

FITO

SANIDAD

Un enfoque actual de sanidad vegetal



- Utilización de la técnica de inmunofluorescencia indirecta en la detección de *Pseudomonas cichorii* en semillas de tomate y pimiento

- Aspectos biológicos de *Sorghum halepense*: capacidad vegetativa

- Obtención de un biopreparado de *Bacillus thuringiensis*

- Influencia de la temperatura en la biología de las especies *Trichogramma pintoi* y *T. pretiosum*



Volumen 1 No. 1-4/1997

CONSEJO EDITORIAL

PRESIDENTE:

Dr. Jorge Ovies Díaz

EDITOR EJECUTIVO:

Dr. Luis Vázquez Moreno

OTROS MIEMBROS DEL CONSEJO EDITORIAL:

Ing. Tania Bonilla (Secretaria)
Dr. Jesús Jiménez Ramos
Dr. Luis F. Pérez Vicente
Dra. Marusia Stefanova Nalimova
Dra. Lérica Almaguel Rojas
Ing. Nery Hernández Pérez
Dr. Gonzalo Dierksmeier Corcuera
Dr. Emilio Fernández Gonzálvez

REDACCION:

Dr. José Fruto Fonseca

REDACCION EN INGLES:

Richard Arnold

PORTADA, EMPLANE Y PUBLICIDAD:

D.I. Vivian Pérez Muñiz

PROMOCIÓN, VENTA Y GERENCIA:

Lic. Lilliam Otero Pujol

ISSN: SOLICITADO

CORRESPONDENCIA Y SUSCRIPCIONES:

Calle 110 No. 514 e/ 5ta B y 5ta F,
Playa. CP 11600. Ciudad de La Habana.
Cuba. Fax: (537) 24 0535.
E-Mail: inisav@ceniai.inf.cu

CANJE:

Ing. Nery Hernández Pérez.
Gaveta Postal 634, Playa.
CP 11300. Ciudad de La Habana. Cuba.

FITOSANIDAD puede ser consultada
en la página WEB del INISAV.
www.ceniai.inf.cu/ciencia/inisav

La revista fue fundada en el año
1978 y publicada bajo el nombre
Protección de Plantas, hasta
el año 1992.

FITOSANIDAD es una publicación
periódica trimestral del Ministerio
de la Agricultura, editada por el *Instituto
de Investigaciones de Sanidad Vegetal*
(INISAV). Publica artículos originales,
comunicaciones cortas e informes técnicos
en idioma español e inglés, en el campo de
la sanidad vegetal, en las temáticas
siguientes: diagnóstico fitosanitario,
ecología y epidemiología, lucha química,
lucha biológica, manejo de plagas,
cuarentena vegetal, resistencia, control
de la calidad e informática fitosanitaria.

Editorial

Estimados colegas:

Después de un período de cinco años de
interrupción en la edición de la revista *Protección
de Plantas* a causa de limitaciones económicas,
reiniciamos la misma, ahora con el nombre de
FITOSANIDAD.

En esta nueva etapa, nos proponemos mantener
el perfil amplio en el campo de la sanidad vegetal,
aspecto que ha caracterizado la revista desde su
surgimiento en el año 1979.

Los avances en el biocontrol y en el Manejo
Integrado de Plagas (MIP) caracterizan la sanidad
vegetal en estos tiempos y nuevos retos surgen
en esta etapa de diversificación de las formas y
tipos de producción en la agricultura cubana,
todo lo cual pretendemos reflejar dinámicamente
en la revista. Tenemos además la misión de
contribuir a la actualización de los profesionales
(investigadores, especialistas y docentes) que se
desenvuelven en el campo de la sanidad vegetal,
así como dar a conocer los avances científicos de
Cuba y otros países de la región.

Pedimos disculpas a los centros que
tradicionalmente reciben nuestra revista, por esta
lamentable interrupción.

Nos complace darles la bienvenida nuevamente
en nuestras páginas.

Cordialmente,

Dr. Jorge Ovies Díaz

Contenido

Utilización de la técnica de inmunofluorescencia indirecta en la detección de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp en semillas de tomate y pimiento.
Zenaida Amat¹, Armando García²

Xanthomonas campestris pv. *aracearum*. Agente causal de la mancha de la malanga (*Xanthosoma*).
Marieta Cordovés González

Phytophthora nicotianae: Velocidad del crecimiento micelial, patogenicidad y sexualidad.
Ana Fernández Morales¹, Wendy Wong Jiménez¹

Aspectos biológicos de *Sorghum halepense*(L.) Pers. II. Capacidad vegetativa.
F. La O¹, R. Labrada¹, R.C.García¹, F. Fernández¹ y L. Plana²

Comportamiento de herbicida en suelo y en el sistema agua-sedimento.
Pura Moreno, G. Dierksmeier, R. Hernández y A. Sisinnio

Establecimiento de los términos de carencia de paration-metilo carbarilo y zineb en la papa (*Solanum tuberosum* SW).
R. Hernández y A. Sisinnio

Uso de herbicidas contra malezas en maní.
E. Paredes¹, Ma. E. Benítez², R.C.García¹

Valoración de tratamientos de herbicidas en girasol (*Helianthus annuus* L.)
R.C.García y R. Labrada

Combate contra el alga roja (*Cephaleuros virescens* Kunze) en cítricos.
Julia E. Almandoz¹, L. Castellanos², E. Pérez¹ y Teresa Rivero¹

Influencia de la temperatura en la biología de las especies *Trichogramma pintoi* y *Trichogramma pretiosum*.

Maida Mollineda Caballero, Mayté López del Castillo, Miguel Milán

Evaluación de diferentes materiales y condiciones para la oviposición de *Galleria mellonella* (Lin)
Ofelia Milán Vargas¹ y Nelly Matos Pérez¹

Eficiencia técnica de un equipo de limpieza de huevos de *Corcyra cephalonica*.
Orlando Cabello Balbín

Obtención de un biopreparado fluído de *Bacillus thuringiensis*.
O. Fernández-Larrea, A. Díaz, E. Laguardia, A. Calderón

Detección y evaluación betaexotoxina(s) en caldo de cultivo de *Bacillus thuringiensis* (Berliner).
Bertha Carreras, José R. Barquín, Caridad Ricardo

Análisis económico de la producción artesanal de *Trichogramma* spp. Dos alternativas de cultivo.
Sánchez, A.M. y A.Camarero

Validación de método de pronóstico de las condiciones climáticas favorables para el desarrollo del ácaro rojo *Tetranychus tumidus* Banks en Cuba.

Rubén Pérez Alvarez, Lérica Almaguel Rojas, Misleibis Márquez Clavijo, Eudaldo de la Torre López

Lista autorizada de las especies de *Colletotrichum* y sus hospedantes encontrados en Cuba.
Yoelkis Tomás, María O. López, Tania Bonilla y Giselle Estrada

PHYTOSANITARY DIAGNOSIS

- 4 Use of the indirect fluorescence technique for the detection of *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp in tomato and sweet pepper seeds
Zenaida Amat¹ and Armando García²
- 10 *Xanthomonas campestris* pv. *aracearum*, causal agent of the malanga (*Xanthosoma*) spot
Marieta Cordovés González

ECOLOGY AND EPIDEMIOLOGY

- 12 *Phytophthora nicotianae*. Speed of the mycelial growth, pathogenisity and sexuality.
Ana Fernández Morales¹ and Wendy Wong Jimenez¹
- 18 Biological aspects of *Sorghum halepense* (L.) Pers, II, Vegetative capacity
F. La O¹, R. Labrada¹, F. Fernández¹ and L. Plana

CHEMICAL CONTROL

- 23 Herbicide behavior in soil and in the water- sediment system.
Pura Moreno, G. Dierkmeier, R. Hernández and A. Sisinnio
- 28 Establishment of the waiting times of parathion- methyl carbaril and zineb in potato (*Solanum tuberosum* SW).
R. Hernández and A. Sisinnio
- 32 Use of herbicides against weeds in peanut.
E. Paredes¹, Ma. E. Benítez² and R.C. García¹
- 38 Valoration of herbicidal treatments in sunflower (*Helianthus annuus* L.)
R.C. García and R. Labrada
- 43 Struggle against the red alga (*Cephaleuros virescens* Kunze) in Citrus
Julia E. Almandoz¹, L. Castellanos², E. Pérez and Teresa Rivero¹

BIOLOGICAL CONTROL

- 48 Influence of temperature in the biology of the species *Trichogramma pinto* and *Trichogramma pretiosum*.
Maida Mollineda Caballero, Mayté López del Castillo and Miguel Milan.
- 52 Evaluation of different materials and conditions for the oviposition of *Galleria mellonella* (Lin)
Ofelia Milán Vargas¹ and Nelly Matos Pérez¹
- 56 Technical efficiency of an outfit to clean eggs of *Corcyra phalonica*
Orlando Cabello Balbín
- 60 Obtainment of a fluid biopreparation of *Bacillus thuringiensis*
Fernández Larrea, A. Díaz, E. Laguardia and A. Calderón
- 64 Detection and evaluation of betaexotoxin (s) in *Bacillus thuringiensis* (Berliner) culture broth.
Bertha Carreras, José R. Barquín and Caridad Ricardo.
- 68 Economic analysis of the unsophisticated production of *Trichogramma* spp. Two culture alternatives.
Miriam Sánchez and Anail Camarero.

PEST MANAGEMENT

- 73 Validation of a method to forecast the climatic conditions favorable for the development of the red mite, *Tetranychus tumidus* Bank in Cuba.
Rubén Pérez Alvarez, Lerida Almaguel Rojas, Misleibis Márquez Clavijo and Eudaldo de la Torre López.

SHORT COMMUNICATIONS

- 79 Actualizate list of *Colletotrichum* species and their host plants in Cuba
Yoelkis Tomás, María O. López, Tania Bonilla y Giselle Estrada

Utilización de la técnica de inmunofluores- cencia indirecta en la detección de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp en semillas de tomate y pimiento

Zenaida Amat ¹ y Armando García ²

¹ Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal

² Laboratorio Central de Cuarentena de Sanidad Vegetal, Ayuntamiento no. 231, esq. San Pedro, Cerro, Ciudad de La Habana

RESUMEN

Se estandarizó la técnica de inmunofluorescencia indirecta en el diagnóstico de *Pseudomonas cichorii* a partir de semillas de tomate y pimiento, se comparó con el medio de cultivo King B envenenado con 300 ppm de oxacilina sódica. Se inocularon concentraciones del patógeno desde 10^3 hasta 10^8 ufc/mL para los trabajos con infección artificial y se procesaron con posterioridad 24 muestras de producción de Pinar del Río y La Habana. Se observa que la técnica de inmunofluorescencia indirecta permitió detectar este patógeno hasta concentraciones de 10^3 bacterias/mL, al igual que con el medio de cultivo utilizado, pero en este último caso en un número menor de muestras. De las muestras de producción analizadas un 26 % de las mismas dieron resultado positivo, lo que pone de manifiesto la utilidad de la técnica IFI para este fin.

