

# Contenido

---

## Diagnóstico fitosanitario

- Colectas acarológicas realizadas por la Sanidad Vegetal en la provincia de La Habana** 3  
Pedro E. de la Torre Santana, Eleazar Botta Ferret y Lérica Almaguel Rojas

## Manejo de plagas

- Consumo de alimento por *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) en pepino (*Cucumis sativus* L.)** 13  
Edilberto Pozo Velázquez, Roberto Valdés Herrera, Marlen Cárdenas Morales y Elier Mora Pérez

- Evaluación de la influencia de los productos de la descomposición del material vegetal de malezas en suelo sobre el desarrollo de plántulas de maíz** 17  
Ricardo García Castillo

- Potencialidades de maíz, millo y girasol como cultivos alelopáticos para el control de malezas** 23  
Ricardo García Castillo

- Evaluación de la efectividad de trampas rústicas para la captura de hembras adultas de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae)** 27

Davis Moreno Rodríguez, Henry González Ascuy, Eleazar Botta Ferret, Antonio Martínez Martínez y Jorge Ovies Díaz

- Influencia del perfil, el tamaño y el momento del muestreo de suelo en la determinación del potencial de malezas invasoras en cultivos anuales** 31

Fermín La O Fuentes, Ermenegildo Paredes Rodríguez, Eduardo Pérez Montesbravo, Tamara Mateo Antuña y Ricardo C. García Castillo

## Control químico

- Influencia del pH del agua sobre la efectividad de varios herbicidas utilizados en caña de azúcar** 37  
Inoel García Ruiz y Maritza Sánchez Ortiz

## Control biológico

- Influencia del pH y la temperatura en la producción de las fitotoxinas producidas por la *Pseudomonas aeruginosa* PSS. Evaluación de su efectividad en el control de malezas** 41

María E. Díaz de Villegas Díaz de Villegas, Antonio Bell García, Beatriz Altuna Seijas, Marcos A. González Sosa, Ricardo García Castillo, Ermenegildo Paredes Rodríguez, Ricardo Gallardo Iglesias, Esmérida Torres Castañeda y Mailing Carbonero González

- Efecto *in vitro* de extractos de plantas sobre especies bacterianas del género *Xanthomonas*** 49  
Marusia Stefanova Nalimova, Sandra G. Rizo Peña y María F. Coronado Izquierdo

- Organismos patógenos en especies de arvenses de cuatro cultivares de cítricos en la provincia de Ciego de Ávila** 53  
María de los A. Felipe López, Iván R. Gutiérrez Rojas, Edgardo Atahuichi López, Vernon Ibrahim Daniel, Yasmiani Santana Torres y Caridad Casola González

- Efectividad *in vitro* de *Trichoderma harzianum* (Rifai) en el biocontrol de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Pyricularia grisea* (Sacc.) en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.)** 57

Luciano Alarcón Pérez, Teresa Reyes Rondón, Giselle Rodríguez Gutiérrez y Ana D. Pupo Zayas

- Evaluación preliminar del crecimiento y la esporulación de *Aschersonia aleyrodis* Webber en medios de cultivo convencionales** 61  
Alexis A. Hernández Mansilla y Carmen Rosón Álvarez

## Reseña

- La microscopía de fluorescencia y su aplicación en el diagnóstico de bacterias fitopatógenas** 65  
Yuliet Franco Cardoza

## Comunicación para la fitoprotección

- Introducción, cuarentena y desarrollo de *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) en Cuba** 69  
Ofelia Milán Vargas, Esperanza Rijo Camacho y Elina Massó Villalón

## Comunicación corta

- Daños producidos por nemátodos foliares en plantas ornamentales de Cuba** 77  
Hortensia Gandarilla Basterrechea

## Resumen de tesis

- Evaluación de dos mecanismos de defensa de las abejas *Apis mellifera* L. frente al ácaro *Varroa destructor*** 79  
Jorge L. Sanabria Cruz

- Manejo integrado de enfermedades en arroz (*Oryza sativa* L.) en áreas de arroz popular** 80  
Luciano Alarcón Pérez

# Contents

---

## Phytosanitary diagnosis

- Mite Collection Realized by Plant Health in Havana Province** 3  
Pedro E. de la Torre Santana, Eleazar Botta Ferret and Lérica Almaguel Rojas

## Pests management

- Food Consumption by *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) on Cucumber (*Cucumis sativus* L.)** 13  
Edilberto Pozo Velázquez, Roberto Valdés Herrera, Marlen Cárdenas Morales and Elier Mora Pérez

- Evaluation of the Influence of Decomposed Weeds Material in Soil on the Development of Maize Young Plants** 17  
Ricardo García Castillo

- Effectiveness Evaluation of Rustic Traps for Catching Female Adults of Coffee Berry Borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae)** 23  
Davis Moreno Rodríguez, Henry González Ascuy, Eleazar Botta Ferret, Antonio Martínez Martínez and Jorge Ovies Díaz

- Allelopathic Potentials of Maize, Sorghum and Sunflower for Weed Control** 27  
Ricardo García Castillo

- Influence of Profile, Size and Soil Sampling Moment for Determining the Invasive Weeds Potential in Annual Crops** 31  
Fermín La O Fuentes, Ermenegildo Paredes Rodríguez, Eduardo Pérez Montesbravo, Tamara Mateo Antuña and Ricardo C. García Castillo

## Chemical control

- Influence of Water pH on the Effectiveness of Several Herbicides Used in Sugar Cane** 37  
Inoel García Ruiz and Maritza Sánchez Ortiz

## Biological control

- Influence of pH and Temperature on the Production of Phytotoxins Produced by *Pseudomonas aeruginosa* PSS. Effectiveness Evaluation for Weed Control** 41  
María E. Díaz de Villegas Díaz de Villegas, Antonio Bell García, Beatriz Altuna Seijas, Marcos A. González Sosa, Ricardo García Castillo, Ermenegildo Paredes Rodríguez, Ricardo Gallardo Iglesias, Esmérida Torres Castañeda and Mailing Carbonero González
- In Vitro* Effect of Plant Extracts Against Bacterial Species of Genus *Xanthomonas*** 49

Marusia Stefanova Nalimova, Sandra G. Rizo Peña and María F. Coronado Izquierdo

- Pathogenic Organisms in Weed Species of Four Citrus Cultivars in the Province of Ciego de Ávila** 53  
María de los A. Felipe López, Iván R. Gutiérrez Rojas, Edgardo Atahuichi López, Vernon Ibrahim Daniel, Yasmiani Santana Torres and Caridad Casola González

- In Vitro* Effectiveness of *Trichoderma harzianum* (Rifai) for Biocontrol of *Rhizoctonia solani* Kühn and *Pyricularia grisea* (Sacc.) in Rice (*Oryza sativa* L.)** 57  
Luciano Alarcón Pérez, Teresa Reyes Rondón, Giselle Rodríguez Gutiérrez and Ana D. Pupo Zayas

- Preliminary Evaluation of Growth and Sporulation of *Aschersonia aleyrodis* Webber in Conventional Culture Media** 61  
Alexis A. Hernández Mansilla and Carmen Rosón Álvarez

## Review

- Fluorescence Microscopy and its Application for the Diagnosis of Phytopathogenic Bacteria** 65  
Yuliet Franco Cardoza

## Communication for phytoprotection

- Introduction, Quarantine and Development of *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) in Cuba** 69  
Ofelia Milán Vargas, Esperanza Rijo Camacho and Elina Massó Villalón

## Short communication

- Damages Produced by Foliar Nematodes on Cuban Ornamental Plants** 77  
Hortensia Gandarilla Basterrechea

## Thesis abstract

- Evaluation of Two Defense Mechanisms of Honey Bees *Apis mellifera* L. Against the Mite *Varroa destructor*** 79  
Jorge L. Sanabria Cruz

- Integrated Disease Management in Rice (*Oryza sativa* L.) in Areas of Popular Rice** 80  
Luciano Alarcón Pérez

## COLECTAS ACAROLÓGICAS REALIZADAS POR LA SANIDAD VEGETAL EN LA PROVINCIA DE LA HABANA

Pedro E. de la Torre Santana,<sup>1</sup> Eleazar Botta Ferret<sup>2</sup> y Lérica Almaguel Rojas<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro Nacional de Sanidad Vegetal. Laboratorio Central de Cuarentena Vegetal. Ayuntamiento 231 e/ San Pedro y Lombillo, Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana, c.e.: entomologia@sanidadvegetal.cu

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600, c.e.: lalmaguel@inisav.cu

### RESUMEN

Se muestra la lista de ácaros interceptados por el Sistema de la Sanidad Vegetal en la provincia de La Habana. Para ello se utilizaron las intercepciones del Laboratorio Provincial de La Habana, datos no publicados y las colecciones de Acarología del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal y el Laboratorio Central de Cuarentena Vegetal.

Se registran para La Habana 75 especies, distribuidas en 14 familias. *Proctolaelaps lobatus* De León constituye un nuevo registro para Cuba. Se informa a *Echinochloa colona* (L.), *Panicum purpuracens* Raddi y *Amaranthus spinosus* L. como refugio transitorio de *Steneotarsonemus spinki* Smiley.

Palabras clave: catálogo, ácaros

### ABSTRACT

A list of mite collected by Plant Health Service in La Havana province is offered. In this way the interceptions obtained from Plant Health Provincial Laboratory of La Havana, non-published data and Acarology collection of Cuban Plant Health Research Institute, and also from Plant Quarantine Laboratory, were used in this work.

75 species belonging to 14 families were registered for La Havana. *Proctolaelaps lobatus* De León constituted a new report for the native mite-fauna. *Echinochloa colona* (L.) *Panicum purpuracens* Raddi and *Amaranthus spinosus* L. were informed as *Steneotarsonemus spinki* Smiley transitory refuge.

Key word: catalogue, mites

### INTRODUCCIÓN

Conocer la fauna acarológica relacionada con los cultivos en Cuba es una de las tareas en que están inmersos los especialistas de la Sanidad Vegetal. En fecha reciente se han confeccionado listas de especies en varias provincias del país como Matanzas, Villa Clara, Las Tunas y Guantánamo [Ramos y de la Torre, 2004; Martínez *et al.*, 2004; Álvarez y Alarcón, 2004; Suárez, 2004].

La provincia de La Habana es una de las de mayor peso en la producción agrícola cubana, tanto por el área destinada a esta actividad como por la diversidad de cultivos. Las especies acarinas presentes en esta gran región son conocidas solo parcialmente. Es por ello que en este trabajo se propone ofrecer un listado actualizado de los ácaros hallados en esta provincia, según los datos aportados por el sistema de la sanidad vegetal.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Para este trabajo se utilizó la lista no publicada de ácaros de Cuba de Pérez y Almaguel (1975), los datos de las intercepciones del Laboratorio Provincial de La Habana y las colecciones de Acarología del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV) y del Laboratorio Central de Cuarentena Vegetal (LCCV).

Las especies fueron enumeradas de forma consecutiva y alfabéticamente. También aparecen los hospedantes, municipios donde fueron interceptadas y fecha o año de la primera colecta. Solo se tomaron los ejemplares identificados hasta especie y los diagnósticos dudosos no se tuvieron en cuenta. Son señalados los nuevos registros de especies para el país. Los nombres de las plantas hospedantes provienen de Roig (1965).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Listado por familia y hospedero

#### Acaridae

1	<i>Rhizoglyphus setosus</i> Manson, 1972	<i>Brassica oleracea</i> L.	Nave de semilla, Güira de Melena, 1998
		<i>Gladiolus communis</i> L.	Güira de Melena, 1988
			Jaruco, 1989
		<i>Allium sativum</i> L.	Finca Reunión, sector privado, San Antonio de los Baños, 1998
Alquizar, 1989			
			Güira de Melena, San Antonio de los Baños, Batabanó y Artemisa, 1988
			Güines, 1989
2	<i>Rhizoglyphus tacitri</i> Manson, 1972	<i>Allium sativum</i> L.	Güira de Melena y Güines, 1988
3	<i>Tyrophagus longior</i> (Gervais, 1844)	Queso almacenado	La Habana, 1976
4	<i>Tyrophagus molitor</i> Zachvatkin, 1941	<i>Persea americana</i> M.	La Habana, 1976
5	<i>Tyrophagus perniciosus</i> Zachvatkin, 1940	<i>Nicotiana tabacum</i> L.	La Habana, 1977
6	<i>Tyrophagus putrescentiae</i> (Schr., 1781)	<i>Allium sativum</i> L.	Güira de Melena, 1987
			Alquizar y Jaruco, 1988
			Artemisa y San Antonio de los Baños, 1989
			Centro de Investigación del Arroz, La Coca, ETPP Artemisa, ETPP Jaruco, Güira de Melena y Güines, 1998

#### Ascidae

7	<i>Proctolaelaps lobatus</i> De León, 1963 (Nuevo registro para Cuba)	<i>Lantana camara</i> L.	Estación Experimental de Sanidad Vegetal, Alquizar, 17/03/2000
---	---	--------------------------	--

#### Cheyletidae

8	<i>Cheyletogenes ornatus</i> Canes. et Fanzag., 1876	<i>Citrus</i> sp.	Finca La Oriental, Alquizar, 31/03/1972
9	<i>Cheyletus arvensor</i> Rohdendanf, 1940	Cabecilla de arroz	La Habana, 1976
10	<i>Cheyletus malayensis</i> Cunliffe, 1962	Barredura harina de pescado, barredura de arroz, bijol en polvo, cabecilla de chícharo	La Habana, 1976

#### Cunaxidae

11	<i>Cunaxa taurus</i> (Kramer, 1881)	<i>Persea americana</i> M.	Estación de Frutales, Alquizar, 01/06/1997
----	-------------------------------------	----------------------------	--

Colectas acarológicas realizadas ...

Eriophyidae

12	<i>Acalitus gossypii</i> (Banks, 1904)	<i>Gossypium barbadense</i> L.	La Habana, 1974
13	<i>Aceria guazumae</i> (Cook, 1906)	<i>Guazuma tomentosa</i> H. B. K.	La Habana, 1973
14	<i>Aceria lantanae</i> (Cook, 1909)	<i>Lantana camara</i> L. var. <i>involucrata</i>	La Habana, 1974
15	<i>Aceria lycopersici</i> (Wolffenstein, 1879)	<i>Lycopersicum sculentum</i> Mill.	La Habana, 1973
16	<i>Aceria pluchaeae</i> (Cook, 1906)	<i>Pluchea odorata</i> L.	La Habana, 1974
17	<i>Aceria sheldoni</i> (Erwing, 1937)	<i>Citrus</i> sp.	La Habana, 1974
18	<i>Aceria tournefortiae</i> (Cook, 1906)	<i>Tournefortia hirsutissima</i> L.	La Habana, 1974
19	<i>Aceria tulipae</i> Keifer, 1938	<i>Allium sativum</i> L.	Güira de Melena, 1987
			Quivicán, 1988
			Artemisa y Jaruco, 1989
20	<i>Eriophyes calophylli</i> Cook, 1909	<i>Calophyllum brasiliense</i> Camp.	La Habana, 1973
21	<i>Eriophyes ipomoeae</i> Cook, 1909	<i>Ipomoea batata</i> L.	La Habana, 1974
22	<i>Eriophyes mixacordiae</i> Nalepa, 1914	<i>Cordia collococca</i> L.	La Habana, 1973
23	<i>Eriophyes paritii</i> Cook, 1906	<i>Hibiscus elatus</i> Sw.	La Habana, 1972
24	<i>Eriophyes platygenes</i> Cook, 1906	<i>Platygyne urens</i> Mercier.	La Habana, 1974
25	<i>Eriophyes tabebuiae</i> Cook, 1906	<i>Tabebuia pentaphylla</i> L.	La Habana, 1974
26	<i>Phyllocoptruta oleivora</i> (Ashmead, 1879)	<i>Citrus paradisi</i> Macf.	Estación Experimental de Cítricos, Güira de Melena, 12/07/1968
		<i>Citrus</i> sp.	Finca La Oriental, La Habana, 13/10/1972
27	<i>Shevchenkella stefneseri</i> Craemer, 1996	<i>Lantana camara</i> L.	Finca Alquizar, 16/11/1997
			Santa Cruz del Norte, 24/01/1999

Phytoseiidae

28	<i>Amblyseius aerialis</i> (Muma, 1955)	<i>Citrus sinensis</i> Osb.	Finca Alquizar, 01/04/1998
29	<i>Euseius hibisci</i> (Chant, 1959)	<i>Persea americana</i> Mill.	Güira de Melena, 01/03/1997
30	<i>Galendromimus alveolaris</i> (De León, 1961)	<i>Psidium guajaba</i> L.	Bauta, 08/12/2000
31	<i>Galendromus annectens</i> (De León, 1958)	<i>Lantana camara</i> L.	Boca de Jaruco, 24/01/1999
32	<i>Galendromus floridanus</i> (Muma, 1955)	<i>Persea americana</i> Mill.	Ceiba, 20/11/1973
33	<i>Typhlodromalus peregrinus</i> (Muma, 1955)	<i>Lantana camara</i> L.	Finca Alquizar, 01/04/1998
			Boca de Jaruco, 24/01/1999
		<i>Acacia farnesiana</i> (L.) Willd.	Bauta, 10/02/1999

De la Torre y otros

Pyemotidae

34	<i>Pyemotes ventricosus</i> (Newport, 1880)	<i>Sitotroga cerealata</i> (Olivier)	Laboratoria Provincial de Lucha Biológica, 1977
		Cebada	Melena del Sur, 1988

Stigmaeidae

35	<i>Agistemus tucumanensis</i> Gonzáles, 1965	<i>Persea americana</i> Mill.	La Habana, 1976
----	--	-------------------------------	-----------------

Suidasiidae

36	<i>Suidasia medanensis</i> Oudemans, 1924	<i>Bixa orellana</i> L.	Quivicán, San Antonio de los Baños, 1989
		Cebada	Melena del Sur, 1988

Tarsonemidae

37	<i>Polyphagotarsonemus latus</i> (Banks, 1965)	<i>Carica papaya</i> L.	La Habana, 1974
		<i>Citrus</i> sp.	
		<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.	
		<i>Nicotiana tabacum</i> L.	
		<i>Citrus sinensis</i> Osb.	La Habana, 1976
		<i>Rhawolfia tetraphylla</i> L.	La Habana, 1977
		<i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.	
		<i>Bidens pilosa</i> L.	
		<i>Cucurbita maxima</i> L.	
		<i>Dahlia coccinea</i> Cav.	
		<i>Datura arborea</i> L.	
		<i>Hibiscus cannabicus</i> L.	
		<i>Impatiens balcanica</i> L.	
		<i>Lonchera rosea</i> L.	
		<i>Mentha arvensis</i> L.	
		<i>Petiveria oleracea</i> L.	
<i>Sonchus oleraceus</i> L.			
	<i>Solanum nigrum</i> L.	Quivicán, 1978	
	<i>Amaranthus viridis</i> L.		
	<i>Phaseolus vulgaris</i>	SCC, San Antonio de los Baños, 1998	
38	<i>Steneotarsonemus bancrofti</i> (Michael, 1890)	<i>Sacharum officinarum</i> L.	La Habana, 1974
39	<i>Steneotarsonemus furcatus</i> De León, 1956	<i>Eleusine indica</i> (L.) Gaertn.	Finca Alquízar, 22/04/1998
		<i>Paspalum paniculatum</i> L.	Finca Alquízar, 13/05/1998
		<i>Rotboellia cochinchinensis</i> L.	
40	<i>Steneotarsonemus spinki</i> Smiley, 1967	<i>Oryza sativa</i> L.	Madrugá, Nueva Paz, 1997 La Coca, IIA, ETPP Artemisa, ETPP Jaruco, Güira de Melena y Güines, 1998
		<i>Echinochloa colona</i> (L.)	Pedro Pi, 21/10/99
		<i>Panicum purpuracens</i> Raddi	INCA, 29/07/98
		<i>Amaranthus spinosus</i> L.	Santa Cruz del Norte, 10/02/01

Colectas acarológicas realizadas ...

Tenuipalpidae

41	<i>Brevipalpus californicus</i> (Banks, 1904)	<i>Bidens pilosa</i> L.	La Habana, 1974
		<i>Cassia alata</i> L.	
		<i>Cordia globosa</i> Jacq.	
		<i>Humulus lupulus</i> L.	
		<i>Spathodea ampanulata</i> Baeuv.	
	<i>Trichilia hirta</i> L.		
42	<i>Brevipalpus obovatus</i> Donnadieu, 1875	<i>Annona</i> sp.	La Habana, 1974
		<i>Cestrum diurnum</i> L.	
		<i>Cestrum nocturnum</i> L.	
		<i>Citrus</i> spp.	
		<i>Humulus lupulus</i> L.	
43	<i>Brevipalpus phoenicis</i> (Geijskes, 1939)	<i>Mentha arvensis</i> L.	La Habana, 1974
		<i>Amomum cardamom</i> L.	
		<i>Annona</i> sp.	
		<i>Cedrela meyciana</i> M. J. Reem	
		<i>Petrea volubilis</i> L.	
		<i>Pueraria phaseoloides</i> Benth.	
		<i>Psidium guajaba</i> L.	
		<i>Citrus aurantium</i> Lin.	La Habana, 1977
44	<i>Brevipalpus pseudolilium</i> Livschitz et Salinas, 1969	<i>Cordiaum variegatum</i> Blume	La Habana, 1975
45	<i>Brevipalpus sexflagellatus</i> Livschitz et Salinas, 1969	<i>Guazuma tomentosa</i> H. B. K.	La Habana, 1974
46	<i>Brevipalpus tetraflagellatus</i> Livschitz et Salinas, 1969	<i>Swietenia macrophylla</i> King	La Habana, 1974
47	<i>Tenuipalpus cedrelae</i> Livschitz et Salinas, 1969	<i>Cedrela mexicana</i> M. J. Roem	La Habana, 1974
48	<i>Tenuipalpus hurae</i> Livschitz et Salinas, 1969	<i>Hura crepitans</i> L.	La Habana, 1974
49	<i>Tenuipalpus swieteniae</i> Livschitz et Salinas, 1969	<i>Swietenia macrophylla</i> King	La Habana, 1975

Tetranychidae

50	<i>Acostanychus salinaci</i> Livschitz, 1967	<i>Bauhinia galpinii</i> N. E. Bron	La Habana, 1974
51	<i>Allonychus braziliensis</i> (Mc Gregor, 1950)	<i>Hibiscus elatus</i> L.	Finca Las Delicias, Alquizar, 18/01/1975
		<i>Persea americana</i> Mill.	
		<i>Trichilia hirta</i> L.	Santa Cruz del Norte, 10/03/2001
52	<i>Eutetranychus banksi</i> (Mc Gregor, 1914)	<i>Cedrela mexicana</i> M. J. R.	La Habana, 1974
		<i>Cassia fistula</i> L.	
		<i>Citrus</i> spp.	
		<i>Jacaratia mexicana</i> A. C. C.	
		<i>Malpighia puniceifolia</i> L.	
		<i>Phaseolus lunatus</i> L.	
		<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	
		<i>Cordiaum variegatum</i> B.	
		<i>Citrus sinensis</i> Osb.	La Habana, 1976
		<i>Citrus taiwanika</i> Tan. & Shim.	
<i>Citrus sinensis</i> Osb.	Finca Alquizar, 01/04/1998		

De la Torre y otros

Tetranychidae

53	<i>Mononychelus caribbeanae</i> (Mc Gregor, 1950)	<i>Manihot esculenta</i> Crantz	La Habana ,1974
		<i>Psidium guajava</i> L.	
		<i>Hibiscus rosa sinensis</i> L.	La Habana, 1977
54	<i>Oligonychus acugni</i> Livschitz et Salinas, 1969	<i>Terminalia catappa</i> L.	La Habana, 1974
		<i>Derris elliptica</i> Griseb	
		<i>Cryptostegia grandiflora</i> (Roxb.)	
		<i>Eucaliptus</i> sp.	
55	<i>Oligonychus bruneri</i> Livschitz et Salinas, 1969	<i>Sacharum officinarum</i> L.	La Habana, 1974
56	<i>Oligonychus cubensis</i> , Livschitz et Salinas, 1969	<i>Persea americana</i> Mill.	Ceiba, La Habana, 20/11/1973
57	<i>Oligonychus punicae</i> (Hirst, 1926)	<i>Cassia nodosa</i> Buch Ham	La Habana, 1974
		<i>Persea americana</i> M.	
58	<i>Oligonychus ununguis</i> (Jacobi, 1905)	<i>Thuja orientalis</i> L.	La Habana, 1974
59	<i>Oligonychus viridis</i> (Banks, 1894)	<i>Sacharum officinarum</i> L.	La Habana, 1974
60	<i>Oligonychus yothersi</i> (Mc Gregor, 1914)	<i>Persea americana</i> Mill.	La Habana, 1974
61	<i>Panonychus citri</i> (Mc Gregor, 1950)	<i>Carica papaya</i> L.	La Habana, 1974
		<i>Citrus</i> spp.	
		<i>Citrus sinensis</i> Osb.	La Habana, 1975
		<i>Citrus reticulata</i> Blanco	La Habana, 1976
		<i>Citrus aurantifolia</i> S. W.	
		<i>Citrus paradisi</i> Macf.	
		<i>Citrus sinensis</i> Osb.	
<i>Citrus taiwanica</i> Tan. & Shim.			
62	<i>Schizotetranychus elymus</i> Mc Gregor, 1950	<i>Oriza sativa</i> L.	La Coca, IIA, 01/03/1998
63	<i>Schizotetranychus planki</i> (Mc Gregor, 1950)	<i>Abutilon</i> sp,	La Habana ,1974
		<i>Cajanus indicus</i> Spreng	
		<i>Calopogonium coeruleum</i> , Hemsl.	
		<i>Centrosema virginianum</i> , Benth	
		<i>Sida rhombifolia</i> L.	
		<i>Urena lobata</i> L.	
64	<i>Tetranychus cinnabarinus</i> (Boisduval, 1867)	<i>Althaea rosea</i> Cav.	La Habana, 1974
		<i>Boehmeria nivea</i> Hock & Arn.	
		<i>Euphorbia pilulifera</i> L.	
		<i>Ipomoea</i> sp.	
		<i>Manihot esculenta</i> Crantz	
		<i>Petiveria alliacea</i> L.	
		<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	
		<i>Pothomorphe peltata</i> (L.) Miq.	
		<i>Phytolacca</i> sp.	
		<i>Rosa</i> sp.	
		<i>Sida rhombifolia</i> L.	

Colectas acarológicas realizadas ...

65	<i>Tetranychus marianae</i> Mc Gregor, 1950	<i>Centrosema pubescens</i> Benth	La Habana, 1975
		<i>Cucurbita pepo</i> L.	
		<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	
		<i>Sida rhombifolia</i> L.	
		<i>Teramnus uncinatus</i> (L.) Sw., 1974	
		<i>Phothomorphe peltata</i> (L.) Miq.	
66	<i>Tetranychus mexicanus</i> (Mc Gregor, 1950)	<i>Carica papaya</i> L.	La Habana, 1974
		<i>Cedrela mexicana</i> R.	
		<i>Citrus</i> spp.	
		<i>Lonchocarpus longistylis</i> P.	
		<i>Malpighia glabra</i> L.	
		<i>Malpighia puniceifolia</i> L.	
		<i>Melicocca bijuga</i> L.	
		<i>Pithecoctenium echinatum</i> K.	
		<i>Sapindus saponaria</i> L.	
		<i>Triopteris jamaicensis</i> L.	
		<i>Zinnia elegans</i> Jacq.	
		<i>Codiaeum variegatum</i> L.	
		67	
<i>Boldoa purpurascens</i> Cav.			
<i>Colocasia</i> sp.			
<i>Croton lobatus</i> L.			
<i>Dioscorea alata</i> L.			
<i>Erythrina cristagalli</i> L.			
<i>Erythrina cubensis</i> Wight			
<i>Ipomoea</i> sp.			
<i>Malpighia puniceifolia</i> L.			
<i>Melia azedarach</i> L.			
<i>Morus nigra</i> L.			
<i>Ocimum basilicum</i> L.			
<i>Parmentiera cerifera</i> Seem			
<i>Podranea ricasoliana</i> S.			
<i>Robinia pseudo-acasia</i> L.			
<i>Tecomaria capensis</i> Spach.			
<i>Codiaeum variegatum</i> Blume			
68	<i>Tetranychus tumidus</i> Banks, 1900	<i>Althaea rosea</i> C.	La Habana, 1974
		<i>Abutilon indicum</i> S.	
		<i>Acalypha wilkesiana</i> Arg.	
		<i>Albizia lebeck</i> B.	
		<i>Calotropis procera</i> (A. H.) R. Br.	
		<i>Centaurea eyanus</i> L.	
		<i>Daucus carota</i> L.	
		<i>Gossypium</i> sp.	
		<i>Hibiscus cannabicus</i> L.	
		<i>Impatiens balsamica</i> L.	

De la Torre y otros

		<i>Leonurus sibicurus</i> L.	
		<i>Phaseolus lunatus</i> L.	
		<i>Phyllanthus ninuri</i> L.	
		<i>Phytolacca</i> sp.	
		<i>Risinus comunis</i> L.	
		<i>Rauwolfia</i> sp.	
		<i>Rosa</i> sp.	
		<i>Secium edule</i> Sw.	
		<i>Sida rhombifolia</i> L.	
		<i>Tabebuia lepidophylla</i> Rich.	
		<i>Tagetes erecta</i> L.	
		<i>Xanthosoma robusta</i> S.	
		<i>Zea mays</i> L.	
		<i>Zinnia elegans</i> Jacq.	
		<i>Amaranthus viridis</i> L.	
		<i>Dahlia coccinea</i> Cav.	
		<i>Hibiscus esculentum</i> L.	
		<i>Ipomoea batatas</i> L.	
		<i>Manihot esculenta</i> Crantz	
		<i>Musa paradisiaca</i> L.	
		<i>Parthenium hysterophorus</i> L.	
		<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	
		<i>Bidens pilosa</i> L.	La Habana, 1976
		<i>Vigueira helianthoides</i> H. B. K.	
		<i>Sorghum halepense</i> Pers	
		<i>Vinca rosea</i> L.	La Habana, 1978
		<i>Callistephus hortensis</i> Cass	Jaruco, 1988; Artemisa, 1998
		<i>Orthosiphon stamineus</i> Benth	Güira de Melena, 1998
		<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Finca Alquízar, 05/04/2000
69	<i>Tetranychus urticae</i> Koch,1836	<i>Citrus</i> spp.	La Habana, 1974
		<i>Mammea americana</i> L.	
		<i>Mangifera indica</i> L.	
		<i>Manihot esculentum</i> , C.	
		<i>Musa paradisiaca</i> L.	
		<i>Phaseolus aureus</i> Roxb.	
		<i>Persea americana</i> Mill.	
		<i>Ricinus comunis</i> L.	
		<i>Solanun melongena</i> L.	
		<i>Solanum torvum</i> Sw.	
		<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	
		<i>Rosa</i> sp.	
		<i>Citrus sinensis</i> Osb.	La Habana, 1976
		<i>Citrus taiwanicka</i> Tan. & Shim.	
		<i>Fragaria vasca</i> L.	San Antonio de los Baños, 02/05/1973, Güira de Melena, 1988

Tuckerellidae

70	<i>Tuckerella ornatus</i> (Tucker, 1923)	<i>Citrus limonum</i> B.	La Habana, 1974
		<i>Persea americana</i> M.	
71	<i>Tuckerella pavoniformis</i> (Ewing, 1922)	<i>Persea americana</i> Mill.	Ceiba del Agua, 05/06/1973

Tydeidae

72	<i>Tydeus gloveri</i> (Ashmead, 1879)	<i>Persea americana</i> Mill.	La Habana, 1976
73	<i>Tydeus tuttlei</i> Baker, 1965	<i>Persea americana</i> Mill.	La Habana, 1976
		<i>Citrus</i> sp.	La Habana, 1977
74	<i>Lorryia formosa</i> Cooreman, 1958	<i>Lantana camara</i> L.	Finca Alquizar, 02/03/2001
75	<i>Tydeus californicus</i> (Banks, 1949)	<i>Bixa orellana</i> L.	Alquízar, 11/07/2000

De las especies listadas 62 son fitófagas y 13 depredadoras. Entre las plagas más importantes se encuentran: *Rhizoglyphus setosus* Manson, *Tyrophagus putrescentiae* (Schr.), *Aceria tulipae* Keifer, *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead), *Polyphagotarsonemus latus* (Banks), *Steneotarsonemus spinki* Smiley, *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes), *Mononychelus caribbeanae* (Mc Gregor) y *Tetranychus tumidus* Banks.

Como nuevo registro para Cuba se señala a *Proctolaelaps lobatus* De León (Ascidae). Esta especie fue descrita en la Florida sobre flores de *Lantana camara* L. y aparentemente es específica de este hospedante, que utiliza insectos para propagarse de una planta a otra. Recientemente se ha detectado en Australia por introducción accidental [Halliday *et al.*, 1998].

Hasta el momento *S. spinki* solo se había detectado en plantas de arroz, por lo que resulta muy interesante que haya sido colectado en *Echinochloa colona* (L.), *Panicum purpuracens* Raddi y *Amaranthus spinosus* L. En los dos primeros hospedantes se observó escaso número de ejemplares, por lo que la presencia de *S. spinki* en estas plantas puede ser tomada como algo casual o accidental. Es interesante haberlo encontrado dentro de inflorescencias de una planta no poácea como *Amaranthus spinosus* L., a pesar de que estos ácaros habitan dentro de las vainas de las hojas de las gramíneas. Los individuos de esta muestra estaban perfectamente formados y en buena población de am-

bos sexos. La explicación más racional es que estuvieran en refugio transitorio.

## CONCLUSIONES

- Como resultado de las intercepciones de la sanidad vegetal, desde 1972 al 2001 se registran para la provincia de La Habana 75 especies, distribuidas en 14 familias.
- Se informa a *Echinochloa colona* (L.), *Panicum purpuracens* Raddi y *Amaranthus spinosus* L. como refugio transitorio de *Steneotarsonemus spinki* Smiley
- Se señala a *Proctolaelaps lobatus* De León (Ascidae) como nuevo registro para Cuba.

## REFERENCIAS

- Álvarez, L.; L. Alarcón: «Catálogo de ácaros fitófagos de la provincia de las Tunas», *Fitosanidad*, 8(1):19-21, La Habana, 2004.
- Halliday R. B.; D. E. Walter; E. E. Lindquist: «Revision of the Australian Ascidae (Acarina: Mesostigmata)», *Invertebrate Taxonomy* (12):1-54, 1998.
- Martínez, A. Z.; P. de la Torre; S. García: «Principales ácaros detectados en la provincia de Villa Clara», *Fitosanidad* 8(1):3-17,2004.
- Pérez, R. P.; L. Almaguel: «Lista preliminar de los ácaros fitófagos de Cuba», Laboratorio Central de Diagnóstico, DGSV, Cuba, 1975.
- Ramos, A.; P. de la Torre: «Catálogo de ácaros de la provincia de Matanzas», *Fitosanidad*, 8(4):19-22, La Habana, 2004.
- Roig, J. T.: *Diccionario botánico de nombres vulgares cubanos*, Editorial Consejo Nacional de Universidades, La Habana, 1965.
- Suárez, A.: «Catálogo de los ácaros de la provincia de Guantánamo», *Fitosanidad*, 8(1):23-31, La Habana, 2004.

## CONSUMO DE ALIMENTO POR *DIAPHANIA HYALINATA* (L.) (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) EN PEPINO (*CUCUMIS SATIVUS* L.)

Edilberto Pozo Velázquez,<sup>1</sup> Roberto Valdés Herrera,<sup>1</sup> Marlen Cárdenas Morales<sup>1</sup> y Elier Mora Pérez<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP). Universidad Central Martha Abreu (UCLV), Carretera a Camajuaní, Km 6½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, c.e.: edilbertopv@uclv.edu.cu, robertovh@uclv.edu.cu

<sup>2</sup> Instituto Superior Pedagógico Félix Varela. Carretera Maleza y Circunvalación, Santa Clara, Villa Clara, Cuba

### RESUMEN

Se realizó un estudio para conocer el consumo de alimento de *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) en el cultivo del pepino (*Cucumis sativus* L.). Para ello fue determinada el área foliar (mm<sup>2</sup>) y el peso (g) que consume este lepidóptero en estado larval, de acuerdo con las características de cada instar. El consumo resultó ser de 1,14 g en peso y 5 033 mm<sup>2</sup> en área en el cultivo del pepino. El IV instar larval fue el que mayor cantidad de alimento consumió (en peso y área) con 0,4895 g y 2 049 mm<sup>2</sup>. La conversión del alimento varió desde 4,55 alcanzado en el tercer instar a 2,52 para el quinto.

Palabras clave: *Diaphania hyalinata*, *Cucumis sativus*, larvas, consumo de alimento

### ABSTRACT

A study was carried out to know the food consumption of *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) in the crop of cucumber (*Cucumis sativus* L.) by the determination of the leaf area (square millimeters) and the weight (grams) that consumes this lepidopteron in larval state according to the characteristics of each instar. Consumption resulted to be 1.14 g and 5 033 mm<sup>2</sup> in area of the cucumber crop. The fourth larval instar consumed the higher quantity of food (in weight and area), with 0.4895 g and 2 049 mm<sup>2</sup>. The conversion of the food was from 4.55 reached in the third instar to 2.52 for the fifth instar.

