gastos por concepto de inspección a las áreas del 67,16 % para Alquizar, del 100% para Batabanó y del 62,1% para Güines. Este mismo indicador para la provincia de La Habana fue del

Para Cienfuegos hubo reducciones de los muestreos por la utilización del pronóstico, así como en La Habana y Villa Clara, pero se detectó una baja incidencia de los enemigos naturales. Puede estar relacionado no sólo con la aplicación de dicofol, si no también con otros factores presentes en esa localidad (Tabla 2c).

Tabla 2c. (Resultados obtenidos en ECV Juraguá), Cienfuegos, de febrero de 1994 a julio de 1995

Indicadores	Fomento-primer ciclo
% Red-M	39,1
M-P. NF	11,0
M-índice	3,0
No de aplic.	1,0
Pres./dep.	1,0

55%. El efecto económico fue de \$5 912.91 en las tres empresas, y de \$8 910.00 para la provincia de La Habana (Tabla 3a).

Para Villa Clara y Cienfuegos, en áreas de fomento-producción (un año de plantado), se obtuvo un 58,3 y 69,5 % de reducción de gastos, respectivamente (Tablas 3b, 3c, 3d) con un promedio por concepto de muestreos de 62,07 (Tabla 4).

Tabla 3a. Indicadores económicos obtenidos en el manejo integrado del ácaro rojo (La Habana, 1994-95)

ECV	Efecto económico (\$)				Disminución de gastos (%)			
	Fomento	Primer año	Producción	Total	Fomento	Primer año	Producción	Total
Alquizar	463,55	687,50	1 650,00	2 801,05	51,5	50	100	67,16
Batabanó	-	-	770,00	770,00	-	-	100	100
Güines	302,45	554,41	1 485,00	2 341,85	38,9	47,4	100	62,1
Total	766,00	1241,91	3 905,00	5 912,91	45,2	48,7	100	64,63
Total provincial	8 910,00				55			

ECV: Empresa de Cultivos Varios

Prov.: Provincial

Primer año: Primer año de plantado (primer corte de racimo)

Produc.: Producción (después del primer corte)

Tabla 3b. En Villa Clara (disminución de muestreos)

Indicadores	Fomento-primer año		Producción	Total	
	<i>Bt</i>	<i>P. macropilis</i>		<i>Bt</i>	<i>P. macropilis</i>
Efecto económico (pesos/CE/año)	34,1	48,1	122,10	156,20	170,20
Por ciento de reducción de gastos	26,5	39,4	100	52,08	58,30

Tabla 3c. Costo de protección (pesos/ha) sanitaria

Tratamientos	Número aplicaciones	Costo (pesos/u)	Costo total (pesos/ha)
<i>Bacillus</i>	2	1,15	16,10
<i>P. macropilis</i>	2	1,05	2,09
Bi-58	2	3,3	9,80

Tabla 3d. En Juraguá, Cienfuegos

Indicadores	Fomento-primer ciclo	Producción	Total
Efecto económico (pesos/CE/año)	33	85,1	118,1
Por ciento de disminución de gastos	39,1	100	69,5

Tabla 4. Indicadores económicos de la implantación del manejo integrado de *T. tumidus*

Indicadores	La Habana	Villa Clara		Cienfuegos	Total
		<i>Bt</i>	<i>P. macropilis</i>		
Efecto económico (pesos/CE/año)	286,95	156,20	170,20	118,10	561,26
Por ciento de reducción de gastos	64,63	52,08	58,30	69,50	62,07

En las áreas demostrativas de las tres provincias se evidenciaron elementos característicos: reducción del número de muestreos por pronósticos no favorables; número similar de períodos favorables; relación presa-depredador eficiente para la mayoría de los muestreos; en La Habana y Villa Clara, con mayor incremento de los depredadores a partir de los seis meses del cultivo, excepto para Cienfuegos; en La Habana no se aplicaron químicos. En Villa Clara, además de la aplicación de dimetoato, se mantuvieron campos con tratamientos biológicos; y en Cienfuegos sólo se empleó dicofol.

Viñuela *et al.* (1993) en los estudios de la acción de insecticidas y acaricidas sobre los enemigos naturales, informaron a *Amblyseius pontentillae* (Garman), *A. finlandicus* (Oudemans) y *Typhlodromus pyri* Scheuten de la familia *Phytoseiidae* e indicaron lo inofensivo que resulta para estas especies las aplicaciones de *B. thuringiensis* Berliner, y lo tóxico del uso de dicofol y dimetoato en condiciones de campo.

Los depredadores juegan un papel importante en el combate de las arañuelas en diversos cultivos, y han sido utilizados con éxito desde hace mucho tiempo; en la actualidad constituyen un fuerte eslabón en el manejo integrado de las plagas en diversas regiones.

Ramos (1994) en *Musa* sp. estudió la relación presa-depredador de *P. macropilis* Banks sobre las pobla-

ciones de *T. tumidus* Banks, y llegó a la conclusión que este biorregulador es eficiente en el combate del ácaro rojo, aun con niveles bajos de la presa, lo que pone de manifiesto su buena capacidad de búsqueda y la posibilidad de sobrevivencia, que lo hace un organismo con excelentes cualidades para su uso en programas de manejo integrado en este cultivo.

Al igual que los depredadores, los entomopatógenos constituyen medios biológicos de gran utilidad en el combate de plagas de ácaros. *B. thuringiensis* resultó ser eficaz en la lucha contra el ácaro *T. tumidus* en plátano; se observó que, además de la mortalidad directa en los ácaros tratados, las hembras vírgenes, que no morían, disminuían su oviposición o no ovipositaron; los estados que sobrevivieron presentaban anomalías típicas, tales como alargamiento de la duración del estado larval, afectación en el mecanismo motriz, en el proceso de muda y en la alimentación, lo que altera su tasa de multiplicación [Almaguel *et al.*, 1993].

Almaguel *et al.* (1993) estudiaron la compatibilidad de *B. thuringiensis* Berliner con un grupo de plaguicidas de uso frecuente en el cultivo del plátano, tales como azufre, dicofol, dimetoato, malation, zineb, benomyl, maneb y oxiclورو de cobre. Todos resultaron compatibles frente a las aplicaciones del ácaropatógeno, con la excepción del oxiclورو de cobre, el cual afectó la viabilidad de sus esporas.

Estos resultados demostraron la factibilidad de la aplicación del manejo integrado del ácaro rojo en todos los ciclos del cultivo, independientemente de la tecnología y de la región.

CONCLUSIONES

• El manejo integrado del ácaro rojo, *Tetranychus tumidus* Banks, en los cultivos de plátano y banano, presenta factibilidad práctica para su ejecución, y representa una alternativa ecológica y económica, aplicada en todas las E.C.V. de La Habana y llevada al resto de las provincias del país, en particular en Villa Clara y Cienfuegos.

REFERENCIAS

- Almaguel, R. Lérica; J. Cao; C. Murguido; N. González; J. Mora; C. González; J. Jiménez; J. La Rosa; P. Pérez; A. R. Pérez; S. I. Cáceres; F. Piedra; A. Suárez; B. Rosello: «Dinámica de poblaciones. Ácaros e insectos». Conferencia magistral, II Sem. Científico Internacional de S. Vegetal, La Habana. 10-14 abril, 1990.
- Almaguel; R. Lérica; Nancy González; Orieta Fernández-Larrea; Elina Massó; Barbara Roselló; María E. Márquez; E. Peña; Ivette Hernández; E. Pérez; J. Ovies; L. Castellanos; Grisel Montero: «Utilización de *Bacillus thuringiensis* Berliner cepa LBT-13 en programas de lucha contra ácaros en cítricos, plátano y papa», Informe al VIII Forum de Ciencia y Técnica, 1993.
- Almaguel, R. Lérica; Nancy González; Orieta Fernández-Larrea; Elina Massó; Bárbara Roselló; María E. Márquez: «*Bacillus thuringiensis* Berliner (cepa LBT-13) para el control del ácaro *Tetranychus tumidus* Banks en plátano», V Seminario de Acarología, III Simposio de Zoología, Palacio de las Convenciones, La Habana, 1994.
- Bruner, S. C.; L. C. Scaramuzza; A. R. Otero: *Catálogo de los insectos que atacan a las plantas económicas de Cuba*, Est. Exp. Agronómica, Santiago de las Vegas, 1945.
- Cáceres, S. Idalia; Lérica A. Rojas; R. P. Álvarez: «Comportamiento varietal de nueve variedades clonales de plátano sobre la incidencia del ácaro *T. tumidus* Banks», I Simposio Internacional de Sanidad Vegetal de la Agricultura Tropical, Univ. Central Villa Clara, 1982.
- Cáceres, S. Idalia; R. Pérez; Lérica Almaguel: «Evaluación económica de las pérdidas causadas por *T. tumidus* Banks en el cultivo del plátano», *Protección de Plantas* 3 (1):7, 1993.
- Massó Elina. *Metodología de señalización de Tetranychus tumidus en plátano. Manual de Protección de Plantas*, D.G.S.V., MINAGRI, 1978.
- Pérez, A. R.; Lérica Almaguel; Idalia Cáceres: «Algunos aspectos sobre el conocimiento del ácaro rojo del plátano *Tetranychus tumidus* Banks», I Simposio sobre el Cultivo del Plátano, CEMSA 1983, La Habana, 1983.
- Pérez, A. R.: Lérica Almaguel; Nancy González: «Determinación de los parámetros bioecológicos y de comportamiento de *P. oleivora* en Naranja Valencia, *P. latus* en lima persa y *T. tumidus* en plátano», Informe Final de la Etapa 519-12-01, Secretaria Científica del INISAV, 1990.
- Pérez, A. R.: Lérica Almaguel. *Metodología de señalización de T. tumidus en plátano. Manual de Protección de Plantas*, DGSV, MINAGRI, 1992.
- Pérez, R.; Lérica Almaguel; E. de la Torre: «Umbral mínimo de desarrollo de *Tetranychus tumidus* en el cultivo del plátano», *MIP* (Costa Rica) 44: 25-28, 1997.
- Pérez, R.: «Parámetros biológicos y de comportamiento de *T. tumidus* en plátano», Informe final 5191201, INISAV, 1989.
- Pérez, R.: «Elaboración del pronóstico de *T. tumidus* en plátano», Informe final 5191202, INISAV, 1989.
- : Comprobación del pronóstico de *T. tumidus* en plátano Informe Final 5191203, INISAV, 1990.
- : «Elementos para el manejo integrado de *Tetranychus tumidus* en plátano y banano», Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, UCLV, 1996.
- Ramos L. Mayra: «Influencia de la disponibilidad de la presa sobre el desarrollo, reproducción, longevidad y consumo de *Phytoseiulus macropilis* Banks (*Acari:Phytoseiidae*)», V Seminario de Acarología, III Simposio de Zoología, Palacio de las Convenciones, La Habana, 1994, p. 56.
- : «Uso de *Phytoseiulus macropilis* Banks para el control de *Tetranychus tumidus* Banks en vivero de plátano», Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, MES, 1995.
- Sierra, L. Sarah; R. P. Pérez; Lérica Almaguel; Idalia Cáceres; Ermita Feitó: «Dinámica poblacional de *Tetranychus tumidus* en el cultivo del plátano», Informe final quinquenio 1976-1980, 1981.
- Simón, S.: «Les acariens et les thrips sur bananier», *Fruit. Institut de Recherches sur les fruit et argumes* (Número especial): 72-76, 1990.
- Vaidés, B. F.: «Principales plagas de los plátanos en Cuba. Araña roja *Septanychus tumidus*», *Agrotecnia*, La Habana, 1957, pp. 46-50.
- Viñuela E.; J. A. Jacas; V. Marco; A. Adán; F. Budia: «Los efectos de los plaguicidas sobre los organismos beneficiosos en agricultura y el grupo de trabajo de la OILB Plaguicidas y Organismos Benéficos I. Insecticidas y acaricidas», *Phytoma* 45: 18-25, 1993.