Palabras claves: *Pseudomonas cichorii* semillas, inmunofluorescencia y coincidencia

ABSTRACT

Use of immunofluorescence technique for detection of *Pseudomonas cichorii* in tomato and pepper seeds. Indirect immunofluorescence was standardized for *Pseudomonas cichorii* diagnosis in tomato and pepper seeds by comparing pathogen recovery on King B medium and oxacilline 300 ppm. Seeds artificially infected with bacterial concentrations from 10^3 to 10^8 cfu/mL and 24 field samples from P. del Río and Havana were analyzed with both methods. Results showed that IFAS and cultural medium detected this bacterium in the same range (until 10^3 cfu/mL) but with the latter a lower number of sample were positive. Twenty-six percent of the fields samples tested gave signs of bacterial infection by IIF. It was demonstrated the usefulness of this technique for detection of the target bacterium in these solanaceous.

Key words: *Pseudomonas cichorii*, semillas, immunofluorescence and coincidence

Los cultivos de pimiento y tomate son renglones importantes en nuestra economía, y en el caso del pimiento es exportado con gran aceptación en el mercado mundial, en general son utilizados grandemente en la dieta diaria de la población. En ambas solánaceas se informó en Cuba el patógeno *P. cichorii*, en pimiento (Rivera y col., 1981) y en tomate (Pérez, 1979).

Esta bacteria posee un amplio rango de hospedantes y según Amat y Montero, en 1987, puede afectar la achicoria, endivia, lechuga, dalia, crisantemo, escarola y otras, hasta completar más de 30 especies botánicas.

En Cuba sobre pimiento, la enfermedad tomó proporciones de epifitía, ya que las plantas fueron destruidas rápidamente (Rivera y col., 1981).

El diagnóstico de esta bacteria, a partir de plantas y suelo, se realiza en Cuba por el método descrito por Amat y colaboradores, 1987. Por otra parte Rivera y colaboradores, 1981 determinaron la transmisión por las semillas de pimiento de este patógeno al obtener plántulas enfermas, a partir de semillas con diversos grados de manchas. También se obtuvieron resultados en este sentido Messian et Lafont (1970) y Grogan y colaboradores, 1977, con semillas de lechuga.

Debido a estos elementos era necesario encontrar una técnica que permitiera la detección rápida de esta bacteria en las semillas de pimiento y que determinara si existía transmisión a través de las semillas de tomate.

En este sentido diferentes autores, han estandarizado técnicas serológicas de alta sensibilidad, sobre todo con *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola (Van Vuurde y col., 1991, 1992) y *Pseudomonas syringae* pv. pisi (Fraaije y col., 1993) sin encontrarse en la literatura consultada trabajos afines con *P. cichorii*.

En Cuba Amat y Larrinaga, 1992, estandarizaron la técnica de inmunofluorescencia indirecta en la detección de *Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria con resultados muy satisfactorios y con *Xanthomonas campestris* pv. campestris y *Xanthomonas campestris* pv. allicola (Amat y col., 1994).

Dada la importancia que tiene la *P. cichorii* para Cuba por ser objeto de cuarentena y que incluso puede sobrevivir por algún período de tiempo en

el suelo (Grogan y col., 1987; Amat y col., 1989), se estandarizó una técnica que permite la detección precoz de la misma.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos se realizaron con semillas de tomate y pimiento de las variedades 'Campbell-28' y 'California Wonder', respectivamente

Se inocularon 20 g de semillas separadamente con concentración desde 10^8 ufc/mL hasta 10^5 ufc/mL de suspensión del patógeno, se sumergieron durante una hora y se secaron según experimentos previos la concentración de 10^8 fue ajustado en espectrofotómetro a 520 nm y se realizaron diluciones en cada caso.

El líquido para la técnica de inmunofluorescencia indirecta se obtuvo por el método de Rat (1982), el cual ya se había comprobado con resultados satisfactorios para la detección de *Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria en los mismos cultivos y que consistió en la maceración de tres porciones de 5 g de semillas de tomate y pimiento en 40 mL de tampón fosfato pH 7.2 0.01M durante una hora y se agitó cada cierto tiempo. La técnica IFI se comparó con el medio semi selectivo King B + 300 ppm de oxacilina sódica (Amat y col., 1987).

Para ambas pruebas se hicieron diluciones decimales seriadas hasta 1 en 10. En el medio se sembraron 100 microlitros por placa y dos placas por dilución. El conteo de colonias se realizó a las 72 h. La técnica serológica se efectuó con portaobjetos limpio y desgrasados, rotulados con círculos de 16 mm de diámetro sobre los que se depositaron 100 microlitros del líquido a analizar (2 frotis/muestra).

En estos ensayos se utilizó inmunosuero específico anti-*Pseudomonas cichorii* y el conjugado consistió en un suero de carnero anti-IgG de conejo, marcado con isotiocianato de fluoresceína. Los inmunosueros se emplearon en las siguientes diluciones: Suero específico 1:640 y conjugado fluorescente 1:100. La técnica se realizó según Rat (1982) y Van Vuurde y col., 1983.

Las observaciones se hicieron con ocular de 10x y objetivo de 100, con luz azul y epifluorescencia.

Se efectuó el conteo de bacterias fluorescentes en 30 campos de dos diámetros perpendiculares de cada frotis y se tuvieron en cuenta nada más aquellos con emisión de fluorescencia típica (borde verde intenso y centro oscuro). Se consideró positiva la lámina que tuviera cinco células fluorescentes por campo. Se hicieron dos controles: bacteria pura con los mismos pasos y muestra sin inmunosuero específico.

La concentración se determinó por la siguiente fórmula según Faure y colaboradores, 1978 y Rat (1982).

$$N = \frac{n \pi D}{4d}$$

Donde: N = Número total de bacterias
n = Número de bacterias observadas
D = Diámetro del círculo
d = Campo del microscopio (dado por las características del equipo)

$$C = \frac{N}{V}$$

C = Concentración de bacteria
V = Volumen de la gota depositada

Se realizaron tres réplicas con cada concentración inoculada. Además de las muestras infectadas artificialmente se analizaron 111 muestras de semillas de producción y se procedió según la forma ya descrita para las muestras inoculadas.

Las que resultaron positivas en la técnica IFI y no así en el medio de cultivo se investigaron nuevamente en IFI para una mayor seguridad, además sus semillas fueron puestas en cámara húmeda para observar la aparición de síntomas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los recobrados a partir de las semillas de tomate y pimiento (tres réplicas por concentración inoculada) se reflejan en las Tablas 1 y 2.

Tablas 1 y 2. Recobrados obtenidos a partir de las semillas de tomate inoculadas artificialmente con *Pseudomonas cichorii* por la técnica de inmunofluorescencia y el medio semiselectivo King B

Concentración inoculada	Concentración recobrada	
	IFI	Medio de cultivo
10 ⁸ UFC/mL	1 x 10 ⁷ bat/mL	2 x 10 ⁷ UFC/mL
10 ⁷ UFC/mL	1,5 x 10 ⁶ bat/mL	3 x 10 ⁵ UFC/mL
10 ⁶ UFC/mL	4 x 10 ⁵ bat/mL	2 x 10 ⁵ UFC/mL
10 ⁵ UFC/mL	2,5 x 10 ⁴ bat/mL	Negativo
10 ⁴ UFC/mL	1 x 10 ³ bat/mL	Negativo
10 ³ UFC/mL	Negativo	Negativo

Concentración inoculada	Concentración recobrada	
	IFI	Medio de cultivo
10 ⁸ UFC/mL	2 x 10 ⁷ bat/mL	1,5 x 10 ⁷ UFC/mL
10 ⁷ UFC/mL	1 x 10 ⁶ bat/mL	1 x 10 ⁵ UFC/mL
10 ⁶ UFC/mL	2 x 10 ⁵ bat/mL	1 x 10 ⁵ UFC/mL
10 ⁵ UFC/mL	3 x 10 ⁴ bat/mL	Negativo
10 ⁴ UFC/mL	2 x 10 ³ bat/mL	Negativo
10 ³ UFC/mL	Negativo	Negativo

Leyenda: UFC/mL - unidades formadoras de colonias por mililitro
bat/mL - bacterias por mililitro

Se observa que al utilizar la técnica IFI se recobran bacterias hasta el orden de 10³ bac/mL en ambas especies de semillas, sin

embargo con el medio de cultivo se obtienen recobrados sólo hasta que las semillas se inoculan con 10⁵ UFC/mL y se observa que se

pierde concentración, sin revelar inoculaciones bajas. Este medio fue diseñado por Amat y colaboradores (1987), para aislar el microorganismo del suelo, sin embargo, en el caso de las semillas, cuando estas tienen bajas concentraciones no resulta eficaz, e incluso muestras bien positivas en IFI no lo son en el medio de cultivo debido al comportamiento errático de este.

Las diluciones de los antisueros utilizados resultaron adecuadas para la ejecución de la técnica serológica.

El método de extracción utilizado resultó útil al igual que para *X. campestris* pv. *vesicatoria* (Amat y Larrinaga, 1992). Otras investigaciones realizadas en este sentido por EPPO (1992) con *X. campestris* pv. *vesicatoria* y *Clavibacter michiganensis* subs. *michiganensis* utilizan el mismo método con resultados satisfactorios, además con éste es con el que menos residuos vegetales se obtienen (Van Vuurde (1985).

El método de inoculación resultó adecuado ya que se recuperaron bacterias hasta cuando las semillas se inocularon con concentraciones tan bajas como 10^4 UFC/mL, lo que puso de manifiesto lo útil del mismo (Amat y col., 1988; Amat y col., 1990).

La técnica IFI empleada corrobora los resultados de Van Vuurde y colaboradores (1983), para otras bacterias fitopatógenas.

De las muestras de producción analizadas un 26 % de estas dieron resultado positivo, lo que pone de manifiesto la utilidad de la técnica IFI para estos fines (Tabla 3). Las muestras que resultaron positivas en la técnica IFI y no en el medio de cultivo dieron nuevamente resultados positivos cuando se les repitió el ensayo, las células mostraron el borde verde intenso y centro oscuro, así como la morfología típica de *P. cichorii* al compararlas con los portaobjetos hechos con bacteria pura, lo que descarta la presencia de reacciones heterólogas.