Key words: *Diaphania hyalinata*, *Cucumis sativus*, larvae, food consumption

### INTRODUCCIÓN

Una de las mayores afectaciones en el cultivo del pepino *Cucumis sativus* L. (Cucurbitales: Cucurbitaceae) están reportadas por el ataque de plagas, y dentro de estas el gusano de los melones *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) es de mayor importancia en este sentido [MINAGRI, 1995; Pérez, 1995].

La alimentación de *D. hyalinata* consiste principalmente en el follaje de las cucurbitáceas. Rara vez se introduce en los tallos, frutos y flores de las plantas [Mendoza y Gómez, 1982; King y Saunder, 1984; Faz, 1985]. Ella es capaz de devastar campos completos si su población aumenta y el alimento escasea [Maes, 1991; Pozo, 2000 y Trabanino, 2003]. Presenta cinco instares larvales. Los últimos son los que mayor cantidad de alimento consumen y mayor daño realizan [Martínez y Lindo, 1986; y Pozo, 2000]; por tanto, es necesario realizar estu-

dios en el cultivo del pepino que contribuyan a tomar medidas efectivas para definir el control de esta plaga. Para ello este trabajo tiene como objetivo determinar el área (mm<sup>2</sup>) y el peso (g) que consume *D. hyalinata* en pepino, en su estado larval, teniendo en cuenta las características de cada instar larval de esta plaga.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos fueron *in vitro* y se llevaron a cabo en el Laboratorio de Patología de Insectos del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP) de enero a febrero del 2003. Se partió de una cría sucesiva de *D. hyalinata* [Pozo, 1998].

Para conocer la cantidad en peso y área de alimento consumido por las larvas de este lepidóptero se realiza-

ron dos variantes, cada una con 12 réplicas. La primera variante consistió en la determinación del consumo por peso de hojas de pepino, y la segunda el consumo por área foliar del mismo cultivo. En ambas variantes se colocó un huevo por placa de Petri de 9 cm de diámetro.

En la primera variante, después de eclosionados los huevos, se suministró diariamente alimento fresco con los siguientes pesos: 0,1 g para el primer y segundo instar; 0,2 g para el tercero y 0,5 g para el cuarto y quinto. Las pesadas se realizaron con una balanza digital Sartorius con precisión de 0,1 mg. Se utilizó un testigo para cada uno de los pesos empleados, en placas de iguales dimensiones, en las que se determinó la diferencia de peso existente por evaporación. Se evaluó el peso de la larva, el peso de la excreta y el peso del alimento consumido.

En la segunda variante, para medir el área consumida, cada día se colocaron secciones rectangulares de hojas de pepino de 200 mm<sup>2</sup> para el primer y segundo instar, 800 mm<sup>2</sup> para el tercer instar y 1 600 mm<sup>2</sup> para los últimos instares, hasta que las larvas pasaran al estado de pupa o crisálida [Pozo, 2000].

Las mediciones se realizaron diariamente con el cambio de alimento. Las partes no consumidas se marcaron sobre un papel milimetrado que se sombreó para determinar el área foliar consumida. Se utilizó un testigo para cada una de las áreas utilizadas en placas de iguales dimensiones a fin de determinar la diferencia de área existente por evaporación. Los cambios de instares se determinaron por el desprendimiento de la cápsula cefálica.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las larvas de *D. hyalinata* consumieron en todo su estado larval un volumen de 1,1419 g. El IV instar fue el que más peso consumió con 0,4895 g. Esto coincide con lo determinado por Martínez y Lindo (1986) y Pozo (2000), que exponen el cuarto del estado de larva (Tabla 1) como el instar más voraz.

Para el primer instar el peso de la excreta fue en extremo bajo, y este valor se despreció. El volumen en peso consumido por el primer instar fue insignificante (0,0080 g), comparado con los demás.

**Tabla 1. Relación de los valores medios y totales de los pesos del alimento consumido por instares de *D. hyalinata*, incremento con respecto al peso de la larva y las excretas (n = 12)**

Instar	PL	IPL	PE	PAC	Relación PAC-PE
I	0,0014	0,0014	0,0000	0,0080	-
II	0,0085	0,0071	0,0132	0,0395	2,99
III	0,0333	0,0248	0,0513	0,2335	4,55
IV	0,0916	0,0583	0,1089	0,4895	4,49
V	0,0658	-0,0258*	0,1469	0,3714	2,52
Total	0,2006	-	0,3222	1,1419	3,54

\* Valor negativo debido a la preparación del quinto instar para la prepupa y pupa.

PL: Peso de la larva; IPL: Incremento de peso de la larva.

PE: Peso de la excreta; PAC: Peso alimento consumido.

PAC-PE: Relación entre el peso de alimento consumido y el peso de la excreta.

Se observa que en la medida en que aumenta el tamaño de la larva, crece el consumo de alimento para luego disminuir la conversión desde 4,55 a 2,52 para el quinto instar. El alimento consumido desde el primer instar se incrementó hasta el cuarto, y disminuyó luego en el quinto debido a la preparación de la larva para la fase de prepupa. Esta característica coincide con lo planteado por Pozo (2000) cuando realizó ensayos similares sobre calabaza *Cucurbita moschata* Duch.

En cuanto al consumo del área, los resultados coinciden con lo expuesto en la variante anterior del consumo en peso, que fue de 5 033 mm<sup>2</sup> en todo su ciclo, y el incremento en área consumida resultó mayor para el cuarto instar (1 165 mm<sup>2</sup>) por encima del tercero y 538 mm<sup>2</sup> por encima del último (Fig. 1). Los primeros dos instares no presentaron diferencias significativas entre sí. El consumo del cuarto instar (2 180 mm<sup>2</sup>) fue altamente significativo con respecto a los demás.

### Consumo de alimento por *Diaphania*...

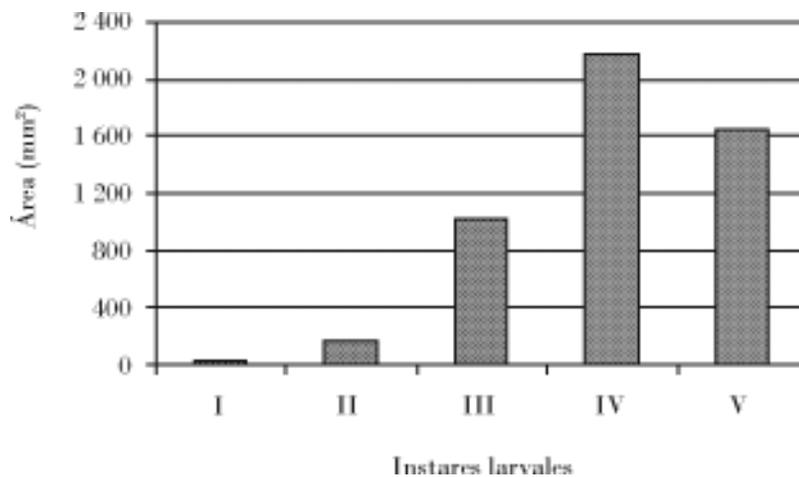


Figura 1. Área de pepino (*C. sativus*) consumida por los instares de *D. hyalinata*.

La cantidad de alimento en peso y el área foliar consumida por el estado larval de *D. hyalinata* presentan una gran importancia al trazar una estrategia de lucha. Las señalizaciones de este lepidóptero en los cultivos deben de registrarse por el daño y el consumo de esta plaga para que de esta forma pueda llevarse a cabo un control eficaz.

## CONCLUSIONES

- El consumo de alimento por el estado larval de *D. hyalinata* resultó ser de 1,14 g en peso y 5 033 mm<sup>2</sup> en área en el cultivo del pepino.
- El cuarto instar larval es el que mayor cantidad de alimento consume (en peso y área) con 0,4895 g y 2 049 mm<sup>2</sup>.

## REFERENCIAS

- Faz de, A. B.: *Control de plagas y enfermedades en los cultivos*, Ministerio de Educación Superior, La Habana, 1985.
- King, A. B.; J. L. Saunders: *Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central*, Administración de Desarrollo Extranjero, Londres, 1984.

Maes, J. M.: «Gusanos de *Cucurbitaceae*. *Diaphania hyalinata*, *Diaphania nitidalis*», Ficha Insectos Plagas no. 3, extraído el 20 de noviembre de 2003, en <http://www.insectariumvirtual.com/termitero/nicaragua/DOCUMENTOS%20DE%20INTERES/DOCUMENTOS%20DE%20INTERES.htm>, 1991.

Martínez, P. P.; G. Lindo: «Ciclo biológico y comportamiento de *Diaphania hyalinata* en zapallo y melón», *Revista Peruana de Entomología* 29:113-115, 1986.

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

MINAGRI: *Instructivo técnico de organopónicos*, Ministerio de la Agricultura, La Habana, 1995.

Pérez, Nilda: «Control biológico, bases de la experiencia cubana». Curso de Control Biológico de Plagas y Enfermedades de Cultivos Agrícolas, CLADES.CET-Colina, Chile, 28-30 de noviembre, 1995.

Pozo, V. E.: «Tecnología para la cría artificial de *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae)», *Revista Centro Agrícola* 24(1): 53-56, ene.-abr., La Habana, 1998.

—: «*Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) en la región central de Cuba. Bionomía y lucha biológica». Tesis de Doctorado, Centro de Investigaciones Agropecuarias, Universidad Central de Las Villas, Cuba, 2000.

Trabanino, R.: «Cucúrbitas: plagas insectiles que afectan al cultivo en sus etapas fonológicas». Extraído el 20 de noviembre de 2003, de <http://arneson.cornell.edu/ZamoPlagas/DIAFANIAS.htm>.

# EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LOS PRODUCTOS DE LA DESCOMPOSICIÓN DEL MATERIAL VEGETAL DE MALEZAS EN SUELO SOBRE EL DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE MAÍZ

Ricardo García Castillo

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

## RESUMEN

Los residuos vegetales de malezas mezclados con suelo durante la preparación de las tierras para la siembra posterior del maíz pueden influir sobre el desarrollo del cultivo debido a las sustancias alelopáticas que liberan al descomponerse. Enfocado hacia esta óptica se realizó un trabajo investigativo en experimentos de semilaboratorio con el fin de evaluar el comportamiento de la interferencia alelopática en las relaciones maíz-malezas. Se observó que los residuos incorporados al suelo mostraron una tendencia a influir sobre la emergencia, la altura y el peso verde de plántulas de maíz en dependencia del momento de la siembra a partir de la incorporación, con ciertas particularidades propias a cada especie. Las malezas *S. halepense*, *C. rotundus*, *P. hysterophorus*, *E. colonum* y *C. diffusa* mostraron fuerte acción inhibitoria sobre el desarrollo del cultivo sembrado a los cinco días, y *P. hysterophorus* y *C. diffusa* mantuvieron una reducción significativa de la altura de plántulas de maíz diez días después de realizada la mezcla de residuos vegetales de malezas con suelo. Estos resultados muestran que los posibles efectos de los restos vegetales deben tomarse en consideración al definir las labores de preparación del suelo.

Palabras clave: *alelopatía, malezas, maíz, residuos vegetales*

## ABSTRACT

Weed residues mixed with soil during the preparation for following sowing of maize can influence the development of the little cereal plants, due to allelopathic substances that liberates during their decomposition. Focused on this, a research work was realized in greenhouse experiments in order to evaluate the behavior of this kind of interference on the relations weeds-maize. It was observed that the residues incorporated into the soil showed a trend to influence emergency, height and green weight of young maize plants, depending of the sowing moment from the incorporation, with certain particularities due to each species. *S. halepense*, *C. rotundus*, *P. hysterophorus*, *E. colonum* and *C. diffusa* showed strong inhibitory action on the development of the cultivation when it is sowed five days after mixing, and *P. hysterophorus* and *C. diffusa* maintained a significant reduction of the height of young maize plants sowed ten days after realized the mixture of weed residues with soil. These results show that the possible effects of the vegetable rests must be taken in consideration when soil preparation labors must be defined.

Key words: *allelopathy, weeds, maize, plant residues*

## INTRODUCCIÓN

Las malezas constituyen una plaga formada por un complejo de especies con características disímiles que provocan pérdidas de los rendimientos en los cultivos que pueden alcanzar 66% en papa, 78% en tomate, 94% en ajo y cebolla y 72% en maíz [Pérez, 1992]. Desde hace décadas la principal herramienta para reducirlas ha estado determinada por el método químico de control, de donde resulta que los herbicidas representan 47% de todos los agroquímicos aplicados en el mundo [Le Baron, 1990], aunque su uso puede ocasionar reducciones de la biodiversidad junto a alteraciones drásticas de los agroecosistemas, además de elevar los costos.

El convencimiento actual de que la producción agrícola basada en el control químico es insostenible o conduce a irreparables daños ecológicos –además de provocar resistencia en las malezas, lo que las torna cada vez más tolerantes a estos compuestos según Jasieniuk *et al.* (1996)– promueve la tendencia a desarrollar formas integradas para el manejo de las arvenses, en las que se introduzcan alternativas no agresivas para el medio. Mortensen *et al.* (2000) señalan que una de esas posibilidades radica en la utilización de las interacciones alelopáticas a fin de interferir las relaciones entre cultivos y malezas en beneficio de las primeras.

Desde su establecimiento como fenómeno ecológico, la alelopatía ha experimentado un desarrollo casi vertiginoso que la sitúa hoy dentro de los temas más importantes de la investigación agrícola como una vertiente proteccionista del medio. Labrada (1996), así como Kropff y Walter (2000), entre varios autores, coinciden en afirmar que las investigaciones en este campo deben estar dirigidas hacia el estudio de los efectos que causan los residuos de las malezas y cultivos, sobre los cultivos siguientes en rotación y la determinación de las plantas cultivables capaces de ejercer efectos de inhibición sobre especies importantes de malezas.

Los residuos vegetales de malezas tienen sustancias alelopáticas que pueden ser liberadas durante la descomposición. Baziramakenga *et al.* (1994) encontraron varios ácidos orgánicos solubles en agua en el suelo infestado por *Agropyrum repens*, los que estaban involucrados en algunos procesos de importancia relacionados con el crecimiento y desarrollo de las plantas. Por su parte, Sampietro (1999) también reporta la presencia de algunos ácidos orgánicos, así como polifenoles en las malezas *Parthenium hysterophorus*, *Sorghum halepense* y *Cyperus rotundus*,

El maíz es uno de los cultivos más importantes y antiguos del mundo. Cada año se siembra casi 40% del total de las áreas destinadas a cereales, principalmente

con el apoyo del herbicida atrazina para combatir las malezas. Se conoce además que este agroquímico es un fuerte contaminante ambiental, que por su escasa volatilidad y ser poco fotosensible puede persistir en el suelo de dos a seis meses [Urzúa, 2001].

Estudiar la influencia de los residuos de malezas en el suelo sobre el desarrollo de plántulas de maíz es el objetivo de este trabajo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Esta prueba se llevó a cabo en el Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal bajo condiciones de aisladores, con temperatura ambiente promedio de 28 a 30°C, humedad relativa alrededor de 80% y régimen de luz natural. Para valorar la influencia sobre plántulas de maíz se escogió un grupo de malezas que aparecen en los registros históricos de experimentos como más incidentes en el cultivo (*Tabla 1*). Potes de 10 cm de diámetro y 5 cm de altura fueron rellenos con suelo ferralítico rojo mezclado con el material vegetal, cortado en trocitos menores de 0,5 cm, a una concentración de 3% (p/p). En ellos se realizaron siembras de cuatro semillas de maíz de la variedad T-66, a una profundidad de 1 cm de la superficie, en tres momentos a partir de la preparación de las mezclas: a) inmediatamente después de preparadas las mezclas; b) a los cinco días; c) a los diez días.

**Tabla 1. Malezas evaluadas**

Nombre científico	Nombre común	Familia
<i>Bidens pilosa</i> Lin.	Romerillo	Compuestas
<i>Parthenium hysterophorus</i> L.	Escoba amarga	Asteráceas
<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	Lechosa	Euforbiáceas
<i>Amaranthus dubius</i> Mart.	Bledo	Amarantáceas
<i>Commelina diffusa</i> Burm.	Canutillo	Commelináceas
<i>Portulaca oleracea</i> L.	Verdolaga	Portulacáceas
<i>Kallstroemia maxima</i> (L.) Wrigt & Arn.	Abrojo	Zigofiláceas
<i>Achyranthes aspera</i> Lin.	Rabo de gato	Amarantáceas
<i>Eleusine indica</i> (L.) Gaertn.	Pata de gallina	Poaceas
<i>Echinochloa colonum</i> (L.) Link.	Metabravo	Poaceas
<i>Sorghum halepense</i> L. Pers.	Don Carlos	Poaceas
<i>Cyperus rotundus</i> L.	Cebolleta	Cyperáceas

La influencia de las sustancias liberadas por el material vegetal de malezas en descomposición se evaluó a través de la afectación sobre la emergencia, la altura y el peso verde de las plántulas a los diez días posteriores a cada siembra, de manera similar a la utilizada por Chung y Miller (1995). Todas las pruebas se replica-

ron no menos de cuatro veces, y el testigo fue de suelo solamente.

Los valores de emergencia fueron transformados por arco seno y las de altura por raíz cuadrada antes de someterlos a análisis de varianza bifactorial, donde un factor fue el momento de la siembra, con tres ni-

veles que correspondieron a 0, 5 y 10 días. El otro factor lo constituyeron las malezas en estudio con 13 niveles, dados por cada una de las especies evaluadas y el testigo. Las medias se analizaron por la dódima de rango múltiple de Duncan para 95 y 99% de significación.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La emergencia fue un parámetro no influenciado por los residuos incorporados de las malezas evaluadas, el factor *especie de maleza* no presentó significación estadística, mientras que el *momento de siembra* sí fue altamente significativo, y la interacción de ambos factores lo fue con un 95%. Como se puede apreciar en la *Tabla 2*, en la siembra inmediata resaltó *E. indica* con una fuerte inhibición de la emergencia de 35%; pero este efecto no se prolongó hacia los posteriores momentos de siembra, cuyos valores se mostraron similares al testigo. Los residuos de la maleza *P. hysterophorus* provocaron una reducción de 19%. Macías *et al.* (2000) han confirmado que en esta maleza y otras especies de la misma familia está presente una lactona sesquiterpénica, que es una fuerte inhibidora de la emergencia y desarrollo de especies mono y dicotiledóneas; sin embargo, en el presente trabajo solo se manifestó esta acción sobre este parámetro en la siembra inmediata, aunque no significativamente.

En la siembra a los cinco días (*Tabla 2*) nueve malezas mostraron inhibición de la emergencia, aunque solo cuatro fueron significativas. De ellas, *A. dubius* y *P. oleracea* deprimieron este parámetro en 19 y 25% respectivamente, mientras que *S. halepense* y *C. rotundus* ejercieron una acción reductora de 31 y 37% sobre la emergencia del maíz. Ninguno de estos valores deben considerarse despreciables si se tiene en cuenta la cantidad de semillas necesarias para garantizar una población que asegure los rendimientos en campos de producción. Labrada (1995) ha puntualizado al respecto la importancia de los restos de malezas presentes al finalizar el ciclo de un cultivo sobre la afectación de los rendimientos del cultivo sucesor. Es importante tener en cuenta que ninguna especie afectó apreciablemente este parámetro al sembrar diez días después de la incorporación.

La interacción de los factores *especie de maleza* y *momento de siembra* a partir de la incorporación afectó significativamente el parámetro *altura* (*Tabla 3*). Las primeras sustancias de descomposición liberadas por los residuos de siete malezas afectaron este parámetro

en la siembra de maíz inmediata a la incorporación. De ellas *B. pilosa*, *K. maxima* y *C. diffusa* inhibieron significativamente entre 13 y 28% en orden creciente, y junto con *S. halepense* y *C. rotundus* mantuvieron valores significativos en los siguientes momentos de siembra, lo que indica su peligrosidad por la persistencia del daño sobre este cultivo.

En este momento también se observaron estímulos de 11, 19, 24 y 35% sobre el crecimiento de maíz por *P. hysterophorus*, *E. colonum*, *A. dubius* y *P. oleracea* respectivamente. La primera mostró inhibición en la siembra a los cinco días, para volver a ser estimuladora en la de diez días. Las sustancias liberadas por los residuos de *P. oleracea* mantuvieron el estímulo en la segunda siembra, mientras que las liberadas a los diez días fueron inhibitorias. García (1998) también encontró estos efectos tan disímiles al estudiar esta maleza sobre arroz, maíz y pepino. Por otro lado, *E. colonum* pasó a ejercer acción inhibitoria de la altura desde los cinco días con alta significación en el último momento de siembra. La gramínea fue la maleza con mayor acción inhibitoria en la siembra a los cinco días con una reducción de 51%. Esta especie, así como otras del mismo género, son conocidas como malezas alelopáticas de difícil control, causantes de severos daños en arroz y otros cultivos [Zhang y Watson, 1997].

Kito *et al.* (1995) se han pronunciado sobre las respuestas de las plantas a los efectos de los residuos vegetales. En este caso, con la excepción de *P. hysterophorus* que mostró estímulo, las demás malezas ejercieron acción inhibitoria significativa sobre la altura de plántulas de maíz, que varió entre 10 y 35% cuando se sembró el cultivo diez días después de la incorporación de sus residuos vegetales (*Tabla 3*).

El peso verde por planta fue otro parámetro que también estuvo influenciado por los dos factores y la interacción de ambos (*Tabla 4*). En la *Tabla 6* puede apreciarse que *E. heterophylla* y *P. oleracea* estimularon este parámetro en la siembra inmediata a la incorporación en 28 y 36% respectivamente; sin embargo, esta acción se invirtió en la medida en que avanzaba el proceso de descomposición y se hacían las siembras de maíz pertinentes. Por su parte, *C. diffusa*, *K. maxima* y *A. aspera* inhibieron este parámetro desde el primer momento y mantuvieron esa acción en el tiempo evaluado.

En las siembras a los cinco y diez días de la incorporación las sustancias liberadas por los residuos de todas las malezas ejercieron acción inhibitoria sobre la ga-

nancia en peso de las plántulas de maíz. Se ha manifestado que el material vegetal en descomposición de un gran número de malezas producen sustancias aleloquímicas con diferentes formas de actuar sobre el desarrollo de varios cultivos, entre las que destaca *S. halepense*, *C. rotundus*, *P. hysterophorus*, *E. colonum* y *C. diffusa* [Putnam, 1985]. Algunas de estas especies han mostrado gran poder de inhibición del peso en los tres momentos de siembra. Tal es el caso de *C. difusa*, la que,

junto a otras commelináceas se emplea como cobertura noble en los cafetales para controlar malezas dañinas al cultivo [Bradshaw y Lanini, 1995], y también *E. colonum*, considerada entre las causantes de mucho daño por alelopatía a muchos cultivos [Kim *et al.*, 1999]. Es de notar que *A. aspera* y *K. maxima*, sin ser malezas problemáticas o de difícil control en áreas cultivables, mostraron gran poder alelopático de inhibición (Tabla 4).

**Tabla 2. Efecto del material vegetal de malezas en mezcla con suelo a 3% sobre la emergencia de plantas de maíz (%)**

Maleza	Siembra inmediata	Siembra a los cinco días	Siembra a los diez días
<i>Bidens pilosa</i>	81,3 abcd	81,3 abcde	93,8 abc
<i>Parthenium hysterophorus</i>	75,0 bcde	93,8 abc	100,0 a
<i>Euphorbia heterophylla</i>	81,3 abcd	81,3 abcde	81,3 abcde
<i>Amaranthus dubius</i>	93,8 abc	75,0 cde	81,3 abcde
<i>Commelina diffusa</i>	87,5 abcd	81,3 abcde	93,8 abc
<i>Portulaca oleracea</i>	93,8 abc	68,8 cde	87,5 abcd
<i>Kallstroemia maxima</i>	93,8 abc	81,3 abcde	93,8 abc
<i>Achyranthes aspera</i>	93,8 abc	93,8 abc	100,0 a
<i>Eleusine indica</i>	60,8 de	93,8 abc	93,8 abc
<i>Echinochloa colonum</i>	93,8 abc	87,5 abcd	93,8 abc
<i>Sorghum halepense</i>	87,5 abcd	62,5 de	87,5 abcd
<i>Cyperus rotundus</i>	100,0 a	56,3 e	87,5 abcd
Testigo	93,8 abc	93,8 abc	100,0 a
Sx	0,26		
Cv (%)	19,8		

Medias con letras diferentes difieren significativamente para  $p < 0,05$ .

**Tabla 3. Efecto del material vegetal de malezas en mezcla con suelo a 3% sobre la altura de plantas de maíz (mm)**

Maleza	Siembra inmediata	Siembra a los cinco días	Siembra a los diez días
<i>Bidens pilosa</i>	63 jklmno	58 mnopqr	61 lmnopq
<i>Parthenium hysterophorus</i>	80 bc	47 s	86 b
<i>Euphorbia heterophylla</i>	77 cde	75 cdefgh	63 jklmno
<i>Amaranthus dubius</i>	89 ab	66 ijklmn	68 hijklm
<i>Commelina diffusa</i>	52 pqrs	50 rs	51 qrs
<i>Portulaca oleracea</i>	97 a	87 b	58 mnopqr
<i>Kallstroemia maxima</i>	60 lmnopq	46 s	56 nopqrs
<i>Achyranthes aspera</i>	68 hiklm	68 hijklm	70 fghijk
<i>Eleusine indica</i>	65 ijklmn	62 klmnop	64 jklmno
<i>Echinochloa colonum</i>	86 b	34 t	65 ijklmn
<i>Sorghum halepense</i>	67 ijklmn	49 rs	65 ijklmn
<i>Cyperus rotundus</i>	65 Ijklmn	54 opqrs	71 efghij
Testigo	72 defghi	69 ghijkl	79 cde
Sx	0,06		
Cv (%)	4,7		

Medias con letras diferentes difieren significativamente para  $p < 0,05$ .

**Tabla 4. Efecto del material vegetal de malezas en mezcla con suelo a 3 % sobre el peso verde / planta (g)**

Maleza	Siembra inmediata	Siembra a los cinco días	Siembra a los diez días
<i>Bidens pilosa</i>	1,27 cde	1,15 efghi	0,87 kl
<i>Parthenium hysterophorus</i>	1,23 cde	0,81 lm	1,12 efghi
<i>Euphorbia heterophylla</i>	1,65 a	1,26 cde	1,22 cdef
<i>Amaranthus dubius</i>	1,34 bcd	0,60 no	1,16 efgh
<i>Commelina difusa</i>	1,06 fgghi	0,43 p	0,69 mn
<i>Portulaca oleracea</i>	1,76 a	1,24 cde	1,22 cdef
<i>Kallstroemia maxima</i>	1,12 efghi	0,60 no	0,62 no
<i>Achyranthes aspera</i>	1,16 efgh	1,12 efghi	1,00 hijk
<i>Eleusine indica</i>	1,22 cdef	1,04 ghij	1,05 ghij
<i>Echinochloa colonum</i>	1,19 defg	0,23 q	1,02 hijk
<i>Sorghum halepense</i>	1,12 efghi	0,51 op	0,99 ijk
<i>Cyperus rotundus</i>	1,28 cde	0,91 jkl	1,04 ghij
Testigo	1,29 cde	1,38 bc	1,47 b
Sx	0,05		
Cv (%)	9,5		

Medias con letras diferentes difieren significativamente para  $p < 0,05$ .

Las reducciones de los parámetros evaluados demuestran la peligrosa acción que pueden provocar los restos vegetales de las malezas sobre los cultivos en los primeros estadios, lo que según Hernández y Labrada (1982) debe reflejarse negativamente, sin duda en el desarrollo ulterior y productividad del cultivo.

## CONCLUSIONES

- Los residuos vegetales de malezas en el suelo pueden influir sobre la emergencia y desarrollo de plántulas de maíz.
- *E. indica* redujo la emergencia de plántulas de maíz en 35%, cuando el cultivo se sembró inmediatamente después de incorporar los restos de la maleza, mientras que *P. hysterophorus*, *C. rotundus*, *S. halepense*, *P. oleracea* y *A. dubius* la redujeron entre 37 y 19% al sembrarlo cinco días después.
- Todos los residuos vegetales de las malezas redujeron el crecimiento de plántulas de maíz entre 10 y 35%, y el peso verde entre 17 y 58%, aun diez días después de incorporar sus restos vegetales al suelo. *C. difussa*, *K. máxima* y *B. pilosa* mostraron esta depresión desde la siembra inmediata, en la que *P. oleracea*, *A. dubius* y *E. colonum* estimularon el crecimiento.

## REFERENCIAS

- Baziramakenga, R.; R. R. Simard; G. D. Leroux: «Effects of Benzoic and Cinnamic Acids on Growth, Mineral Composition and Chlorophyll Content of Soybean», *J. Chem. Ecol.* 20 (11):2821-2833, 1994.
- Bradshaw, L.; W. T. Lanini: «Use of Perennial Cover Crops to Suppress Weeds in Nicaraguan Coffee Orchards», *Int. Journal of Pest Management* 41(4):185-194, 1995.
- Chung, I. M.; D. A. Millar: «Allelopathic Influence of Nine Forage Grass Extracts on Germination and Seedling Growth of Alfalfa», *Agron. J.* 87(4):767-772, 1995.
- García, R.: «Un estudio preliminar de la capacidad alelopática de la verdolaga (*Portulaca oleracea* L.)». Resúmenes. Plaguicidas Biológicos de Origen Botánico, INIFAT, Cuba, 1998.
- Hernández, J.; R. Labrada: «Aspectos biológicos y tratamientos químicos de lucha contra *C. rotundus* L.». Tesis de Diploma, ISCAH, Cuba, 1982.
- Jasieniuk, M.; A. Brulle-Babel; I. N. Morrison: «The Evolution and Genetics of Herbicide Resistance in Weeds», *Weed Sci.* 44 (1):176-193, 1996.
- Kim, K. U.; D. H. Shin; H. Y. Kim; I. J. Lee; María Olofsdotter: «Study on Rice Allelopathy. I Evaluation of Allelopathic Potential in Rice Germplasm», *Korea J. of Weed Sci.* 19(2):105-1113, 1999.
- Kito, M.; S. Okuno; Y. Hamada: «Study on the Agricultural Utilization of Coffee Residue. Utilization of Coffee Residue for Weed Control», Colloque Scientifique International sur le Café, Kyoto, Japon, Avril 9 -14, 1995.
- Kropff, M. J.; H. Walters: «EWRS and the Challenges for Weed Research at the Start of a New Millennium», *Weed Res.*, 40 (1):7-10, 2000.
- Labrada, R.: «The Role of Improved Weed Management in the Context of IPM and Sustainable Agriculture», Paper presented at EWRS Symposium, Budapest, 10-13 July, 1995.
- : «Manejo de malezas y agricultura sostenible», Servicio de Protección de Plantas. AGPP, FAO, Roma, 1996.

- Le Baron, H. M.: «Herbicidas en el agua subterránea y otras prioridades de la investigación de la Soc. Amer. de la Ciencia de la Maleza (WSSA)», *Series Técnicas de ALAM* (01):3-6, 1990.
- Macías, F. A.; J. Galindo; J. Molinillo; D. Castellano: «Dehydrozalanin C: a Potent Plant Growth Regulator with Potential Use as a Natural Herbicide Template», *Phytochemistry* 54(2):165-171, 2000.
- Mortensen, D. A.; L. Bastiaans; M. Satín: «The Role of Ecology in the Development of Weed Management Systems: an Outlook», *Weed Res.* 40 (1):49-62, 2000.
- Pérez, E.: «Manejo de malezas en la agricultura», *Boletín Agroalimentario*, 1(7):2, 1992.
- Putnam, A. R.: «Allelopathy: a Viable Strategy for Weed Control?», Proc. 1985 British Crop Protection Conference, *Weeds* 2:583-589, 1985
- Sampietro, D. A.: «Alelopatía: concepto, características, metodología de estudio e importancia» (En línea). Fac. de Bioquím., Quím. y Farm. Un. Nac. de Tucumán, Arg. <http://www.mdp.edu.ar/illia/nueva/Alelopatia/Alelopatia%20-%20Historia.htm>. 1999, feb., 2000
- Urzúa, F.: «Alternativas de control químico de malezas en el cultivo del maíz (*Zea mays* L.)», *Revista Mexicana de la Ciencia de la Maleza*, 1(1):7-13, 2001.
- Zhang, W.; A. L. Watson: «Efficacy of *Echinochloa* Species in Rice (*Oryza sativa*)», *Weed Sci.*, 45(1):21-31, 1997.

# POTENCIALIDADES DE MAÍZ, MILLO Y GIRASOL COMO CULTIVOS ALELOPÁTICOS PARA EL CONTROL DE MALEZAS

Ricardo García Castillo

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 enfoque de la alelopatía, en los últimos tiempos, se ha dirigido principalmente hacia la posibilidad de reducir los enmalezamientos en áreas de campo mediante el empleo de plantas cultivables capaces de afectar el desarrollo de las indeseables. Desde esta perspectiva se realizó un estudio para determinar el potencial alelopático supresor de malezas de los cultivos de maíz (*Zea mays* Lin.), millo (*Sorghum vulgare* Pers.) y girasol (*Helianthus annuus* Lin.). En parcelas de 21 x 40 m por cultivo se evaluó la composición total de las malezas, en puntos situados en el entorno de las plantas y a un metro de distancia a los cuarenta y cinco días de la siembra. La comparación de los valores de enmalezamientos obtenidos con los esperados, según evaluación previa del banco de semillas viables de las parcelas, demostró las capacidades de estos cultivos para reducir la población de importantes malezas. Millo presentó mayor acción supresora contra *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) Clayton alrededor de la planta, con 86%, que girasol con 59% y maíz con 50%. Los tres produjeron reducciones significativas de *Eleusine indica* (L.), *Portulaca oleracea* Lin. y *Parthenium hysterophorus* L., así como también sobre *Sorghum halepense* L. Pers. y *Cyperus rotundus* L., sobre los que girasol presentó el mayor poder inhibitorio, y millo ocasionó una inhibición total de la aparición de *Euphorbia heterophylla* L. La reducción de masa seca de malezas por metro cuadrado fue superior en girasol, medio en millo y bajo en maíz. Estos resultados permiten hacer un uso más consciente de estos cultivos dentro de un programa de manejo, a fin de causar reducciones importantes de los enmalezamientos sin emplear herbicidas químicos.

Palabra clave: alelopatía, malezas, maíz, millo, girasol

## ABSTRACT

The approach of Allelopathy has been focused lately towards the possibility of reducing weed populations in field areas by the use of cultivated plants able to affect the development of the undesirable ones. From this perspective a field experiment was conducted at Experimental Area of Cuban Plant Health Research Institute in order to determine the allelopathic potential as weeds suppressor of maize (*Zea mays* Lin.), sorghum (*Sorghum vulgare* Pers.) and sunflower (*Helianthus annuus* Lin.). Total composition of weeds was evaluated in plots of 21 x 40 m by each crop, in points located around cultivated plants and others not less than a meter from them, 45 days after seedtime. The comparison of weed species population values obtained in fields, with the hoped ones, according to viable seed bank previously evaluated in the soil of the plots, demonstrated the capacities of these plants to reduce the population of important weeds. Sorghum showed greater suppressor action against *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) Clayton around the plant (86%) than sunflower with 59% and maize with 50%. The three crops produced significant reductions of *Eleusine indica* (L.) Gaertn, *Portulaca oleracea* Lin. and *Parthenium hysterophorus* L., also on *Sorghum halepense* L. Pers. and *Cyperus rotundus* L.; sunflower presented the greatest inhibitory action on this two dangerous weeds and sorghum caused a total inhibition on the appearance of *Euphorbia heterophylla* L. The reduction of dry mass/m<sup>2</sup> of weeds was superior in sunflower, medium in sorghum and low in maize. These results allow using these crop plants with more conscious within a weed management program, in order to cause important reductions of weed population without chemical herbicides.

Key words: allelopathy, weeds, maize, sorghum, sunflower

## INTRODUCCIÓN

El fenómeno alelopático de inhibición o supresión del desarrollo de unas plantas por otras, a través de los mecanismos químicos del metabolismo secundario, se ha estado estudiando con gran interés práctico en las últimas décadas a causa de las potencialidades de esas características para el control de malezas en los cultivos agrícolas, entre otras razones. Se trata de encaminar las investigaciones en búsqueda de la posibilidad de sustituir total o parcialmente los agroquímicos por

una tecnología de tipo ambiental saludable, económica y con sólidos fundamentos científicos [García, 2001].

Se conoce que la liberación de las sustancias alelopáticas por las plantas al entorno ocurre de diferentes maneras [Cruz, 1987], y entre ellas los efectos de los exudados radicales, así como de los lixiviados foliares ocasionados por lluvias o riego tienen una importancia marcada en la definición de la composición varietal de una comunidad vegetal determinada en un mismo ecosistema. En este

sentido se conoce que la cobertura de millo reduce el desarrollo de un gran número de malezas. Putnam (1985) estima que puede ser muy útil para decidir rotaciones adecuadas a fin de reducir los problemas de malezas. Muchas son las plantas cultivables con probado efecto alelopático, según informa Pitty (1997), entre las que se encuentran arroz, café, boniato, frijol, maíz, pepino, malanga, millo, girasol y yuca; sin embargo, esta consideración está determinada por la parte de la planta que manifiesta esa propiedad. Harrison y Peterson (1991) establecieron que el boniato no solo es competitivo por su poder cobertor, sino que sus exudados radicales tienen acción alelopática de inhibición sobre varias especies de malezas, entre las que resalta la perenne *Cyperus esculentus* L.