BOSQUEJO HISTÓRICO DE LOS TRABAJOS REALIZADOS PARA EL ESTABLECIMIENTO DEL CONTROL BIOLÓGICO DE LA MOSCA PRIETA DE LOS CÍTRICOS EN CUBA

R. Martínez, Nilda Blanco y Caridad de la Torre

Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical. Avenida 397 y 118, Santiago de las Vegas, Boyeros, Ciudad de La Habana.

Introducción

Cuba posee actualmente un gran prestigio mundial en la actividad del control biológico de plagas y enfermedades que afectan a los cultivos económicos. Este prestigio ha sido ganado con el esfuerzo sostenido durante muchas décadas por parte de eminentes especialistas como Patricio Cardín, Stephen C. Bruner, Ángel R. Otero, Luis C. Scaramuzza y otros, y fue magnificado después del triunfo de la revolución por el apoyo estatal que recibió la actividad. Desde 1959 se crearon centros de cría y distribución de los enemigos naturales más útiles, especialmente para el cultivo de la caña de azúcar, se desarrollaron nuevas tecnologías y se estudiaron nuevos insectos y microorganismos que permitieron establecer una amplia gama de enemigos naturales, multiplicados y distribuidos en una extensa red de 220 Centros de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos (CREE) que cubre todas las regiones agrícolas y todos los cultivos económicos del país, al mismo tiempo que se formaba una legión de especialistas con alto nivel.

Como reconocimiento a este elevado prestigio y al esfuerzo que continúa realizándose por la Dirección Nacional de Sanidad Vegetal, el Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal y otras instituciones, para ampliar y perfeccionar el sistema de control biológico de plagas y enfermedades de las plantas en Cuba, que constituye un pilar básico del desarrollo de las prácticas agroecológicas en el país, se ha realizado el presente trabajo histórico sobre el control de la mosca prieta de los cítricos, no porque constituya el primer establecimiento exitoso de parásitos introducidos de una plaga, sino por el gran impacto económico y el reconocimiento internacional que alcanzó, y porque constituye la base de todos los éxitos posteriores que se han alcanzado en Cuba en esta disciplina científica.

Antecedentes de control biológico con insectos en Cuba

Entre 1885 y 1890 se introdujo en Cuba la mangosta o hurón (*Herpes birmanicus* Thomas) para combatir las ratas que asolaban las plantaciones de caña, adaptándose tan bien el hurón a las condiciones cubanas que se convirtió en una terrible plaga. Posteriormente, en la década del veinte, hubo dos intentos fallidos de introducir insectos entomófagos: el doctor Mario Calvino trajo de California, en 1921, una cotorrita (*Cryptolaemus montrouzieri* Muls.) para combatir las chinches harinosas de la caña de azúcar, plátano, piña, etc. (*Pseudococcus* sp.). C. S. Stahl, entomólogo del Club Azucarero del Central Baraguá, trató de introducir de California, en 1926, ejemplares de un coccinélido chino (*Leis* sp.) para combatir los áfidos o pulgones de los cítricos. En ninguno de los casos se logró establecer los parásitos.

En junio de 1926 se reportó por primera vez en Cuba, por Bruner y Arango, la guagua acanalada de los cítricos (*Icerya purchasi* Mask), encontrándola en dos fincas cercanas a San Antonio de los Baños. En septiembre de 1927 fue reportada en Cayo Mambí y, desde entonces, se diseminó rápidamente por todo el país, con excepción de Isla de Pinos, sin que las aplicaciones de insecticidas, utilizadas con éxito contra otras especies de guaguas, tuvieran alguna efectividad.

La guagua acanalada es oriunda de Australia, donde no es muy dañina, y desde allí se diseminó por muchos países, resultando una plaga destructiva para los cítricos, numerosos frutales, los pinos y para muchas plantas ornamentales. Los insectos adultos se encuentran sobre la corteza de las ramas y ramitas, las cuales pueden ser envueltas completamente por los grandes cuerpos blancos del cóccido. Los individuos jóvenes atacan fundamentalmente a las hojas. En 1889 la industria frutera de California estuvo a punto de ser destruida

por esta plaga, por lo que se introdujo un enemigo natural para liquidarla: la cotorrita de Australia (*Rodolia cardinalis* Muls.)

Bruner y Arango propusieron a la Secretaría de Agricultura, Comercio y Trabajo, la introducción en Cuba de la cotorrita de Australia. Llegan el 28 de junio de 1928 los primeros ejemplares, enviados por el State Plant Board de Florida. En la Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas se multiplicaron estos ejemplares, y Bruner y Arango establecieron colonias en las fincas más atacadas por la plaga. A los pocos meses de colocar los primeros insectos en las fincas más infestadas de San Antonio de los Baños, fue eliminada la plaga por completo. La cotorrita fue distribuida gradualmente por todo el país, y se estableció perfectamente en todos los lugares, por lo que se consideró totalmente neutralizada la guagua acanalada.

Desde el punto de vista histórico, la introducción y multiplicación de la cotorrita de Australia en 1928 constituye el primer caso de establecimiento efectivo de control biológico por parte de insectos en Cuba.

La mosca prieta (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) en Cuba

En 1915 se reportó por primera vez en Cuba, en Guantánamo, la presencia de la plaga de los cítricos conocida como mosca prieta, la cual estaba presente en otras islas de Caribe y en países centroamericanos como Panamá y Costa Rica. En 1917 se reportó la plaga en La Habana y, desde entonces, en todas las regiones cítricas del país, menos en Isla de Pinos. El primer reporte de la plaga y los estudios sobre su diseminación fueron hechos por Patricio Cardín, jefe del Departamento de Patología Vegetal y Entomología de la Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas, y que colaboró activamente con la sección de Sanidad Vegetal de la Secretaría de Agricultura, Comercio y Trabajo. Todas las opiniones coinciden en que fue introducida casualmente desde Jamaica, y que su diseminación a todo el país ocurrió por distintos medios naturales y por el transporte de plantas destinadas a la siembra. El insecto ataca también al mango, la guayaba, el aguacate y otros frutales, aunque no causa daños tan importante como en los cítricos.

La mosca prieta, según la descripción de Bruner, es un insecto hemíptero, alado, de pocos milímetros, cuyas larvas ocupan en gran número las caras inferiores de las hojas, chupan la linfa, causan la caída de las hojas y reducen la producción de frutos. Tiene una rápida multiplicación. A pesar de su nombre, realmente no tiene afinidad con las moscas, aunque en su estado adulto se asemeja a una mosquita de color ahumado; es más bien un pariente de las guaguas, pues pertenece al grupo general de insectos chupadores (Hemipteros) y a la familia de los Aleiródidos, cuyos integrantes se conocen como moscas blancas, aunque muchos no son precisamente de ese color.

La mosca prieta deposita sus huevecillos ovalados en la parte inferior de las hojas de los retoños nuevos, disponiéndolos en pequeños espirales. Estos huevos son de color amarillento y pasan, con el tiempo, a parduscos. Los estados larvales se parecen más en forma y tamaño a las guaguas (Cóccidos) que a otros insectos, y tienen la apariencia de unos cuerpos ovalados, abultados y negros, brillantes como puntos de carbón mineral, con poco más de un milímetro de largo. Mientras está en ese estado, segrega un líquido dulce conocido como miel de rocío, el cual es esparcido por el agua de lluvia y el rocío. En este líquido azucarado se desarrolla un hongo negro conocido como fumagina (*Capnodium citri*), el cual forma una capa delgada o película como el hollín sobre las hojas y los frutos, lo que da un aspecto ahumado muy feo a los árboles.