Tabla 3 Muestras de producción positivas por la técnica de inmunofluorescencia y medio de cultivo

Número de muestra	Grado de positividad	Origen	Cultivo	UFC/mL en medio selectivo	Campanas
72	+++	P. del Río	Tomate	Negativo	+
109	+++	P. del Río	Pimiento	Negativo	+
110	+++	P. del Río	Pimiento	Negativo	+
44	+++	P. del Río	Tomate	Negativo	+
45	+++	P. del Río	Tomate	Negativo	+
47	+++	P. del Río	Tomate	Negativo	+
48	+++	P. del Río	Tomate	Negativo	+
57	+++	P. del Río	Tomate	Negativo	+
46	+	P. del Río	Tomate	Negativo	+
240	+++	Habana	Pimiento	Negativo	+
166	++	Habana	Tomate	Negativo	+
226	++	Habana	Pimiento	4×10^3	-
225	++	Habana	Pimiento	2×10^3	-
228	++	Habana	Pimiento	$1,5 \times 10^4$	-
314	+	Habana	Pimiento	Negativo	+
1	++	Habana	Pimiento	5×10^3	-
2	++	Habana	Pimiento	3×10^3	-
361	+++	Habana	Tomate	1×10^5	-
362	+++	Habana	Tomate	$2,5 \times 10^5$	-
430	+	Habana	Tomate	Negativo	+
431	+	Habana	Tomate	Negativo	+
432	+	Habana	Tomate	Negativo	+
242	++	Habana	Tomate	4×10^3	-
1608	+++	Habana	Pimiento	$3,2 \times 10^5$	+

Leyenda: + 5 células por campo
 ++ 6 a 10 células por campo
 +++ Más de 10 células por campo

El método es reproducible, aún cuando se analicen grandes volúmenes de muestras, ya que en un día se pueden inspeccionar hasta 20 de ellas si se cuenta con el equipamiento necesario.

Schaad y Donaldson (1980) y Schaad (1983) encontraron resultados similares al detectar un mayor número de muestras positivas en IFI que en medio de cultivo con *X. campestris* pv. *campestris*. Otros autores como Van Vuurde y colaboradores (1983), hallaron altos números de muestras positivas con esta técnica serológica, mientras que la dilución en placa y ELISA tuvieron un resultado similar al trabajar con bacterias del frijol. Por último Van Vuurde y colaboradores (1991), encontraron para el tizón de halo bacteriano que de 195 muestras positivas en IFI la presencia de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* sólo pudo ser confirmada en 70 de éstas teniendo que recurrir a un método biológico.

Las semillas de las muestras puestas en cámara húmeda mostraron síntomas típicos del patógeno en algunas plantas en nuestras condiciones.

Es necesario resaltar que no existen antecedentes anteriores de la detección de esta bacteria en las semillas del tomate y el pimiento con esta técnica y muy escasos con otras. Este trabajo corrobora los planteamientos emitidos por Matta y Garibaldi en 1970 y Rivera y colaboradores (1981), sobre la transmisión de este microorganismo en el órgano de la planta. Además se demostró la presencia de *P. cichorii* en las semillas del tomate a nivel mundial.

CONCLUSIONES

La técnica IFI es eficaz para detectar *P. cichorii* en las semillas del tomate y el pimiento hasta concentraciones de 10^3 bac/mL.

El método de extracción es eficaz para estos fines.

RECOMENDACIONES

- Utilizar la técnica IFI en el diagnóstico de *P. cichorii* en semillas de tomate y pimiento.

- Probar este método con otras especies de semillas botánicas de cultivos hospedantes de esta bacteria.

BIBLIOGRAFÍA

- Amat, Z.; A. Hernández; M. de los A. Felipe; M. Valdivia y L. Larrinaga. *Comparación de la eficacia de varios medios de cultivo en la detección de Xanthomonas campestris pv. vesicatoria en semillas de tomate y pimiento*. Minag, 3ra Jornada Científico Técnica de Sanidad Vegetal, Ciego de Ávila, 22 p., 1988.
- Amat, Z.; G. González; A. L. Echemendia y C. Font. *Diagnóstico de enfermedades bacterianas y virales en semillas de cultivos hortícolas*, IX Forum de Ciencia y Técnica. INISAV, La Habana, 1994.
- Amat, Z. y N. Montero. Comportamiento de aislamientos cubanos de *Pseudomonas cichorii* sobre un grupo de especies de plantas cultivadas. C. T. A., *Protección de plantas*, 10 (2), 1987.
- Amat, Z., L. Marrero y L. Larrinaga. Selectividad de un medio de cultivo en el aislamiento de *Pseudomonas cichorii* del suelo. C.T.A., *Protección de plantas*, 10 (2), 1987.
- Amat, Z.; L. Larrinaga y L. Marrero. Sobrevivencia de *Pseudomonas cichorii* en un suelo ferralítico Rojo inoculado artificialmente. C.T.A., *Protección de Plantas*, 12 (4), 1989.
- Amat, Z.; M. A. Hernández; M. de los A. Felipe; N. Arencibia y L. Larrinaga. *Comparación de dos métodos de diagnóstico en la detección de Xanthomonas campestris pv. vesicatoria en semillas de tomate y pimiento*. Evento Internacional de Sanidad Vegetal y XII Congreso de la ALAM, Ciudad de La Habana, 1990.
- Amat, Z. y L. Larrinaga. *Utilización de la técnica de inmunofluorescencia indirecta en la detección de Xanthomonas campestris pv. vesicatoria en semillas de tomate y pimiento*. Evento de Biotecnología, 1992.
- EPPO Bulletin. Quarantine procedure *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*, *Test methods for tomato seeds*, 22, 247-252, 1992.
- EPPO Bulletin. Quarantine procedure. *Clavibacter michiganensis* subs *michiganensis*, *Test methods for tomato seeds*, 22, 219-234, 1992.
- Faure, M.; P. Dupoey et M. V. Morelec. *Les techniques de l'immunofluorescence et les réactions immunoenzymatiques*, Cours de l'Institute Pasteur. Maloine S. A., Editeur Paris 566 p., 1978.

- Grogan, R. G.; I. J. Misaghi, K. A. Kimble, A. S. Greathead; D. Ririe and R. Bardin. Varnish spot, destructive disease of lettuce in California caused by *Pseudomonas cichorii*. *Phytopatology*, 67 (8) 957-960, 1977.
- Messlaen, C. M. et R. Lapon. *Les maladies de plantes maraicheres*. Paris. 441 p., 1970.
- Pérez, R. *El tomate, el nuevo hospedero de Pseudomonas cichorii*, I Jornada Científica del INISAV, La Habana, 1 979.
- Rat, B. *Detection de Corynebacterium michiganense agent du chancre bacterienne dans les graines des tomates*. C. R. Workshop ISTA. Nov. Angers. 1982.
- Rivera, N.; Z. Amat y M. Hevesi. Pudrición foliar del pimiento en Cuba causada por *Pseudomonas cichorii*. *Agrotecnia de Cuba*, 13 (2), 1981.
- Schaad, N. W. Correlation of laboratory essays for seed borne bacteria with disease development, *Seed Sci and Technol.*, 11: 877-883, 1983.
- Schaad, N. W. and R. C. Donaldson. Comparison of two methods for detection of *Xanthomonas campestris* in infected crucifer seeds, *Seed Sci. and Technol.*, 8: 383-391, 1980.
- Van Vuurde, J. W. L., Van der Bovekamp and Y. Birbaum. Immunofluorescence microscopy and enzyme linked immunosorbent essay as potential routine test for the detection of *Pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola* and *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* in bean seed. *Seed Science and Tecnology*, 11: 547-559, 1983.
- Van Vuurde, J. W. L.; A. A. J. M. Franken; Y. Birbaum and G. Jochens. Characteristics of immunofluorescence microscopy and of dilution plating to detect *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in bean seed lots and for risk assesment of field incidence of halo blight. *Neth., J. PL. Path.*, 97: 233-244, 1991.
- Van Vuurde, J. W. L., Ph. De Vries and M. M. López. *Colonization studies of potato stems by Erwinia spp. including in planta detection of infection sites of the target in transection of the stem using immunofluorescence colony-staining (IFC) after in situ enrichment in agar medium*. 8th **International Conference of Plant Pathogenic Bacteri**, 1992.
- Fraaije, B. A., A. A. J. M. Franken, P. S. Van der Zouwen, R. J. Bino and C. J. Langerak. Serological and conductimetric assays for the detection of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in pea seeds, *Journal of Applied Bacteriology*, 75, 1993.
- Van Vuurde, *Detecting seeds borne bacteria by immunofluorescen*. *Procededdings of the sixth International Conference on Plant Pathogeny Bacteria*. Maryland. p. 799-808. 1985.

Xanthomonas

campestris pv. *aracearum*.

Agente causal de la mancha
foliar de la malanga
(*Xanthosoma*)

Marieta Cordovés Gonzáles

Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Camagüey.
Ave. Cajigal km 2 ½ e/ Fabrica de Nitrogeno y
Circunvalación, Camagüey

RESUMEN

A partir de plantas de malanga (*Xanthosoma* sp.), cuyas hojas presentaban pequeñas manchas irregulares de color pardo claro, se aislaron cepas bacterianas que de acuerdo con los caracteres morfológicos, culturales, fisiológicos, bioquímicos y patogénicos, fueron identificadas como *Xanthomonas campestris* pv. *aracearum* (Berniac) Dye. *Xanthomonas campestris* pv. *aracearum* (Berniac) Dye, agente causal de la mancha foliar de la malanga (*Xanthosoma* sp.)

Palabras clave: *Xanthomonas campestris*, *Xanthosoma* y enfermedades de las plantas

ABSTRACT

From taro plants (*Xanthosoma* sp.) with leaves showing small irregular light brown spots, bacterial strains were isolated which, according to the morphological, cultural, physiological, biological and pathogenic characters, were identified as *Xanthomonas* pv. *aracearum* (Berniac) Dye.

Key words: *Xanthomonas campestris*, leaf spot and *Xanthosoma*

COMUNICACION CORTA

En campos de malanga (*Xanthosoma* sp.), ubicados en la CPA "Roberto Rodríguez" en Camagüey, se presentaron plantas localizadas por cayos, en las que se veían hojas con manchas irregulares de color pardo claro, humedecidas y de pequeño tamaño, varias confluyen y abarcan, así grandes zonas del limbo, se desprendieron porciones de tejido descompuesto, especialmente en los bordes de la hoja.