No todos los cultivos tienen cualidades supresoras de malezas o no han sido estudiados a fondo. Entre los bien definidos como alelopáticos se encuentran el millo, el girasol y el maíz [Ben-Hamounde *et al.*, 1995; Pitty, 1997]. Los resultados prácticos hasta el momento en este campo son todavía dispersos y puntuales en cierta medida, por lo que cualquier tarea investigativa puede contribuir al avance en el conocimiento y dominio de estos efectos.

El objetivo del presente trabajo es el de evaluar la capacidad alelopática de girasol, maíz y millo manifestada a través de los exudados radicales y lixiviados foliares.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar las propiedades alelopáticas de millo [*Sorghum vulgare* Pers.], girasol (*Helianthus annuus* Lin.) y maíz (*Zea mays* Lin.) se llevó a cabo una prueba en la Estación Experimental Delicias Grandes del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), sobre suelo ferralítico rojo de pH 5,9 en H<sub>2</sub>O y 2% de materia orgánica, donde se sembraron los tres cultivos en parcelas de 21 x 41 m para cada uno. Después de la preparación del terreno, y antes de surcar a 0,70 m, se tomaron diez muestras de 2 kg de suelo en el perfil de 0-20 cm por las diagonales de cada parcela, que se mezclaron y homogenizaron para conformar una muestra por parcela, las que se colocaron en cajuelas de 40 x 40 x 10 cm, a razón de dos réplicas por cada parcela. Fueron situados a la intemperie con riego diario, a fin de determinar las malezas esperadas a través del conteo de las especies de malezas aparecidas a los veinte días en función del potencial de semillas viables, según metodología de La O *et al.* (1990).

A los cuarenta y cinco días de la siembra de los cultivos se evaluó el enmalezamiento por especie de cada parcela por el método del marco de 0,25 m<sup>2</sup>, que se colocó alrededor de cuatro plantas en diagonales de las parcelas, a fin de medir el efecto de los exudados radicales y lixiviados foliares de los cultivos en el entorno cercano al tallo; se situó además el marco en cuatro puntos separados no menos de 0,50 m de alguna planta sembrada para estudiar el posible efecto sobre una zona alejada, según metodología propuesta por Rice (1974).

En todos los casos se tomaron muestras del conjunto de malezas delimitadas por el marco, las que se cortaron a ras de suelo y fueron puestas en estufa a 80°C hasta peso constante para la determinación de la masa seca. Los valores obtenidos en las evaluaciones se convirtieron a unidades por metro cuadrado y se analizaron por la prueba de chi cuadrado, en la que se consideraron las malezas evaluadas en las cajuelas como los valores esperados, y los conteos de malezas por parcela como los valores reales observados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las malezas aparecidas en las parcelas con los cultivos mostraron valores muy inferiores a los esperados, lo que es índice de la existencia de algún efecto de inhibición (*Tabla 1*). *R. cochinchinensis*, con una presencia esperada superior a los 100 individuos/m<sup>2</sup>, presentó una reducción de 86% alrededor de la planta en millo y de 72% en la parte alejada. En el maíz se redujo en 50 y 61% respectivamente, mientras que en el girasol fue de 59% solo en el entorno. Según Ben-Hamounda *et al.* (1995), el millo contiene cinco ácidos fenólicos, de los cuales tres son exudados por las raíces, lo que acentúa su potencial alelopático inhibitorio durante el crecimiento. Por otro lado, Guenzi y Mc Calla (1966) han informado que la planta de maíz contiene ácido p-cumárico, y al incorporar al suelo sus restos vegetales pueden liberarse unos 81 kg/ha de esta sustancia inhibidora, cuya acción supresora puede permanecer durante veintidós semanas. También el girasol está considerado como una planta de fuerte efecto alelopático de inhibición contra malezas, e incluso sobre la germinación y desarrollo de plántulas de varios cultivos, en pruebas de laboratorio con los extractos de su follaje y raíces [Beltrán *et al.*, 1997]. Estas consideraciones ayudan a explicar la disminución de las poblaciones de malezas observadas.

Los tres cultivos produjeron reducciones significativas sobre las malezas *Eleusine indica*, *Portulaca oleracea* y *Parthenium hysterophorus*, incluidas *Brachiaria platyphylla* (Gris.) y *Kallstroemia máxima*, las que, aun con bajas poblaciones esperadas, también presentaron reducciones que no fueron significativas en términos estadísticos.

Es interesante el caso de *Euphorbia heterophylla*, maleza siempre presente en casi todos los cultivos con poblaciones por lo general muy altas debido a la gran infestación de los suelos con sus semillas muy viables, y que al obstaculizar las labores fitosanitarias y la cosecha se hace necesario un elevado gasto de recursos para su control. En las parcelas de girasol y maíz hubo una pequeña reducción; sin embargo, en la de millo hubo una disminución total de esta *Euphorbiaceae*, lo que resultaría de gran importancia para la definición de métodos de lucha para su manejo. Pitty (1997) ha asegurado que tanto las hojas como las raíces de millo son muy tóxicas a malezas de difícil control y peligrosas como *Tagetes patula* Lin. y *Amaranthus retroflexus* Lin., lo que demuestra la gran capacidad supresora de este cultivo. En 1989 Fernández *et al.* establecieron los beneficios del millo en siembra de intersecha en áreas de tabaco por la gran supresión de malezas que puede ocasionar.

Por otro lado, el girasol redujo no significativamente a *Digitaria sanguinalis*, pero sí con alta significación a

*Achiranthas aspera*, *Amaranthus dubius* y *Echinichloa colonum*, mientras que millo y maíz no afectaron estas últimas. Esto demuestra que las capacidades inhibitorias de plantas no deseadas presentadas por algunas cultivables tienen caracteres específicos, y en ese sentido deben tomarse en cuenta para su utilización como lo ha planteado Putnam (1985).

El comportamiento de los cultivos estudiados fue también muy interesante con las malezas perennes. Así, el girasol redujo la aparición de *S. halepense* a ambas distancias. El millo lo hizo también, aunque con menor poder en la parte alejada, y el maíz solo fue efectivo alrededor de la planta. De igual forma *C. rotundus* experimentó una reducción notable por los tres cultivos en las dos distancias, y *C. esculentus* fue reducido por millo y maíz.

Las disminuciones de la masa seca estuvieron en concordancia con las reducciones de malezas. Alrededor de las plantas de girasol fue solo de 49 g/m<sup>2</sup>, en las de millo de 124 g/m<sup>2</sup> y en las de maíz 242 g/m<sup>2</sup>, lo que demuestra un índice de efectividad diferenciada entre los cultivos, donde no se descarta que la arquitectura de las plantas pudo tener un papel preponderante en el caso del girasol. En los puntos alejados la menor masa seca de malezas correspondió al millo con 249 g/m<sup>2</sup>, seguido de girasol con 320 g/m<sup>2</sup> y del maíz con un valor de 468 g/m<sup>2</sup>, para permitir deducir que los exudados radicales del millo pueden diseminarse a mayor distancia que los otros cultivos.

Tabla 1. Comportamiento de las malezas en las parcelas y su valoración por chi cuadrado (X<sup>2</sup>)

Malezas	Girasol			Millo			Maíz		
	M. pron.	M. alred.	M. alej.	M. pron.	M. alred.	M. alej.	M. pron.	M. alred.	M. alej.
<i>Rottboellia cochinchinensis</i>	113	46**	102 ns	153	21**	43**	134	59**	52**
<i>Echinochloa colonum</i>	44	0**	2**	59	54 ns	57 ns	72	69 ns	71 ns
<i>Eleusine indica</i>	22	0**	0**	28	0**	0**	25	0**	0**
<i>Brachiaria platyphylla</i>	6	0 ns	0 ns	3	0 ns	0 ns	6	0 ns	0 ns
<i>Digitaria sanguinalis</i>	3	0 ns	0 ns	–	–	–	–	–	–
<i>Sorghum halepense</i>	22	2**	2**	19	0**	8 ns	16	0**	15 ns
<i>Cyperus rotundus</i>	19	6 ns	10 ns	19	3**	3**	16	4*	4*
<i>Cyperus esculentus</i>	–	–	–	9	0*	0*	12	2*	5 ns
<i>Amaranthus dubius</i>	88	0**	2**	47	32 ns	43 ns	97	85 ns	57**
<i>Portulaca oleracea</i>	25	0**	0**	16	2**	0**	25	6**	0**
<i>Parthenium hysterophorus</i>	16	2**	4**	47	12**	11**	41	3**	2**
<i>Euphorbia heterophylla</i>	44	36 ns	37 ns	66	0**	0**	34	26 ns	22 ns
<i>Kallstroemia maxima</i>	9	3 ns	1 ns	9	3 ns	1 ns	9	3 ns	1 ns
<i>Achyranthes aspera</i>	25	0**	2**	–	–	–	–	–	–
MS de malezas (g/m <sup>2</sup> )		49	320		124	249		262	468

M. Pron.: Malezas pronosticadas.

M. Alred.: Malezas encontradas alrededor.

M. Alej.: Malezas encontradas alejadas.

## CONCLUSIONES

- Las plantas de girasol, millo y maíz mostraron poseer fuertes características para suprimir malezas en áreas de cultivo.
- Millo presentó mayor acción supresora contra *R. cochinchinensis* alrededor de la planta, con 86%, que girasol con 59% y maíz con 50%.
- Los tres cultivos produjeron reducciones significativas de *E. indica*, *P. oleracea* y *P. hysterophorus* en las zonas cercanas y alejadas de las plantas, y también sobre *S. halepense* y *C. rotundus*, de los cuales girasol presentó el mayor poder inhibitorio.
- Millo ocasionó una inhibición total de la aparición de *E. heterophylla*, lo que es muy importante para la lucha contra esta maleza invasora. Girasol fue efectivo contra *A. dubius* y *E. colona*.
- La reducción de masa seca de malezas fue superior en girasol, medio en millo y bajo en maíz.

## REFERENCIAS

- Beltrán, L.; A. Leyva; Lucy Caparicón: «Un estudio preliminar del efecto alelopático del girasol (*Helianthus annuus* Lin.) sobre varios cultivos económicos», *Cultivos Tropicales*, 18(1):40-42, 1997.
- Ben-Hammouda, M.; R. J. Kremer; H. C. Minor; M. Sarwar: «A Chemical Basis for Differential Allelopathic Potential of Sorghum Hybrids on Wheat», *Journal of Chemical Ecology*, 21(6):775-786, 1995.
- Colectivo de Autores: «Efectividad técnico-económica de un esquema de control integrado contra los principales agentes nocivos del tabaco en condiciones de plantaciones». Informe técnico de la etapa, INISAV, La Habana, 1989.
- Cruz, R. de la: «La alelopatía en el manejo de malezas», *Manejo Integrado de Plagas*, 6:36-46, 1987.
- García, R.: «Utilización del potencial alelopático del maíz (*Zea mays* Lin.) como alternativa no contaminante para el combate de malezas». Tesis de Maestría, Universidad Agraria de La Habana/Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, 2001.
- Guenzi, N. D.; T. M. Mc Calla: «Phenolic Acids in Oat, Wheat, Sorghum and Corn Residues and Their Phytotoxicity», *Agron. J.*, 58:303-304, E.U., 1966.
- Harrison H. F. Jr.; J. K. Peterson: «Evidence that Sweet Potato (*Ipomoea batatas*) Is Allelopathic to Yellow Nutsedge (*Cyperus esculentus*)», *Weed Science*, 39:308-312, E.U., 1991.
- La O, F.; E. Pérez; E. Paredes; R. García: «Dinámica y pronóstico de malezas». Informe final, P.R. 517-19-01, MINAGRI/INISAV, La Habana, 1990.
- Pitty, A.: «Interferencia: competencia, alelopatía y parasitismo», *Introducción a la biología, ecología y manejo de malezas*, cap. 3, Ed. Pitty, Honduras, 1997.
- Putnam, A. R.: «Allelopathy: a Viable Strategy for Weed Control?». Proc. 1985 British Crop Protection Conference, *Weeds*, vol 2, E.U., 1985.
- Rice, E. L.: *Allelopathy*, Academic Press, New York, E.U., 1974.

# EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE TRAMPAS RÚSTICAS PARA LA CAPTURA DE HEMBRAS ADULTAS DE LA BROCA DEL CAFÉ *HYPOTHENEMUS HAMPEI* (COLEOPTERA: SCOLYTIDAE)

Davis Moreno Rodríguez<sup>1</sup>, Henry González Azcuy,<sup>2</sup> Eleazar Botta Ferret,<sup>1</sup> Antonio Martínez Martínez<sup>2</sup> y Jorge Ovies Díaz<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Empresa Cafetalera Bahía Honda. Carretera a Guanajay Km 56, Bahía Honda, Pinar del Río, Cuba

## RESUMEN

La broca del café –*Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae)– es considerada mundialmente como una de las plagas más devastadoras de este cultivo. El manejo integrado de la plaga (MIP) es la opción más recomendada en las regiones afectadas, y dentro de sus alternativas, el trameo es el método más práctico, sencillo y económico, además de no afectar al medio ambiente. Con el objetivo de demostrar la utilidad de las trampas rústicas para la captura de adultos hembras de *H. hampei* al inicio del período de cosecha se realizó este trabajo experimental. Se demuestra que las trampas rústicas son una alternativa eficaz para la captura de hembras adultas de la plaga. Los recipientes de color verde fueron 48,5% más eficaces que los transparentes en la colecta del insecto. La cantidad de escoltídeos colectados no se vio afectada por la ubicación de la trampa en diferentes alturas de la planta.

Palabras clave: *Hypothenemus hampei*, broca del café, trampas

## ABSTRACT

Coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) is actually one of the most problematic pests of the coffee fields in the world. The control of this harmful insect is very important for affected regions, so in this way is necessary to find effective alternatives to reduce its populations. Between Integrated Pest Management (IPM) options, the use of traps is the most practical, simple and economic control method, as well as it does not damage the environment. In order to demonstrate the utility of rustic traps for catching female adults of *H. hampei* in the beginning of crop period was realized this experimental work. Obtained result showed that rustic traps are an effective alternative for catch female adults of coffee berry borer. Green recipients were 48.5% more efficient than transparent ones for mature insects catching. Values of scolytids caught were not affected by trap location in any height of coffee plant.

Key words: *Hypothenemus hampei*, coffee berry borer, traps

## INTRODUCCIÓN

La broca del café –*H. hampei*– está considerada mundialmente como una de las más devastadoras plagas de este cultivo. Es endémica de África central, pero puede ser encontrada en la mayoría de las regiones cafetaleras del mundo [Le Pelley, 1968; Rosales *et al.*, 1996]. Se han cuantificado pérdidas de 10 a 80% de las producciones, que equivalen a un valor aproximado de 500 millones de dólares anuales [Velasco *et al.*, 1996; Baker citado por Vega *et al.*, 2002]. Esto está dado no solo por la rápida propagación del insecto, sino por la intensidad del daño que ocasiona directamente en los frutos en todas las fases del período de maduración (verde, maduro y sobremaduro). A ello se suma el costo de las medidas de control que son necesarias aplicar para evitar pérdidas severas.

En las regiones afectadas la opción más recomendada ha sido el Manejo Integrado de la Broca (MIB). Entre las alternativas del MIB, el trameo es el método más práctico, además de ser sencillo, económico y coherente con el medio ambiente [PROCAFE, 2004; ECOSUR, 2004]. En general las trampas constituyen un elemento muy útil no solo para el control, también para el monitoreo de la plaga dentro de los cafetales [Cárdenas, 1992].

En cafetales de Costa Rica, después de mantener las trampas de seis a ocho meses, el resultado fue tan eficiente que en estas fincas, en la cosecha 2001-2002, fue difícil encontrar niveles altos de infestación de broca. En el mayor de los casos los niveles llegaron a 1%; por el contrario, en aquellas donde no se efectuó igual proce-

dimiento, en el transcurso de la misma cosecha se llegaron a determinar niveles superiores a 50% [Arias, 2002].

En este trabajo se propone demostrar la utilidad de las trampas rústicas para la captura de adultos hembras de *H. hampei* al inicio del período de cosecha.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en áreas de la Empresa Cafetalera Bahía Honda, provincia de Pinar del Río, Cuba. Se seleccionó una zona de la variedad generalizada caturra rojo, ubicada a una altura entre 50-60 m sobre el nivel del mar, en etapa inicial de cosecha. La altura media de las plantas fue de 1,5 m, con edad promedio de quince años de sembrado, con colindancia de café y frutales, los que se encontraban, además, intercalados para proporcionar sombra al cafetal.

El área utilizada, de aproximadamente 1 ha, fue dividida en dos subparcelas, donde se colocaron 15 trampas transparentes en una y 15 de color verde en la otra. Se conformaron tres grupos de cinco trampas cada uno en ambas superficies. Los dispositivos se colocaron a partir de los diferentes niveles del arbusto (superior, medio e inferior), siempre junto al tallo principal y en lugares protegidos de la incidencia directa de la radiación solar. En ningún caso se utilizaron plantas de los bordes para colocar las trampas. Durante el período en que se realizó el estudio no hubo recolección de cerezas en el área experimental para así evitar el factor humano.

Para la construcción de las trampas se tomaron botellas plásticas desechadas sin tapa, transparentes y de color verde, de 1,5 L. A cada una se le abrieron dos ventanas opuestas de 10 x 5 cm en la parte media.

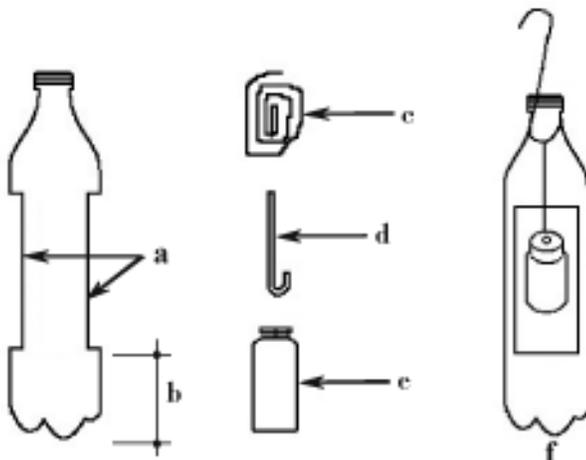


Figura 1. Representación esquemática de las partes de la trampa rústica cubana: a) ventanas de la trampa; b) recipiente de captura; c) cordel; d) alambre; e) difusor; f) esquema general de la trampa rústica.

En pequeños frascos de color ámbar con 50 mL de volumen aproximado se depositó una mezcla de metanol y etanol (3:1). En la tapa de estos frascos se realizó un agujero de unos 3 mm de diámetro para garantizar la volatilización de la mezcla, y se suspendieron en el interior de las botellas, a la altura de las ventanas abiertas, para que funcionaran como difusor del atrayente de los adultos de la broca (Fig. 1). En el fondo de las trampas se depositó una solución jabonosa para romper la tensión superficial del agua e impedir el escape de los insectos capturados.

Se evaluó el número de brocas adultas colectadas a las 24 y 72 h de exposición, y a partir de un diseño factorial se realizó un análisis bifactorial para evaluar la influencia del color y el nivel de ubicación de la trampa sobre la cantidad de adultos de brocas capturados. Todos los datos se transformaron por la función  $\sqrt{x + 1}$ . Los análisis se realizaron con la ayuda del programa estadístico Analest versión 2.0, con una probabilidad de error de 5%. Se cuantificó y graficó el total de brocas capturadas al cabo de los ocho días de iniciado el experimento.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Entre los valores de captura obtenidos a las veinticuatro horas de exposición de las trampas rústicas no existieron diferencias significativas para ninguno de los factores tenidos en cuenta; sin embargo, los alcanzados a las 72 h presentaron alto grado de significación, al registrarse en las verdes un mayor número de captura de brocas adultas que en las transparentes. Al analizar los diferentes niveles en que se colocaron las trampas en la planta y su interacción con los colores utilizados, no se observaron diferencias, por lo que puede plantearse que los valores de captura estuvieron influidos solo por el color de la trampa, pues no se encontró conveniencia alguna al colocarlas a otra altura más baja o más alta (Tabla 1). Este resultado difiere de lo obtenido por ChemTica Internacional, S. A. (2005), donde se planteó que las trampas deben colocarse en las plantas a la altura del pecho.

En las trampas verdes se registraron colectas máximas de 94 y mínimas de 48 brocas adultas. Para el caso de las transparentes se colectó una media de 32 individuos, por debajo incluso del menor valor obtenido con las verdes.

La utilización de trampas es un método muy empleado en los países donde está presente *H. hampei*, con di-

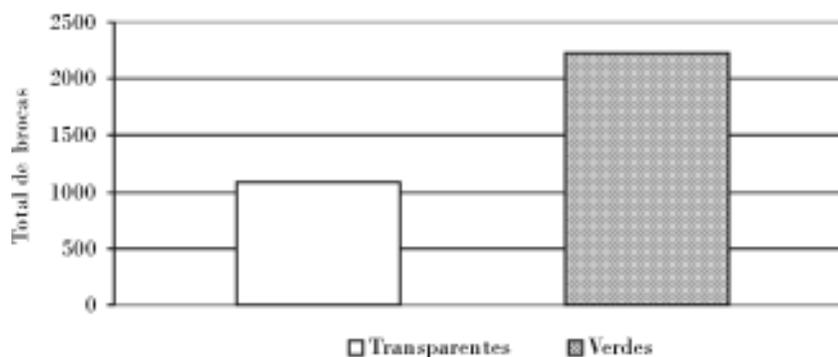
ferentes colores en su fabricación. Así, Borbón *et al.* (2000) plantearon que entre una serie de colores probados fue el blanco brillante el más atractivo. En cambio, otros autores recomiendan pintar las trampas de color rojo durante el proceso de construcción, pues aseveran

que este es un color atractivo para el insecto [PROCAFE, 2004; Delabarre, 2004]; sin embargo, en la literatura consultada no se hace referencia a la utilización del color verde en los dispositivos rústicos de captura que en este caso proporcionaron resultados interesantes.

**Tabla 1. Valores de captura de broca a las 72 h de exposición de las trampas (Bahía Honda, Pinar del Río, Cuba, 2004)**

	Color		Posición		
	Transparente	Verde	Superior	Medio	Inferior
	32,20 b	74,80 a	58,80	64,30	37,40
ES	0,064		0,079		
CV (%)	15,39				

Letras desiguales difieren para  $p \leq 0,05$ .



**Figura 2.** Total de brocas capturadas con trampas rústicas durante ocho días (Bahía Honda, Pinar del Río, Cuba, 2004).

El valor acumulado de brocas colectadas durante ocho días consecutivos corrobora los resultados a las 72 h de exposición. Las trampas verdes son más atractivas para este pequeño artrópodo que las transparentes, con una diferencia de más de mil individuos (*Fig. 2*). En experimentos realizados en México [ECOSUR, 2004] se reportaron capturas totales de 529 brocas con ocho trampas transparentes, colocadas durante ocho días, y etanol + metanol como atrayente; de manera similar, en el actual caso fueron contabilizados aproximadamente el doble de los individuos con 15 trampas similares, en igual tiempo y con el mismo semioquímico. Esta correspondencia entre ambos resultados es alentadora si se tiene en cuenta que ECOSUR trabajó en la etapa inter cosecha, en la que los niveles de captura son superiores al no existir una fuerte competencia entre las cerezas de café y las trampas, a diferencia de este experimento que se llevó a cabo en la etapa de cosecha.

La utilización de trampas con atrayentes no es más que la aplicación y uso de semioquímicos o mediadores químicos, productos naturales que intervienen en las relaciones hospedante-parásito [Nordlund and Lewis, 1976]. En este trabajo se empleó la combinación etanol + metanol para mediar en la relación café-broca.

Aunque la mezcla de alcoholes como atrayente es un método utilizado con efectividad, han surgido otras variantes en las que se emplean granos molidos y residuos de café [Velasco *et al.*, 1996]; pero si se tiene en cuenta que la disponibilidad de los frutos está limitada por el tiempo de cosecha del cultivo, esta alternativa no será útil en todas las fases en las que pueden ser explotadas las trampas.

## CONCLUSIONES

- Las trampas rústicas constituyen una alternativa eficaz para la captura de hembras adultas de *H. hampei* durante el inicio de la etapa de cosecha.

- Las trampas construidas con los recipientes verdes fueron 48,5% más eficaces que las transparentes en la captura de las hembras adultas del insecto a los ocho días de colocadas.
- Los valores de colecta del escoltído no se vieron afectados por la ubicación de la trampa en las diferentes alturas de la planta.

## REFERENCIAS

- Arias, V. J. E.: «La broca del fruto del cafeto (*Hypothenemus hampei* Ferr.)», *La Caficultura Occidental*, año 2(2), Costa Rica, 2002. Disponible en <http://www.icafe.go.cr/icafe/Boletines/Naranja6.pdf>. (Fecha de consulta: abril del 2005).
- Borbón, M. O.; A. O. Mora; O. A. Cam; L. M. González: «Proyecto de trampas, atrayentes y repelentes para el control de la broca del fruto de cafeto, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae)». XIX Simposio Latinoamericano de Caficultura, San José, Costa Rica, 2000. Disponible en [http://www.iica.org.gt/promecafe/resultados\\_simposio.htm](http://www.iica.org.gt/promecafe/resultados_simposio.htm). (Fecha de consulta: diciembre del 2004).
- Cárdenas, M. R.: «Uso de alcoholes para la determinación de poblaciones de broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867)». Memorias del XIX Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, SOCOLEN, Manizales, Colombia, 1992.
- ChemTica Internacional, S. A.: Trampa para la broca del café». Disponible en <http://www.bioplaguicidas.org/CostaRica/feromona/panfleto/trampa%20broca%20del%20cafeEspan.pdf>. (Fecha de consulta: abril del 2005).
- Delabarre, M.: «Trampas ecológicas en los cafetales» Entrevista a Alina Lorío L., *La Prensa*, 21 de mayo de 2004, Nicaragua, 2004
- Disponible en <http://www.laprensa.com.ni/campoyagro/campoyagro-20040521-01.html>. (Fecha de consulta: enero del 2005).
- ECOSUR (El Colegio de la Frontera Sur): «Proyecto Produce. 6. Medidas de manejo integrado de plagas con participación de cafecultores», México, 2004. Disponible en [http://plagas-cafe.tapecosur.edu.mx/proyecto\\_produce/Informes/6\\_Medidas\\_de\\_manejo\\_integrado.htm](http://plagas-cafe.tapecosur.edu.mx/proyecto_produce/Informes/6_Medidas_de_manejo_integrado.htm). (Fecha de consulta: enero del 2005).
- Le Pelley, R. H.: *Pests of Coffee*, Longmans, Green and Co., Ltd., Londres, 1968.
- Nordlund, D. A.; W. J. Lewis: Terminology of Chemicals Releasing Stimule in Intraspecific and Interspecific Interactions», *J. Chem. Ecol.*, 2: 211-220, 1976.
- PROCAFE (Fundación Salvadoreña para Investigaciones del Café): «Hoja técnica: elija su modelo de trampa para controlar la broca en su cafetal», El Salvador, 2004. Disponible en: <http://www.procafe.com.sv/hojastecnicas/Trampasartesanales.pdf>. (Fecha de consulta: diciembre del 2004).
- Rosales, M. M.; A. R. Silva; G. G. Rodríguez: «Estrategias para el manejo integrado del minador de la hoja y la broca del fruto del cafeto», *FONAIAP Divulga*, revista de difusión de tecnología agrícola y pesquera del FONAIAP (15):60, Venezuela, 1996. Disponible en <http://www.fonaiap.gov.ve/publica/divulga/fd60/broca.html>. (Fecha de consulta: diciembre del 2004).
- Vega, F. E.; R. A. Franqui; P. Benavides: «The Presence of the Coffee Berry Borer *Hypothenemus hampei* in Puerto Rico: Fact or Fiction?», *Journal of Insect Science*, 2(13):1-3, Puerto Rico, 2002. Disponible en <http://www.insectscience.org/2.13>. (Fecha de consulta: enero del 2005).
- Velasco, H. P.; R. B. Beristain; C. S. Díaz; Z. C. Guadarrama; O. L. Trujillo: «Evaluación del control biológico de la broca del café en la zona Córdoba-Huatusco». Folleto técnico, PIDRCAFE-CRUO-UACH, Huatusco, Veracruz, México, 1996.

# INFLUENCIA DEL PERFIL, EL TAMAÑO Y EL MOMENTO DEL MUESTREO DE SUELO EN LA DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL DE MALEZAS INVASORAS EN CULTIVOS ANUALES

Fermín La O Fuentes, Ermenegildo Paredes Rodríguez, Eduardo Pérez Montesbravo, Tamara Mateo Antuña y Ricardo C. García Castillo

*Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600, c.e.: eparedes@inisav.cu*

## RESUMEN

Uno de los problemas actuales en el manejo de malezas está dado por el desconocimiento del productor del potencial de plantas dañinas al cultivo en el banco de semillas del suelo con tiempo suficiente como para tomar las medidas de lucha para su reducción. Para lograr esto se precisa conocer algunos factores como momento de muestreo, tamaño de la muestra y perfil del suelo más adecuado. Para dar respuesta a esta problemática se realizaron varios ensayos de campo en la Estación Experimental del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, en Alquizar, provincia de La Habana. Se pudo comprobar que con ocho marcos cuadrados de 0,25 m<sup>2</sup>/ha, colocados al azar en las diagonales del área, se obtiene una población de malezas representativa de un enyerbamiento y que igual número de porciones de suelo de 500 g c/u es suficiente para obtener el potencial de emergencia de plantas. Este potencial, determinado en el momento de la cosecha de la campaña anterior y después del proceso de preparación de suelo, es el de mayor correlación con las malezas emergidas y su cobertura treinta días después de la siembra o la plantación de cada cultivo. La cobertura de malezas en el momento de la cosecha de la campaña y cultivo anterior presentó un comportamiento irregular al correlacionar sus valores con el enmalezamiento postsiembra o plantación. Este aspecto debe seguirse en estudio porque facilitará esta actividad en la práctica agrícola.

Palabras clave: potencial de malezas, banco de semillas, malezas

## ABSTRACT

A weeds prediction will be more accurate as it will fulfill many times. In order to reach that precision it is necessary to know some factors like moment, magnitude of sample and better soil profile. To answer this matter some experiments were performed in the Experimental Station of Cuban Plant Health Research Institute in Alquizar. La Habana. It was proved that eight frames of 0.25 m<sup>2</sup> for each hectare, placed in randomized form on the field diagonals was enough to obtain a representative weed population, and the same number of 500 g soil samples is enough to get the emerging plant potential. This potential, determined at pervious campaign harvest and after soil tillage, is the most correlated with emerged weeds and their cover thirty days after sowing or plantation. Weed cover at the harvesting time of campaign and previous crop showed an irregular behavior when its values were correlated with weeds population of post-sowing or plantation. This aspect must continue studying because it will make easier this activity in agricultural practice.

Key words: weeds potential, seeds bank, weed

## INTRODUCCIÓN

Dentro del manejo integrado de malezas y su relación con los cultivos se precisa conocer con suficiente antelación las características de los enmalezamientos a nivel de cada campo, para poner en función de su combate las posibilidades con que cuenta el agricultor, y así poder planificar los recursos necesarios para realizar un buen manejo de las malezas y del cultivo [Paredes y Prieto, 2003]. También permite tener conocimiento de las posibles pérdidas de rendimiento que se puedan

producir, e introducir criterios de gran actualidad como los umbrales de daños y económicos para poder determinar qué hacer en un momento dado a nivel de campo, finca, e incluso hasta empresas agrícolas de mayor dimensión. Al respecto, Koch (1975) plantea que el control de malezas debe realizarse antes que se produzca la pérdida. Esta no es enteramente medible y puede ser predicha, pero aun así está ligada a un alto grado de inseguridad. También Naylor (1970) mantiene simila-

res criterios y señala como premisas que deben tenerse en cuenta una efectiva técnica de muestreo y el conteo de las semillas viables en la muestra de suelo. Para lograr un pronóstico confiable es preciso conocer algunos factores como momento, tamaño de la muestra y perfil del suelo más adecuados. En este trabajo se brindan algunos resultados que contribuyen a este fin.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se señala la metodología desarrollada para determinar la influencia del perfil del suelo, el tamaño de muestras y el momento por muestrear para la determinación del potencial de malezas viables en el suelo. A continuación se describe cada uno por separado.

*Perfil del suelo.* El trabajo se desarrolló en la Estación Experimental del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, en Alquizar, provincia de La Habana, con suelo ferralítico rojo de relieve llano. Antes de iniciar el proceso de preparación para las siembras, se tomaron muestras de 500 g en los perfiles 0-10, 10-20 y 0-20 cm de profundidad en las diagonales del campo, a razón de 20 muestras/ha, las que fueron homogenizadas y divididas en cuatro porciones, cada una de las cuales constituyó una réplica, las que se ubicaron en cajuelas de 20 cm de lado por 10 cm de alto a la intemperie, y mantuvo una humedad favorable con un riego diario durante el desarrollo del experimento. A partir de la brotación se determinaron y contabilizaron las malezas emergidas cada diez días durante el primer mes, para fijar así el potencial de emergencia de plantas en cada perfil por separado. En las parcelas donde se realizó el muestreo se usó un marco cuadrado de 0,25 m<sup>2</sup> ubicado veinte veces al azar en las dos diagonales para la evaluación de las malezas a los treinta días de la plantación de los cultivos. Para determinar el perfil que tenía mayor número de semillas viables con posibilidad de originar emergencia de plantas, los datos experimentales se procesaron por correlación lineal simple entre las malezas emergidas en cada perfil y las que brotaron después de la siembra o plantación.

*Tamaño de muestras.* En suelos oscuro plástico gleyzado, pardo con diferenciación de carbonatos y ferralítico rojo de la provincia de La Habana, fueron tomadas 400 muestras de suelo por hectárea de 500 g c/u en el perfil 0-20 cm, y colocadas en una vasija plástica cuadrada de 10 cm de lado por 10 cm de alto, para provocar la brotación de las malezas. Se hicieron conteos por especies a los diez, veinte y treinta días, y se obtuvieron

cien valores, considerados como una muestra que representa la población de acuerdo con la ley de números grandes [Dagnelie, 1980]. Paralelamente, en parcelas de 1 ha, con enmalezamiento heterogéneo de 10, 30 y 80% de cobertura, se determinó el número de malezas en 100 marcos de 0,25 m<sup>2</sup> (50 x 50 cm) colocados al azar. De los cien valores obtenidos, tanto en el caso de las malezas brotadas como de su número en cada marco se formaron al azar grupos de 75, 50, 25, 13, 8 y 4 ejemplares, para determinar a partir de qué valor se apreciaba diferencia significativa con la población. Se realizó la prueba de Chi-2 de Pearson [citado por Dagnelie, 1980], en la que se consideraron como valores esperados los obtenidos a partir de las cien muestras que representan la población, y como observados los seis grupos formados.

*Momento de la toma de muestras.* En cultivos anuales se realizó un muestreo en el período crítico de competencia, otro en el momento de la cosecha del cultivo anterior y un tercero cuando el suelo estaba listo para la siembra o plantación. Estas muestras se tomaron al azar con 500 g c/u en las diagonales del campo, a razón de ocho muestras por hectárea a 0-20 cm de profundidad, con las que se procedió como se especificó anteriormente en la determinación del perfil del suelo para conocer el potencial de brotación de plantas. A los treinta días de la siembra o plantación se determinó el número de malezas por metro cuadrado emergidas en el área en que se había muestreado con anterioridad, para lo cual se ubicaron marcos de 0,25 m<sup>2</sup> en sus diagonales, en la misma proporción que fueron tomadas las muestras de suelo. En este momento se evaluó visualmente el enmalezamiento y se anotaron la cobertura por especie y total. Con el propósito de establecer la etapa óptima de muestreo, se estableció correlación lineal simple entre el porcentaje de cobertura y el potencial de emergencia de plantas en cada momento con el número de malezas y su cobertura treinta días después de la siembra o plantación.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al relacionar el potencial de brotación de plantas predominantes en el campo con las malezas emergidas después de la siembra o plantación, el coeficiente de correlación fue significativo para todas las malezas, con excepción de *Cyperus rotundus* L. (Tabla 1).