Las pérdidas causadas por la plaga en los primeros años fueron tan grandes, que el Congreso de la República aprobó en 1917 una partida de \$50 000 para exterminarla, aunque continuó extendiéndose por el país. Los métodos de control utilizados consistían en rociar las plantas con insecticidas líquidos de contacto, siendo los más recomendados por Bruner las emulsiones de petróleo y las soluciones de jabón, haciendo dos o tres aplicaciones al año, durante la época seca invernal, tratando toda la arboleda de una vez.

La utilización de estas sustancias resultaba muy costosa por la necesidad de disponer de medios de aplicación que eran muy caros, y sólo resultaba efectiva en aquellas plantaciones donde podían hacerse grandes inversiones, como en Ceballos y Catalina de Güines. Como en la mayoría de los lugares no podían aplicar, o lo hacían mal por carecer de recursos, la plaga continuaba multiplicándose.

Stephen Cole Bruner, quien al morir Cardín en 1919 fue nombrado jefe del Departamento de Patología Vegetal y Entomología de la Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas, realizó un destacado trabajo encaminado al control de la mosca prieta. Este norteamericano, que se arraigó en tierra cubana y absorbió la idiosincrasia criolla, trabajó durante 38 años, hasta su muerte en 1953, en la Estación Experimental Agronómica, y llegó a ser la máxima figura de la fitopatología y de la entomología agrícola en Cuba. Bruner descubrió dos especies de hongos enemigos de la mosca prieta, sobre la cual establecen un efectivo control cuando las condiciones son adecuadas: el hongo rojo (*Aschersonia aleyrodinis*) y el hongo pardo (*Aegerita webberi*), los cuales no pudo cultivar en condiciones de laboratorio, lo que limitaba su aplicación.

Estos hongos se encuentran en el envés de las hojas y se desarrollan sobre el cuerpo del insecto envolviéndolo. Son muy útiles en la época de lluvias y en lugares húmedos, pero en lugares secos y otras épocas del año no son efectivos, por lo que la plaga se disemina. Bruner recomendaba propagarlos de la siguiente manera: tomar unas hojas de árboles sobre las que estuviera el

hongo y atarlas en cualquier rama alta de árboles infestados por la plaga, para lograr la propagación mediante el agua y el viento. También recomendaba sumergir hojas con el hongo en un cubo con agua durante media hora, agitando bien para que las esporas caigan en el agua; se cuele el contenido del cubo y se riega un poco de este líquido en las ramas superiores de los árboles infestados. Esta operación debe hacerse después de la puesta del sol o en días nublados.

En los archivos de la antigua Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas (hoy INIFAT) se conservan centenares de consultas procedentes en todo el país sobre los métodos químicos y biológicos para combatir la mosca prieta. A todas respondía Bruner con rapidez y claridad.

Entre 1916 y 1928 se gastaron en Cuba, inútilmente, muchos centenares de miles de pesos en la compra y aplicación de insecticidas, ya que la presencia de la plaga en el país se consideraba de tanta importancia que fue uno de los motivos principales de que se fundara el Servicio de Sanidad Vegetal.

Factores que hicieron posible el establecimiento del control biológico de la mosca prieta

Las grandes preocupaciones de Bruner al ver que ningún procedimiento de control detenía la marcha ascendente de la mosca prieta, lo llevaron a buscar nuevos caminos. Era de su conocimiento que en las regiones tropicales de Asia las poblaciones del insecto no constituían ningún problema porque existían controles biológicos naturales. En su trabajo sobre la solución del problema de la mosca prieta preparado en 1928, expone: «Hace algunos años hube de sugerir a uno de los gobiernos anteriores la conveniencia de dedicar atención al asunto de los insectos parásitos de la mosca prieta en su país de origen. Es decir, de la región asiática del sur». Pero no fue escuchado.

Conocía que el famoso entomólogo italiano Filippo Silvestri había hecho importantes descubrimientos en materia de enemigos naturales de la mosca prieta en Asia, describiendo entre ellos a las especies *Amitus hesperidum* Silv., *Eretmocerus serius* Silv., *Prospaltella clypealis* Silv. y *P. opulenta* Silv. Posteriormente recibió el trabajo de Silvestri titulado «Descrizione di tre specie di *Prospaltella* e di una di *Encarsia* (Hym:Chalcididae) parassite di *Aleurocanthus*», el cual se publicó en la *Revista Española de Entomología*, en septiembre de 1926. En este trabajo se describen los parásitos *Prospaltella smithi* Silv., de Ceilán y China; *P. divergens* Silv.; de la India; *P. ishii* Silv., de China; *Encarsia merceti* Silv., de India y Filipinas.

El 20 de septiembre de 1926 Silvestri escribe al profesor J. Tristán, en San José de Costa Rica, una carta que fue publicada en el *Diario de Costa Rica*, y que el entomólogo norteamericano Charles H. Ballou envió a Bruner. En esa carta se describía el modo como *P. smithi* se

alimentaba y consumía a la mosca prieta, y exponía cómo las plantaciones citricolas de Ceilán, Singapur y China estaban libres de plaga por la acción de los parásitos.

El 22 de enero de 1928 Augusto Bonazzi, que trabajaba en el central Chaparra, publicó una nota sobre los hallazgos de Silvestri en el diario *El País*.

Con estos conocimientos acumulados, Bruner escribe su trabajo «Sobre la solución del problema de la mosca prieta», que fue publicado en la *Revista de Agricultura, Comercio y Trabajo*, año X, no. 7, correspondiente a enero de 1928, en el cual expone todos los antecedentes existentes sobre los parásitos de la mosca prieta. Por su importancia, se exponen los párrafos finales del trabajo, que constituyen la exposición de un plan que, como ocurrió anteriormente, había de caer en oídos sordos:

«Estimo, pues, que ha llegado el momento en que podemos recomendar con la mayor confianza la introducción en Cuba de parásitos de la mosca prieta, con cuyo establecimiento en el país existe toda probabilidad de que la ya muy renombrada plaga de nuestros naranjales pasará a las filas de los insectos-curiosidades. La introducción de estos parásitos, sin embargo, no es un trabajo sencillo para el inexperto, ni siquiera para el entomólogo corriente.

«Es un trabajo para especialistas en esta difícil rama de la entomología, de los cuales existen pocos. El que se encargue del trabajo tendrá que trasladarse a la región de referencia, y allí estudiar y perfeccionar el modo de poder enviar los insectos vivos y en cantidad a través del Pacífico, un viaje que requeriría varios meses.

«Las plantas vivas para criar la mosca prieta tendrían que venir en cajas especiales y en una cantidad mayor de dicho insecto que del parásito, pues este tendrá un ciclo de vida mucho más corto que aquel; de otro modo podría completar una generación y morir de hambre después. Las plantas, además, tendrían que mantenerse en estado normal de crecimiento, pues de no ser así no podría sobrevivir la mosca prieta.

«En fin, es un trabajo delicado, que costaría varios miles de pesos, pero infinitamente menos que lo que se ha gastado ya en los centros oficiales sin resultados prácticos, y lo que han gastado y tendrán que seguir gastando nuestros agricultores en combatir el insecto por un número indefinido de años. Es un trabajo delicado, repetimos, pero practicable, como lo demuestra lo hecho en Hawaii, California y otros lugares en empresas semejantes. Y un trabajo que, una vez efectuado, promete alivio permanente que ningún otro procedimiento conocido pudiera ofrecer».

Nadie respondió a este llamado de Bruner, el cual se entrevistó con Molinet, secretario de Agricultura, el 10 de mayo de 1928, en una gestión sin acogida; sin embargo, sus ideas se fortalecieron con la llegada a Cuba

de Filippo Silvestri, al cual atendió y acompañó en sus expediciones durante los 21 días que estuvo en el país. Silvestri llegó el 27 de septiembre, y al día siguiente fue a visitar a Bruner. Asistieron al laboratorio de Zoología de la Universidad de La Habana, donde encontraron al profesor Guillermo Aguayo. Juntos visitaron plantaciones de cítricos, platanales y otros frutales, dirigiendo sus observaciones, en particular, a las plagas de los cultivos y a sus enemigos naturales, recogiendo ejemplares en todas partes.

El 1 de octubre fue recibido Silvestri por el doctor Eugenio Molinet, secretario de Agricultura, Comercio y Trabajo, quien se interesó mucho por los avances en la lucha biológica contra la mosca prieta, que cada vez causaba más daños en el país. También se entrevistó con Eduardo Pimentel, secretario general de Agricultura y con el doctor Ernesto Sánchez Estrada, jefe de la sección de Sanidad Vegetal.

Entre el 2 y el 7 de octubre Silvestri y Bruner visitan a Santiago de Cuba; el 8, Camagüey, donde los esperan los entomólogos Stahl y Plank en el Club Azucarero de Baraguá y, en días posteriores, visitan los naranjales Ruspoli en Ciego de Avila, y otras plantaciones en Santa Clara y Cienfuegos.

En todos los recorridos fue la principal preocupación buscar enemigos naturales autóctonos de la mosca prieta, pero no tuvieron éxito. Al regresar a La Habana vuelve a reunirse Silvestri con Molinet, quien le propone ofrecer una conferencia que no pudo efectuarse por falta de tiempo, ya que partió de Cuba el 18 de octubre de 1928.

El material colectado en estos recorridos permitió la descripción de 22 especies de insectos nuevos para la ciencia, entre ellos siete especies cavernícolas, las cuales forman parte del conjunto de 2 100 especies nuevas descritas por Silvestri en sus viajes por todo el mundo. Los nombres específicos de estas 22 especies fueron dedicados en su totalidad a Cuba o a sus científicos y amigos cubanos de Silvestri; así, tres especies recibieron el nombre de *bruneri* por Bruner; dos el de *cubanus*; dos el de *calvinii* y *calvinianus* por Calvino; dos el de *molineti* por Molinet; dos el de *pimenteli* por Pimentel, uno el de *aguayo* por Aguayo; uno el de *barbouri* por Barbour; uno el de *bonazzii* por Bonazzi; tres el de *poeyii* por Poey. Además, colectó numerosos ejemplares que también resultaron especies nuevas, pero que fueron descritas por otros especialistas.