Berniac describe síntomas similares en *Xanthosoma sagittifolium*. Determina que el agente causal fue *Xanthomonas campestris* pv. *aracearum* (Berniac) Dye.

Para esclarecer la causa de la sintomatología observada, se efectuó la siembra de las porciones en el medio nutriente agar. La prueba de patogenicidad fue realizada en plantas de malanga (*Xanthosoma* sp.) de dos meses de edad.

mediante infiltración de una suspensión de 10^6 UFC/ml por inyección y aspersión en las hojas. Las plantas testigos se inocularon con agua destilada estéril. De igual manera, se procedió con plantas de malanga del género *Colocasia*.

A las 72 h de sembradas, crecieron colonias amarillas, lisas, brillantes y traslúcidas. El crecimiento en medio YDC tuvo un color amarillo de consistencia mucosa.

Los aislamientos resultaron bacilos gramnegativos con un flagelo polar. El metabolismo fue oxidativo, no produjeron indol, ni redujeron nitratos. Utilizaron el tartrato y produjeron sulfídrico. Efectuaron la hidrólisis de gelatina, almidón y Tween 80; no crecieron a concentraciones mayores de 3 % de NaCl, según Frobisher, Harrigan y Schaad.

En las plantas de *Xanthosomas* sp., a los cinco días de inoculadas, se presentaron pequeñas manchas humedecidas, las cuales durante los ocho y diez días, adquirieron coloración pardo claro.

En las del género *Colocasia* no se reprodujeron los síntomas.

Al comparar los resultados de las características morfológicas, culturales, fisiológicas y bioquímicas, con lo descrito por Bradbury para la especie *Xanthomonas campestris* y por el hospedante del cual fue aislada, se puede ubicar el agente causal como *Xanthomonas campestris* pv. *aracearum* (Berniac) Dye, lo que se corresponde con lo encontrado por Berniac.

BIBLIOGRAFÍA

- Berniac, M. Une maladie bactérienne de *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott. *Annales de phytopathologie*, 6: 197-202, 1974.
- Bradbury, F. J. Genus II *Xanthomonas* Dowson 1939. En *Bergey's Manual of Determinative Systematic Bacteriology*, vol I., p. 199-220, N. R. Krieg and J. G. Holt (ed.), Londres, 1984.
- Dye, D. W.; J. F. Bradbury; M. Goto; A. C. Hayward; R. A. Lelliott y N. N. Schroth. International standards for naming pathovars of phytopatogenic bacteria and a list of pathovar names and pathotype strains. *Rev Plant Pathology*, 59 (4): 153-168, 1980.
- Frobisher, M. *Microbiología*. Salvat Editores, S. A., Barcelona, 743 p., 1969.
- Harrigan, W. F. y M. McCance. Métodos de laboratorio en microbiología. Edit. Academia León, España, 426 p., 1966.
- Schadd, N. W. *Laboratory Guide for identification of Plant Pathogenic Bacteria*, p. 43-49, 1980.

CONTACTARNOS

Usted puede adquirir nuestra revista a través de:

- **Adquisición:** suscripciones anuales o números independientes
- **Canje:** con publicaciones nacionales o relacionadas.
- **Internet:** a través de nuestra página web

PAGINA WEB
fito

Contáctenos:

Ing. Nery Hernández Pérez

Calle 110, n° 514, e/. 5a. B y 5a. F, Miramar, Playa,
Ciudad de La Habana, Cuba.

Teléfonos: 29-5232, 22-9366. Fax: 22-9366, 240535

E-Mail: inisav@ceniai.inf.cu, www.ceniai.inf.cu/ciencia/inisav/

Phytophthora

nicotianae: Velocidad del crecimiento micelial, patogenicidad y sexualidad

Ana Fernández Morales y Wendy Wong Jiménez

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal

RESUMEN

Se midió la velocidad del crecimiento micelial y la patogenicidad de diferentes aislados de *Phytophthora nicotianae*. Se realizaron cruzamientos duales entre los aislados de este patógeno para estimular la producción de la fase sexual y se estudió la hibridación entre *P. nicotianae* y *Phytophthora infestans*. Además, se clasificaron los aislados de tabaco de acuerdo con el grupo de compatibilidad sexual. Se comprobó que existe variabilidad patogénica entre los aislados de tabaco. Los aislamientos más virulentos fueron 845 y Sabana. La velocidad del crecimiento micelial fue superior en el aislado 227 (cinco días), mientras el resto de los aislamientos alcanzaron su máximo crecimiento a los siete y nueve días, no se observó correspondencia entre la velocidad del crecimiento micelial y la patogenicidad. Se apreció la formación de oosporas en medio de cultivo producto del enfrentamiento dual de los aislamientos del patógeno y se logró la formación de las estructuras reproductivas de *P. nicotianae* y *P. infestans*. Se conoció por primera vez en Cuba la presencia de los dos grupos de compatibilidad sexual, lo que permite suponer que estén presentes en las plantaciones y posibiliten una mayor diversidad poblacional del patógeno.

Palabras claves: Patogenicidad, oosporas, poder patógeno y *Phytophthora nicotianae*

ABSTRACT

The micelial growing speed and pathogenicity of different isolates of *Phytophthora nicotianae* were measured. Duals crossing were made between pathogen's isolations with the objective of stimulation of the sexual production and hybridation was studied between *P. nicotianae* and *Phytophthora infestans*. Tobacco isolates were classified according sexual compatibility group. It was verified the existence of pathogenic variability between tobacco isolates. Sabana and 845 were the most virulent. Concerning micelial growing, 227 isolate was superior (five days), while the others reached it's maximal grow at seven and eight days without showing correspondence between micelial growing speed and pathogenicity. The formation of oospores into a media due to the dual confrontation of the pathogen's isolates was seen and it was obtained formation of reproductive structures of *P. nicotianae* and *P. infestans*. It was knew for first time in Cuba, the presence of both sexual compatibility groups, so we can suppose they are present in ours plantains and make possible greater populational diversity of the pathogen.

Key words: Pathogenecity, oospores and *Phytophthora nicotianae*

INTRODUCCIÓN

P. nicotianae, es un patógeno del suelo que ataca el cultivo del tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y aún en la actualidad continúa causando grandes pérdidas en diversas partes del mundo (Delon, 1991 y Lacourt, 1995) y en Cuba (Fernández y col., 1995). Bajo condiciones de clima favorable, pueden desarrollarse epifitotías en pocos días con consecuencias desastrosas, como las observadas en algunas campañas después de 1982 donde se incrementaron considerablemente las afectaciones en todas las regiones tabacaleras del país.

Este patógeno tiene la capacidad de vivir en el suelo, en ausencia del cultivo por varios años y la sobrevivencia del inóculo en el mismo; es vital para el inicio de las infecciones y el desarrollo de epifitotías (Mehrotra y Prasad, 1980).

Se considera que las estructuras como las clamidosporas y las oosporas, presentan características particulares de resistencia, que las señalan como el inóculo principal, mediante el cual el hongo puede persistir en el suelo (Weste, 1983).

Las oosporas son sumamente raras en muchas especies heterotálicas, como *P. nicotianae* y por lo general se forman únicamente cuando se aparean aislamientos del hongo pertenecientes a grupos opuestos de compatibilidad sexual (Elliott, 1983).

La formación de oosporas en una especie, posibilita una gran variabilidad entre los individuos de la población del patógeno, con características diferentes en cuanto a patogenicidad y virulencia, adaptabilidad, entre otros aspectos.

Determinar la variabilidad cultural y patogénica, inducir la formación de oosporas y conocer la presencia de grupos de compatibilidad sexual en Cuba, fueron los objetivos de este trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

▪ Velocidad del crecimiento micelial y patogenicidad de aislamientos de *P. nicotianae* en plantas de tabaco.

Los aislamientos empleados fueron obtenidos de plantas de tabaco con síntomas de la enfermedad pata prieta, de diferentes regiones de Cuba y mantenidos sobre medio agar de papa-dextrosa.

Para medir el crecimiento micelial se utilizaron los aislados 227, 223, 233, 845, PR-2, L. P. y Sabana. De cada uno de ellos se tomó un disco de agar con micelio de 5 mm de diámetro y se colocaron en el centro de cada placa de Petri con medio V₃ (tomate, remolacha y zanahoria), utilizado en el INISAV (López y col., 1996). Diariamente se midió el crecimiento de las colonias hasta que cubrieron toda la placa. Se emplearon 10 réplicas por cada variante.

Para el estudio de la patogenicidad, se utilizó suelo Ferralítico Rojo esterilizado en autoclave a 1 atm de presión, durante 45 min por tres días consecutivos. Este se añadió en recipientes y se humedeció hasta su completa capacidad de retención del agua.

Se utilizaron plántulas de tabaco de la variedad 'Corojo' de 20 días de germinadas las semillas que posteriormente se trasplantaron (cuatro plántulas) a los recipientes con el suelo esterilizado y se incubaron a $28 \pm 2^\circ\text{C}$ bajo condiciones de iluminación artificial y elevada humedad.

Los aislamientos del patógeno se cultivaron independientemente en medio V₃ líquido, durante siete días a 27°C . Posteriormente, se añadieron 10 mL de cada aislamiento de forma independiente en cada recipiente donde se hallaban las plántulas y se incubaron en condiciones ambientales con temperaturas que oscilaron entre 28 y 32°C . Las plántulas se observaron diariamente y se cuantificó la mortalidad de las mismas por cada variante.

▪ Formación de oosporas de *P. nicotianae* y clasificación de grupos de compatibilidad sexual.

Para obtener las oosporas, se trabajó con los mismos aislamientos explicados en el epígrafe anterior, de los cuales se tomaron discos de agar con micelio de 5 mm y se colocaron en pares en los extremos de cada placa de Petri con medio agar V₃ y se incubaron a una temperatura de 25°C durante cinco a siete días, de forma tal que ambas cepas se unieran y con ayuda del microscopio se observó la presencia y cantidad de oosporas formadas en seis discos de micelio.

Para determinar el grupo de compatibilidad, se utilizó una cepa de referencia de *P. infestans* del grupo A₁ y se cruzó con los aislamientos 227, PR-2, Sabana, L. P., 845, 223 y 233, según el procedimiento referido anteriormente para

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Velocidad del crecimiento micelial y patogenicidad de aislamientos de *P. nicotianae* en plantas de tabaco

En los ensayos se evidenció que el patógeno se caracteriza por un crecimiento micelial rápido en el medio de cultivo V3 y alcanzó el máximo crecimiento entre cinco y nueve días de incubación (Figura 1). La velocidad del crecimiento micelial fue superior en el aislamiento 227, cuyo valor máximo de crecimiento del micelio (85 mm) se observó al quinto día de incubación, mientras que en los aislamientos 223 y Sabana, se observó al sexto día y en el resto (233, L. P., PR-2 y 845) se evidenció más tarde, a los nueve días de iniciado el experimento.