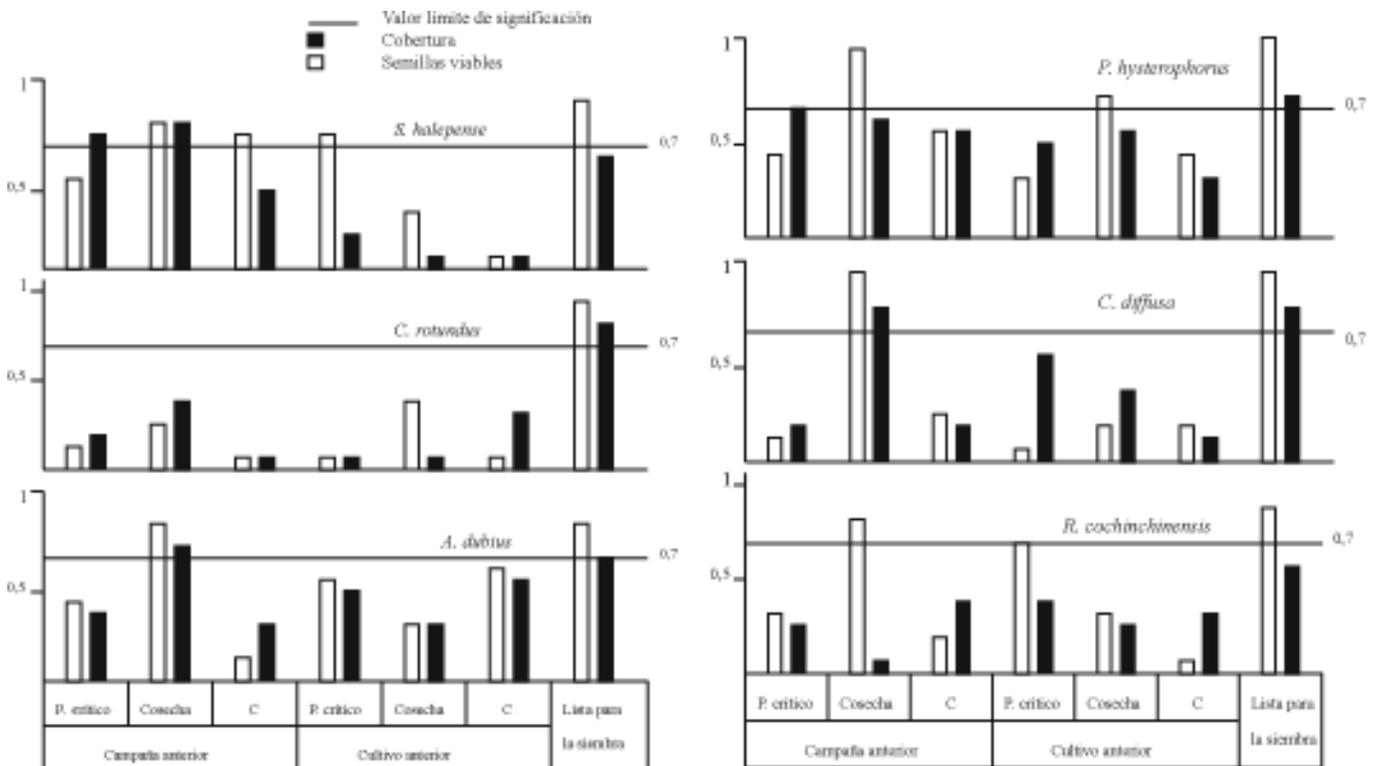
En la etapa de muestreo, cuando el suelo estaba listo para la siembra o plantación con el número de malezas

emergidas y su cobertura treinta días después, se encontró que en todos los casos se apreciaba correlación entre el potencial de brotación de plantas. La predicción obtenida de muestras tomadas en este momento solo permite conocer el futuro enmalezamiento, sin que medie tiempo para recomendar determinado método de preparación de suelo basado en el tipo de enyerbamiento que prevalecerá; tampoco permitirá proyectar la política de lucha química con antelación, ni una rotación adecuada. Los perfiles con los valores más altos fueron el de 0-10 y 0-20 cm que llegaron a ser altamen-

te significativos, valores que se inclinaron a favor de este último por ser considerablemente superior en malezas de gran incidencia como *Parthenium hysterophorus* L. y *Amaranthus dubius* Mart, muy similar en el caso de *Commelina diffusa* Burm f. y *Rottboellia cochinchinensis* (Lour) Clayton, e inferior solo en el caso de *Sorghum halepense* (L.) Pers. Además, en este se encuentra la capa arable del suelo, donde están en movimiento las semillas y propágulos vegetativos de malezas, por lo que es mejor hacer los muestreos en el perfil de 0-20 cm de profundidad (Fig. 1).

**Tabla 1. Correlación del potencial de malezas predominantes con las malezas emergidas después de la siembra**

Malezas	Valor de la correlación		
	0-10	10-20	0-20
<i>R. cochinchinensis</i>	0,72 **	0,65 **	0,68 **
<i>C. rotundus</i>	0,18 ns	0,11 ns	0,15 ns
<i>S. halepense</i>	0,92 **	0,54 *	0,71 **
<i>C. diffusa</i>	0,89 **	0,93 **	0,93 **
<i>P. hysterophorus</i>	0,70 **	0,94 **	0,96 **
<i>Amaranthus spp.</i>	0,70 **	0,88**	0,85 **



**Figura 1.** Valores de correlación lineal simple entre el potencial de emergencia de malezas con su brotación, postsiembra o plantación.

Estos resultados reafirman el criterio de muchos autores, donde se conoce que el mayor número de semillas viables de plantas, incluidas las malezas, se localizan en los primeros 20 cm de profundidad de los suelos laborables [Cardina *et al.*, 2002].

Al analizar los resultados con las muestras tomadas con anterioridad al proceso de preparación de suelo, fue observado que los mayores valores de correlación se obtuvieron cuando se tomó el potencial de brotación de plantas en el momento de la cosecha de la campaña anterior. En este caso el coeficiente se hizo significativo para las gramíneas anuales ( $r = 0,801$ ) y, aunque el grupo de dicotiledóneas anuales no fue significativo, hay malezas de gran incidencia como *P. hysterophorus* y *A. dubius*, entre otras, en que los valores del coeficiente de correlación superan el límite de significación. *S. halepense* presentó valores significativos, tanto cuando se relacionó con el número de malezas por metro cuadrado como cuando se usó como valor de comparación la cobertura. Es posible que en esto incidiera el gran poder reproductivo por semillas de *S. halepense*, pues se obtuvieron hasta 262 plántulas/m<sup>2</sup> procedentes de sus semillas en áreas de alta infestación, lo que no sucedió con *C. rotundus*, cuyo potencial reproductivo se redujo solo a sus tubérculos y rizomas. En las condiciones de Cuba esta maleza florece y fructifica, pero sus semillas son poco fértiles, por lo que su reproducción está dada mayormente por los coquillos y tubérculos que se producen en la planta en desarrollo [Kawabata y Nishimoto, 2003; La O *et al.*, 1999]. Doll (1986) reporta en Colombia que 15% de las semillas son viables, pero que la reproducción de la especie se produce prácticamente por vía no botánica.

El hecho de que los valores de correlación obtenidos en muestras de suelo, tomadas en el período crítico de la campaña anterior y de la intercosecha, no sean significativos se justifica por tratarse de áreas que estaban protegidas contra las malezas con tratamientos de her-

bicidas, pero pudiera ser motivo de nuevos estudios si sucediera en el momento de la cosecha. La cobertura de malezas, en el momento de la cosecha de la campaña anterior, como elemento para el pronóstico, brindó información irregular que es necesario precisar con estudios posteriores, ya que este parámetro facilitaría grandemente esta tecnología. En esto incide el grado de competencia que se establece, que enmascara el verdadero potencial de algunas malezas para brotar y otras han concluido su ciclo de vida. Se observa que *S. halepense* y *P. hysterophorus* brindan alguna información, *R. cochinchinensis* y *A. dubius* en menor grado y otras, de gran incidencia como *C. rotundus*, no aparecen. Al respecto, Koch (1989) plantea que un sitio es ocupado por diferentes nichos durante el tiempo de desarrollo de una comunidad. Señala que una especie puede terminar su ciclo tan temprano que no interfiera en el crecimiento de otras, por lo que una evaluación sobre la vegetación presente no detecta la realidad de la posible vegetación futura.

Los valores de Chi-2 para los diferentes tamaños de muestras decrecen según aumenta su número, los que no son significativos hasta ocho muestras por hectárea. Cuando se tomaron cuatro muestras por hectárea difirió significativamente con respecto a los demás valores en dos variantes, por lo que no resultó confiable. Con este resultado se demuestra que con ocho marcos de 0,25 m<sup>2</sup>/ha se obtiene una población de malezas representativa de un enyerbamiento, y que con igual número de porciones de suelo de 500 g en el perfil 0-20 cm fue suficiente para obtener el potencial de brotación de plantas que caracteriza una zona. Estos resultados se acercan en alguna medida a lo expuesto por Alan *et al.* (1995), que considera menos de 1%; sin embargo, Muller-Dumbois y Ellenberg (1974) señalan que el mínimo aceptable es 10%, y Jurgens (1985), para las condiciones de Costa Rica, recomienda una escala de 25-100 m<sup>2</sup> para cultivos anuales de ciclo corto (Tabla 2).

Tabla 2. Valores de Chi 2 para diferentes tamaños de muestras

Cobertura (%) y/o tipo de suelo	Número de muestras					
	75	50	25	12	8	4
10	0,994 ns	6,050 ns	5,628 ns	6,721 ns	8,531 ns	106,026 **
30	2,923 ns	3,301 ns	4,214 ns	8,023 ns	11,133 ns	8,598 ns
80	1,917 ns	4,670 ns	7,926 ns	8,797 ns	8,833 ns	70,022 ns
Oscuro plástico gleyzado	0,816 ns	1,523 ns	2,366 ns	2,697 ns	2,761 ns	196,203 **
Pardos con diferenciación de carbonatos	1,267 ns	1,03 ns	1,981 ns	2,240 ns	1,838 ns	19,522 ns
Ferralítico rojo	0,234 ns	0,264 ns	1,916 ns	2,028 ns	2,091 ns	6,209 ns

En el análisis por malezas se observó que en las seis variantes anteriores se detectaron todas las malezas dominantes con ocho muestras por hectárea y 58% de las esporádicas. Cuando se tomaron cuatro muestras por hectárea no se detectaron en 62,5% de los casos,

entre ellos malezas de importancia económica como *E. colonum*, *P. hysterophorus*, *I. tiliacea* y *P. oleracea*, pero sí cuando se usó el marco de 0,25 m<sup>2</sup>. Esto corrobora la afirmación de que hasta ocho muestras por hectárea es representativo de la población de malezas (Tabla 3).

Tabla 3. Frecuencia de detección de malezas

Malezas	Número de muestras por hectárea															
	400		200		100		50		25		12		8		4	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
<i>E. colonum</i>	3	3	2	3	3	2	3	2	3	2	3	1	2	1	0	0
<i>E. indica</i>	3	3	3	2	3	2	3	3	3	3	3	2	2	2	2	1
<i>Amaranthus spp.</i>	3	2	1	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1
<i>D. sanguinalis</i>	3	2	2	2	2	1	3	2	2	2	3	1	3	1	2	1
<i>P. hysterophorus</i>	2	3	2	2	3	1	3	2	3	1	2	2	2	1	0	0
<i>C. rotundus</i>	2	2	2	2	3	1	3	1	3	1	3	1	2	2	2	0
<i>P. oleracea</i>	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
<i>I. tiliacea</i>	2	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	0	1	1	0	0
Otras	32	9	19	14	23	13	20	15	12	24	18	10	14	10	6	4

a: Marco de 0,25 m<sup>2</sup>.

b: Muestras de suelo.

## CONCLUSIONES

- Con una evaluación de ocho marcos cuadrados de 0,25 m<sup>2</sup>/ha, colocados al azar en las diagonales de un área, se obtiene una población de malezas representativa de un enyerbamiento e igual número de porciones de suelo de 500 g/cu, suficientes para obtener el potencial de emergencia de plantas que caracteriza una zona.
- El potencial de brotación de malezas, determinado por el contenido de semillas viables en muestras de suelo, tomadas en el momento de la cosecha de la campaña anterior y después del proceso de preparación, se correlacionan significativamente con las malezas emergidas y su cobertura treinta días después de la siembra o plantación.
- La cobertura de malezas en el momento de la cosecha de la campaña y del cultivo anterior presentó un comportamiento irregular al correlacionar sus valores con el enmalezamiento postsiembra o plantación.
- Como elementos básicos para el pronóstico de malezas se debe tomar el potencial de brotación de plantas, obtenido por semillas viables procedentes de muestras de suelo tomadas en el perfil de 0-20 cm en el momento de la cosecha de la campaña de primavera, o después del proceso de preparación de suelo para la próxima siembra o campaña de frío.

## REFERENCIAS

- Alan, Elizabeth; U. Barrantes; A. Soto; R. Agüero: *Elementos para el manejo de malezas en agroecosistemas tropicales*, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Ed. Tecnológicas de Costa Rica, 1995.
- Belgique Jungens, G.: «Levantamiento de malezas en cultivos agrícolas», *Plits* 3:85-104, 1985.
- Cardina, J.; P. Herms Catherine; D. J. Doohan: «Crop Rotation and Tillage System Effects on Weeds Seedbanks», *Weed Science*, 50(4):448-460, 2002.
- Dagnelie, P.: *Théorie et méthodes statistiques. Aplicaciones agronomiques*, Los Presses Agronomiques de Gembleux, ASBL, 1980.
- Kawabata, O.; R. K. Nishimoto: «Temperature and Rhizome Chain Effect on Sprouting of Purple Nutsedge (*Cyperus rotundus*) Ecotypes», *Weed Science*, 51(3):348-355, 2003.
- Koch, W.: «Crop Losses Due to Weed». Proceeding of FAO/IWSS expert consultation on improving weed management in developing countries, Roma, 6-10 september, 1989.
- : *Desarrollo de la herbología. Curso básico sobre control de malezas en la República Dominicana*, Sociedad Alemana de Cooperación Técnica, LTDA (GTZ), RFA, 1975.
- La O, F.; Tamara Mateo; Lilliam Otero: «Clasificación de semillas de malezas para Cuba en función de su nocividad», *Fitosanidad*, 3(1):55-59, 1999.
- Muller-Dumbois, D.; H. Ellenberg: *Aims and Methods of Vegetation Ecology*, Wiley, New York, 1974.
- Naylor, R. E.: «The Prediction of Blackgrass Einfeldation», *Weed Res.*, 10:296-299, 1970.
- Paredes, E.; G. D. Prieto: «Manejo de malezas y otras plagas de importancia económica en la agricultura tropical», *Agricultura sostenible (ecológica u orgánica)*. Subprograma no. XIX, Tecnología del Sector Agropecuario, Red Temática no. XIX. B. Agricultura y Ganadería Sostenibles, Panamá, 2003.

## INFLUENCIA DEL PH DEL AGUA SOBRE LA EFECTIVIDAD DE VARIOS HERBICIDAS UTILIZADOS EN CAÑA DE AZÚCAR

Inoel García Ruiz y Maritza Sánchez Ortiz

ETICA Villa Clara-Cienfuegos. Autopista Nacional, Km 247, Apdo. 20, Ranchuelo, Villa Clara, Cuba, c.e.: pima@epica.vc.minaz.cu

### RESUMEN

Se estudió la efectividad de un grupo de herbicidas al variar el pH del agua de la solución final por medio de la utilización de ácido fosfórico e hidróxido de sodio, para alcanzar graduaciones desde cuatro hasta nueve. Los resultados indican que el pH del agua influye en la eficacia de glifosato a 3 L/ha p.c. para el control de *Brachiaria extensa* Chase., y es mejor con los pH 4, 5 y 6, pero no así para *Echinochloa colona* (L.), Link. y *Euphorbia heterophylla* L. Cuando la dosis se aumentó a 5 L/ha el comportamiento no mostró una dependencia tan marcada del pH. Por otro lado, Paraquat en mezcla con Diuron, también controló mejor a *Brachiaria extensa* Chase a pH 7 a las dos dosis estudiadas. La eliminación de *Cynodon dactylon* (L.), Pers fue mejor al incrementar el pH hasta 9 en las dos dosis. En el caso de 2,4-D Sal de amina en dicotiledóneas, el mejor resultado se logró en pH neutro y la dosis de 2 L/ha, mientras que a 3 L/ha el resultado fue muy variable.

Palabras clave: pH, herbicidas, malezas

### ABSTRACT

The effectiveness of some herbicides in relation with changes in pH of the final solution was studied, phosphoric acid and sodium hydroxide was used to reach pH graduations from 4 to 9. Results showed that pH of water influenced the effectiveness of Glifosato (3 L/ha p.c.) for the control of *Brachiaria extensa* Chase, this was better with pH 4, 5 and 6 but not for both *Echinochloa colona* (L.), Link. and *Euphorbia heterophylla* L. When the dose increased to 5 L/ha the behaviour did not show dependence so marked with the pH. On the other hand Paraquat in mixture with Diuron better controlled *B. extensa* in both doses when pH was neutral. The elimination of *Cynodon dactylon* (L.), Pers was superior when pH increased to 9 in two studied doses. In the case of 2, 4-D amine salt the best result was achieved in neutral pH and the dose of 2 L/ha on dicotyledonous weeds, while result was very variable with 3 L/ha the.

Key words: pH, herbicides, weeds

### INTRODUCCIÓN

El uso de herbicidas es hoy una de las principales opciones de control de malezas en caña de azúcar en Cuba, independientemente de que, según Montano y Pérez. (2001) y García *et al.* (2004), clasifican a los herbicidas como productos químicos con alto potencial de afectaciones ecológicas al ambiente. Para disminuir las dosis efectivas y los costos se utilizan productos acompañantes o surfactantes que mejoran el contacto del herbicida con la superficie asperjada, el cubrimiento, la penetración, la traslocación y la permanencia [Ruiz, 1973]. Los surfactantes son compuestos químicos que se utilizan para mejorar las propiedades deseables de la formulación y de la mezcla asperjada, como la emulsificación, dispersión, humectación, adherencia y otras, siendo los humectadores, detergentes y emulsificantes los más usados en el caso particular de los

herbicidas [Fuentes de Pedrahita, 1980]. Este propio autor agrega que los surfactantes tienen la característica común de poseer en su estructura un grupo soluble en agua, unido a otro grupo soluble en aceite, lo que facilita su acción. Durante las aplicaciones de herbicida se emplean cantidades considerables de agua, cuya cantidad puede variar en función de la turbidez, sustancias en suspensión y grado de dureza, donde esta última puede ser causante de problemas en la efectividad de algunos herbicidas como Glifosato, Paraquat y 2,4-D sal de amina, que se hidrolizan cuando se mezclan con aguas alcalinas [Maldonado *et al.*, 2005], por lo que la acidificación del agua es una forma de reducción de la dosis, abaratamiento de los costos y disminución de las afectaciones al suelo, aguas y ambiente en general. Con el objetivo de evaluar la efectividad de un grupo de her-

bicidas al variar el pH del agua se realizaron ensayos de campo cuyos resultados se muestran en este artículo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los estudios se realizaron en la Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de Azúcar de Villa Clara-Cienfuegos (ETICA) en suelos pardo sialítico cálcico [Hernández, 1996]. Se realizaron ensayos de campo en parcelas de 48 m<sup>2</sup>, sin caña en diseño de bloques al azar con cuatro réplicas, donde se probaron los herbicidas glifosato CS 36 a 3 y 5 L/ha con pH del agua de 4, 5, 6, 7, 8 y 9. Paraquat LS 20 (2 L/ha) más Diuron pH 80 (0,75 kg/h) y 2,4-D sal de amina CS 72 (2L/ha) fueron con pH 7, 8 y 9. Se utilizó agua de la localidad con pH 7,2 y los pH de los tratamientos se lograron con ácido fosfórico o hidróxido de sodio según el caso.

Las malezas predominantes en el área de ensayo fueron *Brachiaria extensa* Chase. (Gambutera), *Euphorbia heterophylla* L (Lechosa o Corazón de María), *Merremia umbellata* L. Hall. (Bejuco aguinaldo amarillo), *Cynodon dactylon* L. Pers. (Yerba fina) y *Echinochloa colona* L. Link. (Metabravo o Grama pintada). La aplicación de los tratamientos se hizo con mochila de espalda y boquilla Flood Jet o deflectora con un gasto de 1,2 L/min y solución final de 250 L/ha. La efectividad de los tratamientos se evaluó a través de la cobertura inicial y final de las especies de

malezas antes mencionadas, según Fischer (1975). Los resultados se expresan en porcentaje de control por tratamientos respecto al testigo absoluto.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Glifosato

Los resultados del primer ensayo (Fig. 1) indican que el pH del agua ejerció marcada influencia sobre la efectividad de glifosato a 3 L/ha para el control de *B. extensa*, con mejores resultados cuando se utilizó agua con pH 4, 5 y 6. La efectividad disminuyó en la misma medida en que la alcalinidad del agua aumentó. Estos resultados coinciden con lo obtenido por Rodríguez y Díaz (2004), quienes demostraron que el agua a pH 5 es la mejor para preparar la solución por asperjar con los herbicidas glifosato, glufosinato de amonio y sus mezclas, con mayor efectividad en el control de un amplio espectro de malezas, a la vez que disminuye la dosis de ambos productos hasta en 40-50%.

En el caso de *E. colona*, los resultados fueron muy variables, sin relación definida entre el control y el pH del agua. La efectividad de este herbicida para eliminar *E. heterophylla* mostró un comportamiento con tendencia inversa, o sea, mejor control para pH altos.

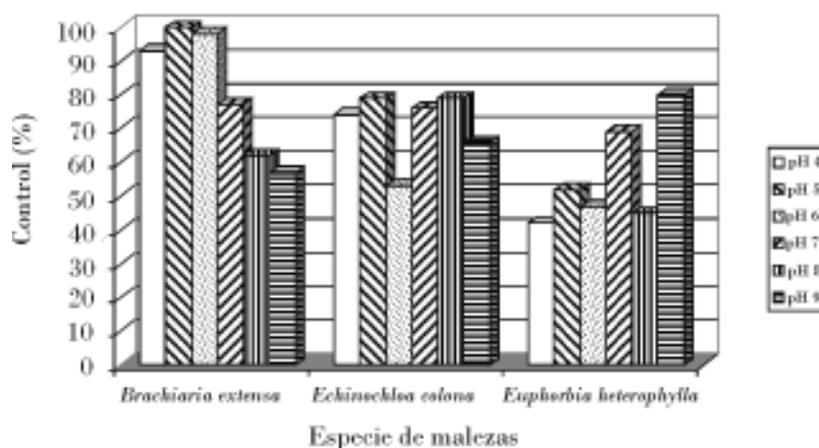


Figura 1. Efectividad de glifosato a 3 L/ha en el control de malezas según pH del agua.

Cuando la dosis de glifosato se incrementó a 5 L/ha (Fig. 2), el control de *B. extensa*, *E. colona* y *E. heterophylla*, aunque muy efectivo en las tres especies, mos-

tró cierta tendencia a mejorar en los valores de pH mayores, y entre las especies, *E. colona* fue la que mostró mayor resistencia al herbicida.

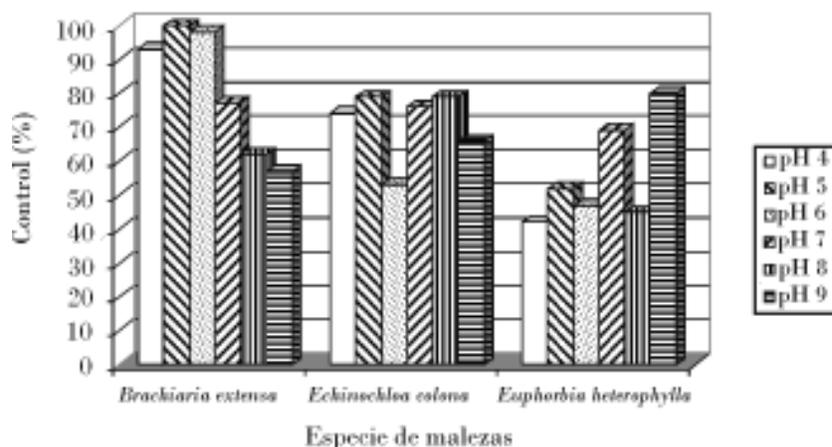


Figura 2. Efectividad de glifosato a 5 L/ha en el control de malezas según pH del agua.

Los resultados respecto a la efectividad de glifosato en el control de las malezas evaluadas al variar el pH del agua demuestran la importancia de utilizar agua con pH 5, 6 y 7 para preparar la solución final, ya que es posible resultados en el control de *Brachiaria extensa* con solo 3 L/ha del producto, similares al mejor control obtenido con 5 L/ha.

#### Paraquat + Diuron

Los resultados del ensayo se muestran en la Fig. 3, donde se aprecian comportamientos contrastantes de acuerdo con la especie de maleza. El control de *B. extensa* fue mejor cuando el pH del agua era de 7, con menor efectividad de la mezcla de Paraquat + Diuron cuando era de 8 y 9.

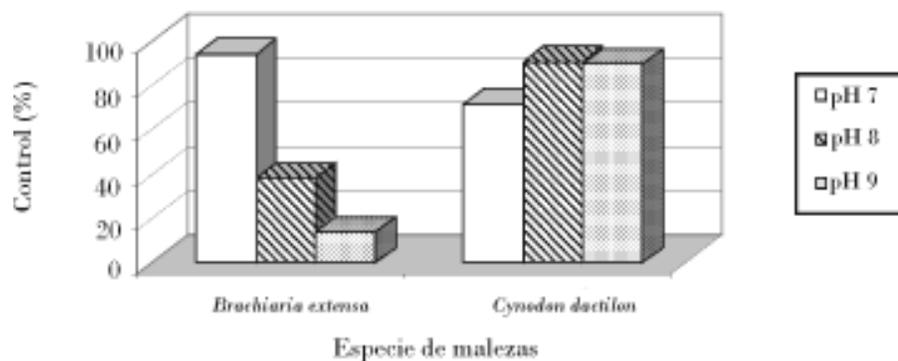


Figura 3. Efectividad de Paraquat + Diuron en el control de malezas según el pH del agua.

En el caso de *Cynodon dactylon*, L. Pers. el comportamiento fue inverso, con tendencias a mejorar la efectividad para pH 8 y 9 respecto a pH 7. Fernández *et al.* (1999), en ensayos realizados en condiciones similares de suelo, demostraron que las mezclas de Paraquat a 2 L/ha y Diuron o Ametrina a 0,5 kg/ha logran resultados similares de eficacia en el control de *B. extensa*, que las mezclas de Paraquat a igual dosis con Diuron y Ametrina a 0,75 kg/ha.

#### 2,4-D sal de amina

La efectividad de 2,4-D sal de amina a 2 L/ha en el control de dicotiledóneas (Fig. 4) fue ligeramente superior a pH 8 del agua, respecto al neutro, y notablemente mejor que a pH 9; sin embargo, a la dosis de 3 L/ha los resultados no mostraron igual comportamiento.

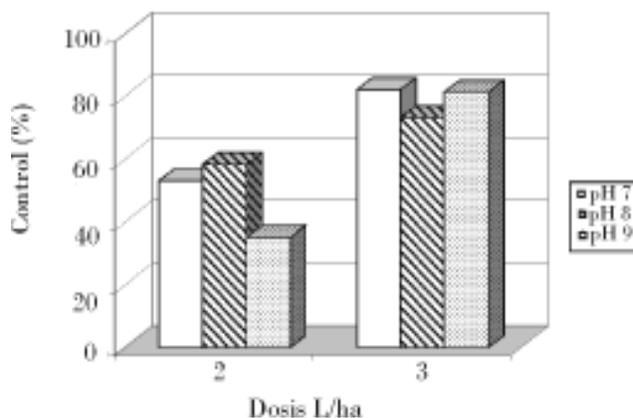


Figura 4. Efectividad de 2,4-D amina en el control de dicotiledóneas al variar la dosis y el pH.

Los ensayos realizados indican que el pH del agua puede influir en la efectividad del control de malezas en los herbicidas evaluados en dependencia de la especie y la dosis utilizada, lo que coincide con lo planteado por Díaz *et al.* (2005), por lo que los resultados mostrados pueden ser punto de partida para posibles estudios futuros donde se amplíe la gama de productos y especies ensayadas.

## CONCLUSIONES

- Glifosato CS 36 a la dosis de 3 L/ha p.c. mezclado con agua a pH 4, 5 y 6 logró controlar a *Brachiaria extensa* con similar efectividad que glifosato a 5 L/ha, no así en el caso de *Echinochloa colona* y *Euphorbia heterophylla*, donde los resultados fueron inconsistentes y con tendencia a mejor control con pH mayores que 7, respectivamente.
- Paraquat LS 20 a 2 L/ha p.c. en mezcla con Diuron PH 80 a 0,75 kg/ha p.c. también mostró variaciones de la eficacia en el control en dependencia de la especie, con resultados notablemente superiores con pH 7 en el control de *Brachiaria extensa*.
- En el control de malezas dicotiledóneas 2,4-D amina CS 72 a 2 L/ha p.c. fue ligeramente mejor con pH 8. Cuando la dosis se incrementó a 3 L/ha p.c. los resultados fueron inconsistentes.

## REFERENCIAS

- Díaz, J. C.; S. Hernández; R. Maldonado; E. Zayas; J. J. Díaz: «Programa de control de malezas de las unidades de producción cañeras», *Control Integral de malezas en caña de azúcar*, INICA, La Habana, 2005.
- Fernández, C.; J. C. Díaz; F. Espinosa; S. Gómez; Arleni Pérez: «Evaluación de mezclas de los herbicidas Ametrina, Atrazina y Diuron con Paraquat más surfactante en tratamientos de precierre en caña de azúcar». Memorias I Encuentro Nacional de Ciencia de Malezas, 14-16 de diciembre, La Habana, 1999.
- Fischer, F.: «Comparación de dos métodos de evaluación para determinar el grado de efectividad herbicida», revista *Agricultura*, La Habana, 8(1):70-80, 1975.
- Fuentes de Pedrahíta, C.; A. Lucía de Román: «Los surfactantes: clases, propiedades y uso con herbicidas». Guía de Estudio, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia, 1980.
- García, R.; E. Paredes; E. Pérez: «Evaluación de residuos fitotóxicos en áreas agrícolas por métodos biológicos». Memorias III Congreso Nacional de la Sociedad Cubana de Malezas, 28-30 de abril, vol. 2, La Habana, 2004.
- Hernández, J.: «Evaluación, manejo y corrección de la fertilidad de los suelos ferralíticos cuarcíticos dedicados al cultivo de la caña de azúcar». Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Agrícolas, INICA, La Habana, 1995.
- Maldonado, R.; J. C. Díaz; S. Hernández; R. Zuaznábar: «Tipo de formulaciones principales», *Control integral de malezas en caña de azúcar*, INICA, La Habana, 2005.
- Montano, R.; N. Pérez: «Impacto de los herbicidas sobre el ambiente y la salud». Memorias II Encuentro Nacional de Ciencia de Malezas, vol. 1, 23-25 de noviembre, La Habana, 2001.
- Rodríguez, L.; J. C. Díaz: «Evaluación de tres nuevos aditivos acidificantes sobre la eficacia herbicida de glifosato, finale y sus mezclas». Memorias III Congreso Nacional de la Sociedad Cubana de Malezas, vol. 1, La Habana, 2004.
- Ruiz López, E.: *Herbicidas: su empleo en la caña de azúcar*, Subdirección Nacional de Protección de Plantas y Epifitología, Dirección Nacional de Sanidad Vegetal, INRA, La Habana, 1973.

## INFLUENCIA DEL PH Y LA TEMPERATURA EN LA PRODUCCIÓN DE LAS FITOTOXINAS PRODUCIDAS POR LA *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* PSS. EVALUACIÓN DE SU EFECTIVIDAD EN EL CONTROL DE MALEZAS

María E. Díaz de Villegas Díaz de Villegas,<sup>1</sup> Antonio Bell García,<sup>1</sup> Beatriz Altuna Seijas,<sup>1</sup> Marcos A. González Sosa,<sup>1</sup> Ricardo García Castillo,<sup>2</sup> Ermenegildo Paredes Rodríguez,<sup>2</sup> Ricardo Gallardo Iglesias,<sup>1</sup> Esmérida Torres Castañeda<sup>1</sup> y Mailing Carbonero González<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA). Vía Blanca 804 y Carretera Central, San Miguel del Padrón, Ciudad de La Habana, c.e.: [mariaelena.diaz@icidca.edu.cu](mailto:mariaelena.diaz@icidca.edu.cu)

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600, c.e.: [nhernandez@inisav.cu](mailto:nhernandez@inisav.cu)

### RESUMEN

El control biológico de malezas mediante la aplicación de bioherbicidas constituidos por las fitotoxinas producidas por microorganismos es una alternativa que resulta promisorio por las posibilidades que tiene de incluirse en el manejo integrado de malezas. Diversos factores medioambientales afectan la producción de fitotoxinas por cepas del género *Pseudomonas*, entre los que se encuentran el pH y la temperatura del cultivo. La evaluación de estos parámetros en la producción de las fitotoxinas producidas por la *Pseudomonas aeruginosa* PSS durante el cultivo líquido en fermentadores de 5 L muestran que la mejor variante en el pH es cuando se ajusta a 7 al inicio del cultivo y después se deja libre, mientras que la producción de fitotoxinas fue máxima a 30°C. La evaluación de la efectividad in vitro del bioherbicida a una concentración de fitotoxinas de 45 mg/mL sobre la germinación de diferentes semillas de malezas ocasionó la necrosis o el desarrollo atrofiado de las radículas que emergieron, y mostró un comportamiento similar al producido por los herbicidas de tipo hormonal. En tratamientos con aplicación al suelo en condiciones controladas en macetas después de la siembra de semillas de malezas no se observaron efectos sobre la germinación y brotación de las plántulas. Aplicaciones foliares mostraron resultados notables con diferencia en cuanto al comportamiento sobre las distintas especies. Las dicotiledóneas (*Amaranthus dubius*, *Bidens pilosa*, *Euphorbia hirta*, *Dichrostachys cinerea*, *Parthenium hysterophorus*) han sido más sensibles que las gramíneas.

Palabras clave: *Pseudomonas aeruginosa*, pH, temperatura, bioherbicida, malezas

### ABSTRACT

Biological control of weeds through the application of bioherbicides constituted by phytotoxins produced by microorganisms is a promising alternative due to the possibility to being included in integrated weeds management. Different environmental factors affect phytotoxins production by strains of genus *Pseudomonas*, pH and temperature of the culture are among them. The evaluation of these parameters in the production of *Pseudomonas aeruginosa* PSS phytotoxins during liquid culture in 5 L fermentors, showed the best results when pH was adjusted at the beginning of the culture and then it leaves free, while the temperature was at 30°C. The evaluation of the effectiveness in vitro of the bioherbicide with a concentration of 45 mg/mL in the germination of different weeds seeds, caused necrosis or atrophied development of emerged radicles and show a similar behaviour as hormonal herbicides. Treatments of soil application in greenhouse after sowing seeds weeds were not effective over germination and plant sprout. Foliar treatment showed difference between weeds species. Dicotyledonous (*Amaranthus dubius*, *Bidens pilosa*, *Euphorbia hirta*, *Dichrostachys cinerea*, *Parthenium hysterophorus*.) were more sensitive than grasses.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, pH, temperature, bioherbicide, weeds

### INTRODUCCIÓN

Los bajos rendimientos en los cultivos con la consiguiente afectación en la alimentación de la población debido a las plagas, enfermedades y malezas que los

atacan, han dado lugar a la búsqueda de alternativas para su mejoramiento, por lo que se producen actualmente profundas transformaciones que contrastan con

el modelo clásico de la agricultura moderna y convencional. Entre sus elementos esenciales se encuentran el uso de la fertilización orgánica y biofertilización, así como el manejo integrado de plagas con énfasis en el control biológico.

Existe una variedad de microorganismos, entre los que se encuentran hongos y bacterias patógenos de plantas, que reciben considerable atención con el fin de utilizarlos, junto a las fitotoxinas que ellos producen, como herbicidas biológicos [Duke y Abbas, 1994; Duke *et al.*, 1991]. En muchos aspectos los patógenos de plantas ejercen el mismo efecto sobre las malezas que las fitotoxinas producidas por ellos, por lo que potencialmente pueden emplearse como herbicidas uno u otro; sin embargo, las toxinas ofrecen un espectro de acción más amplio que el patógeno que las produce, lo que resulta de gran interés dada la necesidad de eliminar arvenses que atacan los cultivos [Abbas y Duke, 1995; Kremer, 1998].

Entre los microorganismos que pueden inhibir selectivamente el crecimiento de las plantas indeseables e impedir la germinación de las semillas y/o su desarrollo mediante la producción de fitotoxinas, están las del género *Pseudomonas* [Bender *et al.*, 1999].

La producción de bioherbicidas constituidos por las fitotoxinas producidas por cepas de *Pseudomonas* ofrece una alternativa para su aplicación en el manejo integrado de malezas. Resultados preliminares han mostrado que la *Pseudomonas aeruginosa* PSS produce metabolitos fitotóxicos en cultivos líquidos promisorios para el control de malezas [Díaz de Villegas *et al.*, 2002].

Entre los factores medioambientales que influyen en la producción de fitotoxinas por vía biotecnológica se encuentran el pH y la temperatura. Se ha reportado que este último parámetro tiene gran importancia en la síntesis de las fitotoxinas producidas por diferentes cepas de *Pseudomonas syringae* [Rohde *et al.*, 1998], y específicamente en la coronatina producida por la *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* PG4180, que tiene su máxima producción a 18°C, mientras que a 30°C prácticamente no la produce, lo que se corresponde con la temperatura a la cual se presentan los síntomas de la enfermedad en el campo [Bender *et al.*, 1999].