La estrecha relación que se estableció entre Bruner y Silvestri durante estos 21 días sirvió para fortalecer la idea de que la única solución para el problema de la mosca prieta en Cuba consistía en la introducción y adaptación de los enemigos naturales procedentes del sur de Asia.

Coincidiendo con esta labor desplegada por Bruner para convencer a las autoridades de la necesidad de apoyar económicamente el trabajo de introducción de

enemigos naturales, comienza a generarse una gran preocupación en la península de la Florida ante el número cada vez mayor de materiales procedentes de las islas del Caribe o de Centroamérica, que eran portadores de mosca prieta en cualquiera de sus estadios, y que eran decomisados e incinerados por la Aduana. Estaban convencidos de que, si no se tomaban medidas serias, no se podría impedir la introducción de la plaga en las plantaciones cítrícolas de Florida. La crisis estalló cuando, en septiembre de 1928, se detectaron en Jacksonville paquetes procedentes de Cuba que contenían hojas y flores de naranjo portadoras de huevos, larvas, pupas y adultos de mosca prieta. El Bureau of Plant Industry de Florida toma cartas en el asunto y elabora un proyecto para apoyar la introducción de parásitos en Cuba con dos finalidades: lograr establecer el control en un país cercano con alta infestación, que representaba el mayor peligro de introducción de la plaga en la Florida, y contar con un abundante reservorio de enemigos naturales en las proximidades de la Florida, lo cual representaría una fuente de abastecimiento de estos insectos en caso de que no pudiera impedirse la entrada de la plaga.

De esta manera, con la intervención de las autoridades norteamericanas, comenzaron a crearse las condiciones necesarias para traer los parásitos de la mosca prieta del Lejano Oriente. Lo primero que se hizo en la Florida fue analizar y sacar experiencias de los resultados negativos de un esfuerzo anterior para introducir en ese territorio parásitos de la mosca blanca de los cítricos (*Aleyrodes citri*)

En efecto, el 31 de julio de 1910 partió para los países del Lejano Oriente R. S. Woglum. Un recorrido por las plantaciones cítrícolas de la India, Ceilán y otros países permitió encontrar mosca blanca en todos los lugares, pero sin causar daños importantes porque estaba controlada por pequeños himenópteros. En dos ocasiones fracasaron los esfuerzos por transportar estos insectos a la Florida. En un tercer intento, después de seis semanas de viaje, llegaron vivos 36 insectos a Orlando (Florida), pero no sobrevivieron las condiciones del invierno floridano, por lo que se consideró que el intento había fracasado. No obstante, el Bureau of Plant Industry de Florida analizó con cuidado todo lo que se había hecho en esta expedición para sacar experiencias y garantizar el éxito de una segunda expedición encaminada a introducir en Cuba los parásitos de la mosca prieta.

Introducción de los parásitos de la mosca prieta en Cuba

El 5 de noviembre de 1928 el secretario de Agricultura de Estados Unidos, W. M. Jardine, y el secretario de Agricultura, Comercio y Trabajo de Cuba, doctor Eugenio Molinet, firmaron un convenio con referencia a la colecta de parásitos de la llamada mosca prieta, Black Fly (*Aleurocanthus woglumi* Ashby). Por la parte de

Estados Unidos participaron representantes del Departamento de Agricultura Federal y del Departamento de Agricultura del Estado de la Florida; por la parte cubana participaron J. L. Vega en representación del presidente Machado, y el doctor Ernesto Sánchez Estrada, jefe de la Sección de Sanidad Vegetal

Los términos de este convenio son los siguientes:

«POR CUANTO: hay establecida en la República de Cuba y otras islas de las Antillas, la zona del canal de Panamá, Costa Rica y otras partes del hemisferio occidental, una plaga de insectos conocidos variamente como la mosca prieta, Blach Fly (*Aleurocanthus woglumi* Ashby), cuyo insecto es destructor de varios árboles y plantas, particularmente los cítricos, y obstaculiza seriamente la prosperidad de las industrias de la horticultura en los distintos países.

«POR CUANTO: esta plaga no se ha establecido todavía en Estados Unidos de América, pero la horticultura de este país está constantemente expuesta a ser infectada con el daño consiguiente por ello.

«POR CUANTO: es sabido que en el Oriente, y especialmente en la India, existen determinadas agencias de control natural tales como parásitos, predadores (insectos rapaces) y enfermedades de la mosca prieta que ejercen una gran influencia de la supresión de la plaga en esas áreas.

«POR CUANTO: es opinión de los gobiernos de la República de Cuba y de Estados Unidos de América, representados por sus respectivos Departamentos de Agricultura, que este esfuerzo es más probable que sea seguido del éxito, y ha de seguirse más rápida, efectiva y económicamente si de él se encargan como una actividad conjunta ambos gobiernos, puesto que sus intereses son comunes, que si el proyecto se pusiera en ejecución separadamente por uno o el otro gobierno.

«POR TANTO: ahora, este convenio hace constar que las partes contratantes mutuamente convienen una con la otra lo siguiente:

«El Departamento de Agricultura de Estados Unidos, por medio de su negociado de entomología, hará utilizables los servicios de uno de sus entomólogos prácticos, es decir, de un especialista en la busca y colecta de parásitos y predadores de plagas de la horticultura, al objeto de que visite los países de Oriente donde se cree que puedan encontrarse esas agencias de control de la mosca prieta, y allí colecte y críe esos enemigos naturales preparándolos para su embarque, y haciendo arreglos para su transporte apropiado a Cuba y otros destinos determinados. El gobierno de Estados Unidos se compromete a pagar el sueldo de este especialista.

«La República de Cuba proveerá en la Estación Experimental Agrícola de Santiago de las Vegas, o en algún otro lugar adecuado, facilidades en forma de estación de campo o laboratorio para la recepción, cría o propagación y distribución de los enemigos naturales de la

mosca prieta que sean colectados y embarcados en Oriente. La República de Cuba también hará utilizables los servicios de los entomólogos de dicha Estación Experimental para que ayuden a un especialista del Departamento de Agricultura de Estados Unidos en el cuidado, cría o propagación y distribución de esos enemigos naturales, entendiéndose que el sueldo de este último será pagado por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos.

«La República de Cuba hará disponibles para su desembolso en relación con los gastos necesarios, tales como transporte, subsistencia, útiles y equipos, empleo del personal temporero necesario en relación con la expedición a Oriente, para encontrar, colectar, propagar y transportar los parásitos, predadores o enfermedades fungosas de la mosca prieta, la suma de diez mil pesos o la parte de ella que se requiera para el corriente año fiscal que terminará el 30 de junio de 1929, y la misma suma para cada año sucesivo en lo adelante, según se renueve este convenio o inteligencia».

Hemos querido transcribir casi completo el texto del convenio porque contiene algunos aspectos importantes.

En los por cuantos se pone de manifiesto que el interés principal del gobierno de Estados Unidos es evitar que la plaga penetre en su territorio. También el trabajo por realizar se presenta como una actividad conjunta de ambos gobiernos, pero más adelante aparece que los gastos los pagará el gobierno de Cuba durante los años que sea necesario. El gobierno de Estados Unidos sólo se compromete a pagar el salario de dos especialistas, cosa que también debe hacer el gobierno de Cuba con los especialistas que representen a la parte cubana. Pero todos los gastos de la expedición al Lejano Oriente, incluyendo transporte, dietas, contratación de personal nativo, etc., corren por cuenta de Cuba.

Este convenio demuestra claramente la índole lacayuna del gobierno de Machado. Cuando Bruner hizo sus planteamientos para defender a los citricultores cubanos, no se le hizo caso, y no había dinero para los gastos que acarrearía la traída de los parásitos. Pero bastó que en junio de 1928 visitara a Molinet un comisionado del State Plant Board de Florida exponiendo que la presencia de la mosca prieta en Cuba constituía un problema de interés para el gobierno de Estados Unidos, para que se aceptara la proposición, que tenía muy pocas diferencias con la presentada por Bruner un mes antes. Hasta apareció el dinero necesario para costear los gastos, como aparece en el convenio firmado unos meses después.

El coordinador general de todo el trabajo fue el doctor A. C. Baker, del Bureau of Entomology. Curtis P. Clausen fue el seleccionado para viajar al Lejano Oriente, y Paul A. Berry fue el responsable de los trabajos de aclimatación y reproducción de los parásitos cuando llegaron a Cuba, junto con Bruner y con León Bouclé, inspector de

Sanidad Vegetal. Este fue el equipo que se organizó y que desarrolló todas las tareas necesarias.

Mientras llegaban los insectos parásitos, Berry y J. M. Mc Gough, que estuvo un tiempo ayudándolo, estudiaron detenidamente la biología y el ciclo de vida de la mosca prieta, y presentaron los resultados de su estudio en junio de 1932, en la monografía titulada *La mosca prieta de los Citrus y su desarrollo en Cuba*, publicada por la Sección de Sanidad Vegetal.

El 21 de abril de 1930 llegó a Cuba el primer envío de parásitos, traídas por Clausen desde Kuala Lumpur, y consistía en posturas de mango infestadas con moscas prietas parasitadas. Las plantas fueron situadas en el garaje de la Sección de Sanidad Vegetal, que actuaba como área de cuarentena, hasta que Bruner determinó su estado fitosanitario, fundamentalmente para garantizar que estuvieran libres de *citrus canker* o gangrena de los cítricos. Cuando se determinó el estado sanitario satisfactorio de las plantas de mango, fueron trasladadas a la Estación Experimental y colocadas en la casa que se había construido especialmente para este trabajo, donde fueron atendidas por Bruner, Berry y León Bouclé.