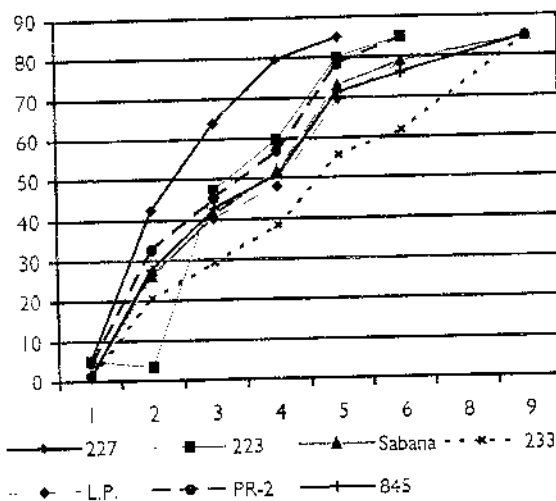


Figura 1 Velocidad del crecimiento micelial de aislamientos de *Phytophthora nicotianae*

Se observó que existe variabilidad patogénica entre los aislamientos del patógeno, aunque hubo predominio de aislamientos muy virulentos, como 845, Sabana, 223, 227 y 233. Dos de ellos L. P. y PR-2, no provocaron afectaciones severas en las plantas.

La mortalidad de las plantas fue entre 80 y 100 % en los cinco aislamientos más virulentos y de 20 a 40 % en los dos aislamientos con débil virulencia. Los síntomas de la enfermedad y muerte de las plantas, se vio primero en los aislamientos Sabana, 845 y 223. Posteriormente, se observó en orden decreciente con los aislamientos 233, 227, L. P. y PR-2. La enfermedad progresó aceleradamente con el

transcurso del tiempo, de forma general, pero fue más acentuada en las plantas infectadas por los aislamientos más virulentos.

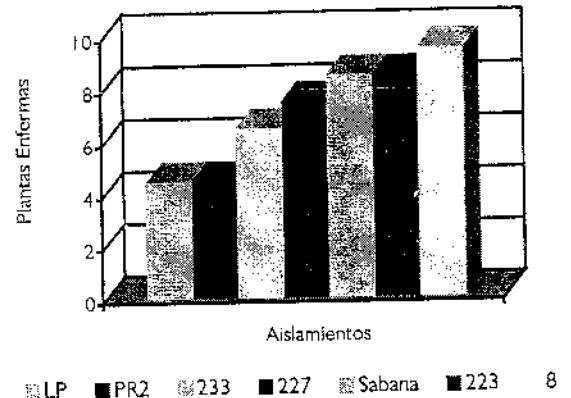


Figura 2 Variabilidad patogénica de aislamientos de *Phytophthora nicotianae* sobre plantas de tabaco

Los aislamientos más virulentos, no fueron en la mayoría de los casos los que crecieron más rápido *in vitro*. El aislamiento 845 fue el más severo en el ataque a las plantas de tabaco; sin embargo, demoró nueve días en alcanzar su máximo crecimiento micelial en el medio de cultivo. No existió correspondencia entre la velocidad del crecimiento micelial y la virulencia de los aislamientos probados, por lo que hasta el presente no puede emplearse este primer parámetro para caracterizar patogénicamente dichos aislamientos.

P. nicotianae se consideró por mucho tiempo como un organismo estable desde el punto de vista patogénico, pero Powers y Lucas (1952), señalaron aislamientos muy poco virulentos y más tarde, se encontraron varias estirpes que diferían marcadamente en su patogenicidad sobre el tabaco.

Más tarde, Lucas (1965), consideró que la existencia de aislamientos sumamente virulentos explica el número extremadamente elevado de plantas infectadas, que puede ser observado con frecuencia en variedades resistentes en el campo. En Cuba, Peñalver (1985), evaluó la virulencia de tres aislamientos de este hongo en nueve variedades de tabaco y también encontró diferencias patogénicas significativas entre los aislamientos empleados en los experimentos.

La variabilidad patogénica de este hongo ha sido más recientemente observada, entre ocho aislamientos obtenidos de dos regiones (Cuba y Estados Unidos), entre los que se encontraban

algunos muy virulentos (Ricci y col., 1992). También Csinos y Bertrand (1994), en un estudio sobre distribución de razas del patógeno en Georgia, Estados Unidos, observaron diferencias patogénicas de los aislamientos cuando fueron inoculados sobre diferentes variedades de tabaco.

Esta característica se ha observado en otras especies de *Phytophthora* como *P. cactorum* (Ramachandran y col., 1991) y *P. cinnamomi* (Dudzinski y col., 1993). En el género *Phythium*, particularmente con *P. aphanidermatum* se ha encontrado variabilidad patogénica que va desde aislamientos que provocaron entre 75 y 100 % de afectación a otros que causaron 50; 25 % de daño en las plantas (Rajendra y col., 1973), lo

cual coincide con los resultados del trabajo con *P. nicotianae*.

■ **Formación de oosporas de *P. nicotianae* y clasificación de grupos de compatibilidad sexual**

De los 21 cruzamientos realizados, en solo seis de ellos se observó la formación de oosporas en el micelio, sobre el medio de cultivo. Ellos fueron los cruzamientos realizados entre el aislamiento 227 y 845, PR-2, L. P., 223, 233 y Sabana, que evidencian que de los siete aislamientos, seis fueron del mismo grupo de compatibilidad sexual y solo uno, el 227, correspondió a otro grupo diferente

Tabla 1. Formación de oosporas en medio de cultivo por cruzamiento de aislamientos de *P. nicotianae*

Aislamientos	Formación de oosporas
227 x 845	+
227 x 223	+
227 x 233	+
227 x Sabana	+
227 x L. P.	+
227 x PR-2	+
845 x 223	-
845 x 233	-
845 x Sabana	-
845 x L. P.	-
845 x PR-2	-
223 x 233	-
223 x Sabana	-
223 x L. P.	-
223 x PR-2	-
233 x Sabana	-
233 x L. P.	-
233 x PR-2	-
Sabana x L. P.	-
Sabana x PR-2	+

Generalmente se formaron oosporas entre los cinco y siete días después de enfrentar dichos aislamientos. Entre los cruzamientos realizados, se observaron diferencias en la cantidad de oosporas formadas. Los cruzamientos entre el aislamiento 227 y los PR-2, 845, 233 y 223, produjeron abundantes oosporas, mientras que en el cruzamiento entre 227 y los aislamientos L. P. y Sabana el número de oosporas fue mucho menor. La mayor formación de oosporas ocurrió en la zona de enfrentamiento de los aislamientos, aunque

éstas se observaron en el resto de ambas colonias.

El tamaño de las oosporas osciló entre 20 y 30 μ m con un diámetro de 25 μ m como promedio, tienen forma lisa, esférica, son de hialinas a color paja y ocupan casi todo el interior del oogonio. La pared midió 2 μ m. El anteridio anfígeno, que se produce como célula terminal de una ramificación lateral, sujeta fuertemente el tallo del oogonio, que se mantiene permanentemente unido a él.

Ashby (1929), indicó que el desarrollo de oosporas como producto del apareamiento de aislamientos, se debe a una estimulación bioquímica entre los aislamientos opuestos. Más tarde Ko (1978), observó la producción de oosporas entre aislamientos, los cuales fueron previamente separados por una membrana, para que sus hifas no se pusieran en contacto durante el experimento, lo que sugirió la presencia de una sustancia que difundió en el medio de cultivo.

Cuando se enfrentó el aislamiento 10 de *P. infestans* perteneciente al grupo de compatibilidad A₁ y los siete aislamientos de *P. nicotianae*, se observó que ocurrió la formación de las estructuras sexuales de ambas especies, excepto en presencia del aislamiento 227 (Tabla 2). De acuerdo con estos resultados, se determinó que el aislamiento 227 correspondió al grupo de compatibilidad sexual A₂ y el resto al grupo A₁ (Tabla 3).

Tabla 2. Cruzamiento entre los aislamientos de *P. nicotianae* y el aislamiento de *P. infestans*

Aislamientos	Formación de oosporas
<i>P. infestans</i> x 227	+
<i>P. infestans</i> x PR-2	-
<i>P. infestans</i> x L. P.	-
<i>P. infestans</i> x Sabana	-
<i>P. infestans</i> x 233	-
<i>P. infestans</i> x 223	-
<i>P. infestans</i> x 845	-

Tabla 3. Clasificación de aislamientos de *P. nicotianae* según el grupo opuesto de compatibilidad sexual

Aislamientos	Grupo de compatibilidad sexual	
	A ₁	A ₂
PR-2	+	-
L. P.	+	-
Sabana	+	-
233	+	-
223	+	-
845	+	-
227	-	+

Este hecho corrobora la presencia de ambos grupos de compatibilidad sexual en la naturaleza, y por ende, la posibilidad de que puedan formarse las oosporas en el campo, lo que proporcionaría una gran variabilidad de la población del patógeno en el suelo.

Las oosporas se formaron a temperaturas de 27°C en todas las pruebas realizadas, lo cual no coincide con lo informado por Honour y Tsao (1974), quienes informaron que *P. parasitica* no forma oosporas a temperaturas altas (28°C), sino a temperaturas más bajas de 16 y 20°C.

P. nicotianae forma híbridos intra o interespecíficos con sus propios aislamientos y con algunas especies de *Phytophthora* (Erwin y

col., 1963), lo que es corroborado por los resultados. Se evidenció por primera vez en Cuba, la presencia de los dos grupos de compatibilidad sexual de este patógeno.

CONCLUSIONES

- La velocidad del crecimiento micelial y la patogenicidad es variable en los aislamientos de *P. nicotianae* y no existe relación entre estos parámetros.
- Ocurre formación de oosporas en el enfrentamiento dual de aislamientos de *P. nicotianae* de diferentes grupos de compatibilidad sexual.

- El enfrentamiento dual entre el aislado 10 de *P. infestans* (A₁) y el aislamiento 227 de *P. nicotianae* (A₂), estimuló el desarrollo de las estructuras sexuales de ambos patógenos y permitió la clasificación de los grupos de compatibilidad sexual.