En este trabajo se presentan los resultados al estudiar la influencia del pH y la temperatura sobre la producción de las fitotoxinas producidas por la *Pseudomonas aeruginosa* PSS en cultivo líquido, y la evaluación de su efectividad sobre malezas que atacan cultivos de interés económico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Microorganismo y condiciones de cultivo

Se empleó la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* PSS de la colección de cultivos del ICIDCA aislada del suelo, cuyo cultivo liofilizado reconstituido se inoculó en medio sólido King B [King *et al.*, 1954] y se incubó durante 24 h a 30°C. El caldo semilla se preparó por medio de la inoculación de 200 mL del medio King B contenidos en erlenmeyers de 500 mL, con el cultivo proveniente de la superficie de la placa, el que se mantuvo durante 8 h a 30°C en una zaranda rotatoria (175 r.min<sup>-1</sup>). El inóculo se obtuvo al añadir a 250 mL de medio King B este caldo semilla, en una relación de inoculación de 1/10 durante 16 h a 30°C en una zaranda rotatoria (175 r.min<sup>-1</sup>). Los fermentadores de 5 L, que contenían 2,5 L de medio optimizado con glicerina como fuente de carbono, urea y fosfato de amonio como fuente de nitrógeno, fueron inoculados con 250 mL de este inóculo.

El comportamiento del pH durante el cultivo se estudió por triplicado bajo las siguientes condiciones:

- pH ajustado a 7 al inicio del cultivo y después se dejó libre.
- pH ajustado a 7 durante toda la fermentación.
- pH ajustado a 8 durante toda la fermentación.

Las temperaturas estudiadas fueron 30, 35 y 40°C. La agitación se estableció a 250 rpm y la aireación a 0,2 vvm durante 24 h.

### Procedimiento experimental

El crecimiento celular se estimó mediante la medición de la absorbancia a una longitud de onda de 600 nm en un espectrofotómetro PM 2A. Estudios previos realizados indican que las fitotoxinas producidas por la *Pseudomonas aeruginosa* PSS son de naturaleza peptídica [Díaz de Villegas *et al.*, 2002], por lo que la concentración de fitotoxinas se expresa como miligramo por mililitro de proteína, determinación realizada a los sobrenadantes libres de células (SLC) por el método del microbiuret [Frankhauser, 2004].

### Determinación de la actividad fitotóxica *in vitro*

La actividad fitotóxica, expresada como por ciento de inhibición del tamaño de la radícula (% ITR), se les determinó a los SLC por pruebas de semillas de lechugas en placas Petri, en las que se colocaron diez semillas sobre papel de filtro Whatman no. 4 humedecido con la solución del producto, se dejaron germinar a tem-

peratura ambiente durante cuatro días, al cabo de los cuales se midió la longitud de la radícula, y se comparó con el testigo puesto a germinar solo en agua.

### Evaluación de la efectividad biológica en condiciones controladas

Los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Herbología del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. En ellos se evaluó el efecto *in vitro* del bioherbicida con una concentración de fitotoxinas de

45 mg/mL, sobre la germinación de diferentes semillas en placas de Petri de 14 cm de diámetro, a temperatura ambiente entre 24-30°C; además del efecto del producto sobre semillas del suelo y el follaje de plántula, que se realizó en pruebas con macetas plásticas de 12 cm de diámetro rellenas de suelo ferralítico rojo, donde se sembraron semillas de malezas para realizar aplicaciones posteriores del producto por evaluar, tanto al suelo como al follaje de malezas emergidas. Las malezas evaluadas fueron:

Maleza	Nombre vulgar
<i>Amaranthus dubius</i> Mart.	Bledo
<i>Bidens pilosa</i> Lin.	Romerillo
<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	Lechosa
<i>Euphorbia hirta</i> Lin.	Lechera
<i>Echinochloa colonum</i> (L.) Link.	Arrocillo
<i>Eleusine indica</i> L.	Pata de gallina
<i>Dichrostachys cinerea</i> (L.) Wight & Arn.	Marabú
<i>Parthenium hysterophorus</i> L.	Escoba amarga
<i>Oxalis</i> spp.	Trébol

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la *Fig. 1* se presenta la producción de fitotoxinas y el crecimiento celular a los pH estudiados. Los mayores niveles de fitotoxina (6,31 mg/mL) se alcanzaron cuando se ajustó el pH a 7 al inicio, y después se dejó libre, para un pH de 6,7 al final del cultivo. Tanto a los pH 7 y 8 la producción de fitotoxina disminuyó, aunque fue más drástica a pH 8, con una reducción de 72% comparada con la concentración obtenida a pH 7. Estos resultados difieren de lo reportado por Palmer y Bender (1993) en la producción de la

fitotoxina coronatina a partir de la *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* PG 4180, los que no obtuvieron efectos significativos en la producción de coronatina, en un rango de pH entre 6,5-7,8.

Respecto al crecimiento celular, como se aprecia en la *Fig. 1*, los resultados son muy similares en las tres variantes estudiadas, lo que se corresponde con lo reportado por Palmer y Bender (1993), quienes no obtuvieron cambios significativos en el crecimiento celular en un rango de pH entre 6,5-7,8.

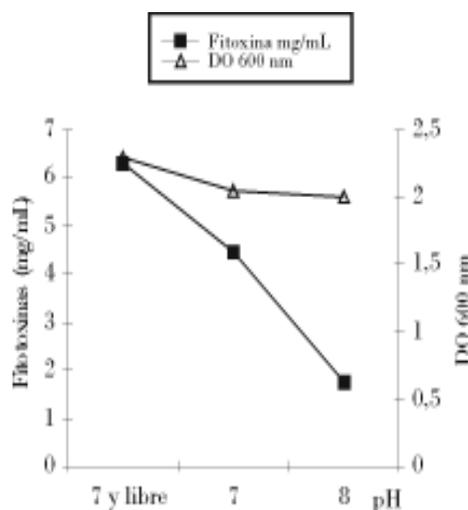


Figura 1. Producción de fitotoxinas y crecimiento celular de la *Pseudomonas aeruginosa* PSSa a diferentes pH del cultivo.

La Fig. 2 presenta la actividad fitotóxica mostrada por los SLC obtenidos durante el cultivo de la *Pseudomonas aeruginosa* PSS a los diferentes pH. Estos resultados se corresponden con los que aparecen en la Fig. 1, ya

que coincide la mayor actividad fitotóxica en la variante donde se ajusta el pH al inicio y después se deja libre, aunque con el ajuste de pH a 7 se obtienen también actividades superiores a 30% de ITR.

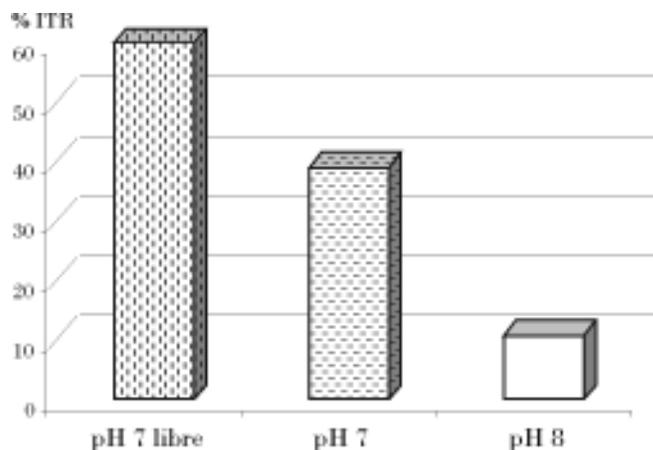


Figura 2. Actividad fitotóxica *in vitro* sobre semillas de lechuga expresada como inhibición del tamaño de la radícula de las fitotoxinas producidas por la *Pseudomonas aeruginosa* PSS a diferentes pH del cultivo.

La influencia de la temperatura durante el cultivo sobre el crecimiento celular y la producción de fitotoxina, ajustando el pH al inicio y después libre, se presenta en la Fig. 3. La temperatura es un factor importante para el crecimiento celular. Se reporta que en general todas las especies de *Pseudomonas* spp. crecen bien a temperaturas entre 28 y 30°C [Todar, 2004]. En rela-

ción con la producción de fitotoxinas, algunos autores la correlacionan con la temperatura óptima del patógeno en el campo [Bender *et al.*, 1999; Palmer, 1995], por lo que en el caso de un microorganismo que sea de clima frío, como es la *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*, la mayor producción de fitotoxinas es a 18°C y mínima a 30°C [Palmer y Bender, 1993].

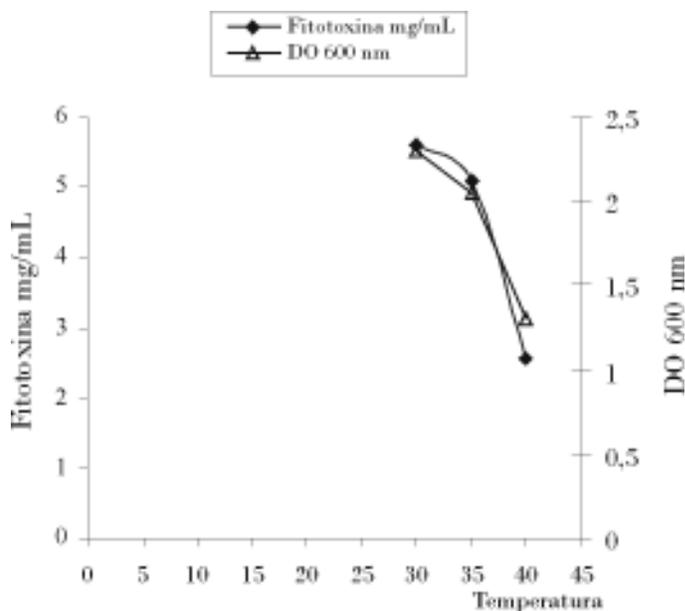


Figura 3. Producción de fitotoxinas y crecimiento celular de la *Pseudomonas aeruginosa* PSS a diferentes temperaturas, y pH ajustado al inicio y después libre.

Los resultados en este trabajo (Fig. 3) muestran que la producción de fitotoxina por la *Pseudomonas aeruginosa* PSS, que es un microorganismo aislado de suelo cubano donde el clima es tropical, fue máxima a 30°C, lo que coincide con el mayor crecimiento celular. A mayores temperaturas –35 y 40°C–, tanto la concentración de fitotoxina alcanzada como el crecimiento celular fue mucho menor, presumiblemente debido a la disminu-

ción del crecimiento celular a estas temperaturas, ya que la síntesis de fitotoxinas y el crecimiento celular tienen un comportamiento asociado, como se puede apreciar en la Fig. 4, donde aparece la cinética de síntesis de fitotoxina y el crecimiento celular a la temperatura de 30°C y pH 7 ajustado al inicio y después libre. La velocidad específica de crecimiento máxima alcanzada ( $\mu$ ) fue de  $0,73 \text{ h}^{-1}$  bajo las condiciones antes descritas.

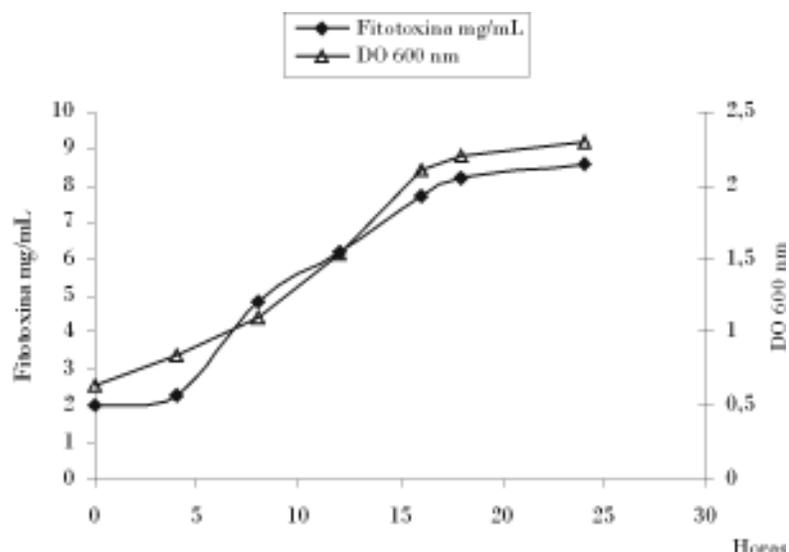


Figura 4. Cinética de la producción de fitotoxina y crecimiento celular a pH 7 y libre y 30°C de temperatura de la *Pseudomonas aeruginosa* PSS.

### Evaluación de la efectividad del bioherbicida sobre malezas

Al evaluar el efecto inhibitorio del crecimiento de la radícula de las semillas se observó que el bioherbicida ocasionó la necrosis o el desarrollo atrofiado de las

radículas que emergieron, mientras que los testigos presentaron un crecimiento y desarrollo normales (Fig. 5). Este comportamiento es similar al producido por los herbicidas de tipo hormonal, que atrofan el crecimiento y desarrollo de la radícula cuando no lo inhiben completamente.

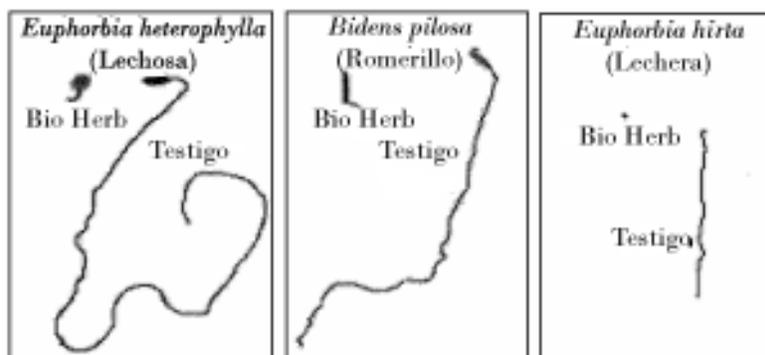


Figura 5. Efecto del bioherbicida sobre la germinación de las semillas de malezas en condiciones de laboratorio.

En la *Tabla 1* se muestran los resultados de esta prueba. El bioherbicida presentó buena actividad en semillas de malezas dicotiledóneas (*A. dubius*, *B. pilosa*, *E. hirta* y *E. heterophylla*), y muy poca en monocotiledóneas (*E. colonum*).

**Tabla 1. Efectividad del bioherbicida sobre la germinación de las semillas en placas Petri**

Malezas	Semillas germinadas		Características	
	Bioherbicida	Testigo	Bioherbicida	Testigo
<i>A. dubius</i>	1	11	Crecimiento atrofiado	Desarrollo normal
<i>B. pilosa</i>	0	18	–	Desarrollo normal
<i>E. hirta</i>	0	12	–	Desarrollo normal
<i>E. heterophylla</i>	1	12	Crecimiento atrofiado	Desarrollo normal
<i>E. colonum</i>	7	8	Crecimiento normal	Desarrollo normal

En otro ensayo *in vitro* sobre especies de malezas muy invasivas se obtuvo un alto efecto depresivo sobre la germinación de las semillas (*Tabla 2*). El bioherbicida causó una inhibición total, sin siquiera la emisión de alguna radícula atrofiada.

En tratamientos con aplicación al suelo, después de la siembra de semillas de malezas no se observaron efectos sobre la germinación y brotación de las plántulas

(*Tabla 3*). El efecto de inhibición de la germinación y de la radícula observado *in vitro* pudiera estar dado por su acción de contacto directo con la testa y el embrión de las semillas, lo que no ocurre en las aplicaciones de preemergencia, pues estas están a distintas profundidades de la superficie en que se aplica el producto, además de que debe tenerse en cuenta la posible interacción de los microorganismos del suelo que actúan en la degradación de los productos en contacto con él.

**Tabla 2. Efecto del bioherbicida sobre la germinación de las semillas y el crecimiento de la radícula en placas Petri**

Malezas	No. de semillas germinadas		Longitud de radícula (mm)	
	Bioherbicida	Testigo	Bioherbicida	Testigo
<i>B. pilosa</i>	0	38	0	25,2
<i>E. colonum</i>	0	16	0	26,5
<i>A. dubius</i>	0	11	0	17,1
<i>D. cinerea</i>	0	16	0	–
<i>P. hysterophorus</i>	0	10	0	–

**Tabla 3. Efecto del bioherbicida sobre la brotación de las malezas en potes con suelo**

Malezas	Malezas a los quince días de la aplicación	
	Bioherbicida	Testigo
<i>B. pilosa</i>	24	25
<i>D. cinerea</i>	8	7
<i>P. hysterophorus</i>	7	6
<i>E. colonum</i>	12	11
<i>A. dubius</i>	25	26

Las aplicaciones al follaje de las malezas crecidas en los potes mostraron resultados notables. Cuando el producto fue asperjado al follaje de *A. dubius*, se produjo una afectación ligera a partir de concentraciones de 50%, y una mortalidad del total de la maleza cuando se aplicó en forma pura. El efecto sobre los bordes fue más pronunciado en esta especie que en otra, con

presencia de necrosis a partir de las 24 h de la aplicación. Al aplicar sobre el follaje de *D. cinerea* (marabú) se observó una depresión del desarrollo y crecimiento de las plántulas, sin que el hecho de que esta haya sido ligera deje de indicar una interesante acción reductora del crecimiento de esta maleza tan perjudicial (Tabla 4).

**Tabla 4. Efecto del bioherbicida sobre el follaje de las malezas**

Malezas	Bioherbicida (50%)	Bioherbicida (100%)	Testigo
<i>A. dubius</i>	Daño en los bordes	Necrosis total	Sin síntomas
<i>D. cinerea</i>	–	Ligera afectación del crecimiento	Sin síntomas
<i>E. indica</i>	–	Necrosis ligera en los bordes	Sin síntomas
<i>P. oleracea</i>	–	Daño ligero en los bordes	Sin síntomas
<i>Oxalis</i> spp.	–	Necrosis ligera en los bordes	Sin síntomas

En tratamientos del producto puro al ciento por ciento, sobre malezas de dos a cuatro hojas, solo se observó una ligera quemazón en el borde de las hojas de *E. indica*, *P. oleracea* y *Oxalis* spp. (Tabla 4). Estos efectos diferenciados podrían ser muestras de determinada especificidad en la acción del producto, bien por la estructura de la hoja o por su fisiología y protección superficial.

En otra prueba de aplicación foliar sobre *E. indica* y *A. dubius* se pudo apreciar un fuerte efecto en la dicotiledónea, con necrosis total de las plántulas a las 24 h de la aplicación, mientras que fue ligero en la gramínea, lo que corrobora la selectividad en la acción del producto sobre el follaje (Tabla 5).

**Tabla 5. Efecto del bioherbicida sobre el follaje de las malezas *A. dubius* y *E. indica***

Malezas	Bioherbicida	Testigo
<i>A. dubius</i>	Necrosis total	Sin síntomas
<i>E. indica</i>	Daño ligero	Sin síntomas

## CONCLUSIONES

- La mayor producción de fitotoxinas y actividad fitotóxica se producen cuando se ajusta el pH a 7 al inicio del cultivo y después se deja libre.
- A 30°C de temperatura se produce la mayor producción de fitotoxinas.
- El producto evaluado presentó efectividad sobre la germinación y el desarrollo de las semillas *in vitro*.
- No se observaron efectos de acción preemergente cuando se ha aplicado al suelo infestado con semillas de malezas.
- El bioherbicida produjo daños foliares sobre distintas especies. Las dicotiledóneas, y sobre todo *A. dubius*, han sido más sensibles que las gramíneas.

## REFERENCIAS

- Abbas, H. K.; S. O. Duke: «Phytotoxins from Plant Pathogens As Potential Herbicides», *J. Toxicol- Toxin Review*, 14:523-543, 1995.
- Bender, C. L.; F. Alarcón-Chaidez; D. C. Gross: «*Pseudomonas syringae* Phytotoxins: Mode of Action, Regulation, and Biosynthesis by Peptide and Polyketide Synthetases», *Microbiol. Mol. Rev.*, 63:266-292, 1999.
- Díaz de Villegas, María Elena; L. Béress; A. Bell; R. Gallardo; E. Torres: «Producción y separación de fitotoxinas a partir de la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* PSS con potencialidades como bioherbicida». Memorias XIII Congreso Científico, INCA, BF-P.12, La Habana, noviembre 2002.
- Duke, S. O.; H. K. Abbas; C. D. Boyette; M. Gohbara: «Microbial Compounds with the Potential of Herbicidal Use». Brighton Crop Protection Conference, *Weeds*, 1:155-164, 1991.
- Duke, S. O.; H. K. Abbas: «Natural Products with Potential Use As Herbicides», *Amer. Chem. Soc. Symp. Ser.*, 582:348-362, 1994.
- Frankhauser, B. D.: *Protein Assay by Microbiuret Standardization*, DBF's Hopkins Notebook III, 2004.

*Díaz de Villegas y otros*

- King, E. O.; M. K. Ward; D. E. Raney: «Two Simple Media for the Demonstration of Pyocyanin and Fluorescin», *J. Lab. Clin. Med.*, 44:301-307, 1954.
- Kremer, R. J.: «Microbial Interactions with Weed Seeds and Seedling and Its Potential for Weed Management», *Integrated Weed and Soil Management*, Sleeping Bear Press, 1998.
- Palmer, D.; C. Bender: «Effects of Environmental and Nutritional Factors on Production of the Polyketide Phytotoxin Coronatine by *Pseudomonas syringae* pv. *Glycineat*», *Appl. Environ. Microbiol.*, 59:1619-1626, 1993.
- Rohde B. H.; B. Pohlack; M. S. Ullrich: «Occurrence of Thermoregulation of Genes Involved in Coronatine Biosynthesis Among Various *Pseudomonas syringae* Strains», *J. Basic Microbiol.*, 38:41-50, 1998.
- Todar, K.: «Pseudomonas and Its Relatives. Todar's Online Textbook of Bacteriology», [www.textbookofbacteriology.net](http://www.textbookofbacteriology.net), 2004.

## EFECTO *IN VITRO* DE EXTRACTOS DE PLANTAS SOBRE ESPECIES BACTERIANAS DEL GÉNERO *XANTHOMONAS*

Marusia Stefanova Nalimova, Sandra G. Rizo Peña y María F. Coronado Izquierdo

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

### RESUMEN

Diversos extractos vegetales poseen efecto bactericida con posibilidades promisorias para el control de las enfermedades en las plantas. Se estudió el efecto *in vitro* de extractos metanólicos de hojas y tallos de *Bixa orellana*, *Gliricidia sepium*, *Ocimum basilicum* y *Petiveria alliacea* frente a 14 aislamientos de *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (4), *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (1), *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (1), *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (1) y *Xanthomonas* sp. (7). Se utilizó el método de doble capa de agar y discos impregnados con los extractos a 12,5% (p/v) colocados en la superficie de la capa superior del medio de cultivo, inoculada con la suspensión bacteriana. El extracto de *Bixa orellana* resultó efectivo para 92,8% de las cepas estudiadas. Solo el aislamiento de *X. axonopodis* pv. *malvacearum* no mostró sensibilidad. Los halos de inhibición oscilaron entre 17 y 21 mm de diámetro. Los extractos restantes no mostraron efecto sobre las bacterias estudiadas.

Palabras clave: extracto vegetal, bacteria, *Xanthomonas*

### ABSTRACT

Diverse plant extracts possess bactericidal effect with promissory possibilities to the control of plant diseases. The effect of methanolic extracts of leaves and stems of *Bixa orellana*, *Gliricidia sepium*, *Ocimum basilicum* and *Petiveria alliacea* was studied *in vitro* against 14 isolations of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (4), *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (1), *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (1), *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (1) and *Xanthomonas* sp. (7). The method of double agar layer and disks impregnated with 12.5% (h/v) extracts was used; they were placed on the surface of the higher layer of media and inoculated with the bacterial suspension. The extract of *Bixa orellana* was effective for 92.8% of the studied isolates, only the isolate of *X. axonopodis* pv. *malvacearum* did not show sensibility. The inhibition halos oscillated between 17 and 21 mm of diameter. The remaining extracts did not show effect on the studied bacteria.

Key words: plant extracts, bacteria, *Xanthomonas*

### INTRODUCCIÓN

El manejo de las enfermedades bacterianas se ha hecho mundialmente difícil debido a la resistencia a los fungicidas cúpricos y los antibióticos que durante muchos años han sido empleados en la agricultura. Esta situación ha motivado la búsqueda de alternativas biológicas. Entre ellas los extractos de plantas han resultado promisorios por su destacado efecto bactericida.

Diversos autores han señalado la reacción inhibitoria de extractos naturales frente a especies del género *Xanthomonas*. En este sentido, García y Rodríguez (1994) probaron extractos acuosos de diversas plantas frente a cultivos puros de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, y encontraron que los provenientes de *Ruta graveolens*, *Jaracanda acutifolia* y *Aloe vera* poseen propiedades bactericidas contra la bacteria. Estos autores incluso lograron reducir los daños foliares a nivel de plantas con los extractos promisorios.

Extractos de *Zingiber chrysanthemi*, *Ruta chalepensis*, *Jaracanda acutifolia* y *Aloe vera* mostraron efecto bactericida frente a *Xanthomonas campestris* pv. *begoniae*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* y *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* [Mora *et al.*, 1996]. Con extractos de *Matricaria recutita* y *Chamaemelia nobile* fue posible inhibir el crecimiento de diferentes cepas de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* [Csizinszky *et al.*, 1993].

En nuestro país, Pino *et al.* (2002) encontraron actividad antibacteriana *in vitro* en el aceite esencial de una especie silvestre de la familia *Piperaceae* sobre tres bacterias patógenas al cultivo de la caña de azúcar.

El presente trabajo tuvo como objetivo el estudio *in vitro* de cuatro extractos vegetales frente a especies bacterianas del género *Xanthomonas*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se prepararon suspensiones acuosas de 14 cepas bacterianas de  $10^7$  ufc/mL de *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* y *Xanthomonas* sp. (Tabla 1) a partir de cultivos de 24 h de crecimiento en el medio de cultivo nutriente agar (AN). Se utilizó el método de doble capa donde la superior fue de AN a 1%, inoculada con las bacterias a razón de 0,5 mL de suspensión por 5 mL del medio de cultivo.

Con los extractos metanólicos al 12,5% p/v (12,5 g de material vegetal en 100 mL de solvente) procedentes de las plantas de bija (*Bixa orellana*), anamú (*Petiveria alliacea*), albahaca (*Ocimum basilicum*) y piñón florido (*Gliricidia sepium*) se impregnaron discos de papel de filtro de 12 mm de diámetro que fueron colocados en la superficie del medio. Para cada aislamiento bacteriano se emplearon tres discos con tres réplicas.

El efecto bactericida se determinó por la zona de inhibición alrededor de los discos a las 24 y 48 horas del ensayo. De igual forma se incluyeron controles con el solvente utilizado para obtener los extractos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto a partir de la bija inhibió el crecimiento de trece de las cepas bacterianas estudiadas. Solamente el aislamiento de *X. axonopodis* pv. *malvacearum* no mostró sensibilidad frente a él. Las zonas en torno a los discos impregnados sin crecimiento bacteriano oscilaron entre 17 y 21 mm de diámetro (Tabla 1). Todas las cepas de *Xanthomonas* sp., aisladas de cebolla y ajo, mostraron valores altos de inhibición. No hubo diferencia entre los valores obtenidos a las 24 y 48 h. Los extractos de anamú, albahaca y piñón florido no tuvieron efecto sobre las cepas estudiadas.

**Tabla 1. Comportamiento de las cepas bacterianas frente al extracto de bija a las 24 h del ensayo**

Especies bacterianas	Cultivo hospedante	Cepas	Halos de inhibición (mm)
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>vesicatoria</i>	Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	Xv-53	17,6
		Xv-7	21,3
		Xv-1	17,0
		Xv-20	14,3
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	Col ( <i>Brassica oleracea</i> L.)	Xc-5	18,6
<i>Xanthomonas</i> sp.	Ajo ( <i>Allium sativum</i> L.)	AH2	19,0
		X-32	21,0
	Cebolla ( <i>Allium cepa</i> L.)	952	21,6
		Ceb-3	19,6
		C-1	17,3
		Ceb-2a	19,0
		Ceb-2p	20,3
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>malvacearum</i>	Algodón ( <i>Gossypium</i> sp.)	X-malv	0
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>manihotis</i>	Yuca ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz)	Xm	21,6

La actividad antibacteriana de la bija ha sido reconocida por otros autores [Tropical Plant Database, 1996]. Martínez de Carrillo y Colmenarez (1999) probaron el efecto de varios extractos, entre ellos de la bija, y comprobaron que el desarrollo de las colonias del agente

causal de la bacteriosis de la cebolla (*Xanthomonas* sp.) fue inhibido entre 90 y 100%.

En las condiciones de Cuba las bacterias *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, *X. campestris* pv. *campestris* y *Xan-*

*thomonas* sp. afectan diversas especies hortícolas de importancia, y pueden ocasionar cuantiosas pérdidas en el semillero y campo.

Los fungicidas a base de cobre, durante las fases fenológicas susceptibles, así como el sulfato de estreptomycin han sido los productos más utilizados para su control; sin embargo, en 1983 se encontró presencia de aislamientos en Cuba de *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* resistentes a estreptomycin [García y Amat, 1983]. En los últimos años han aparecido nuevos reportes sobre la resistencia bacteriana a productos basados al cobre [Ritchie y Dittapongpith, 1991; Sahin y Miller, 1997; Carrillo-Fasio *et al.*, 2001].

Las opciones limitadas de drogas para el control de las enfermedades de origen bacteriano, el surgimiento de la resistencia y la necesidad de preservar el ambiente y la salud humana demandan otras alternativas no dañinas. La posibilidad de detectar sustancias naturales con efecto bactericida puede ampliar la oferta de productos contra las bacterias fitopatógenas para la protección de los cultivos.

## CONCLUSIONES

- El extracto de bija (*Bixa orellana*) mostró marcado efecto inhibitorio *in vitro* sobre cuatro especies bacterianas, lo que permite continuar las pruebas para determinar su efecto sobre las enfermedades que causan en las plantas hospedantes.

## REFERENCIAS

- Carrillo-Fasio, J. A.; R. S. García-Estrada; R. Allende-Molar; I. Márquez-Zequeira; S. Millán-Ocampo; G. Gaxiola-Espinoza: «Sensibilidad a cobre de cepas de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye en Sinaloa, México», *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19:72-77, 2001.
- Cszinszky, A. A.; J. B. Jones; E. L. Civerolo: «Inactivation of *Xanthomonas campestris* pv.s. *in vitro* with Plant Extracts», ISHS, Acta Horticulture 331, [http://www.actahort.org/books/331/331\\_40.htm](http://www.actahort.org/books/331/331_40.htm), 1993.
- García A.; Z. Amat: «Resistencia a estreptomycin de cepas de *Xanthomonas vesicatoria* aisladas de pimiento y tomate», *Cienc. Tec. Agric. Protección de Plantas*, vol. 6, no. 2, 1983.
- García, B. N. O.; M. Rodríguez: «Control de la vena negra de las crucíferas (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) en col (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) con extractos vegetales e incorporación de tejido foliar al suelo en Chapingo, Estado de México, México», revista *Chapingo*, Serie Protección Vegetal, 1:35-38, 1994.
- Martínez de Carrillo, M.; J. Colmenares: «Efecto de extractos naturales sobre *Xanthomonas campestris* agente causal de la bacteriosis de la cebolla, en condiciones de laboratorio». Memorias XVII Congreso Venezolano de Fitopatología, 14-16 de noviembre, Maracay, Venezuela, 1999.
- Pino, O.; F. Lazo; O. Núñez; T. Correa: «Estudio químico y microbiológico del aceite esencial de una especie cubana perteneciente a la familia *Piperaceae*». Resúmenes IV Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal, 11-15 de junio, Varadero, Cuba, 2001.
- Ritchie, D. F.; V. Dittapongpith: «Copper and Streptomycin-Resistant Strains and Host Differentiated Races of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in North Carolina», *Plant Disease*, 75(7):733-736, 1991.
- Sahin, A.; S. A. Miller: 1997. «Identification of the Bacterial Leaf Spot Pathogen of Lettuce, *Xanthomonas campestris* pv. *vitiens* in Ohio, and Assessment of Cultivar Resistance and Seed Treatment», *Plant Disease*, 81:1443-1446.
- Tropical Plant Database: «Annatto (*Bixa orellana*)», <http://rain-tree.com/annatto.htm>. 1996.



INISAV

Revista *Fitosanidad*

## SOLICITUD DE SUSCRIPCIÓN

Renovar suscripción

Nueva suscripción

Actualizar datos

Años que solicita \_\_\_\_\_

### PRECIO DE SUSCRIPCIÓN

#### Formas de pago

- Pago en la institución directamente o por intermediario
- Cheque en MN: Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal.  
Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana,  
CP. 11600. Cuenta No. 822
- Cheque en MLC: Empresa CATEC, cuenta BICSA No. 32101146000

Se aceptan cheques en cualquier moneda libremente convertible, excepto contra agencias bancarias comprometidas con el sistema norteamericano de pagos.

#### Distribución nacional:

Ejemplar MN: \$10.00 – USD: \$10.00  
Anual MN: \$40.00 – USD: \$40.00

#### Envío de ejemplar suelto al exterior:

América: \$ 15.00 Europa: \$ 20.00  
Resto del Mundo: \$25.00

#### Suscripción anual y envío al exterior:

América: \$45.00 Europa: \$50.00  
Resto del Mundo: \$55.00

(Incluye costo de envío)

Nombre y Apellidos/Name and Surname.....  
 Institución/Institution .....  
 Profesión/Profession .....  
 Dirección/Address ..... Ciudad/City .....  
 Código Postal/Zip Code ..... Telef./Telephone .....  
 País/Country ..... Telefax .....  
 Email .....  
 Número de Cuenta y Agencia Bancaria .....

*Nota: Envíe por correo postal / Cada suscripción tendrá un acuse de recibo*

# ORGANISMOS PATÓGENOS EN ESPECIES DE ARVENSES DE CUATRO CULTIVARES DE CÍTRICOS EN LA PROVINCIA DE CIEGO DE ÁVILA

María de los A. Felipe López,<sup>1</sup> Iván R. Gutiérrez Rojas,<sup>2</sup> Edgardo Atahuichi López,<sup>2</sup> Vernon Ibrahim Daniel,<sup>2</sup> Yasmiani Santana Torres<sup>1</sup> y Caridad Casola González<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera Central e/ 7 y 8, Reparto Vista Alegre, Ciego de Ávila, Cuba, CP 69450

<sup>2</sup> Universidad de Ciego de Ávila. Carretera a Morón Km 9½, CP 69450, Ciego de Ávila, Cuba, c.e.: pfa\_ivanr@agronomia.unica.cu

## RESUMEN

Con el objetivo de determinar los patógenos hospedados en cuatro cultivares cítricos de naranjas Valencia Late y Washington Navel, y las toronjas Duncan y Ruby, se llevó a cabo un trabajo en la UBPC La Esperanza, de la provincia de Ciego de Ávila, Cuba. Se encontraron especies de arvenses de las que 23 son hospedantes de enfermedades fúngicas. Fueron hallados 21 especies de hongos y dos de bacterias. Las especies dominantes en el área fueron *Euphorbia heterophylla*, *Oxalis corniculata*, *Paspalum fimbriatum* y *Malvastrum coromandelianum*, esta última la más peligrosa por su carácter de hospedante de patógenos. *Uromyces* fue el patógeno que se manifestó con mayor frecuencia en las especies arvenses.

Palabras clave: enfermedades fúngicas, arvenses, cítricos

## ABSTRACT

With the objective of defining the pathogens in weeds of four citrus cultivars: Valencia Late, Washington Navel oranges and Duncan and Ruby grapefruits, an investigation was carried out in the UBPC "La Esperanza" located in the central province of Ciego de Ávila in Cuba. 23 of the weeds species found were hosts of fungal diseases; in addition, 21 fungal and 2 bacterial species were also identified. Dominant species found were *Euphorbia heterophylla*, *Oxalis corniculata*, *Paspalum fimbriatum* and *Malvastrum coromandelianum*, this latter specie resulted the most dangerous because its greater susceptibility to the attack of fungal diseases. The fungus from the genera *Uromyces* appeared in the majority of the weed species.

Key words: fungal diseases, weed, citrus

## INTRODUCCIÓN

Aunque de forma escasa, algunos investigadores reportan en el país resultados relacionados con especies de arvenses que hospedan otros organismos patógenos. *Poaceae*, *Euphorbiaceae*, *Leguminosae*, *Cyperaceae* y *Malvaceae* son de las familias más registradas como hospederas de hongos, bacterias e insectos.