La primera generación de parásitos emergió entre el 27 de abril y el 14 de mayo, y consistía de 34 hembras de la especie *Prospaltella divergens* Silv. y 70 individuos de *Eretmocerus serius* Silv. (43 hembras y 27 machos).

El primero de los parásitos, muy delicado, no se pudo criar, pero el segundo, muy vigoroso, se multiplicó rápidamente.

La segunda generación salió entre el 26 de mayo y el 11 de junio, y consistió de 60 hembras y 75 machos, es decir, 135 individuos. Se obtuvo una tercera generación entre el 21 de junio y el 14 de julio, con 945 individuos, 670 hembras y 275 machos. En la medida en que fue perfeccionándose la técnica de cría se lograba un mayor número de individuos por hembra fértil, y ya en la cuarta generación se lograron 8 700 individuos. El tiempo promedio de emergencia fue 24 días.

La colonización en el campo se inició con cautela, garantizándose la supervivencia de las crías en el insectario. En la finca Cementerio, en Santiago de las Vegas, se liberaron siete parásitos el 24 de junio, 16 el 26, 22 el 27 y 20 el 2 de julio. En la finca Santa Lucía, en Santiago de las Vegas, se liberaron 12 parásitos el 24 de junio, 24 el 26, 40 el 30 y 34 el 5 de julio. En la finca Rincón, de Alquízar, se liberaron 12 el 25 de junio, 34 el 28, 35 el 1 de julio y 95 el 4.

Estos fueron los primeros lugares donde se liberó el *E. serius*, apenas 63 días después de la llegada de los primeros parásitos al país. En la medida en que la multiplicación fue alcanzando mayor magnitud se fueron colonizando

fincas en mayor escala, hasta que todas las regiones estuvieron cubiertas con el parásito. La distribución de los parásitos la hacía la Sección de Sanidad Vegetal, bien de acuerdo con un plan trazado o bien respondiendo a solicitudes que se recibían de todo el país.

A finales de 1930 y en los primeros meses de 1931 llegaron otros dos embarques con distintas especies de parásitos, de los que sólo se estableció la cotorrita de Malaya (*Catania clauseni* Chapin), la cual persistió hasta 1938, cuando se colectaron 1 000 ejemplares en Caimito del Guayabal para enviar a Bahamas, y todavía en 1947 se colectaron algunos cientos de ejemplares en distintos lugares para enviar a México. La reducción de las poblaciones de este insecto con el transcurso de los años no constituyó ningún problema, porque la avispiña amarilla de Malaya (*E. serius*) estaba perfectamente establecida y dominaba la plaga. Se encontró que, liberando entre 100 y 500 ejemplares de *E. serius* en las plantaciones de cítricos, se conseguía controlar la plaga entre 8 y 12 meses.

El beneficio económico reportado al país se calculaba en unos veinte millones de pesos hasta 1950, en una época en que no existían las grandes plantaciones cítricas que hay en la actualidad. Solamente en Ceballos manifestaba el administrador de algunas plantaciones en 1932 que el control biológico les ahorra \$12 000 anuales por no tener que utilizar insecticidas, sin contar el valor del incremento del rendimiento en frutos de calidad comercial.

En junio del mismo año viene de Jamaica un entomólogo del gobierno de Inglaterra para recoger parásitos en Cuba y aprender los métodos de cría y distribución. El establecimiento de *E. serius* en Jamaica fue muy efectivo. Ese mismo año se introdujo en Haití, Bahamas y Panamá. En 1933 en Costa Rica. En 1935 fue detectada la mosca prieta de los cítricos en México, y vinieron especialistas a Cuba para aprender los métodos de control biológico. *E. serius* se estableció bien en algunas zonas de aquel país, aunque no resultó tan efectivo como en Cuba, debido quizás a las diferentes condiciones climáticas de las zonas infestadas. Por ello, se envió un entomólogo a Cuba en octubre de 1947 para recoger ejemplares de *Catania clauseni*, que se adaptó bien a las condiciones de México. Desde 1935 visitaron la Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas representantes de muchos países para aprender los métodos de establecimiento de controles biológicos. Cuba sirvió como centro de irradiación de estos parásitos a numerosos países del hemisferio occidental.

La actividad del Departamento de Patología Vegetal y Entomología de la Estación Experimental Agronómica fue intensa y fundamental para lograr el éxito del control biológico, comenzando por el descubrimiento de la

plaga en Cuba por Patricio Cardín, pasando por la campaña realizada por Bruner para hacer conciencia sobre la necesidad de establecer los parásitos en Cuba, siguiendo con la participación en la cría y distribución de los parásitos introducidos, junto con los especialistas de la Sección de Sanidad Vegetal, y terminando con el establecimiento efectivo de los parásitos en las plantaciones mediante un eficiente trabajo de ambas instituciones. Durante este tiempo se publicaron diez artículos sobre la mosca prieta y sus enemigos naturales, y se ofreció una eficiente información sobre el control de la plaga mediante insecticidas y mediante hongos entomopatógenos.

Honor a los hombres que, luchando contra las incomprendiciones, supieron sentar las bases para desarrollar lo que hoy constituye uno de los más sólidos pilares de la agricultura socialista: el control biológico de plagas y enfermedades.

REFERENCIAS

- Bruner, S. C.: «Sobre la solución del problema de la mosca prieta». *Rev. Agr. Com. y Trabajo* 10 (7): 38-41, 1928.
- : «Notas descriptivas sobre los parásitos importados por Cuba para combatir la llamada mosca prieta». *Rev. Agr. Com. y Trabajo* 12 (12): 7-11, 1930.
- INIFAT. Material de archivo (inédito).

PHYTOMONAS: PROTOZOOS FLAGELADOS DE PLANTAS

Ingrid Paz

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

RESUMEN

Phytomonas son protozoos flagelados de plantas. Se pueden localizar en los tubos de látex, en frutos o semillas y en el floema. Estos últimos se consideran causantes de diversas enfermedades en cultivos de interés económico tales como cocotero, café, yuca, palma aceitera, entre otros. Pueden transmitirse a través de insectos hemípteros, y su distribución natural es muy amplia. Actualmente se realizan diversos estudios moleculares y bioquímicos para lograr su correcta ubicación taxonómica.

Palabras claves: *Phytomonas*, protozoos flagelados

ABSTRACT

Phytomonas are plant parasites flagellate protozoan. It can be localized on latex tubes, on fruits or seeds and on phloem; these last are considered causers of several diseases on plants with economic importance, such as: coconut, coffee, cassava, oil palm, etc. They are transmitted through hemipteran insects and their natural distribution is very wide. At present time, several molecular and biochemist studies are made to get their correct taxonomic location.

Key words: *Phytomonas*, flagellate protozoan

INTRODUCCIÓN

El término *protozoo* se aplica a todos los organismos animales unicelulares, algunos de los cuales pueden formar colonias. Se incluyen en el reino protista, junto con otros organismos unicelulares, cuyo núcleo celular está rodeado de una membrana. No tienen estructuras internas especializadas a modo de órganos, o están muy poco diferenciadas. Dentro de los protozoos se suelen admitir varios grupos: los sarcodinos, que son componentes importantes del plancton; los cilióforos o ciliados; los cnidosporidios, parásitos de invertebrados, peces, algunos reptiles y anfibios; los esporozoos, parásitos de animales y humanos; y los zoomastiginos, flagelados parásitos de plantas y de animales. Por tanto, en este último grupo se incluyen las *Phytomonas*.

La característica más sobresaliente de los flagelados es la existencia de unas prolongaciones en forma de látigo denominadas flagelos, que les sirven para desplazarse. Pueden vivir como células aisladas, en colonias o como parásitos. Son abundantes en casi todos los medios acuáticos y terrestres. Los flagelados proporcionan indicios de cómo pueden haber evolucionado las formas de vida multicelulares, ya que presentan características comunes con las plantas, los animales y los hongos, y

cuando forman colonias muestran una actividad coordinada [Enciclopedia Encarta, 1997].

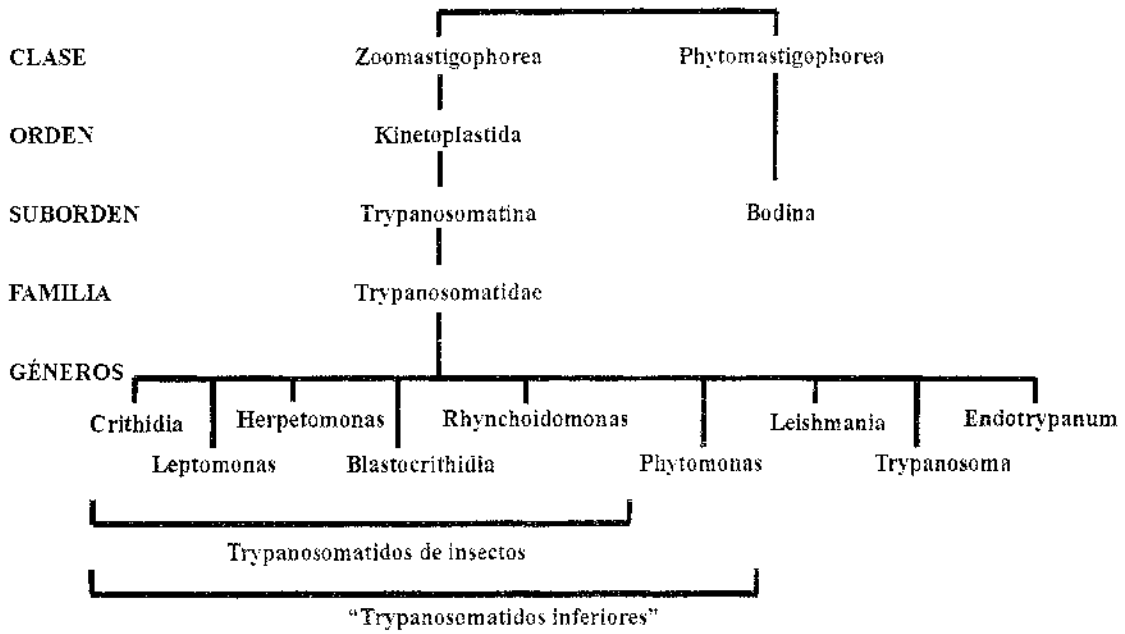
Phytomonas, al ser protozoos parásitos de plantas, resultan ser los causantes de enfermedades y patologías en cultivos de interés económico. En Cuba son poco conocidos, pero no se puede afirmar que no existan, aunque no constituyan un problema fitosanitario.