BIBLIOGRAFÍA

- Ashby, S. F. Strains and taxonomy of *Phytophthora palmivora* Butler (P. faberi Maubl.) *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 14: 18-38, 1929.
- Csinos, A. S. and P. F. Bertrand. Distribution of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* races and their sensitivity to metalaxil in Georgia, *Plant Dis.*, 78: 471-474, 1994.
- Delon, R. Essai collectif sur le black shank, Coresta, *Bulletin d'information*, 1: 62-65, 1991.
- Dudzinski, M. J.; Old, K. M. and R. J. Gibbs. Pathogenic variability in Australian isolates of *Phytophthora cinnamomi*, *AUST. J. BOT.*, 41(6): 721-732, 1993.
- Elliott, C. G. *Physiology of Sexual Reproduction in Phytophthora: Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology*, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, 1983.
- Erwin, D. C.; G. A. Zentmeyer; J. Galindo and J. S. Niederhauser, *Ann. Rev. Phytopath.*, 1: 375-396, 1963.
- Fernández, A. *Biología, detección en suelo y métodos de lucha contra Phytophthora nicotianae causante de la Pata Prieta del tabaco en Cuba*. INISAV, Ciudad de La Habana, 1995.
- Honour, R. C.; Tsao, P. H. Production of oospores by *Phytophthora parasitica* in liquid medium, *Mycologia*, 66: 1030-1038, 1974.
- Ko, W. H. Heterotallic *Phytophthora*: Evidence for hormonal regulation of sexual reproduction. *J. Gen. Microbiol.*, 107: 15-18, 1978.
- Lacourt, I. Task force report on typology of black shank isolates study. *Coresta*, 1: 3-14, 1995.
- López, M. O; A. Fernández y P. Cerezal. Desarrollo de un medio de cultivo para *Phytophthora infestans*. (Mont.) de Bary, INISAV, 1996.
- Lucas, B. L. *Enfermedades del tabaco*, Instituto del Libro, Edición Revolucionaria, La Habana, 155-186 pp., 1965.
- Mehrotra, R. S. and G. Prasad. Saprophytic survival and mating types of *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* causing fruit rot of guava. Page 9 In: Workshop on *Phytophthora* Disease of Tropical Cultivated Plants. Central Plantation Crops Research Institute, Kasaragod, Kerala, India, 1980.
- Peñalver, N. Variabilidad de la virulencia en tres aislados de *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*, *Cinc. Tec. de Agricultura*, 8 (2): 77-88, 1985.
- Powers, H. R. and Lucas, *Plant Dis. Rep.*, 36: 335-336, 1952.
- Rajendra, K. Grover and S. Dutt. Morphological and Pathological Variability in *Pythium aphanidermatum*, Reprinted from, *Indian Phytopathology*, 2 (XXVI): 237-244, 1973.
- Ramachandran, N.; Sarma, Y. R. and M. Anandaraj. Sensitivity of *Phytophthora* species affecting different plantation crops in Kerala to metalaxil, *Indian-Phytopathology*, 41: 438-442, 1991.
- Ricci, P.; Tretin, F.; Bonnet, P.; Venard, P.; Mouton-Perronnet and M. Fard Bruneteau. Differential production of parasitine, on elicitor of necroses and resistance in tobacco by isolates of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*, *Plant Pathology*, 41: 298-307, 1992.
- Weste, G. Population Dynamic and survival of *Phytophthora: Phytophthora*, Its biology, ecology, taxonomy and pathology Erwin, D. C., Bartrick García, P. H. Tsao (Eds), The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota, 1983.

Aspectos biológicos de *Sorghum halepense* (L.) Pers. II – Capacidad vegetativa

F. La O¹, R. Labrada¹, R. C.
García¹, F. Hernández¹ y L.
Plana²

¹INISAV, Gaveta Postal 634, CP. 11300, Ciudad de
La Habana, Cuba

²ISCAH, San José, La Habana

RESUMEN

En áreas experimentales del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal en Alquizar, La Habana, se estudió la dinámica de la capacidad vegetativa y producción de masa seca de *Sorghum halepense* (L.) Pers. para lo cual se desarrollaron experimentos con diseños de bloques al azar con cinco réplicas para cada estudio, uno en época lluviosa y otro en la seca. En el primer caso se evaluó la producción de masa seca de la parte aérea y de rizomas a los 45, 90, 135 y 180 días de la plantación, mientras que en el segundo caso se utilizaron rizomas de una, dos y tres yemas, para registrar la producción de masa seca aérea y de rizomas al momento de la maduración completa de la panícula de la planta. La producción de masa aérea y de rizomas mostró un incremento progresivo en el curso de 180 días y fue más acentuado entre los 135 y 180 días, donde superó ampliamente la de la parte aérea. La relación rizomas: parte aérea fue del orden de 2,3:1 y 2,7:1, respectivamente para las épocas lluviosa y de seca. La emisión intensiva de nuevos rizomas se observó a partir de los 45 días de la plantación. El número de yemas, hasta tres por rizoma plantado, no ofrece alteraciones substanciales en la producción de la planta, pero la producción de masa seca aérea y de rizomas se incrementó cuando estos se plantaron entre 5 y 10 cm de profundidad del suelo.

Palabras claves: *Sorghum halepense*, experimentación en campo, malezas y biología

ABSTRACT

In experimental fields of the Plant Protection Research Institute in Alquizar, in Havana, the dynamic of productive capacity and dry weight production of the perennial weed, *Sorghum halepense* (L.) Pers. were studied in two randomized block experiments with five replicates for each purpose. One part carried at during the rainy season and the other during the dry one. In the first study in order to assess the dry weight (DW) production of aerial part and rhizomes at 45, 90, 135 and 180 days after planting. In the second study rhizomes of one, two and three buds were order to assess the aerial part and rhizomes DW at a stage of complete panicle's ripeness. The DW production from aerial part and rhizomes showed a progressive increase during the 180 days of assessment. These parameters were markedly higher on the period between 135 and 180 days. At this time the rhizomes DW were always higher than that from the aerial part. The relation rhizomes: aerial part was 2,3:1 and 2,7:1, respectively during the rainy and dry seasons. The intensive production of new rhizomes was observed to start 45 days after planting. The number of buds up to three per planted rhizomes did not show any substantial difference in the plant productivity but the DW production in general was increased when the rhizomes were planted at 5 and 10 cm of soil depth.

Key words: *Sorghum halepense*, Johnson-grass, biology of weed, production of rhizomes and field experiments biology weeds

INTRODUCCIÓN

Los estudios sobre la biología de las plantas indeseables se han incrementado según la ciencia de las malezas ha avanzado (Parka, 1976), fundamentado en que el conocimiento de la planta y su forma de vida son antecedentes útiles para desarrollar y hacer más eficiente los programas de manejo (Hill, 1991). Esto toma singular importancia en malezas como *S. halepense* que es de difícil eliminación, presenta amplia distribución en el país y es altamente agresiva en reproducción y desarrollo.

En un trabajo con igual título (La O y col., 1991), se describió el resultado de dos experimentos referidos al nivel de emergencia de rizomas de hasta tres yemas, plantados a diferentes profundidades del suelo. La descripción de las fases fenológicas de la planta es recogida en dicha información.

La mayor emergencia se obtuvo cuando los rizomas se plantaron a 5 cm de profundidad, mientras que el ciclo de la planta hasta la maduración completa de la panícula fue más acelerado (80 y 99 días) durante la época de seca o no lluviosa que en la lluviosa (107 a 124 días).

La presente información describe los resultados con respecto a la producción de masa seca de la parte aérea y de rizomas en las estaciones del año ya indicadas, así como la dinámica productiva de *S. halepense*.

MATERIALES Y MÉTODOS

a) Dinámica de la capacidad productiva

En un diseño de bloques al azar, con cinco réplicas, sobre suelo Ferralítico Rojo (fracción arcillosa >80 %, humus - 1,9 %, pH-5,9 (H₂O)) de áreas experimentales del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, en Alquizar, La Habana, se desarrollaron dos experimentos, uno en la época de seca (179,9 mm) y otro en la lluviosa (1 364 mm) con el fin de determinar la producción de masa seca de la parte aérea y de rizomas de *S. halepense*, a partir de rizomas de tres yemas, plantados a 7 cm de profundidad.

El suelo de las áreas experimentales fue tratado con dazomet (500 kg/ha) dos semanas

antes de la plantación para evitar la interferencia de otras malezas.

En cada parcela de 3,72 m² se plantaron 10 rizomas de tres yemas en dos hileras a 1 m de separación entre las mismas, donde se evaluó la masa seca ya indicada, longitud de los rizomas producidos y la emisión de brotes o tallos emergentes en cada parcela, a los 45, 90, 135 y 180 días de la plantación.

b) Producción de masa seca aérea y de rizomas

Paralelamente a los experimentos anteriores y con similar metodología de montaje y períodos del año se desarrollaron otros dos experimentos con planteamiento factorial y parcelas partidas en la que el factor principal fue el número de yemas (una, dos y tres) en parcelas de 4,8 x 9,3 m y el factor secundario estuvo condicionado a la profundidad de plantación (superficial, 5, 10 y 15 cm) en subparcelas de 3,1 x 1,2 m, donde se plantaron 10 porciones de rizomas a 1 m de separación en dos hileras.

Las evaluaciones de producción de la masa seca de rizomas y parte aérea de *S. halepense* se realizaron en cada parcela al momento de la maduración completa de la panícula.

Los datos obtenidos experimentalmente fueron transformados y procesados por análisis de varianza, la significación estadística al nivel de P 5 % se determinó según la dística de rangos múltiples de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

a) Dinámica de la capacidad productiva

En la mayoría de los parámetros evaluados se observó que tanto la emisión de brotes, la producción de masa seca de la parte aérea y de los rizomas, así como la longitud de estos últimos tuvieron un ascenso progresivo durante los 180 días de evaluación, que fue siempre más pronunciado en la estación lluviosa.

La emisión de brotes (Figura 1) por lo general se duplica en el período que media entre los 135 y 180 días.

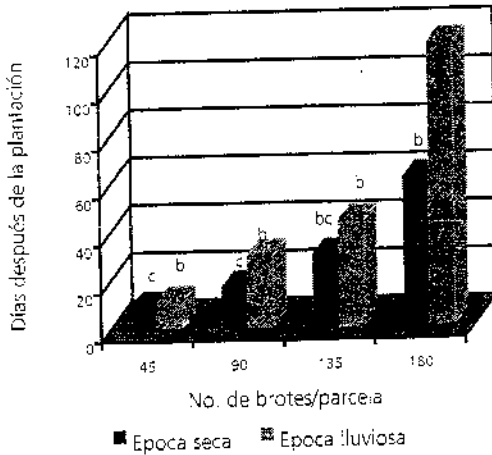


Figura 1 Emisión de brotes de *S. halepense* a partir de rizomas en distintas épocas

La producción de masa seca de la parte aérea y de rizomas (Figura 2) también mostró un enorme aumento en el período de 135 y 180 días. En la época no lluviosa (180 días), la masa seca aérea fue de 3,7 veces superior a la registrada a los 135 días, mientras que la de rizomas, en igual período creció 5,75 veces. En la estación lluviosa, el crecimiento en idéntico período fue 2,1 y 6,9 veces, respectivamente.