Álvarez (2003) señala que en Cuba no existe un cultivo de interés económico al que se le haya realizado un estudio abarcador con este objetivo, a excepción de sus trabajos en café. En la provincia de Ciego de Ávila no existen estudios precedentes similares al citado. Es por ello que el presente trabajo está dirigido a la evaluación de las arvenses en campos cítricos y otros organismos patógenos que son hospedados por ellas, especialmente con el propósito de establecer programas de manejo adecuados que minimicen las afectaciones que anualmente se reportan por la inexistencia de elementos sobre tales asociaciones.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en la UBPC La Esperanza, de la Empresa de Cítricos de Ciego de Ávila, en el período comprendido entre noviembre del 2004 y febrero del 2005 (temporada seca), sobre plantaciones de especies de cítricos, en un suelo ferralítico rojo (Eutric ferralsol) con pH medio de 5,5. Estos cultivares fueron plantados en el período de 1969-1974, con marcos de 8 x 4 m de naranja Valencia Late (*Citrus sinensis* L. Osbeck) y naranja Navel (*Citrus sinensis* L. Osbeck), así como 10 x 5 m de toronja Ruby (*Citrus paradisi* Macf.) toronja Duncan (*Citrus paradisi* Macf.). Se evaluaron al azar ocho calles por campo de cultivar con cuatro muestreos por cada calle, donde se contabilizaron las malezas con un marco de 0,25 m<sup>2</sup>, en que fueron determinadas las especies existentes que eran hospedantes de patógenos. Los datos fueron evaluados por análisis estadísticos con el software SSPS versión 11.5 para

Windows. Para el estudio de los patógenos se tomaron muestras de arvenses con síntomas de enfermedades o daños producidos en el área foliar, las que se procesaron en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Ciego de Ávila.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las áreas se localizó un total de 11 familias botánicas de arvenses con 23 especies hospedantes de patógenos, con predominio en las familias *Asteraceae*, *Poaceae* y *Euphorbiaceae*.

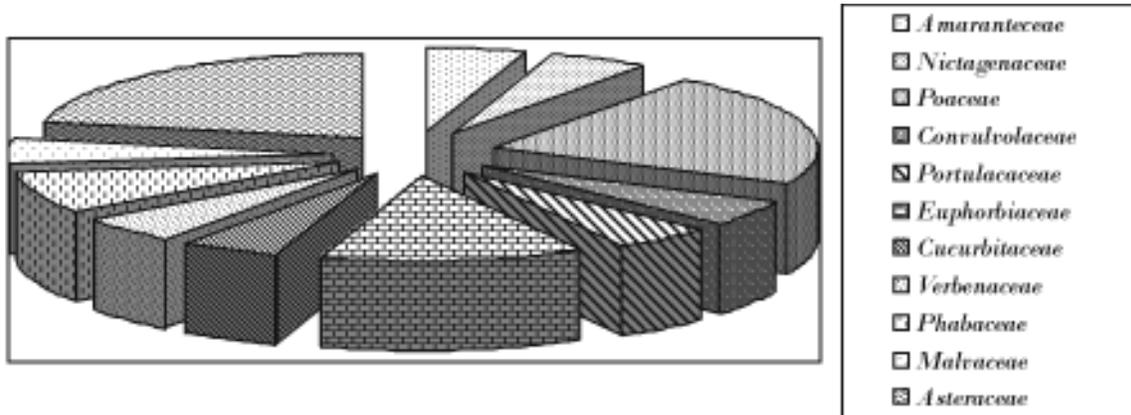


Figura 1. Principales familias hospedantes de patógenos.

El género *Uromyces* fue el que mostró mayor representación al aparecer hospedado en 10 especies arvenses. Este hongo provoca la enfermedad conocida como *roya* en muchos cultivos. Fue detectado en *Calyptocarpus wendlandii*, *Malvastrum coromandelianum*, *Brachiaria fasciculata*, *Rottboellia cochinchinensis*, *Macroptilium lathyroides*, *Chamaesyce berteriana*, *Bidens pilosa*, *Dichantium annulatum*, *Euphorbia heterophylla* y *Chamaesyce hirta*, por lo que podría resultar recomendable su estudio como posible agente de biocontrol en los esfuerzos por resolver problemas de enmalezamiento de extensas áreas agrícolas.

Otro hallazgo fue la presencia de *Puccinia synedrellae* en tres de los cuatro cultivares objeto de estudio (Valencia Late, naranja Navel y toronja Ruby), todos en la arvense *C. wendlandii* y *Emilia sonchifolia*, lo que coincide con Fernández (1973), Seidel (1976) y Álvarez (2003). Este último autor afirma que el género *Puccinia* es el más encontrado entre las plantas arvenses en café, en todas las regiones y épocas del año en Cuba. Otros géneros encontrados en estos cultivares fueron *Cercospora* en ocho especies de arvenses, *Alternaria* en siete, *Albugo* en cuatro, *Puccinia* en cuatro, *Erysiphe* en cuatro, *Curvularia* en tres, *Colletotrichum* en tres y otros 13 aislados que incluyen a las bacterias *Pseudomonas* spp. y *Xanthomonas* spp.

### Patógenos hallados que afectan a los cultivares cítricos

De los patógenos encontrados algunos son causantes de enfermedades en los cítricos, como el caso de la *Diplodia* spp., causante de la pudrición del tallo, así como *Alternaria citri* y *Alternaria tenuissima*, responsables de la mancha parda o podredumbre negra. Según Seidel (1976), *Diplodia natalensis* causa pudriciones en los frutos en *Citrus paradisi*, *Citrus sinensis* y *Citrus reticulata*, y de acuerdo con Otero y Guerra (1996) es una de las enfermedades más importantes de los frutos durante la conservación.

Entre los géneros hallados está *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., hongo causante de la enfermedad conocida como *antracnosis en los cítricos*, usado comercialmente como micoherbicida [Pérez, 1999], por lo que los presentes resultados podrían servir de premisa para profundizar en el estudio de sus peculiaridades en los agroecosistemas cítricos del país.

Otro patógeno asociado es la *Cercospora* spp., que puede producir afectaciones bajo condiciones muy específicas en cítricos.

*Fusarium* spp., hallado también en las arvenses muestreadas, provoca afectaciones a los tallos. Tiene menor importancia para el cultivo por su baja incidencia; sin embargo, también provoca afectaciones en la poscosecha.

Como resultado del presente trabajo puede sugerirse que, bajo las condiciones de las evaluaciones efectuadas, las arvenses *Chamaesyce hirta*, *Macroptilium lathyroides*, *Malvastrum coromandelianum*, *Emilia sonchifolia*, *Momordica charantia*, *Rottboellia cochinchinensis*, *Desmodium canum*, *Sonchus oleraceus*, *Merremia umbellata* y *Priva lappulacea* resultan po-

tencialmente más peligrosas para los cítricos por su carácter de hospedantes de patógenos.

Varios patógenos hospedados en las especies de arvenses no habían sido reportados con anterioridad en Ciego de Ávila. Son especies dispuestas para nuevos reportes en la provincia:

Hongo	Maleza hospedera
<i>Uromyces</i> spp.	<i>C. wendlandii</i>
	<i>M. coromandelianum</i>
	<i>B. fasciculata</i>
	<i>R. cochinchinensis</i>
	<i>D. annulatum</i>
	<i>M. lathyroides</i>
	<i>C. hirta</i>
	<i>C. berteriana</i>
<i>Uromyces proeminens</i>	<i>C. hirta</i>
<i>Fusarium solani</i>	<i>E. sonchifolia</i>
	<i>Ch. hirta</i>
	<i>M. charantia</i>
<i>Corynespora</i> spp.	<i>E. sonchifolia</i>
	<i>M. lathyroides</i>
<i>Puccinia synedrellae</i>	<i>C. wendlandii</i>
<i>Curvularia lunata</i>	<i>S. halepense</i>
	<i>R. cochinchinensis</i>
<i>Curvularia</i> spp.	<i>P. fimbriatum</i>
<i>Cercospora sorghi</i>	<i>S. halepense</i>
<i>Diplodia</i> spp.	<i>C. hirta</i>
<i>Alternaria solani</i>	<i>C. hirta</i>
	<i>M. lathyroides</i>
<i>Alternaria</i> spp.	<i>C. hirta</i>
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>M. lathyroides</i>
	<i>M. coromandelianum</i>

Hongo	Maleza hospedera
<i>Erysiphe cichoreacearum</i>	<i>E. heterophylla</i>
	<i>C. berteriana</i>
	<i>V. cinerea</i>
<i>Helminthosporium</i> spp.	<i>R. cochinchinensis</i>
<i>Alternaria tenuis</i>	<i>R. cochinchinensis</i>
<i>Bipolaris</i> spp.	<i>P. fimbriatum</i>
<i>Ascomycetes</i> spp.	<i>M. lathyroides</i>
<i>Cercospora</i> spp.	<i>R. cochinchinensis</i>
	<i>M. lathyroides</i>
	<i>D. canum</i>
	<i>S. oleraceus</i>
	<i>M. umbellata</i>
	<i>P. lappulacea</i>
<i>Nigrospora</i> spp.	<i>M. lathyroides</i>
<i>Cladosporium</i> spp.	<i>M. lathyroides</i>
<i>Helminthosporium</i> spp.	<i>P. fimbriatum</i>
<i>Pyricularia</i> spp.	<i>P. fimbriatum</i>
<i>Albugo portulacae</i>	<i>B. erecta</i>
<i>Albugo blittii</i>	<i>S. oleraceus</i>
	<i>A. dubius</i>
<i>Puccinia lantanae</i>	<i>P. lappulacea</i>
Bacteria	Maleza hospedera
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>C. erecta</i>
<i>Xanthomonas</i> spp.	<i>C. erecta</i>

## CONCLUSIONES

- Se encontraron 21 especies de hongos y dos de bacterias hospedadas en 23 especies de 11 familias botánicas de arvenses, con predominio en las familias *Asteraceae*, *Poaceae* y *Euphorbiaceae*.
- Se definen 23 especies para ser reportadas por primera vez en la provincia de Ciego de Ávila.
- Los géneros de hongos encontrados fueron *Uromyces* (el más representado), *Cercospora*, *Alternaria*, *Albugo*,

*Erysiphe*, *Curvularia*, *Colletotrichum*, *Puccinia*, *Corynespora*, *Pyricularia*, *Nigrospora*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Diplodia*, *Ascomycetes*, *Helminthosporium*, *Bipolaris* y los géneros de bacterias fitopatógenas *Pseudomonas* y *Xanthomonas*.

- Las arvenses *Chamaesyce hirta*, *Macroptilium lathyroides*, *Malvastrum coromandelianum*, *Emilia sonchifolia*, *Momordica charantia*, *Rottboellia*

*cochinchinensis*, *Desmodium canum*, *Sonchus oleraceus*, *Merremia umbellata* y *Priva lappulacea* resultan potencialmente más peligrosas para los cítricos por su carácter de hospedantes de patógenos.

## REFERENCIAS

Álvarez, R. J.: «Principales malezas del cafeto en Cuba». Tesis de doctorado, Universidad Central Martha Abreu, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, 2003.

Fernández, R. M.: «Catálogo de enfermedades de plantas cubanas», Serie Agrícola 27, Academia de Ciencias, La Habana, 1973.

Otero, O.; F. Guerra: «Putridiones poscosecha de los cítricos». Curso Integral de Citricultura, Instituto de Investigaciones de Cítricos, La Habana, 1996.

Pérez, E.: «Perspectivas del uso de bioherbicidas», I Encuentro Nacional de Ciencia de Malezas, Jardín Botánico Nacional, 14-16 de diciembre, La Habana, 1999.

Seidel, D.: *Lista preliminar de hongos fitopatógenos en Cuba*, Ed. Pueblo y Educación, La Habana, 1976.

# EFFECTIVIDAD *IN VITRO* DE *TRICHODERMA HARZIANUM* (RIFAI) EN EL BIOCONTROL DE *RHIZOCTONIA SOLANI* KÜHN Y *PYRICULARIA GRISEA* (SACC.) EN EL CULTIVO DEL ARROZ (*ORYZA SATIVA* L.)

Luciano Alarcón Pérez, Teresa Reyes Rondón, Giselle Rodríguez Gutiérrez y Ana D. Pupo Zayas

Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Calle Genaro Rojas 86 e/ Marcelino Diéguez y Antonio Barrera, Las Tunas, Cuba, CP 75200, c.e.: lapsavlt@enet.cu.

## RESUMEN

A partir de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) de la variedad J-104 con síntomas de *Pyricularia grisea* Cav. y *Rhizoctonia solani* Kühn se realizaron siembras *in vitro* de partes de tallos, hojas y raíces dañadas en agar-agar y agar-peptona-dextrosa por los métodos tradicionales de siembra. Se realizaron las identificaciones y descripciones de los síntomas observados según las claves CMI, 1983, con el objetivo de comprobar la efectividad antagónica e hiperparasítica de *Trichoderma harzianum* contra ambos patógenos presentes en el cultivo. Para los ensayos de biocontrol se realizaron pruebas *in vitro* en cultivo dual de agar-peptona-dextrosa entre los patógenos y dos aislamientos de *T. harzianum*, procedentes del cepario de mantenimiento del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Las Tunas (cepas A-53 y A-34), generalizadas en la producción para el biocontrol de diferentes patógenos del suelo. Diariamente se midió el diámetro de las colonias, así como el nivel de competencia por el sustrato y el hiperparasitismo del patógeno, según el nivel de crecimiento y esporulación sobre las colonias. Se demostró la elevada actividad hiperparasítica y competitiva de las cepas A-34 y A-53 de *T. harzianum*, que exhibieron buenas potencialidades para el control de estos patógenos. Estadísticamente se encontraron diferencias altamente significativas a las 96 h, con un crecimiento promedio lineal en 7,37 cm en la cepa A-53 y 7,10 cm en la cepa A-34. En el caso de los patógenos el crecimiento promedio fue de 3,63 cm en *P. grisea* y 2,62 cm en *R. solani*.

Palabras clave: *Pyricularia grisea*, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma harzianum*, antagonista, hiperparasitismo, hongos del suelo

## ABSTRACT

Starting from plants of rice (*Oryza sativa* L.) variety J-104 with symptoms of *Pyricularia grisea* (Sacc.) and *Rhizoctonia solani* Kühn, seeding were made *in vitro* with affected parts such as stems, leaves and roots. The samples were processed according traditional methods of seeding agar-agar and agar-peptone-dextrose. Observed symptoms were identified and described by CMI keys, 1983, for verifying the antagonistic effectivity and hyperparasitic of *Trichoderma harzianum* against both present pathogens. Were realized bioassays test of dual cultures, agar-peptone-dextrose between the pathogens, and two *T. harzianum* strains (A-34 and A-53) from the maintenance strainer department of biological control in the Provincial Vegetable Health Laboratory of Las Tunas, generalized in mass production against different soil pathogens. Daily were measured the diameter of colonies and the competence level by the substrate and the hyperparasitism of the pathogen, according to the growing level and sporulation over colonies. The obtained results demonstrated high hyperparasitic and competitive activity of the strains A-34 and A-53 of *T. Harzianum*, sampling good powerness for the control of these pathogens. The statistic test paired samples indicated highly significant differences to 96 hours with a lineal rate growing on 7.37 cm in A-34 strain and 7.10 cm in A-53 strain. In the case of pathogens the rate growing was 3.63 cm *P. Grisea* (Sacc.) and 2.62 cm *R. solani* Kühn.

Key words: *Pyricularia grisea*, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma harzianum*, antagonist, hyperparasitism, soil fungi

## INTRODUCCIÓN

El arroz es considerado, junto al trigo y el maíz, el cereal que ocupa la preferencia en el consumo mundial, superado únicamente por el trigo [FAO, 1981]. En los últimos años su cultivo ha mantenido una evolución positiva, con una tendencia ascendente en áreas sembradas y rendimiento. Junto al incremento de las siembras se han presentado problemas fitosanitarios, en que las enfermedades fungosas, insectos, virus y ácaros son los que han hecho peligrar la cosecha. Las plagas del arroz destruyen 35% de la producción mundial, y correspon-

de a los patógenos 12% [Pantoja *et al.*, 1997]. Durante los últimos quince años la producción arrocería en Cuba se ha sustentado en la variedad J-104, que ha ocupado más de 70% del área sembrada durante este período por la alta adaptabilidad y potencial de rendimiento agrícola que presenta [IIA, 2001]. La piriculariosis causada por *Pyricularia grisea* (Sacc.) constituye mundialmente la más difundida y destructiva entre las enfermedades del arroz. Ha sido reportada en más de setenta países altamente productores de este cereal [Cordero y

Rivero, 2001]. El hongo afecta todas las partes aéreas de la planta: la hoja, los nudos del tallo, el cuello de la panícula y la panícula misma. Las temperaturas de 22-29°C y humedad relativa superior a 90% son responsables de pérdidas considerables. Si su ataque ocurre en la fase de plántulas o de macollamiento, estas quedan totalmente destruidas [Correa-Victoria y Guimarães, 1995]. El añublo de la vaina causado por *Rhizoctonia solani* Kühn es considerado actualmente una de las principales enfermedades del cultivo en las regiones tropicales y subtropicales. Se califica de alto riesgo en varios países de América Latina, y su incidencia ha causado la disminución de los rendimientos hasta 40% en la variedad Orizica 1 en Colombia. Los síntomas se observan inicialmente sobre las vainas y luego en las hojas de la base del tallo. La enfermedad progresa rápidamente desde el inicio, y se extiende desde la vaina hacia la hoja, y en ataques severos destruye el tallo. El patógeno está presente en todas las zonas arroceras, y la disminución del rendimiento, en condiciones de humedad y temperaturas altas, se ha estimado de varias maneras: en la hoja bandera pueden llegar hasta 20%, y cuando todas las vainas y láminas foliares están totalmente infectadas esa pérdida puede alcanzar hasta 40% [Correa-Victoria, 1992].

A partir de 1990 se realizaron diversos estudios de prospección de cepas promisorias, mecanismos de acción, compatibilidad con agroquímicos, parámetros de reproducción y aplicación, que permitieron la incorporación del hongo antagonista *Trichoderma harzianum* a las medidas para combatir los patógenos fúngicos del suelo en diversos cultivos [Stefanova y Sandoval, 1995; Stefanova, 1997, citados por Stefanova *et al.*, 2004].

Actualmente se emplean formulados a base del hongo antagonista *Trichoderma* sp. para el control biológico de hongos del suelo como *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Fusarium*, etc., así como de enfermedades foliares como mildiu y alternaria, que afectan un amplio rango de cultivos. *T. harzianum* se encuentra en el suelo en diversos sistemas de producción de arroz y despliega mayor actividad bajo condiciones de secano. Tiene la habilidad de descomponer los residuos de cosecha y de parasitar a *R. solani*. Poco se sabe sobre su manejo y su eficiencia en el campo [Correa-Victoria y Guimarães, 1995].

Sobre la base de los resultados con el antagonista *Trichoderma* sp. en el control de enfermedades fungosas en otros cultivos, se trazó como objetivo comprobar la efectividad antagónica e hiperparasítica de *T. harzianum* contra los patógenos *P. grisea* y *R. solani* en la variedad de arroz J-104.

## MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) con síntomas de *P. oryzae* y *R. solani* se realizaron siembras de partes del tallo, hojas y raíces afectadas. Las muestras fueron procesadas según los métodos tradicionales de siembra en agar-agar y en agar-papa-dextrosa, y las identificaciones y descripciones de los patógenos se realizaron de acuerdo con las claves correspondientes [CMI, 1983].

Para los ensayos del biocontrol se realizaron pruebas *in vitro* en cultivo dual agar-dextrosa-peptona entre los patógenos *P. grisea* y *R. solani* procedentes de la colección de la sección de Micología del laboratorio y dos aislamientos de *T. harzianum* (cepas A-34 y A-53) de la sección de Lucha Biológica, utilizados como antagonistas de diferentes patógenos del suelo.

Por cada aislamiento se establecieron seis réplicas. La incubación se realizó a  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ . Se midió diariamente el diámetro de las colonias hasta su enfrentamiento y se determinó el nivel de competencia por el sustrato, así como el hiperparasitismo por el antagonista de acuerdo con el nivel de crecimiento y esporulación sobre la colonia.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con seis réplicas y cuatro tratamientos. Los datos fueron procesados mediante el test de student para muestras pareadas mediante el programa Statistica, para el crecimiento de las colonias de los fitopatógenos y la interacción entre el antagonista y estos. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Newman-Keuls del programa [ICA, 1998].

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Entre el comportamiento del crecimiento de las colonias de la cepa A-53 y A-34 de *T. harzianum* y los patógenos *P. grisea* y *R. solani* se produjeron diferencias significativas en el desarrollo del antagonista y los patógenos a las 24, 48, 72 y 96 h. El crecimiento promedio lineal fue de 7,375 cm en la cepa A-53 y 7,125 cm en la cepa A-34, y de 3,633 y 2,620 cm en *P. grisea* y *R. solani* respectivamente (Tabla 1). Estos resultados en la prueba *in vitro* demostraron que *T. harzianum* presentó una elevada actividad antagónica e hiperparasítica contra los patógenos *R. solani* y *P. grisea*, al mostrar una colonización total sobre ambos a las 120 h, y se observó que ambos aislados del antagonista mostraron una actividad parasítica elevada y buenas potencialidades contra los patógenos ensayados.

**Tabla 1. Crecimiento lineal promedio de las colonias de las cepas A-53 y A-34 de *T. harzianum* y de los patógenos *R. solani* y *P. grisea***

Variables	Crecimiento lineal (cm)			
	24 h	48 h	72 h	96 h
<i>T. harzianum</i> (A-53)	1,625 a	2,575 a	4,975 a	7,375 a
<i>T. harzianum</i> (A-34)	0,425 b	2,300 b	4,750 b	7,125 b
<i>R. solani</i>	0,000 c	0,180 c	0,800 c	2,620 c
<i>P. grisea</i>	0,000 c	0,633 d	1,700 d	3,633 d

p &lt; 0,05

Existió una alta significación entre las medias del crecimiento (Fig. 1) y la desviación estándar del antagonista con los patógenos, con valores de *t* alcanzados de 8,15 y 10,44 para la cepa A-53 en ambos patógenos, y la cepa A-34 con valores de *t* de 8,35 y 10,53 (Tabla 2). Se evidenció que la cepa A-34 frente a estos patógenos mostró una capacidad parasítica superior a la cepa A-53. Los

resultados concuerdan con los estudios realizados por Sandoval *et al.* (1993, 1995 y 1997), quienes plantearon que la cepa estándar (A-34) de *T. harzianum* es la más efectiva y de mayor espectro de acción, lo que demostró buenas potencialidades en el control de *R. solani*, así como su efectividad contra el patógeno en su competencia por el sustrato y el hiperparasitismo mostrado.

**Tabla 2. Actividad antagonista e hiperparasítica de diferentes aislamientos de *T. harzianum* hacia los patógenos del arroz**

Cepas	<i>Trichoderma</i>	<i>R. solani</i>	<i>t</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>P. grisea</i>	<i>t</i>
<i>T. harzianum</i> (A-53)	3,358***	0,542	8,15	3,860***	0,390	10,44
<i>T. harzianum</i> (A-34)	3,267***	0,546	8,35	3,515***	0,245	10,53

p &lt; 0,05

Resultados similares cosechó González (2004) en ensayos *in vitro* con *T. harzianum* (cepa A-34), con el mayor efecto antagonista sobre *R. solani*, así como el más alto hiperparasitismo con la cepa C-66 y *T. viride* en frijol. Srivastava *et al.* (2002) trataron semillas de garbanzo afectadas por *R. solani* con *T. viride* (cepa PDBCTV 23 y 32) o *T. harzianum* (cepa PDBCRH 10). La cepa PDBCTV 32 de *T. viride* resultó ser la de mayor composición proteínica en la raíz (378 µg/mL) y la de más baja incidencia de la enfermedad en el cultivo (10,6%). Varón y Ramírez (2004) recogieron buenos resultados con *T. lignorum* (Tricogen WP) en Colombia contra *R. solani* en la desinfección de semillas de arroz con dosis de 400, 300 y 200 g/kg de semilla, con título de 10<sup>10</sup> esporas/g, con incidencias superiores a 55% en el testigo e inferiores a 13% de infestación en plantación, así como un índice de 0,62 en los tratamientos y de 3,0 en el testigo.

Quarles (1993), Lorito *et al.* (1993), Ghisalberti y Sivasithamparan (1991), Sivan y Chet (1989), citados por Stefanova *et al.* (2004) han informado la eficacia de *T. harzianum* contra los hongos del suelo, y su actividad como antagonista se atribuye al micoparasitismo, producción de antibióticos y enzimas hidrolíticas.

En el caso de *P. grisea* no se ha tenido conocimiento sobre estudios realizados con este hongo; pero sí se conoció que en trabajos hechos por investigadores del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal acerca de la bioefectividad de *Trichoderma* sobre hongos del orden Deuteromycetes, orden al que pertenece este patógeno con resultados satisfactorios [INISAV, 1992].

El empleo de *T. harzianum* como biocontrol de hongos del suelo ha sido señalado como efectivo en diversos cultivos, incluido el pepino. Los estudios relativos a su uso como biopreparado foliar son relativamente nuevos. En Cuba, Pérez y Echemendía (1994) informaron 20% de disminución del patógeno con la aplicación de *T. harzianum* en plantas de cebolla, en condiciones de campo, bajo infección natural de *Alternaria porri*.

Rodríguez *et al.* (1998) mostraron igualmente el efecto foliar de *T. harzianum* contra mildiu velludo y mildiu polvoriento en pepino, con reducciones de la incidencia en 35 y 23,2% respectivamente, y estimulación del desarrollo de las plantas, incrementos en la longitud del tallo y frutos, así como el peso de los frutos.

El crecimiento del antagonista *Trichoderma* (cepas A-53 y A-34) frente a los patógenos *R. solani* y *P. oryzae*

ocurrió a las 24 h después de sembrado. El patógeno *R. solani* comenzó su crecimiento a las 48 h y *P. oryzae* a las 72 h. Esto demostró la capacidad de *Trichoderma* para establecerse y competir, con la obtención de diferencias

altamente significativas en el crecimiento de las colonias de las cepas A-53 y A-34. Los patógenos presentaron diferencias altamente significativas en el crecimiento negativo de sus colonias.

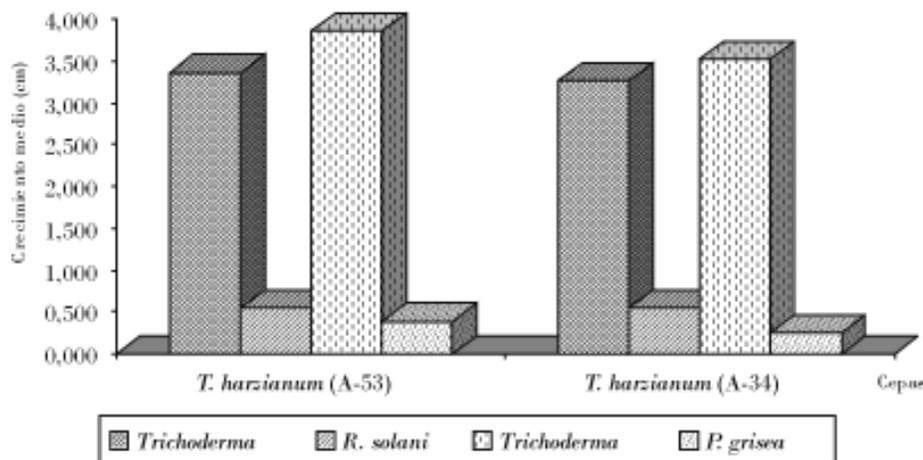


Figura 1. Efecto antagónico de las cepas A-53 y A-34 de *T. harzianum* contra *R. solani* y *P. grisea* en arroz, variedad J-104.

## CONCLUSIONES

- *Trichoderma harzianum* mostró ser un buen hiperparásito y antagonista de los hongos *Pyricularia grisea* (Sacc.) y *Rhizoctonia solani* Kühn *in vitro*.
- La cepa A-34 (*T. harzianum*) fue la más efectiva y de mayor espectro de acción sobre los aislados de *P. grisea* (Sacc.) y *R. solani* Kühn.

## REFERENCIAS

- Borda, F.; G. Arbeláez: «Determinación del antagonismo del aislamiento T-95 de *T. harzianum* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* en plantas de pepino Cohombro», *Agronomía Colombiana*, 10(1):45-51, 1993.
- CMI: *Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria*, Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, Inglaterra, 1983.
- Cordero, V.; L. Rivero: «Principales enfermedades fungosas que inciden en el cultivo del arroz en Cuba», IIA, MINAGRI, octubre 2001.
- Correa-Victoria, F. J.; E. P. Guimarães: «Utilización del concepto de linaje genético de *Pyricularia grisea* en un programa de selección recurrente». I Taller Internacional de Selección Recurrente en Arroz, Goiania, Brasil, marzo de 1995, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia, 1995.
- González, Mercedes: «Utilización de *Trichoderma* spp. para el control de hongos patógenos de la semilla y del suelo en el cultivo del frijol. Resumen de tesis», *Fitosanidad*, 8(2):61, 2004.
- ICA. Analest (V2.0): *Programa sistema automatizado de análisis estadístico*, Instituto de Ciencia Animal, La Habana, 1998.
- IIA: «Calidad del grano», Instituto de Investigaciones del Arroz, Boletín no. 1, MINAGRI, La Habana, octubre del 2001.
- INISAV: «Información preliminar sobre los estudios de *Trichoderma* sp. como biocontrol de patógenos en cultivos de importancia económica», División Microbiología, INISAV, La Habana, 1992 (inédito).

Pantoja, A.; A. Ramírez; L. R. Sanint: «Producción de arroz en América Latina: Área sembrada y costos», capítulo 1, *MIP en arroz. Manejo Integrado de plagas (artrópodos, enfermedades y malezas)*, Publicación CIAT no. 292, septiembre de 1997.

Pérez, N.; M. Echemendía: «Efectividad de *Trichoderma* spp. en el control de la mancha púrpura en cebolla». Resúmenes IX Forum de Ciencia y Técnica / II Encuentro Nacional de Bioplaguicidas, II EXPOCREE, CID-INISAV, 25-27 de octubre, La Habana, 1994.

Rodríguez, F.; Marusia Stefanova; U. Gómez: «Efecto del biopreparado de *Trichoderma harzianum* (Rifai) contra *Pseudoperonospora cubensis* (Bert Curt) Rostov y *Erisiphe cichoracearum* D. C. en pepino (*Cucumis sativus* L.)», *Fitosanidad*, 2 (1-2):41-43, 1998.

Sandoval, Ileana; M. Neyra; D. García; M. O. López; I. Mendoza: *Trichoderma*: biocontrol de hongos fitopatógenos en el cultivo del tomate en hidropónico». Resúmenes VI Simposio de Botánica, La Habana, junio de 1993.

Sandoval, Ileana; M. O. López; D. García; I. Mendoza: *Trichoderma harzianum* (A-34): un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomate y del pimiento. CID-INISAV», *Boletín Técnico*, 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 de junio, La Habana, 1997.

Srivastava, R. K.; R. D. Prasad; R. Rangeshwaran; P. Kannan: «Detection and Quantification of Proteins Induced by *Trichoderma* in Chickpea-Rhizoctonia System», *Plant Disease Research*, 17(2): 252-255, 2002.

Stefanova, Marusia; Ileana Sandoval; María L. Martínez; Irma Heredia; María D. Ariosa; Raquel Arévalo: «Control de hongos fitopatógenos del suelo en semilleros de tabaco con *Trichoderma harzianum*», *Fitosanidad*, 8(2):35-38, 2004.

Varón, R. U.; S. I. Ramírez: «Evaluación del antagonista *Trichoderma lignorum* al tratar la semilla de arroz (*Oryza sativa* L.) contra el hongo *Rhizoctonia solani*, agente causal del añublo de la vaina», Memorias V Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal, 24-28 de mayo, La Habana, 2004.

# EVALUACIÓN PRELIMINAR DEL CRECIMIENTO Y LA ESPORULACIÓN DE *ASCHERSONIA ALEYRODIS* WEBBER EN MEDIOS DE CULTIVO CONVENCIONALES

Alexis A. Hernández Mansilla<sup>1</sup> y Carmen Rosón Álvarez<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Grupo Científico. Centro Provincial de Meteorología. Marcial Gómez 401 esq. a Estrada, Ciego de Ávila, Cuba, c.e.: ahmansilla@yahoo.es y agro@meteo.fica.inf.cu

<sup>2</sup> Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera Central, Extremo Oeste, Ciego de Ávila, Cuba

## RESUMEN

Se ejecutó un trabajo en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Ciego de Ávila con el objetivo de obtener un medio adecuado para la conservación de aislamientos de *Aschersonia aleyrodis* Webber. Para ello se dispuso de cultivos monoconidiales de este microorganismo, obtenidos a partir de conidiomas presentes en hojas de naranjo Valencia (*Citrus sinensis* L.) procedentes de la Empresa de Cítricos del municipio de Ceballos. Se seleccionaron los medios de cultivo: agar papa dextrosa (PDA), agar czapek dox (industrial oxid), agar soya, agar sabouraud dextrosa (SDA), (industrial oxid) y agar extracto de malta, en los que se determinó el crecimiento lineal y la concentración de esporas de las colonias. Se determinó que *A. aleyrodis* mantuvo buen crecimiento en todos los medios de cultivo a prueba, a excepción de agar czapek dox, donde no creció. La esporulación en agar papa dextrosa y agar sabouraud dextrosa alcanzó concentraciones de 10<sup>8</sup> esporas/mL. Ambos medios mostraron buenas posibilidades para su utilización en ceparios de conservación y bancos de cepas.

Palabras clave: medios de cultivo, *Aschersonia aleyrodis*, crecimiento, esporulación

## ABSTRACT

With the objective of obtaining an adequate medium for the conservation of *Aschersonia aleyrodis* Webber isolations a research work was executed in Plant Health Laboratory of Ciego de Avila province. In this way it was used monoconidials cultures of the microorganism obtained from conidioms presents in "Valencia" orange (*Citrus sinensis* L) leaves which were collected Ceballos Town Citric Enterpice. Linear growth and spore concentration of colonies were determined in culture media selected: Potato Dextrose Agar (PDA), Czapek Dox Agar (Industrial Oxoid), Soy Agar, Dextrose Sabouraud Agar (SDA), Industrial Oxoid) and Malta Extract Agar. *A. aleyrodis* maintained good growth in all medias except in Agar Czapeck Dox where it did not. Sporulation in PDA and SDA reached a concentration of 10<sup>8</sup> spores/mL. Both culture media showed good possibilities for their use in culture collections and strains banks.

Key words: culture media, *Aschersonia aleyrodis*, growth, sporulation

## INTRODUCCIÓN

El control biológico representa el método más económicamente viable, ecológicamente recomendable y autosostenido del control de plagas insectiles, y constituye la mejor y única forma de mantener su equilibrio en los diferentes cultivos, con una diversidad de controles naturales [Altieri *et al.*, 1989; Altieri, 1991].

En Cuba se emplean varios hongos entomopatógenos como elementos de control para plagas de relevancia económica, como *Verticillium lecanii*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces lilacinus*, los que refuerzan la acción de los enemigos naturales. Mundialmente existen otros hongos patógenos a insectos, dentro de los que *Aschersonia aleyrodis* Webber tiene gran relevancia como biorregu-

lador de plagas dañinas en cultivos de importancia, y especialmente con gran eficacia sobre *Trialeurodes vaporariorum* en invernaderos [Fransen, 1987], insectos dañinos a las hortalizas [Messias, 1992] y mosca blanca (*Dialeurodes* spp.) en los cítricos [Osborne y Landa, 1999].

En la actualidad, y fundamentalmente en Cuba, existe poca información sobre aspectos biológicos de *Aschersonia aleyrodis* Webber, aún más en lo referente a su comportamiento en medios de cultivo; sin embargo, estos aspectos constituyen un antecedente muy importante en su caracterización, a la vez de constituir una base para la elaboración de tecnologías de producción de bioplaguicidas, ya que mediante la selección de

un medio adecuado se garantiza la conservación de los aislamientos, bancos de cepas y preinóculos sobre los que el microorganismo debe tener un rápido desarrollo y una alta capacidad de esporulación, por lo que la determinación de un medio idóneo para la conservación de *A. aleyrodis* capaz de cumplir los requisitos anteriores constituye el objetivo fundamental de este trabajo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los trabajos se realizaron en la sección de Micología del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Ciego de Ávila. En la realización de los ensayos se emplearon aislamientos monoconidiales de *Aschersonia aleyrodis* Webber procedentes de conidiomas existentes en hojas de Naranja valencia (*Citrus sinensis* L.) colectadas en la Empresa de Cítricos de Ceballos. Se evaluaron los medios de cultivos agar papa dextrosa (PDA), agar czapek dox (industrial oxoid), agar soya, agar sabouraud dextrosa (SDA) (industrial oxoid) y agar extracto de malta. Su selección se basó en criterios acerca del cultivo de entomopatógenos [Cabrera, 1995; Herrera, 1985; Lujan, 1990].

En este ensayo se dispuso de 10 placas de Petri para cada medio de cultivo, en las que se sembraron ponchetes de 10 mm de diámetro del hongo, de un cultivo de ca-

torce días, sembrado por dispersión. Posteriormente se evaluó el crecimiento radial de las colonias a los tres, cinco, siete, diez y veintidós días, para lo que se midió el tamaño en milímetros de su diámetro mediante una regla graduada, y se descontó el tamaño del ponchete. Se determinó además la capacidad de esporulación a través de conteo de conidios por mililitro en suspensión, para lo que se tomaron cinco ponchetes de 10 mm del crecimiento, se depositaron en un tubo con 10 mL de agua destilada estéril, se agitó, se tomó una alícuota de 1 mL de la suspensión y se prepararon diluciones seriadas de  $10^2$ , para finalmente tomar 0,5 mL y depositar en una cámara de Newbauer para su contabilización. Los resultados se tabularon mostrando el tamaño medio del diámetro de las colonias y los niveles de concentración de esporas obtenidos en cada medio de cultivo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los mejores resultados en el crecimiento se corresponden con agar papa dextrosa, agar sabouraud dextrosa y agar soya, con un rango en el diámetro de sus colonias de 9-16, 9-15 y 10-15 mm respectivamente, a diferencia de agar extracto de malta, donde el hongo solo alcanzó un crecimiento entre 5-9 mm. Todos ellos muestran una gran diferencia con agar czapek dox, donde no se observó crecimiento en sus colonias (Tabla 1).