El objetivo de esta reseña es, por tanto, presentar algunas características de estos patógenos, así como de los estudios que se desarrolla a nivel mundial para permitir su correcta clasificación, a fin de contribuir a su conocimiento.

Ubicación taxonómica. Características

Dada su morfología y características ultraestructurales, *Phytomonas* se clasifican en el orden Kinetoplastida, familia Trypanosomatidae. Los protozoólogos los han incluido en el grupo más bajo de tripanosomátidos, que no es un taxon formal, pero incluye los tripanosomátidos de invertebrados y plantas. [Dollet, 1994].

La actual ubicación taxonómica de los protozoos flagelados de referencia, según Molyneux & Ashford (1983), citados por Dollet (1994), se presenta a continuación:



Phytomonas es el único género de protozoos flagelados de plantas, mientras que los otros géneros corresponden a protozoos parásitos de insectos, animales y humanos. Los tripanosomátidos de insectos tienen algunas características comunes con los del género *Phytomonas*.

Protozoos flagelados de plantas

1. Clasificación. Criterios

Desde hace algún tiempo la literatura especializada ha estado recopilando información sobre la presencia de protozoos flagelados relacionados con plantas. Sus antecedentes se remontan a 1909, cuando Lafont los encontró en el látex de *Euphorbia pilulifera*, aunque los nombró *Leptomonas davidi* al considerar que estos organismos tenían las mismas características que las de ese género (también llamado *Herpetomonas* por algunos autores) [Harvey y Lee, 1943]. Donovan (1909) arbitrariamente propuso un nuevo género, *Phytomonas*, para distinguirlos de los tripanosomátidos de animales. Muchos otros autores continuaron llamando a estos organismos por el nombre *Leptomonas* [Dollet, 1984], pero finalmente se impuso *Phytomonas* [Dollet, 1994].

Sin embargo, hasta 1985 no existía algo que realmente distinguiera a estos organismos de ciertos tripanosomátidos de insectos (*Leptomonas*, *Crithidia* o *Herpetomonas*). Los atributos de estos géneros dependían grandemente de la morfología de los organismos y de la posición relativa del núcleo y el kinetoplasto [Dollet, 1994].

Los criterios o claves de identificación disponibles actualmente permiten agrupar con mayor seguridad organismos altamente heterogéneos dentro del género *Phytomonas*.

1.1. Criterios biológicos

El hecho de que los tripanosomátidos sean aislados de plantas, no significa que se incluyan en un grupo homogéneo, ya que parasitan diferentes plantas, órganos o tejidos y causan diversos efectos.

Por su ubicación en tejidos

Criterio 1. Tripanosomátidos de tubos laticíferos. La mayoría vive en los tubos laticíferos de plantas productoras de látex (Apocynaceae, Asclepiadaceae, Euphorbiaceae, etc.).

Criterio 2. Tripanosomátidos intrafloemáticos. Se conocen cuatro casos; en cada uno se localizan específicamente en los tubos cribosos del floema y son transportados por la savia, en la que se multiplican a los órganos de la planta [Dollet, 1994].

Criterio 3. Tripanosomátidos de frutos. Pueden estar en la pulpa o bajo la corteza, en áreas mostrando trazas de picaduras de insectos. Sin embargo, en este caso, al menos un aislado ha sido identificado como *Leptomonas*. Se ha probado experimentalmente que los bajos tripanosomátidos (*Crithidia*, *Leptomonas* y *Herpetomonas*), pueden multiplicarse en el fruto de tomate después de inoculación física. Así, no porque los tripanosomátidos sean aislados de plantas, automáticamente pertenecen al género *Phytomonas* [Dollet, 1994].

Por su efecto patogénico

Criterio 4. Tripanosomátidos específicamente asociados a un síndrome patológico. Los tripanosomátidos intrafloemáticos están asociados con la marchitez de las plantas que parasitan. Esta patogenicidad ha sido difícil de probar de acuerdo con los postulados de Koch [Mc Coy y Martínez, 1982], pero es razonable asumir, por su amplia localización, que puedan tener un efecto negativo en el transporte de savia [Dollet, 1994]. Este criterio de patogenicidad se corresponde con el criterio 2.

Criterio 5. Tripanosomaátidos sin efecto patógeno o simbioses. La mayoría de las laticíferas que presentan tripanosomátidos no muestran síntomas patogénicos específicos.

Por su cultivo in vitro

Criterio 6. Tripanosomátidos que pueden ser aislados en medio acelular. Virtualmente todos los tripanosomátidos de látex y frutos se pueden obtener en un medio acelular. Sin embargo, los tripanosomátidos de *Asclepias curassavica* son una excepción.

Criterio 7. Tripanosomátidos que requieren células alimentarias. Sólo ha sido posible cultivar tripanosomátidos intrafloemáticos en presencia de células de insectos o alimentarias. Esto puede ser visto en los agrupados bajo los criterios 2, 4 y 7.

Por anticuerpos monoclonales

Criterio 8. Serología. Los anticuerpos monoclonales usados en inmunofluorescencia indirecta pueden tener una capacidad discriminante. Así, más de siete actúan contra un aislado de látex, cuatro no reaccionan a tres especies de *Crithidia* probadas, ni a *Herpetomonas*, ni a tres especies de *Trypanosoma*. Sin embargo, tres de estos cuatro anticuerpos no reaccionan con ciertos aislados de tripanosomátidos de plantas. Así permiten, al menos, hacer una distinción entre «bajos tripanosomátidos», pero no son específicos a un género.

La inmunofluorescencia con anticuerpos que actúan contra aislados intrafloemáticos o aislados del látex de especies de *Euphorbiaceae* de Sudamérica provee un método para distinguir entre los tripanosomátidos de plantas intrafloemáticos e intralaticíferos de África, India y el Mediterráneo, y los de Sudamérica. Además revelan relaciones serológicas muy cercanas entre todos los tripanosomátidos intrafloemáticos asociados con síntomas patológicos [Dollet, 1994].

1.2. Criterio molecular

Los criterios moleculares confirman la clasificación que permite realizar el criterio biológico, y definen mejor la caracterización de cada aislado.

Criterio 9. Isoenzimas. Se estudiaron 31 aislados o clones de origen intralaticífero o intrafloemático, de diferentes plantas y diferentes continentes, usando electroforesis de isoenzimas para 14 loci diferentes. Los resultados revelan la extrema variabilidad de estos organismos. Por una parte, están los tripanosomátidos intrafloemáticos de Sudamérica, más o menos ligados a ciertos tripanosomátidos de plantas productoras de látex de la misma región. Por otra, están los aislados de látex mediterráneos, más o menos ligados a aislados de látex de África e India. También han sido hallados dos grupos independientes de aislados de plantas productoras de látex de Sudamérica.

Además, ciertos grupos de tripanosomátidos se encuentran virtualmente tan lejos entre ellos, como lo están de *Herpetomonas*. Si sólo existiera un género de tripanosomátidos de plantas, *Phytomonas*, podría ser al-

tamente heterogéneo. Se deduce que la población natural de tripanosomátidos de plantas parece estar presente en forma de clones naturales, los que pueden ser considerados como taxa actual para todos los estudios en estos organismos [Dollet, 1994].

ADN kinetoplástico

Es un ADN mitocondrial, compuesto por miles de moléculas de ADN circulares y encadenadas que forman una enorme red plana semejando una cota de malla. Cada red contiene dos tipos de moléculas de ADN circular. Los minicírculos son usualmente heterogéneos en la secuencia, pero idénticos en la talla dentro de la red. Su función genética conocida es codificar pequeñas guías de ARNs que controlan la edición de copias de maxicírculos. Los maxicírculos se deslizan a través de una monocapa encadenada de minicírculos; codifican ARNr y proteínas mitocondriales involucradas en el transporte de electrones y síntesis de ATP [Lys y Englund, 1998].

Criterio 10. Tamaño de los minicírculos. Han sido identificadas cinco categorías de tamaño de minicírculos a partir de 13 aislados de tripanosomátidos de plantas.

Criterio 11. Análisis de restricción de endonucleasa. Los minicírculos exhiben patrones de división restringidos característicos de casi cada aislado de tripanosoma de plantas, permitiendo su identificación. Los resultados alcanzados en el estudio de los mapas de restricción de los diferentes aislados corroboran los obtenidos por el estudio isoenzimático

Tomando en cuenta estos criterios, se ha concluido que, hasta el momento, existen tres tipos de tripanosomátidos en plantas:

- 1) Los localizados exclusivamente en frutos, donde son depositados por insectos. Son fácilmente cultivados *in vitro* y se multiplican rápidamente.
- 2) Los simbioses de los tubos del látex no causan síntomas patológicos y pueden ser cultivados con relativa facilidad en medio acelular.
- 3) Los intrafloemáticos, siempre asociados con síndromes patológicos, de los cuales ellos parecen ser los causantes. Son transmitidos por chinches de la familia Pentatomidae. Son muy difíciles de cultivar *in vitro*, ya que requieren células alimentarias. Este grupo tiene una limitada distribución geográfica, sólo en Sudamérica, considerando que los de frutas o látex existen en varios continentes. Además, es de interés señalar que los organismos en este grupo contienen una doble hélice de ARN, probablemente de origen viral.