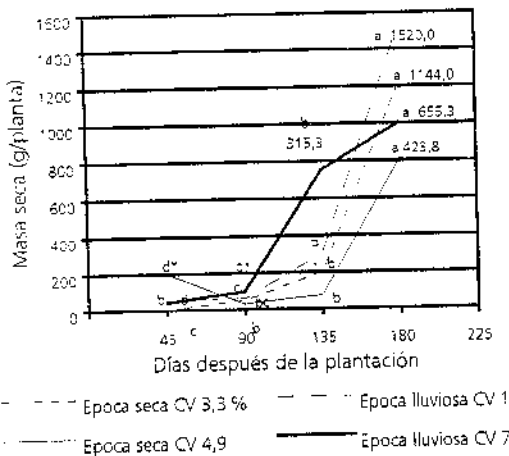


Figura 2 Producción de *S. halepense* a partir de tres yemas en distintas épocas

A los 180 días el valor de la masa de rizomas superó al de la parte aérea en una relación de 2,3:1 y 2,7:1, respectivamente en la época de lluvia y seca.

La producción de masa seca de rizomas en la estación lluviosa fue un 11 % superior a la de seca a los 135 días de la plantación, mientras

que a los 180 días la diferencia fue 32,8 % superior.

Tales resultados corroboran una vez más los obtenidos por Oyer y col., 1959, quienes comunicaron que la producción de rizomas de *S. halepense* siempre supera la de la parte aérea.

El enorme crecimiento de los rizomas en el período de 135 y 180 días (Figura 3) de por sí explica la producción de estos órganos subterráneos. El crecimiento de los rizomas en este período fue 3,44 veces mayor en la estación lluviosa y 4,77 veces en la de seca.

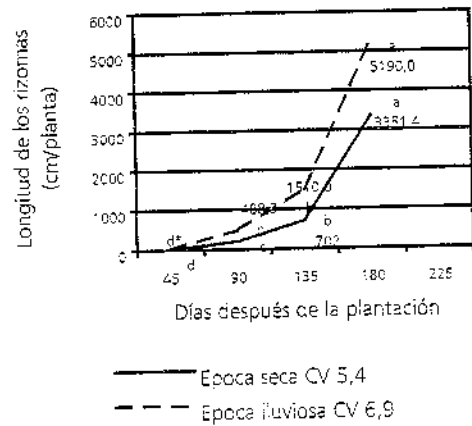


Figura 3 Longitud de rizomas de *S. halepense* en distintas épocas a partir de rizomas de tres yemas

Se observó que la emisión intensiva de los rizomas comenzó a partir de los 45 días de la plantación, coincidente con el inicio del macollamiento de la planta según resultados ya anteriormente descritos por La O y col., 1996, por lo que las medidas de manejo deben ser desarrolladas en el período indicado.

Este último resultado coincide en gran parte con otros obtenidos en Israel y EE.UU., por Horowitz (1972), quien comunicó que la formación de nuevos rizomas a partir de un nudo de estos comienza a los dos meses de su plantación siempre que las temperaturas se hallen por encima de 15°C algo no aplicable en este caso, ya que las condiciones técnicas fueron siempre favorables. Por su parte, Anderson y col., 1960, establecieron que la emisión de nuevos rizomas de *S. halepense* ocurre a las siete semanas de la plantación, por lo que resultó más próximo al aquí explicado.

También se ha indicado que el fotoperiodismo desempeña un papel importante en la floración y producción de rizomas. Burt y Wedderspoon (1971) comunicaron que la producción de rizomas se reduce marcadamente con períodos de 8 h de oscuridad. En los experimentos aquí expuestos las horas-luz fueron de 12 a 13 en la estación lluviosa y de 11 a 12 h en la de seca, favorables para el crecimiento y desarrollo de *S. halepense* de acuerdo con los resultados de Sakri y Hull (1968).

b) Producción de masa seca

En la estación no lluviosa, la mayor producción de masa seca de la parte aérea y

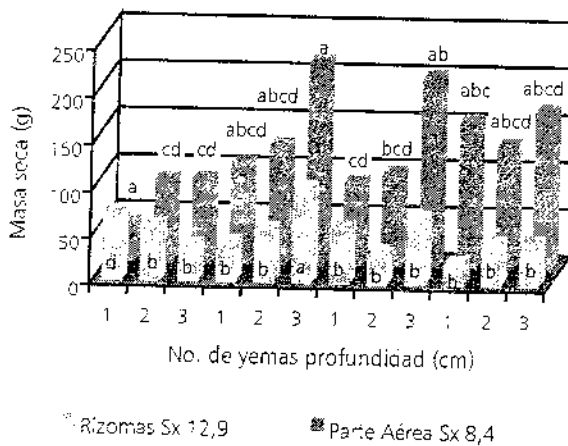


Figura 4. Masa seca de *S. halepense* en la maduración completa en época seca

La falta de suficiente humedad para el crecimiento y desarrollo de *S. halepense* en la estación de seca, hace suponer que a manera de autoprotección, la especie es más propensa al desarrollo de su sistema subterráneo como fuente de reserva para la sobrevivencia.

Tales condiciones abióticas desfavorables e inexistentes en la estación lluviosa le permiten a la planta de *S. halepense* un balance entre la masa seca aérea y de rizomas, al menos en los primeros meses de su ciclo.

De acuerdo con este trabajo se apreció que el número de yemas, hasta tres, en los rizomas plantados, no influye notoriamente en la producción vegetativa de esta especie. Tal

de rizomas de *S. halepense*, al momento de la maduración completa de la panícula, se registró con rizomas de tres yemas plantados a 5 y 10 cm de profundidad (Figura 4). En este caso, la producción de masa aérea fue de 30 a 50 % inferior a la de rizomas. Estas diferencias se acentúan notablemente cuando los rizomas son plantados a 15 cm de profundidad. Diferente fue el comportamiento en la estación lluviosa, donde la masa de la parte aérea rebasó los valores obtenidos de rizomas (Figura 5). En períodos ulteriores, como ya se indicó en los experimentos de dinámica productiva, esta relación cambia a favor de la parte de rizomas.

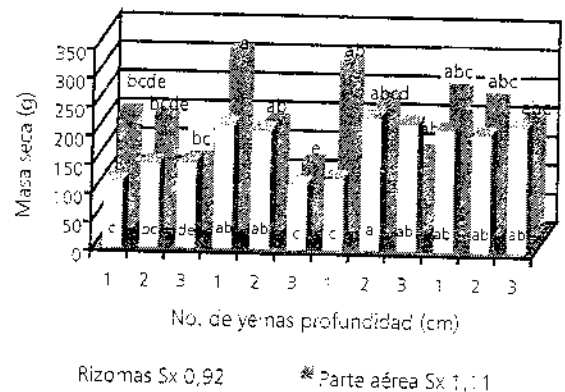


Figura 5. Masa seca de *S. halepense* en la maduración completa en época lluviosa

comportamiento puede variar si se aumenta la longitud de las fracciones de rizomas y, por ende, el número de yemas en los mismos. Lolas y Coble (1980) determinaron que el crecimiento de la masa de rizomas de *S. halepense* se incrementa más cuando se plantan rizomas de 10 a 25 cm de longitud en comparación con rizomas de 2,5 a 5 cm. Estos autores afirmaron que los rizomas más largos son capaces de emitir nuevos rizomas en tan solo 20 a 30 días después de la plantación, aspecto susceptible a corroborar en futuros estudios.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- A partir de rizomas de tres yemas de *S. halepense*, plantados a una profundidad de 7 cm la producción de la masa seca de la parte aérea y de rizomas fue progresivamente ascendente en un período de 180 días con un marcado incremento en la fase que media entre 135 y 180 días.
- La producción de rizomas en los primeros 100 días del ciclo de *S. halepense* supera acentuadamente la de la parte aérea de la planta en la estación de seca. La relación de la masa rizomas por parte aérea fue del orden de 2,3:1 y 2,7:1, respectivamente para las estaciones lluviosa y seca.
- La emisión intensiva de nuevos rizomas comenzó a partir de los 45 días, esta coincide con la fase de macollamiento de la planta, lo que sugiere desarrollar las medidas de manejo de la maleza en este período.

BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, L. E.; A. P. Appleby and J. H. Weseloh. Characteristics of Johnsongrass rhizomes, *Weeds*, 8: 402-406, 1960.
- Burt, G. M. and I. M. Wedderspoon. Growth of Johnsongrass selections under different temperatures and dark period, *Weed Sci.*, 19: 419-423, 1971.
- Hill, T. A. *The Biology of weed*, Edward Arnold. Pub., 65 pp., 1991.
- Horowitz, M. Early development of Johnsongrass, *Weed Sci.*, 20: 271-273, 1972.
- La O, F.; R. Labrada, F. Hernández y L. Plana. Aspectos biológicos de *Sorghum halepense* (L.). Pers. I Fases fenológicas, *Agrotecnia de Cuba*, 27 (2), 1997.
- Lolas, P. C. and H. D. Coble. Johnsongrass (*Sorghum halepense*) growth characteristics as related to Rhizome length, *Weed Res.*, 20: 205-210, 1980.
- Oyer, E. B.; G. A. Gries and B. J. Rogers. The seasonal development of Johnsongrass plants, *Weed*, 7: 13-19, 1959.
- Parka, S. V. The identification and utilization of weed biology information, *Weed Science*, 24 (3): 282-287, 1976.
- Sakri, F. A. and R. J. Hull. Environmental control of rhizome initiation in *Sorghum halepense* (L.) Pers., *Plant Phys.*, 43 (suppl. 5) (7), 1968.