**Tabla 1. Crecimiento y concentración de esporas de *A. aleyrodis* en diferentes medios de cultivos**

Medios de cultivos	Diámetro de las colonias (mm)	Concentración esporas/mL
Agar papa dextrosa	9-16	$10^8$
Agar czapek dox	0	0
Agar extracto de malta	5-9	$10^5$
Agar soya	10-15	$10^7$
Agar sabouraud dextrosa	9-15	$10^8$

Respecto al comportamiento de la capacidad de esporulación que manifestó *A. aleyrodis* en los distintos medios de cultivo, se puede observar que las concentraciones más elevadas coinciden con los medios de mayor crecimiento, agar sabouraud dextrosa, agar papa dextrosa y agar soya, con concentraciones de  $10^8$ ,  $10^8$  y  $10^7$  respectivamente. Difiere de la misma forma agar extracto de malta, en el que solo se alcanzó una concentración de  $10^5$  esporas/mL (Tabla 1).

Los medios de cultivo, por su composición, influyen en el desarrollo y la esporulación de los hongos. Estos

microorganismos requieren para su metabolismo fuentes de carbono, nitrógeno, azufre, hierro, sodio, potasio y otros minerales. De todos, la fuente principal de materia prima la constituye el carbono [Martínez, 1982]. No obstante, la selección de los medios de cultivo en la mayoría de los casos se realiza de forma empírica y no atendiendo a su exacta composición y acción [Frobisher, 1976].

Al respecto, y específicamente en el caso de *A. aleyrodis*, se plantea que puede llegar a tener un crecimiento exitoso en diferentes tipos de medios [Berlanga y Hernández, 2004]. También Berger (1920, citado por

Berlanga y Hernández, 2004) plantea que en medio a base de PSA (agar papa sacarosa) obtuvo concentraciones de  $8 \times 10^6$  esporas/cm<sup>2</sup> [Fransen, 1987, citado por Berlanga y Hernández, 2004]. Gottwald, en 1978, al utilizar el medio GPP, obtuvo  $5,8 \times 10^{10}$  esporas/cc, además de referencias respecto al empleo de saboraud glucosa a 2% más extracto de levadura, que muestra resultados similares a los anteriores, específicamente para este medio de cultivo. Otros resultados acerca de la producción masiva de este hongo plantean que *A. aleyrodis* puede reproducirse en un medio compuesto fundamentalmente por arroz, extracto de levadura, extracto de malta y tetraciclín, en que se alcanza concentraciones de  $1,3 \times 10^4$  esporas/mL a temperatura de 28°C por cuarenta y dos días [Garza, 1977].

Los índices de crecimiento y esporulación que se muestran en este trabajo en los medios de agar papa dextrosa y agar saboraud dextrosa resultan alentadores para los fines de conservación de aislamientos, e incluso para bancos de cepas, aún más al cumplir con los requisitos exigidos por la NC 72 02 (1993), en el que se plantean que deben ser superiores a  $10^8$  para la producción de cepas de hongos entomopatógenos, en este caso a excepción de los resultados en agar soya, donde la concentración de esporas es ligeramente inferior ( $10^7$  conidios/mL); sin embargo, constituye una posibilidad más como una reserva para momentos cuando se carezca de los más idóneos.

No obstante, las diferencias del comportamiento en el crecimiento y esporulación en los hongos están sujetas al tipo, a la composición del medio y a la asimilación específica de los nutrientes disponibles en relación con su metabolismo, aspecto al que responden de forma particular los microorganismos, e incluso pueden tener variaciones. A esto se agrega que medios no sintéticos poseen una composición química ignorada, como por ejemplo extractos de carne, levaduras, infusión de carne, sangre, suero de caseína, en los que es prácticamente imposible la preparación de dos lotes idénticos de un mismo medio con productos de distinta procedencia [Mayea, 1981], aspecto que puede repercutir en este comportamiento fundamentalmente para el caso de los resultados mostrados en agar soya.

## CONCLUSIONES

- *A. aleyrodis* Werbbber alcanzó mayor crecimiento en agar papa dextrosa (9-16 mm), agar soya (10-15 mm) y agar saboraud dextrosa (9-15 mm).

- Las concentraciones de esporas más elevadas se obtuvieron en los medios de cultivo agar papa dextrosa y agar saboraud dextrosa con niveles de  $10^8$  esporas/mL.
- Agar papa dextrosa y agar saboraud dextrosa presentan buenas posibilidades para la conservación de aislamientos de *A. aleyrodis* y confección de ceparios.

## REFERENCIAS

- Altieri, M.; J. Trujillo; L. Camos; C. Klein-Kuch; C. S. Gold; J. R. Quesada: «El control biológico clásico en América Latina en su contexto histórico», *Manejo Integrado de Plagas*, Costa Rica, 12:82-107, 1989.
- Altieri, M. A.: «How Can Best We Use Biodiversity in Agroecosystems», *Outlook on Agriculture*, 20:15-23, 1991.
- Berlanga, P. Angélica María; V. Hernández Velásquez: «*Aschersonia aleyrodis* Webber en el control microbial de mosca bancla de los cítricos *Dialeurodes* spp.», Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, DGSV-SAGAR, Estación FFCC, Tecomán, Colima, México, 2004, <http://www.procesosvirtuales.com/documentos/archivos/DT-BT01-001.pdf>, 2004.
- Cabrera, I.: «Un medio a base de soya más azúcar para la producción de *Hirsutella thompsonii*. var. *thompsonii* medio líquido». III Encuentro Nacional Científico-Técnico de Bioplaguicidas, INISAV, La Habana, 1995.
- Fransen, J. J.: «Control of Greenhouse White Fly, *Trialeurodes vaporariorum*, by the Fungus *Aschersonia aleyrodis*. Integrated control in Glass House», Budapest, *Bulletin SROP* (France), V. 10 (2):57-61, Apr. 1987.
- Frobisher, M.: *Microbiología. Introducción a los microorganismos como una referencia especial a los Procariones*, Barcelona, 1976.
- Garza, G. E.: «Combate biológico de la mosca de los cítricos (*Dialeurodes citri*) por el hongo entomopatógeno *Aschersonia* spp. en el estado de Colima». V Reunión Nacional de Control Biológico y Sector Agropecuario, Victoria Tams, 1977.
- Gottwald, A. C.: «Biotécnica de aislamientos y reproducción masiva a nivel de laboratorio de especies del hongo *Aschersonia aleyrodis* nativo de México». Memorias VI Reunión Nacional de Control Biológico, Culiacán, México, 1978.
- Herrera, A. G.: *Manual de medios de cultivo*, Ed. Ciencia y Técnica, La Habana, 1985.
- Luján, Mercedes: «Metodología de propagación bifásica o líquida estática del hongo *Verticillium lecanii* (Limm)», INSAV, La Habana, 1990.
- Martínez, S. J.: *Microbiología general*, Ed. Pueblo y Educación, La Habana, 1982.
- Mayea, S.: *Microbiología agrícola*, Ed. Pueblo y Educación, La Habana, 1981.
- Messias, C. L.: «Utilização de fungos entomopatógenos para o controle biológico das pragas agrícolas». Ciclo de palestras sobre controle biológico de pragas, 2. Campinas. Anais. Campinas: Fundação Cargill, 1992.
- Norma Cubana 72-02: «Biopreparados entomopatógenos. Métodos de ensayos», Instituto Nacional de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INSV), La Habana, 1993.
- Osborne, L. S.; Z. Landa: «Biological Control of Whiteflies whit Entomopathogenic Fungi», Fla. Entomol. Winter Haven, Fla., Florida Entomological Society, V. 75 P, Dec. 1999.

# Normas Editoriales

*Fitosanidad* tiene como objetivo divulgar de forma sistemática el quehacer de los investigadores y especialistas del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, así como de otros centros del país o extranjeros, vinculados al trabajo de la sanidad vegetal.

El Comité Editorial de esta publicación, que se edita trimestralmente, agradece el envío de colaboraciones y observaciones que ayuden a hacer mejor nuestra labor.

Los artículos deben reflejar los resultados de investigaciones básicas o de aplicación práctica, asimismo aquellos que se encuentren en proceso de extensión o generalización.

Igualmente resultan de importancia los trabajos en que se comuniquen nuevos procedimientos o innovaciones, así como los que aborden temas novedosos.

## • Tipo de artículos

La revista acepta manuscritos originales (inéditos) en cualquiera de las especialidades directa e indirectamente vinculadas a la sanidad vegetal. Estos pueden ser: artículos científicos, reseñas, comunicaciones cortas, resúmenes de tesis, informes técnicos. Los artículos científicos no deben exceder de siete cuartillas, las reseñas de quince, las comunicaciones de dos y los informes técnicos de cinco.

## • Lenguaje

El lenguaje oficial de la revista es español, aunque excepcionalmente se aceptarán contribuciones en inglés, francés y portugués. El estilo de escritura debe ser totalmente impersonal, con criterio de exactitud, brevedad y párrafos cortos. Debe utilizarse el sistema métrico decimal. Los nombres científicos se escribirán completos, incluyendo el autor, y siguiendo los códigos internacionales (ejemplo: *Leucoptera coffeella* Guerin Meneville). Si es necesario utilizarlos en varias partes del texto, entonces se escribirán completos la primera vez que aparezcan y luego se abrevian (ejemplo: *L. coffeella*). Se escriben en cursiva o se subrayan.

## • Estructura de los artículos

Los artículos científicos tendrán la estructura siguiente: título, autor(es), afiliación de los autores, resumen y palabras claves (español e inglés), introducción, materiales y métodos, resultados y discusión, conclusiones (si las hubiera), agradecimientos (si los hubiera), referencias.

Las reseñas adoptarán la siguiente estructura: título, autor(es), afiliación de

los autores, resumen y palabras claves (español e inglés), introducción, el contenido se estructura a criterio del autor, agradecimientos (si los hubiera), referencias.

Las comunicaciones cortas incluirán: título, autor(es), afiliación de los autores, texto de la comunicación, incluyendo las referencias principales.

La estructura de los informes técnicos será: título, autor(es), afiliación de los autores, resumen y palabras claves (español e inglés), introducción, desarrollo y referencias.

## • Elaboración del texto

El título debe ser claro y conciso, procurando que no sea extenso. Debe tener correspondencia con el contenido. No se incluirán abreviaturas.

De los autores se escribirán nombres y dos apellidos. Si el autor tiene un segundo nombre, este se abrevia con la inicial. La afiliación de los autores se escribirá con su nombre completo, las siglas sólo se emplearán entre paréntesis, si lo consideran necesario. Debe incluirse la dirección postal, fax y correo electrónico si los posee.

El resumen no debe exceder de 250 palabras, y debe tener una síntesis de los métodos y resultados, mencionándose los nombres científicos completos y valores cuantitativos de los resultados, es decir, debe tener el contenido suficiente de forma comprimida.

Las palabras claves son aquellas que permiten identificar el contenido del artículo y que facilitan la identificación en los índices de materia. Debe incluir las tasas de los entes biológicos.

La introducción debe tener una breve referencia de los antecedentes específicos del trabajo, así como una revisión breve de las referencias más recientes que se relacionan con el tema que se presenta. También se incluirá el objetivo del trabajo.

Los materiales y métodos deben ser claros y concretos, se redactarán según un orden lógico de los métodos empleados. De igual forma se escribirán claramente los procedimientos analíticos y estadísticos utilizados. Se pueden citar los métodos y procedimientos, siempre que hayan sido publicados en revistas científicas.

Los resultados se pueden expresar apoyados en tablas y/o figuras, con una discusión a partir de referencias actuales. Deben presentarse de manera lógica, interpretando las conclusiones. Las figuras se deben elaborar solamente en Word u otro programa compatible.

Las referencias sólo serán de publicaciones disponibles en las bibliotecas, y se presentarán en orden alfabético. Se colocará el primer apellido del autor principal y luego las iniciales de los nombres; para los demás autores, primero la inicial y luego los apellidos, en todos los casos separados por comas. Cuando una obra lleve más de tres autores, se pondrá el apellido y nombre del primero y a continuación *et al.* (en cursiva). A continuación, el título del artículo, el nombre de la revista, así como volumen, número, páginas y año. En el caso de los libros y folletos, después del título, número de la edición, lugar de la publicación (ciudad), casa editorial y páginas. Los títulos de los artículos y ponencias se entrecorrenarán, mientras que los referidos a libros y publicaciones periódicas irán en cursiva, o en su defecto subrayados. En el texto las referencias se citan con el apellido del primer autor y el año entre paréntesis; más de un autor se anota como *et al.*

## • Envío de manuscritos

Deben entregarse un original mecanografiado, a doble espacio, en papel blanco tamaño 28 x 21,5 cm, utilizando una sola cara, con márgenes de dos centímetros a los lados y tres en la parte superior e inferior. Cada cuartilla debe ser enumerada. La letra que ha de utilizarse debe ser Arial, con puntaje 11. Además, debe entregar una copia en disquete, utilizando el procesador de texto Word, ya que el consejo de redacción no dispone de capacidades para mecanografiar los artículos. Se acepta el envío de manuscritos por correo electrónico, como documentos adjuntos al mensaje o carta de presentación, siempre que no posean figuras. Los manuscritos se enviarán a: Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a.B y 5a.F, Playa, Ciudad de La Habana

No se aceptan manuscritos que no estén acompañados de la Declaración del Autor.

También pueden enviarse por correo electrónico: lvazquez@inisav.cu

## • Revisión de los manuscritos

Los trabajos enviados al Comité Editorial serán sometidos a un proceso de arbitraje y corrección de estilo. Los autores colaborarán con los árbitros y correctores a evacuar cualquier duda al respecto y efectuar, si es preciso, las modificaciones que se le sugieran. El Comité Editorial se reserva el derecho de aprobar o rechazar los trabajos propuestos, lo cual será notificado oportunamente a los interesados.

## LA MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA Y SU APLICACIÓN EN EL DIAGNÓSTICO DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS

Yuliet Franco Cardoza

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600, c.e.: [mstefanova@inisav.cu](mailto:mstefanova@inisav.cu)

### INTRODUCCIÓN

La microscopía de fluorescencia se basa en los mismos principios de óptica de la microscopía común, con diferencias en el manejo y el diseño relacionadas con la generación y transmisión de longitudes de onda adecuadas a los fluorocromos que se quieren visualizar, ya sean propios de la muestra o de la coloración utilizada [Anónimo 1, 2003].

Los procesos de excitación generalmente requieren longitudes de onda cortas en el UV cercano (lámpara de halógeno-cuarzo, arcos de mercurio, etc.). El objetivo que suele utilizarse es el de inmersión en aceite, ya que produce una mayor ampliación. El aceite de inmersión proporciona un medio óptico homogéneo al paso de la luz entre la preparación y el lente frontal del objetivo [Anónimo 3, 2003].

La técnica serológica de fluorescencia fue introducida en 1947 por Coons con el empleo de beta-antraceno, un compuesto fluorescente, conjugado con antisuero antineumocócico. Poco después un grupo de científicos empleó un antisuero conjugado con fluoresceína que permitía la identificación de los complejos inmunes de forma más eficaz. Es una técnica muy utilizada en el campo de la medicina para el diagnóstico de una gran variedad de padecimientos, entre los que se encuentran influenza, toxoplasma, identificación de anticuerpos anti-DNA y rabia, entre otros [Anónimo 2, 2003].

En la década del ochenta del pasado siglo se demostró su aplicabilidad en el diagnóstico de las bacterias fitopatógenas, y hoy es una de las técnicas más utilizadas en este campo.

### FUNDAMENTO, VENTAJAS, VARIANTES Y USO DE LA TÉCNICA DE INMUNOFUORESCENCIA

El fundamento de la técnica radica en la capacidad que muestran algunos elementos o compuestos fluorescentes, denominados *fluorocromos*, en fijarse a los anticuerpos mediante un enlace químico estable que no puede romperse durante el curso de la reacción inmunológica. Se encuentran diversos ejemplos de fluorocromos naturales, como algunas vitaminas, esteroides, porfirinas, etc. Otros compuestos que fluorescen –rodamina, auramina, fluoresceína, colorantes de acridina– se utilizan en distintas técnicas de tinción, como la tinción de microorganismos ácido-resistentes con auramina-rodamina en muestras de tejido y esputo.

La inmunofluorescencia conjuga la observación de la morfología con la especificidad inmunológica, evidencia tanto los gérmenes vivos como los muertos y requiere solamente de pequeñas cantidades de antígeno (Ag), lo que permite evidenciar cantidades mínimas de Ag aun en un medio complejo de gérmenes no cultivables, así como investigar anticuerpos (Ac) con Ag difíciles de preparar. Además, empleando la técnica se pueden revelar Ac llamados *incompletos*, que no precipitan, no aglutinan y no fijan el complemento. La inmunofluorescencia permite identificar un Ag con la ayuda de un inmunosuero conocido e investigar y titular un Ac con la ayuda de un Ag conocido.

Existen dos formas principales de inmunofluorescencia: directa e indirecta. En la variante directa el Ag se fija directamente a un Ac homólogo conjugado previamente con un fitocromo. Por tanto, se requieren antisueros

marcados para cada bacteria [Klement *et al.*, 1990], lo que hace que el método, aunque es más específico, hoy sea menos utilizado.

Con la inmunofluorescencia indirecta (IFI) se logra poner en función un único antisuero marcado, común para cualquier Ag bacteriano que se logra mediante la inmunización de una cabra u oveja, con la inmunoglobulina de un conejo sano, de donde se obtiene un complejo inmunológico de Ac anti-inmunoglobulina de conejo. Este complejo se marca con fitocromo (FITC) y puede reaccionar por tanto con cualquier Ac de conejo como si se tratase de un Ag.

La observación al microscopio de fluorescencia puede efectuarse sobre un portaobjeto diseñado especialmente para esta técnica o bien sobre una membrana de 0,2  $\mu\text{m}$  sobre la cual se ha fijado la bacteria y que se coloca en un portaobjeto común que sirve de soporte [Brlansky, 1990].

También se conoce el método de la inmunofluorescencia de tinción de colonias para la detección sensible y cuantitativa de bacterias cultivables. Está basado en una combinación de aislamiento en placas con serología para el reconocimiento de colonias específicas. Los antisueros empleados por esta técnica son marcados por lo general con fluorocromo, lo que permite la identificación de las colonias específicas a través de la observación en un microscopio de fluorescencia.

Mundialmente la inmunofluorescencia, en su variante indirecta, es la técnica serológica utilizada con más frecuencia para el diagnóstico de bacterias fitopatógenas debido a su rapidez y sensibilidad [Van Vuurde *et al.*, 1983; Van Vuurde, 1985; Klement *et al.*, 1990], y ha sido estandarizada para detectar diversas bacterias en semillas gámicas [Malin and Roth, 1983; Van Vuurde *et al.*, 1983; Trigalet and Bidaud, 1978; Van Vuurde *et al.*, 1983] y el diagnóstico de infecciones latentes y caracterización serológica de subespecies de *Erwinia carotovora* en tubérculos de papa [Gorris *et al.*, 1994; Alarcón *et al.*, 1995], entre otros. Igualmente constituye el método más fiable para el diagnóstico de infecciones de *Ralstonia solanacearum* y *Clavibacter michiganensis* pv. *sepedonicus* latentes en tubérculos de papa [De Boer y Copeman, 1980; Miller, 1984], con límites de detección de  $10^3$ - $10^4$  cél./mL de precipitado de extracto de papa [Janse, 1988; Caruso *et al.*, 1998; Seal, 1998].

## APLICACIÓN DE LA INMUNOFLOURESCENCIA EN EL DIAGNÓSTICO DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS EN CUBA

La inmunofluorescencia ha adquirido una gran aceptación para el diagnóstico de un gran número de bacterias. Es el método serológico más utilizado por el servicio de cuarentena en Cuba para la detección de patógenos bacterianos cuarentenados. Está incluida en los esquemas de trabajo de la Comunidad Económica Europea para *Ralstonia solanacearum* [EPP0, 1997] y en el Protocolo del Servicio de Protección de Plantas de Canadá para el diagnóstico de *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* [De Boer y Mc Kenzie, 1996], que forma parte del sistema diagnóstico de ambas bacterias en semillas de papa importadas en Cuba.

El estudio de la técnica aplicada a análisis de papa a gran escala confirma su sensibilidad para detectar alrededor de  $10^3$  a  $10^4$  ufc/mL de pellet resuspendido, con solamente 1,52% de reacciones falso positivas que no constituyen un obstáculo para el diagnóstico. La técnica permite el análisis de 20 muestras por día, estadía que se ajusta bastante a la exigencia de un análisis cuarentenario confiable y rápido [Albornoz *et al.*, 2004]. Con anterioridad, Stefanova (1998) había señalado que fue posible diagnosticar con la IFI las poblaciones de *R. solanacearum* de  $10^5$  ufc/mL en ciento por ciento de los tubérculos de papa contaminados.

En el caso de *Pseudomonas siringae* pv. *tomato*, bacteria igualmente cuarentenada en Cuba, según los datos expuestos en la estandarización de la IFI para la detección del patógeno en semillas de tomate [Pérez *et al.*, 2004], es posible con la técnica diagnosticar la presencia de hasta 0,2% de infección en aproximadamente diez mil semillas en 5 g de muestra. Dicho de otra forma: la IFI permite la detección de *P.s. tomato* en lotes de semillas de tomate donde existe entre 0,2-0,1% de semillas infectadas para un nivel de detección de  $10^3$ - $10^4$  ufc/mL. El nivel bajo de contaminación por esta bacteria presente en los lotes de semillas es un problema para la detección por métodos tradicionales, como es el ensayo de crecimiento en cámara húmeda, por lo que la introducción de esta técnica bajo el procedimiento establecido sin duda beneficia el análisis en frontera. Con la introducción de la IFI se hace también posible el análisis de las muestras de semillas de tomate que contienen poca cantidad, y se ajustan los parámetros de acuerdo con el peso de la muestra [Pérez, 2004].

Amat y Larrinaga (1992) pusieron a punto la IFI para *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* en semillas de tomate artificialmente infectadas, y a continuación demostraron su uso práctico en semillas de producción. Con la estandarización de la IFI para el diagnóstico de *Pseudomonas cichorii* [Amat y García, 1997] en semillas de tomate y pimiento se logró detectar el patógeno hasta concentraciones de  $10^3$  ufc/mL en semillas artificialmente infectadas y muestras de producción procedentes de campos de las provincias de Pinar del Río y La Habana. La eficacia de la técnica superó el recobrado de la bacteria en el medio de cultivo KB enmendado con 300 ppm de oxacilina sódica.

Los parámetros del método ajustados para *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en semillas de tomate [Miguel *et al.*, 2000] señalaron la capacidad de detección del patógeno hasta el nivel de 1% de infección en las muestras. La siembra en el medio semiselectivo KBT [Dhavantari, 1987; Chaveau, 1992] en este caso se hace necesaria como prueba complementaria del diagnóstico debido a la sensibilidad (0,1%) y el escaso crecimiento de saprófitos.

Con las estandarizaciones anteriores se completa, mediante un PNO implantado en el Laboratorio Central de Cuarentena Vegetal, un paquete tecnológico de diagnóstico de las bacterias que afectan al cultivo de tomate y que se transmiten por semilla. Para ello se emplea un método único de extracción [Pérez *et al.*, 2004].

La IFI se considera un método de diagnóstico adecuado para detectar *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*, agente causal del raquitismo de los retoños de caña de azúcar [Pazos *et al.*, 1988]. Mediante centrifugación a 14 000 g durante 30 min los autores lograron detectar la presencia de ese patógeno en el jugo de plantas enfermas y estimar concentraciones de  $4 \times 10^8$  cél./mL.

Con resultados satisfactorios para detectar concentraciones entre  $10^3$  y  $10^4$  cél./g de semilla de col y cebolla se recomienda la IFI para la detección de *X. c.* pv. *campestris* y *X. c.* pv. *allicola* respectivamente [Amat *et al.*, 1994].

## AVANCES EN LA APLICACIÓN DE LA MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA

En el transcurso de la última década, la microscopía de fluorescencia convencional aprovechó el aumento de la memoria y la velocidad de procesamiento de las computadoras. Esto, junto al desarrollo de sistemas

de registro digital de imágenes de alta calidad, de fuentes de iluminación láser potentes y estables, de sistemas ópticos corregidos y de nuevas moléculas fluorescentes capaces de marcar procesos celulares específicos, ha dado lugar a novedosas técnicas como la Microscopía de Desconvolución Digital (MDD), la Microscopía Láser Confocal (MLC) y la Microscopía de Excitación Bifotónica (M-2F). Estos nuevos procedimientos permiten obtener imágenes tridimensionales de procesos y de la distribución de moléculas específicas en células vivas por medio de la utilización de técnicas no invasivas.

Otra aplicación importante de la microscopía de fluorescencia es la medición de la concentración intracelular y de los cambios que sufre como consecuencia de estímulos de algunos iones (moléculas con carga eléctrica), como el calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), el ión hidrógeno ( $\text{H}^+$ ), el cloruro ( $\text{Cl}^-$ ), el sodio ( $\text{Na}^+$ ) y el potasio ( $\text{K}^+$ ). Un ejemplo es el uso de sustancias que actúan como indicadores fluorescentes de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  (el Quin-2 y el Fura-2). Ambas son capaces de unir fuertemente al ión  $\text{Ca}^{2+}$ . Cuando están libres de  $\text{Ca}^{2+}$  se excitan a longitudes de onda ligeramente más largas que cuando se hallan unidas al  $\text{Ca}^{2+}$ . Al medir la proporción de intensidad de la fluorescencia en las dos longitudes de onda de excitación, es posible determinar qué proporción de la concentración del indicador libre corresponde al indicador que se ha unido al  $\text{Ca}^{2+}$ . A partir de esto es posible medir con precisión la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular libre y de sus variaciones en función del tiempo [Shotton, 1993].

La observación de sustancias fluorescentes mediante el microscopio óptico, junto a los avances tecnológicos de los microscopios y de las computadoras, han dotado a los biólogos de procedimientos que permiten estudiar cada vez con más detalles y precisión la distribución en el espacio y en el tiempo de componentes celulares, lo que complementa y amplía de modo espectacular la información proporcionada por los métodos tradicionales de microscopía óptica y electrónica. Estos avances marcan la nueva era de la microscopía de fluorescencia [Adur *et al.*, 2001].

## REFERENCIAS

- Adur, J. F.; F. D. Balducci; J. C. García; J. F. Vilá; Ma. Fernanda Izaguirre; V. H. Casco: «Observación tridimensional. La nueva era en la microscopía de fluorescencia», *Ciencia Hoy*, 11 (64):22-31, 2001.
- Alarcón, B.; María Teresa Gorris; M. Cambra; María M. López: «Serological Characterization of Potato Isolates of *Erwinia carotovora*

- subsp. atroseptica* and *subsp. carotovora* Using Polyclonal and Monoclonal Antibodies», *Journal of Applied Bacteriology*, 79:592-602, 1995.
- Albornoz, Alicia; Marusia Stefanova; A. García; Irina Pérez: «Aplicación y evaluación de técnicas de diagnóstico para el análisis de patógenos bacterianos cuarentenados en semillas de papa». Informe técnico presentado para premio MINAGRI, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, La Habana, 2004.
- Amat, Zenaida; María L. Larrinaga: «Utilización de la técnica de inmunofluorescencia indirecta en la detección de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* en semillas de tomate y pimiento», Congreso Biotecnología Habana 92, La Habana, junio de 1992.
- Amat, Zenaida; Gloria González; Ana L. Echemendía; Caridad Font: «Diagnóstico de enfermedades bacterianas y virales en semillas de cultivos hortícolas», IX Forum de Ciencia y Técnica de Base, INISAV, La Habana, 1994.
- Amat, Zenaida; A. García: «Utilización de la técnica de inmunofluorescencia indirecta en la detección de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp en semillas de tomate y pimiento», *Fitosanidad*, 1(1-4):4-9, 1997.
- Anónimo1: «Citología y morfología de bacterias», <http://bilbo.edu.uy/~microbio/morfologia.html#cg> (consultado en octubre del 2003).
- Anónimo2: «Inmunofluorescencia», <http://salud.edomexico.gob.mx/html/article.php?sid=205> (consultado en noviembre del 2003).
- Anónimo3: «Observación de los microorganismos: el microscopio, preparación y examen de muestras», <http://edicionmicro.usal.es/web/educativo/micro2/tema02.html#anchor69742> (consultado en noviembre del 2003).
- Brlansky, R. H.; R. F. Lee; E. L. Civerolo: «Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *citrumelo* and *X. citrus* Using Membrane Entrapment Immunofluorescence», *Plant Disease*, 74: 836-868, 1990.
- Caruso, P.; P. Llop; J. L. Palomo; P. García; C. Morente; M. M. López: «Evaluation of Methods for Detection of Potato Seed Contamination by *Ralstonia solanacearum*», *Bacterial Wilt Disease Molecular and Ecological Aspects*, Springer-Verlag, Berlín, 1998.
- Chaveau, F. J.: «*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: Test Methods for Tomato Seeds», *Bulletin EPPO* 22(2): 219-224, 1992.
- De Boer, S. H.; R. J. Copeman: «Bacterial Ring Rot Testing with the Indirect Fluorescent Antibody Staining Procedure», *American Potato Journal*, 57:457-465, 1980.
- De Boer, S. H.; R. McKenzie: «Protocol for the Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, the Bacterial Ring Rot Pathogen in Potato», Version 1.0, Review *January Agriculture*, Canadá, 1996.
- Dhavantari, B. N.: «Comparison of Selective Media for Isolation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*», *Phytopathology*, 77:1694, E.U., 1987.
- EPPO: «Método provisional de pruebas para el diagnóstico, detección e identificación de *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith en las patatas», *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, Decisión 97/647/CE. P:0001-0025, 1997.
- Gorris, María Teresa; B. Alarcón; María M. López; M. Cambra: «Characterization of Monoclonal Antibodies Specific for *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and Comparison of Serological Methods for Its Sensitive Detection on Potato Tubers», *Applied and Environmental Microbiology*, 60(6):2076-2085, 1994.
- Janse, J. D.: «A Detection Method for *Pseudomonas solanacearum* in Symptomless Potato Tubers and Some Data on Its Sensitivity and Specificity», *Bulletin OEPP/EPPO*, Bulletin 18:343-351, 1988.
- Klement, Z.; K. Rudolph; D. Sands: *Methods in Phytobacteriology*, Akademiai, Kiadó, Budapest, Hungría, 1990.
- Malin, E. M.; E. L. Roth: «Indirect Immunofluorescent Staining for Detection and Identification of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* in Naturally Infected Bean Seed», *Plant Disease*, 67:645-647, 1983.
- Miguel, A.; A. García; Zenaida Amat; Irina Pérez: «Detección en semillas de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, agente causal del cáncer bacteriano del tomate», *Fitosanidad*, 4(1-2):9-13, 2000.
- Miller, H. J.: «Cross-Reactions of *Corynebacterium sepedonicum* Antiserum with Soil Bacteria Associated with Potato Tubers», *Netherlands Journal Plant Pathology*, 90:23-25, 1984.
- Pazos, Victoria; F. Fernández; I. Lagomasino: Detección de *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* por inmunofluorescencia indirecta», *Protección Vegetal*, 3(1):9-12, 1988.
- Pérez, Irina: «Caracterización de cepas de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* y estandarización de la técnica de inmunofluorescencia indirecta para su diagnóstico en semillas de tomate». Tesis en opción al título de Máster en Ciencias, Universidad Agraria de La Habana, Centro Nacional de Cuarentena Vegetal, 2004.
- Pérez, Irina; Marusia Stefanova; A. García; Loreta Larrinaga: «Aportes al conocimiento y el diagnóstico de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, patógeno bacteriano cuarentenado en Cuba». Informe técnico presentado para premio MINAGRI, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, La Habana, 2004.
- Seal, S.: «Molecular Methods for Detection and Discrimination of *Ralstonia solanacearum*», *Bacterial Wilt Disease. Molecular and Ecological Aspects*, Springer-Verlag, Berlín, 1998.
- Shotton, D.: «Electronic Light Microscopy», *Techniques in Modern Biomedical Microscopy*, Chapter 9, 1993.
- Stefanova, Marusia: «Current Situation of Bacterial Kilt (*Ralstonia solanacearum* Smith) in Cuba», *Bacterial Wilt Disease: Molecular and Ecological Aspects*, Springer, INRA editions, París, 1998.
- Trigalet, A.; P. Bidaud: «Some Aspects of Epidemiology of Bean Halo Blight». Proc. 4<sup>th</sup> Int. Plant. Pathol. Bact. Angers, Francia, vol. II, 895, 27 agosto-2 septiembre de 1978.
- Van Vuurde, J. W.; G. W. Van den Bovenkamp; Y. Birribaum: «Immunofluorescence Microscopy and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay As Potential Routine Tests for the Detection of *Pseudomonas syringae phaseolicola* and *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* in Bean Seed», *Seed Sci. and Technol.*, 11:547-559, 1983.
- Van Vuurde, J. W.: «Detecting Seeds Borne Bacteria by Immunofluorescence». Proceedings of the Sixth International Conference on Plant pathogen Bacteria, Maryland, Jun. 11-16, 1985.

## INTRODUCCIÓN, CUARENTENA Y DESARROLLO DE *CRYPTOLAEMUS MONTROUZIERI* (MULSANT) EN CUBA

Ofelia Milán Vargas, Esperanza Rijo Camacho y Elina Massó Villalón

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

Segundo lugar del VI Concurso La Historia de la Sanidad Vegetal, 2005

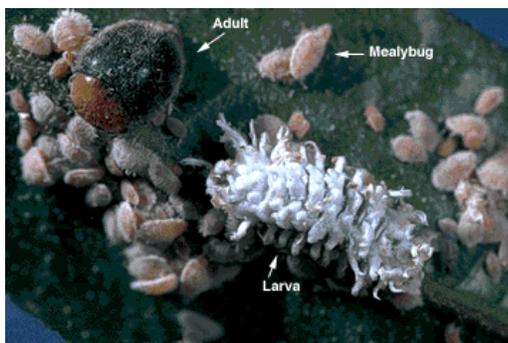


Foto: Jack Kelly Clark

Mealybug destroyer, University of California, Statewide IPM Project.



Foto: M. J. Raupp

*C. montrouzieri* adult eating mealybugs.

### INTRODUCCIÓN

Debido a las dificultades fitosanitarias en la región del Caribe y en todo el continente americano por la presencia de *Maconellicoccus hirsutus* (Green), insecto fitófago de cítricos, cacao, chile dulce, pepino, papaya, camote, higo, café, uva, legumbres, hierbas, hibiscos y palmas, entre otras familias de cultivos [Programme Management Committee, 1996; Pollar, 1999], y dado que representa una amenaza para Cuba por su ubicación geográfica en esta zona, hizo que nuestro Ministerio de la Agricultura coordinara con el Centro Reprodutor de Benéficos del Ministerio de la Agricultura y la Pesca de Trinidad & Tobago para introducir en el país el depredador *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant), organismo que se ha utilizado en programas de control de esta plaga y otras chinches harinosas, así como escamas de cuerpo blando, incluso escamas esféricas, además está considerado como un eficaz depredador de homópteros y de estados inmaduros de lepidópteros [Bruner *et al.*, 1945].

*C. montrouzieri* había sido introducido en Cuba en 1917 por el doctor Mario Calvino, director de la Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas

[INIFAT, 1984], quien lo trajo de California con el objetivo de combatir a las chinches harinosas (*Pseudococcus* sp.) de la caña de azúcar, plátano y piña, entre otros, y posteriormente en la década de 1960, procedente de la Unión Soviética, para el control de pseudocócidos. En ambas ocasiones no se encontraron ejemplares en las regiones donde fueron liberados, ni en otras alledañas, lo que indica que no se establecieron.

Ante estos antecedentes fue necesario cumplimentar todos los requisitos que permitieran la seguridad biológica y ecológica en el procedimiento de introducción del depredador [Berg, 1996], lo que constituye el motivo del presente trabajo.

### DESARROLLO

#### Etapas del procedimiento de cuarentena

El procedimiento de cuarentena constó de cuatro etapas. La primera está relacionada con toda la documentación legal para la tramitación de la importación del benéfico. La segunda se desarrolló en el Centro Reprodutor de Benéficos El Centeno, del Ministerio

de la Agricultura y la Pesca de Trinidad & Tobago. La tercera en el Laboratorio de Cuarentena de Entomófagos del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV) de Cuba, y la cuarta consistió en la reproducción masiva del entomófago para su descentralización y utilización. En la segunda y tercera etapas los insectos fueron examinados cuidadosamente con el objetivo de detectar los muertos y sus posibles cau-

sas, así como las comprobaciones taxonómicas y biológicas correspondientes.