Distribución natural:

Las *Phytomonas* se consideran organismos digenéticos (de dos hospederos), debido a que se encuentran tanto en plantas como en insectos [Uttaro *et al.*, 1997].

En general, presentan una amplia distribución geográfica, aunque depende de la parte de la planta en que se hayan encontrado. Por ejemplo, los que se encuentran

en el látex han sido hallados a nivel mundial [Camargo, 1999]. En el caso de los frutos, han sido identificados en tomates en África del Sur, España y Brasil. Los investigadores asumen que dondequiera que los insectos (particularmente Hemiptera), se alimenten de frutos, es posible hallar flagelados. Sólo los que están restringidos al floema parecen estar confinados en América Latina, desde Perú y Brasil hasta Honduras y Trinidad y Tobago [Dollet, 2000].

Han sido hallados en 17 diferentes familias de plantas [Uttaro *et al.*, 1997]. En la *Tabla 1* se relacionan algunas de sus plantas hospedantes. Además, se cree que son transmitidos por insectos del orden Hemiptera, fitófagos pertenecientes a las familias Coreidae (*Phthia picta*, *Veneza zonata*, *Fabrictilis gonagra*, *Stenocephalus aquilis*, *Leptoglossus zonatus*), Lygaeidae (*Nysius euphorbiaceae*), Pyrrhocoridae y Pentatomidae (*Lincus croupius*, *Lincus spp.*, *Lincus lobuliger*, *Ochlerus sp.*).

Tabla 1. Algunas familias y especies hospedantes de *Phytomonas*

Familia	Especie	Parte de la planta	País	Referencia
Rubiaceae	<i>Coffea liberica</i>	Floema	Guatemala, Surinam	[Stahel, 1931]
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia hirta</i>	Tubos laticíferos	Brasil	[Almeida, 1996]
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia hyssoipifolia</i>	Tubos laticíferos	Brasil	[Almeida, 1996]
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia characias</i>	Tubos laticíferos	Brasil	[Almeida, 1996]
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia francisci</i>	Tubos laticíferos	Brasil	[Almeida, 1996]
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia lasiocarpa</i>	Látex, xilema y espacios intercelulares	Ecuador	[Dollet, 1994]
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia pilulifera</i>	Tubos laticíferos		[Lafont, 1909, citado por Dollet 1994]
Euphorbiaceae	<i>Manihot esculenta</i>	Tubos laticíferos	Brasil	[Uttaro <i>et al.</i> , 1997]
Euphorbiaceae	<i>Chamaesyce thymifolia</i>	Tubos laticíferos	Brasil	[Almeida, 1996]
Solanaceae	<i>Lycopersicon esculentum</i>	Frutos	Brasil, España, Sudáfrica	[Sánchez-Moreno, 1995] [Dollet, 2000]
Solanaceae	<i>Solanum americanum</i>	Frutos	Brasil, España	[Campaner <i>et al.</i> , 1996]
Solanaceae	<i>Solanum concinnum</i>	Frutos	Brasil, España	[Campaner <i>et al.</i> , 1996]
Solanaceae	<i>Solanum erianthum</i>	Frutos	Brasil, España	[Campaner <i>et al.</i> , 1996]
Solanaceae	<i>Solanum robustum</i>	Frutos	Brasil, España	[Campaner <i>et al.</i> , 1996]
Solanaceae	<i>Solanum variable</i>	Frutos	Brasil, España	[Campaner <i>et al.</i> , 1996]
Solanaceae	<i>Solanum viarum</i>	Frutos	Brasil, España	[Campaner <i>et al.</i> , 1996]
Solanaceae	<i>Nycandra physaloides</i>	Frutos	Brasil, España	[Campaner <i>et al.</i> , 1996]
Annonaceae	<i>Annona cherimolia</i>	Frutos	España	[Sánchez-Moreno <i>et al.</i> , 1995]
Bixaceae	<i>Bixa orellana</i>	Frutos	-	-
Amaranthaceae	<i>Amaranthus retroflexus</i>	Tallos	España	[Sánchez-Moreno, 1998]
Palmaceae	<i>Cocos nucifera</i>	Tubos cribosos, floema de raíces, yemas e inflorescencias	Brasil, Colombia, Ecuador	[Mc Coy y Martínez, 1982] [Cunha, 1996]
Cucurbitaceae	<i>Cucurbita moschata</i>	Flores [pétalos y peciolo]	Brasil	[Fiorini <i>et al.</i> , 1996]
Asclepiadaceae	<i>Asclepias curassavica</i>		Ecuador	[Dollet y Gargani, 1989]
Moraceae	<i>Morus alba</i>	Frutos	Brasil	[Fiorini <i>et al.</i> , 1996]
Gramineae	<i>Zea mays</i>	Semiilas	Brasil	
Palmaceae	<i>Elaeis guineensis</i>	Tubos cribosos, floema de raíces, yemas e inflorescencias	Ecuador, Surinam, Colombia, Perú, Honduras	[Mc Coy y Martínez, 1982] [Chinchilla y Umaña, 1996]
Zingiberaceae	<i>Alpinia purpurata</i>			[Dollet, 2000]
Myrtaceae	<i>Eugenia sp.</i>		Brasil	[Cavazzana <i>et al.</i> , 1996]
Leguminosaceae	<i>Trifolium glomeratum</i>	Tallos	España	[Sánchez-Moreno, 1998]
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>	Frutos	España	[Sánchez-Moreno, 1998]

Enfermedades asociadas

En 1931 Stahel, estudiando la «necrosis del floema» del café (*Coffea liberica*) en Surinam, halló flagelados en el floema hiperplástico de plantas afectadas. Informó que la enfermedad era transmisible por injerto, y que el protozoo flagelado *Phytomonas leptosporum* Stahel estaba asociado con plantas sintomáticas, aunque los postulados de Koch no se cumplieron. Este trabajo fue confirmado por Vermuelen en 1963 [Mc Coy y Martínez, 1982].

Sin embargo, el interés en los tripanosomátidos de plantas pronto decayó debido a sucesivas fallas para cultivarlos *in vitro*. Hubo un resurgimiento en la década del setenta, con el crecimiento de problemas económicos causados por las enfermedades de cocotero (hartrot) y palma aceitera (la enfermedad conocida como marchitez sorpresiva) en América Latina y el Caribe [Dollet, 2000].

Parthasarathy *et al.*, en 1976, descubrieron flagelados del género *Phytomonas* en elementos cribosos del floema de cocoteros (*Cocos nucifera*), afectados por la enfermedad hartrot en Surinam [Mc Coy y Martínez, 1982].

Mc Coy y Martínez (1982) observaron *P. staheli* en tejidos y savia de cocoteros, y palmas aceiteras africanas en Colombia, con síntomas de marchitez sorpresiva, y comprobaron que estos flagelados viven en los elementos conductores del floema de las raíces e inflorescencias. En Centroamérica esta enfermedad solamente ha sido encontrada en palma aceitera en la costa norte de Honduras, donde se presenta de manera muy concentrada y aislada. Chinchilla y Umaña (1996) señalan que una planta de palma aceitera infestada por *Phytomonas* no desarrollará los racimos, los cuales se pudrirán rápidamente.

En Brasil también se observó la enfermedad hartrot en cocoteros. Los síntomas que se describen son amarillamiento de las hojas más viejas, inflorescencias no abiertas o parduscas, frutos inmaduros y muerte de la región apical [Cunha, 1996].

Se confirma que los protozoos no han sido nunca hallados en palmáceas saludables ni en regiones o plantaciones no afectadas por hartrot o marchitez. Sólo se encuentran cuando las plantas muestran el amarillamiento descendente, bronceado y secado característicos de estas enfermedades [Dollet, 2000].

En *Euphorbia lasiocarpa*, en Ecuador, ha sido reportado enanismo, deformación del tallo y defoliación. En este caso los tripanosomátidos fueron detectados en el látex, xilema y espacios intercelulares [Dollet, 1994].

La literatura acumula varias incidencias de *Phytomonas* en Euphorbiaceas, pero la mayoría son considerados no patogénicos [Almeida, 1996]. En yuca (*Manihot esculenta*), *P. francai* causa chochamento das raízes o raíces vacías [Uttaro *et al.*, 1997]. Aunque se observen a veces manifestaciones patológicas en estas plantas laticíferas parasitadas por tripanosomátidos, es difícil determinar exactamente su papel en cada síntoma; este pudiera ser un caso de infección mixta, por ejemplo, con un virus [Dollet, 2000]. Dollet y Gargani (1989), reportaron la presencia del *Asclepias rhabdovirus* asociado con *Phytomonas* sp. en *Asclepias curassavica*.

Los frutos de los cuales los tripanosomátidos pueden ser aislados tienen generalmente manchas localizadas (amarillentas, a veces con malformaciones) directamente vinculadas a la multiplicación de microorganismos en la lesión hecha por el insecto vector [Fiorini *et al.*, 1986; Sánchez-Moreno *et al.*, 1995]. Solamente son infestados los frutos con daños hechos por insectos, mientras que la planta queda libre de protozoos [Dollet, 2000].

Es necesario tener en cuenta que en muchas regiones de América su aparición también ha estado asociada a problemas agronómicos y ambientales desfavorables para el cultivo. Por ejemplo, cuando la marchitez sorpresiva apareció por primera vez en nuestro continente, causó pérdidas severas, principalmente debido a medidas de combate inapropiadas. Hasta la fecha, el conocimiento sobre la enfermedad ha crecido, conduciendo al desarrollo de estrategias de lucha más efectivas (como la temprana erradicación de las plantas enfermas), lo cual ha reducido significativamente la importancia de este problema al punto de que, cuando se implementan correctamente las medidas básicas de control, toma un carácter secundario.

Estudios de identificación

Clásicamente *Phytomonas* han sido descritas como tripanosomátidos de plantas con una típica apariencia promastigota —de acuerdo con la posición del núcleo y el kinetoplastidio—, pero esta definición es ambigua, porque esta misma apariencia se observa además en *Leptomonas* y *Herpetomonas* (Fig. 1). Por otra parte, los flagelados pueden ser hallados junto a *Crithidia* y *Blastocrithidia* en vectores de *Phytomonas*. Por todo esto, a pesar de que desde la década del ochenta, con los primeros estudios de caracterización y cultivos *in vitro*, se ha adquirido una gran cantidad de información, no existe un criterio bien definido para atribuir diferentes aislados de tripanosomátidos de plantas al género *Phytomonas*. Se hace necesario un marcador simple y no ambiguo.



Figura 1. Apariencia promastigota de *Phytomonas*

Desde hace algún tiempo se han empleado en la taxonomía de *Phytomonas* los siguientes métodos:

- Aglutinación
- Perfiles isoenzimáticos.
- Métodos inmunológicos.
- Huella del ADN genómico o kinetoplástico.
- Secuencia homóloga de genes ribosomales.
- Hibridación con oligonucleótidos específicos de la secuencia del empalme guía presente en los ARNm. [Uttaro *et al.*, 1997].
- Técnica de microscopía fluorescente empleando nucleótidos fluorescentes para estudiar el mecanismo de replicación del ADN kinetoplástico [Lys y Englund, 1998].

Aunque algunos de estos métodos fueron específicos para el género, fallaron al distinguir algunos aislados individuales; otros no permitieron distinguir entre el género *Phytomonas* y algunos otros géneros. Además, la mayoría de ellos presentan alguna dificultad metodológica: necesitan aislamiento y cultivo de los parásitos, son muy laboriosos, consumen mucho tiempo y muchas veces no son exitosos debido a dificultades en el aislamiento de *Phytomonas* [Serrano *et al.*, 1996].

Uttaro y Oppendoerfer (1995) caracterizaron dos enzimas que intervienen en la producción de algunos de los productos finales del metabolismo central de *Phytomonas*. Posteriormente Uttaro *et al.* (1996) demostraron la utilidad de una de estas enzimas (la isopropanol deshidrogenasa) como un marcador simple y altamente específico del género *Phytomonas*, ya que sólo esta enzima estuvo presente en este género. Además, se sugiere que pudiera servir, junto con otras enzimas en futuros estudios taxonómicos de este género [Uttaro *et al.*, 1997].

Se cree que otras técnicas y marcadores conservativos (como el ARN ribosomal) proveerán nuevos datos, haciendo posible perfilar niveles de clasificación para estos organismos al nivel de géneros y especies [Dollet, 1994].

CONCLUSIONES

• *Phytomonas* son un grupo altamente heterogéneo de protozoos flagelados pertenecientes al orden Kinetoplastida, familia Trypanosomatidae. Esta alta hetero-

geneidad ha hecho que se lleven a cabo diversos estudios bioquímicos y moleculares, a fin de lograr su correcta ubicación taxonómica.

• De acuerdo con diversos criterios de clasificación –biológico (por su ubicación en tejidos, por su efecto patogénico, por su cultivo *in vitro* y mediante anticuerpos monoclonales) y molecular (por isoenzimas y mediante el ADN kinetoplástico)– se ha podido concluir que existen tres tipos de flagelados de plantas: 1) los localizados exclusivamente en frutos, donde son depositados por insectos; 2) los simbiosites de los tubos del látex; no causan síntomas patológicos; 3) los intrafloreáticos, siempre asociados con síndromes patológicos, de los cuales parecen ser los causantes. Son transmitidos por insectos del orden Hemiptera, familia Pentatomidae.

• Estos últimos se hallan solamente en nuestro continente, y son los causantes de enfermedades en varios cultivos de interés económico como café, yuca, cocotero, palma aceitera, entre otros.

• El conocimiento profundo de cualquier problemática fitosanitaria constituye una gran ayuda para conducir, de manera más eficiente, a su prevención. Por lo tanto, es aconsejable tener en cuenta la importancia de los protozoos flagelados parásitos de plantas como patógenos, para evitar incurrir, en un futuro, en la aplicación de medidas de control inapropiadas.

REFERENCIAS

- Almeida, D. C. de; M. da Cunha; W. de Souza; F. C. Miguens: «Preliminary Study of the Fauna (Insecta) in *Chamaesyce thymifolia* (Euphorbiaceae) infected by *Phytomonas*», *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 91, Suppl., November, 1996.
- Camargo, E. P.: «*Phytomonas* and Other Trypanosomatid Parasites of Plants and Fruit», *Advances in Parasitology* 42, 29-112, 1999.
- Campaner, M.; P. Kastelein; M. Sánchez-Moreno; M. Teixeira; E. P. Camargo: «Different *Phytomonas* spp. Circulate Among Solanaceae», *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 91, Suppl., November, 1996.
- Cavazzana, M.; C. T. Ueno; E. N. Kaneshima; T. G. Domene; J. V. Jankevicius; S. Itow: «Detection and Isolation of Protozoa in Pitanga Fruit (*Eugenia* sp., Myrtaceae)», *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 91, Suppl., November, 1996.
- Chinchilla, C.; C. H. Umaña: «No existe un riesgo conocido de introducir enfermedades en la semilla de palma aceitera importada de Costa Rica», *ASD Oil Palm Papers*, 13:1-8, 1996.
- Cunha, M. da; D. C. de Almeida; W. de Souza; F. C. Miguens: «Heart Disease in Commercial Coconut Culture of Quissamá-North of Rio de Janeiro State», *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 91, Suppl., November, 1996.
- Dollet, M.: «Identification and Characterization of Pest Organisms: a Plan Trypanosomes Case Study», *The Identification and Characterization of Pest Organisms*. CAB International, 1994.
- : «Phloem-Restricted Trypanosomatids Form a Dearly Characterized Monophyletic Group Among Trypanosomatids Isolated from Plants», Third Internet Conference on Salivarian Trypanosomes and Other Trypanosomatids, 2000.

- Dollet, M.; D. Gargani: «Mixed Infection of *Asclepias curassavica* L. in Ecuador: Rhabdovirus-Like Particles and *Phytomonas* sp.», *Journal of Phytopathology* 125, 269-273, 1989.
- Enciclopedia Microsoft Encarta '98*: Flagelados, Microsoft Corporation, 1997.
- Fiorini, J. E.; G. Cucolichio; D. Rezende, P. M.; Faria-e-Silva; M. J. Soares; W. de Souza: «Biochemical and Morphological Study of a Trypanosomatid Isolated from Mulberry», *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 91, Suppl., November, 1996.
- Fiorini, J. E.; G. Cucolichio; D. Rezende, P. M. Faria-e-Silva; M. J. Soares; W. de Souza: «Nutritional and Ultrastructural Characterization of a *Phytomonas* sp. Isolated from the Pumpkin (*Cucurbita moschata*) Flower», *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 91, Suppl., November, 1996.
- Harvey, R.; S. B. Lee: «Flagellates of Laticiferous Plants», *Plant Physiology* 18: 633-655, 1943.
- Lys, D.; P. T. Englund: «The Replication Mechanism of Kinetoplast DNA Networks in Several Trypanosomatid Species», *Journal of Cell Science*, 111: 675-679, 1998.
- Mc Coy, R.; G. Martínez: «*Phytomonas staheli* asociada a las enfermedades del cocotero y palmas aceiteras en Colombia», *Plant Disease*, 66: 675-677, 1982.
- Opperdoes, F.; M. Sánchez-Moreno: «Characterization of Carbohydrate Metabolism of *Phytomonas* sp.», *Biological and molecular studies of the various representatives of the Trypanosomatidae*. Annual Report 1995. UCL Christian de Duve Institute of Cellular Pathology, <http://indigo.icp.ucl.ac.be/report95/trop3.html> (24/12/98).
- M. Sánchez-Moreno; C. Fernández-Becerra; C. Fernández-Ramos; F. Luque; M. N. Rodríguez-Cabezas; M. Dollet; A. Osuna: «Trypanosomatid Protozoa in Plants of Southeastern Spain: Characterization by Analysis of Isoenzymes, Kinetoplast DNA, and Metabolic Behavior», *Parasitology Research* 84 (5): 354-361, 1998.
- Sanchez Moreno, M.; C. Fernández-Becerra; C. Mascaro; M. J. Rosales; M. Dollet; A. Osuna: «Isolation, *In Vitro* Culture, Ultrastructure Study, and Characterization by Lectin-Agglutination Tests of *Phytomonas* Isolated from Tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) and Cherimoyas (*Annona cherimolia*) in Southeastern Spain», *Parasitology Research* 81, 575-581, 1995.
- Serrano, M. G.; L. R. Nunes; M. Campane; G. A. Buck; E. P. Camargo; M. M. Teixeira: «*Phytomonas*: Genus Identification by PCR Amplification of Spliced Leader Gene Sequences», *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 91, Suppl., November, 1996.
- Uttaro, A. D.; M. Sánchez-Moreno; F. Opperdoes: *Genus-Specific Biochemical Markers for Phytomonas spp.* *Molecular and Biochemical Parasitology*, 1997.
- : «Two New Dehydrogenase Activities and Their Utility in the Taxonomy of *Phytomonas* sp.», *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 91, Suppl., November, 1996.
- Uttaro, A. D.; F. Opperdoes: «Enzimas del metabolismo central de *Phytomonas* (on line): Biological and Molecular Studies of the Various Representatives of the Trypanosomatidae», *Annual Report 1995*, UCL Christian de Duve Institute of Cellular Pathology <<http://indigo.icp.ucl.ac.be/report95/trop3.html>> (Consulta: 24 diciembre de 1998).