#### Primera etapa. Solicitud de introducción

La documentación legal necesaria para cumplimentar los trámites al respecto se presentó al Centro Nacional de Seguridad Biológica del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, y al Centro Nacional de Sanidad Vegetal del Ministerio de la Agricultura de Cuba:

Documentos	Fecha
Programa de introducción y reproducción de enemigos naturales exóticos.	XI-1999
Análisis de riesgo de la introducción del depredador <i>C. montrouzieri</i> para el control de <i>M. hirsutus</i> .	IX-1999
Datos necesarios para el expediente de introducción o liberación de <i>C. montrouzieri</i> .	XI-1999
Reglamento del Departamento de Introducción de Artrópodos para el control biológico.	VI-2000
Solicitud de Licencia de Seguridad Biológica para el Centro de Cuarentena de Artrópodos Benéficos.	VI- 2000
Solicitud de Licencia de Liberación del proceso de cuarentena de <i>C. montrouzieri</i> .	X-2000

Para el desarrollo de la cuarentena de *C. montrouzieri* se siguieron los postulados establecidos en el Código de Conducta para la importación y liberación de agentes exóticos de control biológico [FAO, 1996]. Se revisaron además otros documentos legales como el Estándar Fitosanitario MERCOSUR 4.1 (1997), que establece los procedimientos cuarentenarios para agentes de control biológico, y la Ley 81 del Medio Ambiente, además del Decreto ley 190/99 del Centro Nacional de Seguridad Biológica, bajo el procedimiento contemplado en la resolución 76/2000 del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente [CNSV/MINAGRI, 1999], y el Decreto ley 441/94 del Departamento de Cuarentena Exterior del Centro Nacional de Sanidad Vegetal del Ministerio de la Agricultura de Cuba.

#### Segunda etapa. Cría y cuarentena en Trinidad & Tobago

La cría de *C. montrouzieri* a partir de estadios preimaginales colectados en el campo sobre plantas infestadas con *M. hirsutus* se realizó en el Centro Reprodutor de Benéficos El Centeno, y de los adultos emergidos fueron seleccionados 300 individuos de la misma edad, lo que constituyó la primera generación y

fueron alimentados con *M. hirsutus*. Durante el procedimiento de cuarentena los insectos, en grupos de 50 y en la proporción hembra-macho 1:1, fueron colocados en frascos de material plástico transparente de 500 mL que contenían tiras de papel plegado. Diariamente los insectos fueron cambiados de envase para eliminar así los posibles estados de la chinche que pudieran encontrarse bajo las estructuras del cuerpo del entomófago, y de alimento se suministraba una disolución de miel a 50% a través de un algodón embebido y escurrido, para evitar que goteara y se suspendió del borde del contenedor, que a su vez estaba cubierto con tela fina sujeta con una banda elástica. Los materiales desechados, debido al cambio diario, fueron incinerados. Al décimo día se realizó el último cambio y posteriormente fueron trasladados a Cuba.

El embalaje consistió en un depósito que contenía paquetes con gel congelado y los frascos con los insectos, que a su vez estaban envueltos con papel aislante para evitar el contacto directo con la sustancia congelada. El contenedor fue herméticamente cerrado y debidamente señalado.

### Tercera etapa. Cría y cuarentena en Cuba

Al arribar al Laboratorio de Cuarentena de Entomófagos en Cuba, el lote de *C. montrouzieri* fue cuidadosamente revisado y colocado en jaulas de acrílico de 50 x 70 x 70 cm, en número de 20 adultos por jaula, donde cada una contenía una calabaza (*Cucurbita maxima* Duch., variedad Cuero de Sapo) infestada con *Planococcus citri* (Risso), los que fueron cambiados cada siete días a nuevas calabazas infestadas. Además, diariamente se revisaron para detectar los posibles contaminantes en los insectos introducidos o en la descendencia, y determinar el número de insectos benéficos obtenidos por calabaza bajo estas condiciones, así como el período de emergencia de imagos, las posibles malformaciones, la longevidad de los imagos introducidos, sus dimensiones y la proporción de sexo.

Se puso además una pareja del entomófago por papa grelada infestada con *P. citri*. Estos tubérculos se cambiaban y revisaban cada 24 h con la finalidad de determinar el período de preoviposición, la fecundidad y la duración de los estadios preimaginales.

A los imagos importados se les midió la longitud del área dorsal desde donde comienza la cabeza hasta el extremo terminal de los élitros. Las mediciones fueron realizadas con la escala micrométrica de un microscopio estereoscópico MBC-10 y lente 2x. También se les determinó el peso en miligramos a los siete días de su estadía en Cuba (diecisiete días de vida) mediante una balanza analítica. Los insectos utilizados en estos experimentos fueron confinados en viales de vidrio transparente para realizar las mediciones.

Los insectos muertos en el traslado de Trinidad & Tobago a Cuba, así como durante el procedimiento de cuarentena en ambos países, fueron sometidos a técnicas microbiológicas, nematológicas y entomológicas para definir la causa de la muerte.

El desarrollo del procedimiento cuarentenario se realizó a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $80 \pm 5\%$  Hr y completa oscuridad. Los datos obtenidos en la evaluación de los diferentes indicadores biológicos estudiados fueron sometidos a los estadígrafos de media y varianza.

De los estadios preimaginales colectados en Trinidad & Tobago se obtuvo una población inicial de 300 adultos que, debido a las condiciones de cuarentena a que fueron sometidos y a la manipulación diaria, sufrió una reducción de hasta 280 insectos al décimo día, en que fueron embalados y trasladados a Cuba por vía aérea el 14 de junio de 2000.

De la población de adultos, 12,1% murió en el período de embalaje. Esto pudo deberse al estrés proporcionado por las bajas temperaturas, el hacinamiento, e incluso como consecuencia de la dieta suministrada (miel de abeja) antes del traslado a Cuba.

### Confirmación de la especie introducida

Las características taxonómicas del entomófago introducido arrojaron que pertenece al orden Coleoptera, familia Coccinellidae, género *Cryptolaemus* y especie *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant), insecto depredador de organismos de cuerpo blando y dependiente de pseudocócidos productores de ovisacos para depositar su progenie.

Los adultos de *C. montrouzieri* presentaron las características propias de la especie, es decir, cuerpo de forma oval, cabeza amarilla, pronotum amarillo rojizo con marcas negras, escutellum negro, élitro negro excepto área terminal de color amarillo, área ventral de color negro, hipomero y prosternum de pardo rojizo a pardo amarillento, esternum abdominal pardo amarillento.

El dimorfismo sexual fue representado por la coloración del fémur y de la tibia anterior, que es de color amarillo en el macho y gris oscuro a negro en la hembra.

Los segmentos apicales de los palpos maxilares estaban fuertemente esclerotizados. El prosternum tenía el basisternum largo, el que se extiende hacia la parte anterior hasta cubrir parte de la boca. Longitudinalmente es más largo que la tercera parte de la proyección intercoxal con los carinae intercoxal de cada lado. El carinae no se extiende más allá del margen anterior de la cavidad procoxal. Las coxas posteriores estaban en línea con el primer esternón abdominal, las antenas tenían 10 segmentos y eran ligeramente finas, y los tarsos eran trimerous. Las estructuras antes descritas se corresponden con lo registrado por Booth and Pope en 1986.

El cuerpo de la larva de *C. montrouzieri* mantuvo la coloración blanca característica, con apéndices velludos cubiertos por una sustancia cerosa que dan la apariencia de rayas irregulares, las que se asemejan a las ninfas de la chinche harinosa [Booth and Pope, 1986].

La talla promedio de los imagos (evaluación de 50 ejemplares) de *C. montrouzieri* procedente de Trinidad & Tobago fue de 4,5 mm de largo y de 3 mm de ancho (hembras), dimensiones que están en el rango de lo planteado para la especie por Booth and Pope (1986) y Sadof (1995). A la semana de emergidas las hembras alcanza-

ron un peso promedio de 12,9 mg, valor que se aproxima a lo obtenido por Armas (2002) en la producción masiva del entomófago. Estos son indicadores que definen la calidad de cualquier cría masiva de insectos, además de estar la fecundidad estrechamente correlacionada con la capacidad del abdomen [De Bach, 1968].

La morfometría de los insectos obtenidos en el procedimiento de cuarentena arrojó que tanto las hembras como los machos están entre los parámetros que se recogen en la literatura (Tabla 1).

La duración de los diferentes estados de desarrollo de *C. montrouzieri* en condiciones de cuarentena fue simi-

lar a lo registrado por Gautam (1996), a pesar de que la humedad utilizada en ambos ensayos varió notablemente, no así la temperatura; sin embargo, estos resultados estuvieron por debajo de lo alcanzado en el estado larval y pupal de la especie en las producciones masivas, que fueron realizadas posteriormente en los Laboratorios Provinciales de Sanidad Vegetal (LAPROSAV) del país, longevidades que se han mantenido en las generaciones subsiguientes, por lo que se atribuyen estas variaciones a la fuente alimenticia, debido a que en el procedimiento de reproducción masiva los entomófagos se han alimentado de otros artrópodos y los adultos sometidos al procedimiento de cuarentena consumieron miel (diluida a 50%) (Tabla 2).

**Tabla 1. Datos morfométricos de *C. montrouzieri* en la F-1 introducida y reproducida en Cuba (F-2)**

Parámetros	Hembras	Machos
Longitud (mm)	4,3-6	3-4,2
Ancho (mm)	3-3,5	2,7-2,9
Proporción sexual	1:1	

**Tabla 2. Duración de los diferentes estados del ciclo de vida de la F-1 de *C. montrouzieri* en Cuba ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$  y  $80 \pm 5\%$  Hr)**

Estadios	X Días	X Días*	X Días**
Incubación	4,5	3-5	4-6
Larva	13,5	12-5	18-25
Prepupa	1	—	1
Pupa	7	5-7	7-14
Preoviposición	11		
Fecundidad	225	200-500	205-350

\*Gautam (1996). \*\*Gómez *et al.* (2002).

La longevidad máxima de los imagos introducidos fue de ciento dieciséis días. Los machos tuvieron una duración promedio de 63,1 días, similar al límite inferior de longevidad registrado por Gautam (1996), además se corresponde con lo obtenido por Gómez *et al.* (2002) para este sexo en la primera generación de producción masiva en el LAPROSAV de Sancti Spíritus, no así las hembras, que en el procedimiento de cuarentena tuvieron una longevidad promedio de 57,7 días, que representa una duración de 52% menor que lo planteado por este autor. De la población de los adultos hembras importados, 83% murió

en las primeras seis semanas, y los machos alcanzaron 95% de mortalidad acumulada en la semana once (Fig. 1).

La población inicial de *C. montrouzieri* en condiciones de cuarentena en Cuba fue incrementada 15,6 veces, población que pudo ser mayor dadas las potencialidades reproductoras del regulador biológico; pero hubo limitaciones en cuanto al suministro de presas, lo que pudo haber influido significativamente en el desarrollo de la descendencia, además del canibalismo que se hizo notorio (Tabla 3).

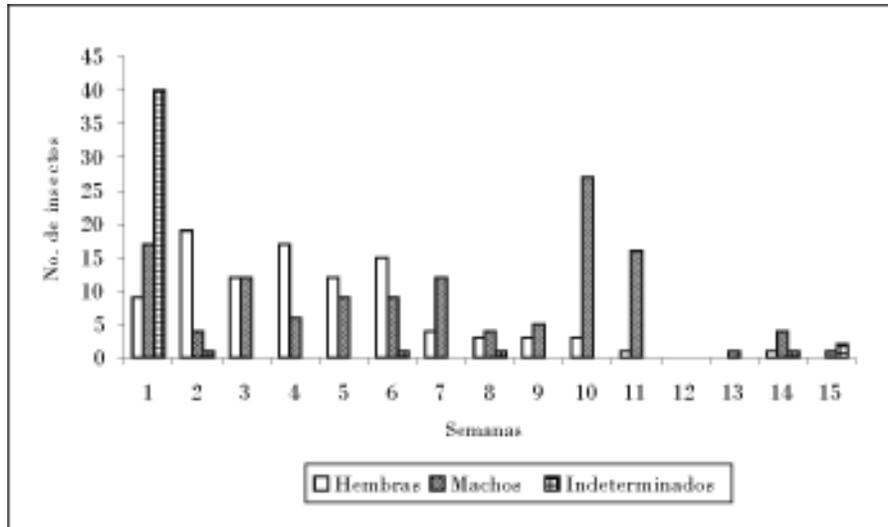


Figura 1. Mortalidad de *C. montrouzieri*.

Tabla 3. Potencial biótico de *C. montrouzieri* en condiciones de cuarentena en Cuba ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$  y  $80 \pm 5\%$  Hr)

Variables	Población real	Población teórica
Población inicial: 138 (M) y 108 (H)	246	
Número de descendientes hembras (H)	2 030	
Número de descendientes machos (M)	1 808	
Índice sexual (H:M)	1,1:1	
Fecundidad promedio	225	
Adultos obtenidos en cuarentena	3 838	24 300
Tasa de reproducción	35,5	225

En los estudios realizados durante la cuarentena se pudo constatar que 84,2% de la población en el estadio de huevo y larva joven perecieron por canibalismo, por lo que la tasa de reproducción de la especie fue 6,3 veces menor, no obstante la población obtenida en estas condiciones fue incrementada 15,6 veces.

Los insectos muertos en el traslado de Trinidad & Tobago a Cuba, así como durante el procedimiento de cuarentena en ambos países, fueron sometidos a técnicas microbiológicas, nematológicas y entomológicas, y no se detectó ecto o endoparasitoides u organismos patógenos en los cadáveres que pudieran obstaculizar el desarrollo del depredador.

Los insectos de la F-1 no presentaron afectaciones morfológicas. Solo 1% de las pupas no pasaron al estado de adulto y no se detectó que fuera ocasionada por agentes externos.

#### Cuarta etapa. Cría masiva y desarrollo

La F2 de *C. montrouzieri* pasó al Laboratorio de Cría Masiva de Insectos. La descendencia obtenida fue de 4 500 adultos viables en la F3, cuyo ciclo biológico de huevo a la emergencia del adulto fue de 40-45 días, con una proporción de sexo de 1:1. Las características morfológicas externas se correspondieron con lo registrado en la literatura del ramo, por lo que servirán de patrones de referencia para determinar los posibles cambios genéticos que se produzcan en la población. Se obtuvieron 11 generaciones del depredador introducido y los adultos obtenidos se distribuyeron en los Laboratorios Provinciales de Sanidad Vegetal (LAPROSAV) del país para su posterior reproducción, una vez que se obtuvo la licencia para la distribución en los laboratorios (Tabla 4).

Tabla 4. Distribución de *C. montrouzieri*

No. de insectos	Instituciones receptoras
50	LAPROSAV Pinar del Río
150	LAPROSAV La Habana
100	LAPROSAV Matanzas
100	LAPROSAV Villa Clara
50	LAPROSAV Cienfuegos
140	LAPROSAV Sancti Spiritus
300	LAPROSAV Ciego de Ávila
60	LAPROSAV Camagüey
70	LAPROSAV Las Tunas
135	LAPROSAV Granma
50	LAPROSAV Santiago de Cuba
300	LAPROSAV Guantánamo
300	LAPROSAV Holguín
50	Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria
80	Instituto de Investigaciones para la Agricultura Tropical Alejandro de Humboldt
–	Instituto de Fruticultura Tropical

El trabajo de descentralización se realizó de agosto a diciembre del 2000. En los Laboratorios Provinciales de Sanidad Vegetal se incrementó el pie de cría. Como

se muestra en la *Tabla 5*, se registra el número de insectos obtenidos hasta mayo del 2001, así como las generaciones alcanzadas y las liberaciones realizadas.

Tabla 5. Adultos de *C. montrouzieri* obtenidos en los LAPROSAV

LAPROSAV	Sustrato	Presa	Insectos obtenidos
Guantánamo	Papa, calabaza Cuero de Sapo	<i>Dysmicoccus alazon</i>	9 365
Santiago de Cuba	Papa, calabaza Cuero de Sapo y Lisa	<i>Dysmicoccus alazon</i>	600
Granma	Papa, calabaza Cuero de Sapo	<i>Pseudococcus</i> <i>Planococcus</i> <i>Dysmicoccus</i>	62 140
Holguín	Papa, calabaza Cuero de Sapo y Lisa	<i>Pseudococcus</i> spp.	9 408
Las Tunas	Papa, ornamentales y calabaza Cuero de Sapo	Pseudocócidos Áfidos	16 632
Camagüey	Papa y calabaza Lisa	<i>Pseudococcus marítimus</i>	18 334
Ciego de Ávila	Papa y calabaza	<i>Dysmicoccus brevipes</i>	53 847
Sancti Spiritus	Papa	<i>Pseudococcus adonidum</i>	52 454
Villa Clara	Papa, calabaza Cuero de Sapo	<i>Ferrisia</i> , <i>Pseudocócidos</i>	3 981
Cienfuegos	Papa	<i>Pseudococcus</i> spp.	42 820
Matanzas	Papa, ornamentales y calabaza	<i>Pseudococcus</i> spp.	6 860
La Habana	Papa	<i>Planococcus citri</i>	24 754
Pinar del Río	Papa	<i>Pseudococcus adonidum</i>	12 070

De las producciones logradas en los LAPROSAV, se destinó una parte para la cría de laboratorio. El resto fue liberado en las áreas correspondientes a los cuadrantes de alto y mediano riesgo a la posible penetración de *M. hirsutus* y en los cultivos infestados por áfidos, mosca blanca, ácaros, cóccidos y pseudocóccidos.

En los ensayos correspondientes a conocer la actividad depredadora de *C. montrouzieri*, se pudo comprobar que entre los quince y veintiún días posteriores a esas liberaciones se comenzaron a observar estadios larvales tanto en las ramas confinadas (enmangadas) como en las testigo; pero fue significativamente mayor en las ramas sin cubrir debido a que en las confinadas los insectos no completaron el ciclo por haberse agotado el alimento y ocurrir el canibalismo entre ellos.

Después de los siete días de liberados los depredadores, las afectaciones por áfidos, mosca blanca, ácaros, trips, *Ferrisia* sp., *Paracoccus marginatus*, *Dysmicoccus brevipes*, *Nipaecoccus nipae*, *P. adonidum*, *Spodoptera* spp., *Diaphorina* sp. y *Coccus viridis*, en los cultivos de frutabomba, habichuela, frutales, guayaba, cítricos (naranja, limón, lima persa, toronja var. March), ornamentales (marpacífico, rosas, croton, acalifa, ají de jardín, lirio tricolor, adelfa, mil en ramos, ixora, violeta africana, malanguita de jardín), aguacate, cereza, frijol, cebolla, plantas medicinales, hortalizas, maíz, mamey, chirimoya, ocuje, rábano, acelga, quimbombó, roble, piña y café, comenzaron a disminuir hasta grado 2, 1 y 0, en gran parte de los sitios afectados como fue en las provincias de Guantánamo, Las Tunas, Pinar del Río, Sancti Spíritus y Villa Clara, donde alcanzaron efectividades técnicas entre 65 y 95%.

En las áreas que tenían un alto grado de infestación, en las que se liberó *C. montrouzieri*, se observó la presencia del entomófago en campo por períodos mayores a ocho meses.

En la provincia de Guantánamo se observaron larvas, pupas y adultos de *C. montrouzieri* regulando *Pseudococcus* spp. en malanga ornamental. Se encontraron adultos de este depredador en el cultivo de cítrico pasados ocho meses de su liberación, y en plantas de coco depredando *Dysmicoccus brevipes*. En la provincia de Granma también se detectaron los tres estadios preimaginales de *C. montrouzieri* a los seis meses de realizadas las liberaciones, y en la provincia de Holguín se encontraron diferentes estadios de este depredador en plantas ornamentales infestadas con pseudocóccidos.

Conducta similar se pudo observar en Las Tunas, donde se registraron siete larvas a los veintiún días de la liberación y tres pupas a los veintisiete.

En la provincia camagüeyana se observó el entomófago al depredar *D. marinitus* en croton y adelfa. En Sancti Spíritus se observaron diferentes estadios del regulador sobre *Pseudococcus adonidum* en adelfa, cajigal, guayaba y café. En la provincia de Villa Clara se observó el insecto, después de las liberaciones realizadas en guayaba y malanga trepadora, en acalifa al depredar *Aphis gossypii*, y pasado un año de la liberación encontraron adultos del entomófago a 2 km de donde se realizó.

En las áreas ornamentales de la península de Varadero, en la provincia de Matanzas, se encontraron larvas y adultos de este depredador regulando poblaciones de *Pseudococcus*, *Coccus viridis* y *Dysmicoccus* en marpacífico, guayaba, anón, acalifa y croton, y en la de Cienfuegos hallaron al depredador en las colonias de *C. viridis* en limón. En La Habana observaron diferentes estadios de *C. montrouzieri* en poblaciones de *Planococcus* y *Phenacoccus* en lima persa, aguacate, chirimoya, roble, guayaba, habichuela, naranja y piña, y en Pinar del Río observaron larvas del entomófago por cortos períodos regulando pseudocóccidos en cítrico, ornamentales, majagua, chirimoya, guanábana, aguacate, naranja Valencia, orquídea y café.

## A MANERA DE CONCLUSIÓN

La introducción de *C. montrouzieri* en Cuba, realizada en el 2000, ha rebasado la etapa de cuarentena en el lugar de origen y en el país. Posteriormente la reproducción masiva y liberación ha permitido valorar, hasta la etapa de colonización, sus potencialidades para ser utilizado en las diferentes provincias como control biológico de fitófagos, y en especial de aquellos pseudocóccidos productores de ovisacos. En la actualidad se ha observado en algunas regiones de la provincia de Las Tunas, por lo que se considera que en esta ocasión su introducción ha sido exitosa.

## REFERENCIAS

- Arma, J. L.: «Informe técnico de la etapa de investigación: metodología de multiplicación masiva de *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant.) en la provincia de Sancti Spíritus», INISAV, La Habana, 2002 (en archivo).
- Berg, G. H.: «Análisis de riesgo por una vía respecto a *Maconellicoccus* (Green) (cochinilla rosada), a nivel global». Informe técnico, OIRSA, San Salvador, 1996.

### Milán y otros

- Booth, R. G.; R. D. Pope: «Revisión del género *Cryptolaemus* (Coleoptera: Coccinellidae) con particular referencias a las especies *C. montrouzieri* (Mulsant)», *Bull. Ent. Res.*, 76:702-717, 1986.
- Bruner, S.; L. C. Scaramuzza; A. R. Otero: «Catálogo de los insectos que atacan a las plantas económicas de Cuba», Estación Experimental Agrícola de Santiago de las Vegas, Edificio del Ministerio de la Agricultura de Cuba, 1945.
- CNSV-MINAGRI: «Programa de defensa contra la chinche harinosa del Hibisco», La Habana, 1999.
- DeBach, Paúl: *Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas*, Edición Revolucionaria, La Habana, 1968.
- Estándar Fitosanitario MERCOSUR: «Estándar 4.1. Ministerio da Agricultura y Abastecimiento do Brasil. Procedimientos quarentenarios para agentes de controle biológico», *Diario Oficial*, Segao 1, Suplemento AO no. 74, 1997.
- FAO: «Código de conducta para la importación y liberación de agentes exóticos de control biológico», Publicación no.3, Roma, 1996.
- Gautam, R. D.: «Multiplication and Use of Exotic Coccinellids»; *Technical Manual*, October, 1996.
- Gómez A.; A. Medardo: «Informe técnico de la producción de *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) y sus hospederos en la etapa 2000-2001 en la provincia de Cienfuegos», INISAV, La Habana, 2001 (en archivo).
- Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical Alejandro de Humboldt: «80 años de la Estación Experimental Agronómica de Santiago de Las Vegas», Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1984.
- «Ley 81. Del Medio Ambiente», *Gaceta Oficial de la República de Cuba*, La Habana, 1997.
- Pollar, G. V.: «Assistance for the Biological Control of Pink Mealybug: a Regional Project Under FAO's Technical Cooperation Programme Workshop on the Biological Control of Pink Hibiscus Mealybug, *Maconellicoccus hirsutus*, in the Caribbean Sub-Region», Review of TCP/RLA/6719 (A): 11-12 March 1999, Port of Spain, Trinidad and Tobago, 1999.
- Programme Management Committee: «Regional Action Programme for the Control the Pink Mealybug *Maconellicoccus hirsutus* (Green) in the Caribbean. Main Report (Draft Document)». Presented at the Meeting of the Programme Coordination Committee, St. Kitts-Nevis, February 26, 1996.
- Sadof, Cliff: «Know Your Friends: Mealybug Destroyer», *Midwest Biological Control News On-line*, II:5, 1995.

## DAÑOS PRODUCIDOS POR NEMÁTODOS FOLIARES EN PLANTAS ORNAMENTALES DE CUBA

Hortensia Gandarilla Basterrechea

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

El efecto que producen los nemátodos fitoparásitos de las raíces sobre las diferentes plantas cultivadas es ampliamente conocido en Cuba. A diferencia de ello, las referencias de daños por nemátodos foliares están limitadas a los producidos por *Aphelenchoides besseyi* en fresa [Fowler y Fernández, 1975].

También es conocida la presencia de este nemátodo en arroz, donde no ha manifestado el síntoma característico de la punta blanca en las hojas; pero por su alta incidencia en las semillas del país, Fernández (1987) lo consideró como un peligro potencial para este cultivo.

Los síntomas que producen en las plantas los fitonemátodos parásitos del follaje son variados y están condicionados mayormente por la especie de planta. De esta manera Lehman (1989) informó que *Aphelenchoides fragariae* en begonia produce síntomas que varían según la especie y cultivar. También *Saint Paulia ionantha*, *Barleria cristata*, *Gloxinia* spp. y *Streptocarpus* sp. muestran diferentes síntomas ante el ataque de este nemátodo [Lehman y Miller, 1988; Lehman, 1990; Lehman, 1991].

Con el objetivo de identificar los nemátodos parásitos del follaje presentes en plantas ornamentales y caracterizar sus síntomas, se realizó un estudio sobre un grupo de estas plantas que mostraron en el follaje clorosis, manchas, pudriciones, engrosamientos o deformaciones.

Una vez caracterizado el síntoma se procedió a procesar las muestras del área foliar de cada una de estas especies de plantas para la extracción de nemátodos en

embudos Baermann y la posterior identificación de las especies presentes.

Pudo constatar la presencia de *A. besseyi* en plantas de *Chrysanthemum coronarium* (Moyita), *Callistephus hortensis* (Extraña rosa) y *Saint Paulia ionantha* (Violeta africana), así como *Aphelenchoides subtenuis* en *Pandanus* sp. (Padano). También se observó la presencia de una especie de *Pratylenchus* en hojas de *Philodendron* sp. (Filodendro).

En las compuestas, las plantas de *C. coronarium* y *C. hortensis* presentaron en el follaje manchas delimitadas por las nerviaciones, que de alguna manera limitan el paso de los nemátodos. Estas manchas, inicialmente amarillas, cambiaron su coloración y tonalidad hasta tornarse pardo oscuras, con aspecto angular, elemento que tipifica el síntoma y permite diferenciarlo de los producidos por patógenos fúngicos. En estas plantas se observaron flores raquíticas y asimétricas, con la consiguiente pérdida de su valor decorativo. El síntoma en la flor indica que el nemátodo también se desarrolló en los botones florales. Hague (1972) se refirió a síntomas similares en crisantemo ante el ataque de *A. ritzemabosi*.

También pudo apreciarse que las hojas inferiores de estas plantas son las que mayormente manifestaron los síntomas anteriormente descritos. Lin *et al.* (1992) observaron que el potencial de enfermedad de las hojas más viejas fue mayor que el de las más jóvenes en varios géneros de la familia Orchidaceae infectados con *A. besseyi*.

En *Saint Paulia ionantha* se observó deformación y atrofiamiento, tanto en hojas como en flores, lo que pudo estar propiciado por el desarrollo de los nemátodos en el interior de los brotes. Lehman (1990) describió síntomas similares a lo observado, pero producidos por *A. fragariae* y *A. ritzemabosi*, donde además había pequeñas lesiones necróticas en hojas que no fueron apreciadas en estas observaciones.

*A. subtenuis* se observó asociado a lesiones necróticas en hojas de *Pandanus* sp. sin que fuese observado crecimiento fúngico, lo que resulta de interés por ser el primer informe de su presencia asociado a algún tipo de daño en Cuba. Este nemátodo es conocido como *nemátodo de bulbos y hojas*, y su patogenicidad ha sido cuestionada, según informa Southey (1993). No obstante, Mor y Spiegel (1993) confirmaron que es la causa principal de la enfermedad de la placa basal del narciso, y Brinkman (1995) lo detectó asociado a una decoloración circular interna en bulbos de *Chionodoxa luciliae*.

En hojas de *Philodendron* sp. se observó la presencia de *Pratylenchus* sp. al causar lesiones necróticas. Las manchas irregulares, secas, hasta de 3 cm de diámetro, se encontraron a partir del borde inferior de la hoja hasta el centro. Los nemátodos del género *Pratylenchus* son parásitos típicos de raíces, y es la primera vez que se observa su desarrollo en el follaje de una planta.

La identificación de diferentes especies de fitonemátodos, como causantes de los síntomas descritos anteriormente en el follaje de estas plantas, amplía el conocimiento sobre el potencial de daño de estos organismos y plantea una nueva posibilidad en la búsqueda

de agentes causales ante diferentes tipos de síntomas que pudieran presentarse en la parte aérea de cualquier especie de planta.

## REFERENCIAS

- Brinkman, H.: *Nematology*. Annual Report Diagnostic Centre, Plant Protection Service. Wageningen, Holanda, 1995.
- Fernández, D. M.: «Los fitonemátodos en el cultivo del arroz en las provincias occidentales de Cuba». Tesis en opción al grado de Candidato a Doctor en Ciencias Agrícolas, INIFAT, MINAGRI, La Habana, 1987.
- Fowler, V.; E. Fernández: «Estudios preliminares sobre la fauna de nemátodos en el cultivo de la fresa en la provincia de La Habana», I Forum Nacional de Fitonematología, Dirección Nacional de Sanidad Vegetal, t. I, INRA, 1975.
- Hague, N. G.: «Nematode Disease of Flowers Bulbs, Glasshouse Crops and Ornamental», *Economic Nematology*, Academic Press, Londres/ New York, 1972.
- Lehman, P. S.: «A Disease of Begonia Caused by a Foliar Nematode *Aphelenchoides fragariae*», *Nematology Circular* no. 164, Fla. Dept. Agric. & Consumer Serv. Division of Plant Industry, 1989.
- : «A Disease of African Violets Caused by Foliar Nematodes», *Nematology Circular* no. 180, Fla. Dept. Agric. & Consumer Serv. Division of Plant Industry, 1990.
- : «A Disease of Gloxinias Caused by Foliar Nematodes», *Nematology Circular* no. 195, Fla. Dept. Agric. & Consumer Serv. Division of Plant Industry, 1991.
- Lehman, P. S.; J. W. Miller: «Symptoms Associated with *Aphelenchoides fragariae* and *Pseudomonas cichorii* Infections of Philippine Violet», *Nematology Circular* no. 159, Fla. Dept. Agric. & Consumer Serv. Division of Plant Industry, 1988.
- Lin, Y. Y.; K. M. Wang; T. T. Tsay: «The Occurrence of *Aphelenchoides besseyi* Christie on *Dendrobium Lady Fay*», *Chih. Wu Pao Hu Hsueh Hui Hui K'An*, 34(3):202-215, 1992.
- Mor, M.; Y. Spiegel: «Infection of Narcissus Roots by *Aphelenchoides subtenuis*», *Journal of Nematology*, 25(3):476-479, 1993.
- Southey, J. F.: «Nematode Pests of Ornamental and Bulbs Crops», *Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture*, CAB International Wallingford, Inglaterra, 1993.

## EVALUACIÓN DE DOS MECANISMOS DE DEFENSA DE LAS ABEJAS *APIS MELLIFERA* L. FRENTE AL ÁCARO *VARROA DESTRUCTOR*

Jorge L. Sanabria Cruz

Universidad Agraria de La Habana. (UNAH). Autopista Nacional y Carretera a Tapaste, San José de las Lajas, CP 32 700, La Habana, c.e.: christianbsr@yahoo.es; sanabria@isch.edu.cu

Tesis en opción al título académico de Máster en Ciencias

Con el objetivo de evaluar los mecanismos defensivos conductuales de acicalamiento y conducta higiénica en un apiario experimental de selección, se laboró con 10 colonias de dos cuerpos de buena fortaleza y clínicamente sanas. A cada colonia se le realizaron muestreos de abejas adultas para determinar la tasa de infestación en coincidencia con las evaluaciones conductuales (marzo = 1,03% y mayo = 3,67%). La evaluación de la conducta de acicalamiento se basó en el porcentaje de ácaros dañados en los detritos, mientras que la conducta higiénica se evaluó por la remoción de crías muertas por congelación. El porcentaje medio de ácaros dañados en el primer muestreo fue de 92,5% con un rango de 71,4-100%, en tanto en el se-

gundo muestreo fue de 92% con un rango de 77,7-100%. En ambos muestreos no se apreció diferencias entre colonias, evidentemente influenciado por el bajo número de ácaros colectados (120 y 50). Los valores porcentuales medios de la conducta higiénica en el primer muestreo correspondieron a 82,64% y en el segundo las colonias eliminaron 80,54% de las crías muertas. En los dos muestreos realizados se encontraron diferencias ( $p < 0,001$ ) entre colmenas. Se concluye que las colonias en estudio manifiestan una elevada conducta de acicalamiento y muestran altos valores porcentuales medios de la conducta higiénica, lo cual permite que las colonias mantengan bajas tasas de infestación por Varroa.

## MANEJO INTEGRADO DE ENFERMEDADES EN ARROZ (*ORYZA SATIVA* L.) EN ÁREAS DE ARROZ POPULAR

Luciano Alarcón Pérez

Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Calle Genaro Rojas 86 e/ Marcelino Diéguez y Antonio Barrera, Las Tunas, CP 75200

Tesis en opción al título académico de Máster en Protección Vegetal

Se desarrolló un experimento en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Las Tunas con un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y seis réplicas, mediante un bioensayo *in vitro* entre los aislados A-34 y A-53 del antagonista *Trichoderma harzianum* (Rifai) contra los hongos fitopatógenos *Pyricularia grisea* (Sacc.) y *Rhizoctonia solani* Kühn, desarrollados en medio de cultivo dextrosa-agar-papa. El enfrentamiento se realizó durante 96 h. Los resultados se procesaron estadísticamente mediante un test de *t* para muestras pareadas. Otros dos experimentos se llevaron a cabo en áreas de la Cooperativa de Créditos y Servicios Omar Pérez Pérez, en Calera I, desde julio hasta septiembre del 2001 en la variedad J-104, y desde abril a junio del 2003 en áreas de arroz del productor individual Anesio González Pompa, en la misma localidad, en la variedad Reforma. Se realizaron muestreos semanales para determinar el por ciento de distribución e intensidad de ataque de las principales enfermedades que incidieron en el cultivo. Se empleó un diseño de bloques al azar con tres tratamientos y tres réplicas (control químico, manejo y testigo sin tratar), en un suelo pardo plastogénico. Se efectuó un análisis de varianza doble y comparación de medias mediante LSD, décima de *t* para 5% de tolerancia. El crecimiento de *T. harzianum* contra los hongos fitopatógenos resultó altamente significativo con valores de *t* de 8,15 y 10,44 de la cepa A-53 frente a *R. solani* y *P. grisea* y de 8,35 y 10,53 de la cepa A-34 sobre estos

mismos patógenos. La cepa A-34 fue la más efectiva, con mayor hiperparasitismo. El ciento por ciento de las patologías incidieron en la variedad J-104 y 18,2% en Reforma en semillas, y ciento por ciento y 25% en J-104 y Reforma respectivamente en plantación. Los patógenos que más incidieron en plantación fueron *B. oryzae*, *C. lunata*, *E. rostratum*, *F. oxysporum*, *N. oryzae*, *S. oryzae*, *P. grisea*, *R. solani* y *Aspergillus* sp. con incidencias desde 5-76%. Se reportaron como nuevos registros para el cultivo en la provincia al complejo ácaro-hongo (*S. spinki* + *S. oryzae*), *M. salvini* y *G. graminis*. El complejo ácaro-hongo no incidió en la variedad Reforma, lo que comprueba su resistencia genética a *S. spinki*. Se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos en el por ciento de distribución e intensidad de ataque en *P. grisea*, *B. oryzae* y *Sarocladium oryzae* en la variedad J-104, y por ciento de intensidad de ataque de *P. grisea* y *B. oryzae* en la variedad Reforma. El por ciento de distribución de *B. oryzae* en la variedad Reforma arrojó diferencias significativas entre el testigo con el tratamiento químico y Manejo Integrado de Enfermedades (MIE), y sin diferencias entre ellos. En el caso de los rendimientos existieron diferencias significativas entre los tratamientos en la variedad J-104, y sin diferencias significativas en la variedad Reforma. Se logró establecer una propuesta de metodología de Manejo Integrado de Enfermedades en arroz efectiva y de fácil uso. Los rendimientos del MIE fueron de 4,324 t/ha y las ganancias de 149.30 pesos/ha.