Comportamiento de herbicidas en suelo y en el sistema agua-sedimento

Pura Moreno, G. Dierksmeier, R. Hernández y A. Sissino

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal

RESUMEN

Se describe el comportamiento de los herbicidas propachlor, dalapon, diuron, ametrina, simazina, aatrazina, difenamida y bromacil en suelo, agua y sedimento. El estudio de degradación, se realizó en el perfil arable de un suelo Ferralítico Rojo, el suelo contenido dentro de tubos plásticos se contaminó con el herbicida, los que fueron introducidos en una zanja donde se mantuvieron bajo condiciones ambientales de iluminación, humedad y temperatura, durante el tiempo que transcurrió el experimento. El comportamiento de los plaguicidas en agua y sedimento se llevó a cabo en un microdepósito con un volumen de 300 L y 15 kg de sedimento. Este microdepósito fue localizado en el exterior del edificio y se mantuvo en todo momento bajo condiciones ambientales. Los resultados permiten establecer que el diuron, bromacil, aatrazina, ametrina y simazina, mostraron una elevada persistencia tanto en suelo como en agua. El dalapon y propachlor no presentaron afinidad por el sedimento; sin embargo, el bromacil y simazina fueron de los herbicidas estudiados, los que mostraron los mayores niveles en este medio.

Palabras claves: Herbicida, residuo, agua, sedimento, suelo y degradación

ABSTRACT

It is described the behavior of herbicides propachlor, simazine, dalapon, diuron, ametryn, atrazine, diphenamid and bromacil in soil and the water-sediment system. The degradation study was carried out in the arable zone of a red Ferralitic soil in a little plot expose to ambient condition of light, humidity and temperature. The behavior of the pesticides in the water-sediment system was conducted in a micro pond with a volume of 300 L water and 15 kg of sediment. This micro pond was located outside the laboratory building, expose to the environmental conditions. Like the behavior in soil, diuron, ametryn, atrazine, simazin and bromacil were more persistent in the water-sediment system than dalapon and propachlor. These two herbicides showed no affinity by the sediment. Meanwhile, bromacil and simazine reached the highest initial concentration in sediment.

Key words: Herbicide, residue, water, sediment, soil y degradation

INTRODUCCIÓN

La presencia de un herbicida en el medio está asociado fundamentalmente a las aplicaciones directas, con el objetivo de eliminar malezas tanto del suelo como del agua en embalses y presas; sin embargo, existen otras causas como el arrastre por el viento, la lluvia o el vertimiento, así como el lavado de los equipos después de una aplicación, que originan residuos de plaguicidas en lugares no previstos.

El conocimiento de la persistencia de los plaguicidas en el medio es de gran importancia, por una parte la producción requiere del conocimiento de la persistencia de un herbicida en suelo que en ocasiones el efecto biológico no se corresponde con el indicado en la literatura, y por otra parte, es necesario predecir el posible daño que puede ocasionar la presencia de un herbicida en el medio acuoso.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio de degradación de los plaguicidas en suelo se realizó en el perfil arable de un suelo Ferralítico Rojo (2,1 % de materia orgánica y pH 6,5) a escala de laboratorio, para lo que se utilizaron tubos plásticos que contenían el suelo, los que fueron introducidos en una zanja donde se contaminaron con los formulados comerciales de los herbicidas. El experimento se realizó bajo condiciones de iluminación, humedad y temperatura ambiental.

Los experimentos de distribución y persistencia en agua y sedimento se llevaron a cabo en un microdepósito construido en el exterior del laboratorio al que le fueron adicionados 300 L de agua y 15 kg de sedimento. Las características del sistema se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Características del sistema agua-sedimento

BH
Dureza del agua
Contenido de materia orgánica del sedimento

6,4
300 mg/L CaCO₃
8 %

Los análisis de los residuos de los herbicidas en los medios estudiados se realizaron por cromatografía gaseosa a excepción de diuron y dalapon que se determinaron por cromatografía de capa delgada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Si se analiza el comportamiento de los herbicidas que aparecen en la Tabla 2 se puede apreciar que el dalapon se degradó rápidamente en suelo y los residuos estuvieron por debajo de 0,15 mg/kg a los cinco días de aplicado. En otros estudios se ha indicado que este herbicida no ha originado problemas de residualidad en el medio con tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de ocho días (Barceló, 1996).

El diuron, aatrazina, ametrina y simazina mostraron una alta persistencia en suelo con niveles de residuos elevados después de los 70 días de aplicado, lo que coincide con los resultados indicados por otros autores, que consideran que estos plaguicidas presentan un elevado efecto residual en suelo (Kaufman and

Kearney, 1976).

En el caso del bromacil, aunque se observó una rápida degradación en los primeros días después de la aplicación, hacia el final del experimento se apreció una disminución lenta de la concentración para encontrar niveles de herbicidas elevados en el último muestreo realizado, si se tiene en cuenta los efectos adversos que pueden provocar los residuos de este herbicida sobre cultivos sensibles que se siembran en suelos con presencia de este plaguicida (Dierksmeier, 1995).

La difenamida desapareció con bastante rapidez si se considera que a los 50 días de su aplicación los residuos se encontraban por debajo del límite

de detección (LD) del método analítico utilizado para su análisis.

Los tiempos de vida media ($t_{1/2}$) calculados en el estudio de degradación y que se muestran en la Tabla 3 permiten indicar que a excepción del propaclor que el $t_{1/2}$ indicado en la literatura es

de 10 días, para el resto de los compuestos estos valores son superiores a los encontrados en nuestra investigación (Barceló, 1996), lo que pudo estar dado por las condiciones climáticas que imperan en Cuba como son la elevada

humedad y temperatura, que son factores muy importantes que favorecen la rápida degradación de cualquier plaguicida que se encuentre presente en el suelo.

Tabla 2. Persistencia de herbicidas en suelo Ferralítico Rojo

Herbicida	Residuos expresados como % en los diferentes tiempos (días)						
Pronaclor	100 (0)	93 (2)	76 (5)	62 (8)	47 (12)	33 (17)	10 (33)
Dalapon	100 (0)	91 (1)	13 (2)	7 (3)	nd (5)	-	-
Diuron	100 (0)	96 (5)	80 (20)	73 (30)	58 (40)	53 (50)	33 (70)
Ametrina	100 (0)	83 (4)	74 (17)	41 (46)	34 (65)	10 (120)	-
Aatrazina	100 (0)	88 (4)	67 (17)	35 (46)	29 (65)	7 (120)	-
Simazina	100 (0)	100 (4)	68 (17)	60 (30)	51 (65)	32 (120)	-
Difenamida	100 (0)	97 (6)	72 (13)	4 (25)	1 (40)	1 (48)	nd (50)
Bromacil	100 (0)	71 (1)	66 (5)	21 (20)	21 (37)	7 (45)	5 (60)

nd no detectable

LD dalapon 0,15 mg/kg

LD difenamida 0,02 mg/kg

Tabla 3. Tiempo de vida media de los herbicidas en suelo Ferralítico Rojo

Herbicida	t _{1/2}
Pronaclor	10
Difenamida	17
Bromacil	18
Aatrazina	20
Ametrina	40
Simazina	43
Diuron	44

La persistencia de un herbicida en el suelo debe ser considerado cuando se desee sembrar un cultivo sensible en un suelo donde se haya aplicado previamente un herbicida, pues si bien ellos se degradan en este medio, puede suceder que a concentraciones muy bajas ocasione fitotoxicidad a estos cultivos y por tanto afectación de las cosechas (Duffy, 1991). Por otra parte debe tenerse en cuenta que los plaguicidas que presentan una elevada persistencia en el suelo pueden originar la contaminación del medio acuático ya sea por lixiviación que puede provocar contaminación de las aguas subterráneas o por arrastre por el viento o la lluvia que pueden transportar los plaguicidas retenidos en las partículas de suelo hacia ríos o embalses en zonas cercanas a donde se encuentren los plaguicidas.

Un plaguicida una vez que llega al agua se distribuye en el medio como se muestra en la Tabla 4, sin embargo, su comportamiento depende de sus propiedades fisicoquímicas y es por lo general la solubilidad en agua la que en muchos casos determina este comportamiento, es por eso que la llegada de dalapon y/o propaclor al agua no originaron residuos de estos herbicidas en sedimento, los cuales presentan una solubilidad en agua de 502 y 0,7 g/L, respectivamente según datos de la literatura (Shiu y col., 1990).

La rápida degradación de dalapon en el sistema agua-sedimento ha sido encontrada en otros estudios, donde la contribución de los microorganismos presentes en el suelo influyeron significativamente en la rápida desaparición del herbicida en el medio acuoso,

en cambio en ausencia de suelo la persistencia en agua fue mucho mayor (Moreno y col., 1987).

El diuron presentó poca afinidad y persistencia en sedimento, pero en agua, aunque se observó una tendencia a degradarse rápidamente en los primeros días de aplicado el plaguicida, los residuos encontrados en el último muestreo se encontraron por encima del límite máximo de plaguicidas permitidos en agua para el consumo humano.

En otros estudios se ha indicado que el diuron presenta una elevada persistencia en agua en ausencia de suelo, con residuos superiores al 50 % de la concentración inicial aplicada a los 129 días, por otra parte éste desaparece rápidamente cuando se encuentra en presencia de suelo (Hernández y col., 1984).

Si analizamos el comportamiento de las triazinas investigadas en este trabajo se puede observar que en todos los casos hay una tendencia de variar poco la concentración en agua y sedimento en los primeros días de iniciado el experimento, lo que sugiere que fue necesario un período de adaptación e inducción de los sistemas enzimáticos de los microorganismos responsables de la degradación microbiológica de estos herbicidas como ha sido referido por otros autores (Wood y col., 1991).

Es importante señalar que en la medida que los herbicidas triazínicos presentan menor solubilidad en agua, los residuos en sedimento son mayores, de ahí que los niveles de simazina encontrados fueron superiores a la de las restantes triazinas.

Tabla 3. Comportamiento de herbicidas en el sistema agua-sedimento

Plaguicida	Medio	Concentración mg/L (A*) o mg/kg (S**) a los (días)						
Proflaol	A	10.5 (0)	8.2 (12)	6.4 (25)	0.14 (38)	0.01 (60)	nd (96)	
	S	nd (0)	nd (12)					
Dalanon	A	8.1 (0)	0.2 (3)	nd (5)				
	S	nd (0)	nd (0)	nd (5)				
Diuron	A	10 (0)	6.6 (12)	2 (25)	0.5 (38)	0.40 (60)	0.25 (96)	0.1 (140)
	S	2 (0)	2.0 (12)	nd (25)				
Ametrina	A	8.5 (0)	8.3 (10)	7.5 (35)	7.1 (61)	1.9 (90)	1.9 (120)	0.5 (200)
	S	5.5 (0)	18 (10)	14 (35)	6.2 (61)	3.2 (90)	-	1.8 (200)
Aatrazina	A	8.1 (0)	7 (5)	6.2 (20)	5.1 (45)	4.2 (70)	0.02 (140)	
	S	45 (0)	65 (5)	43 (20)	33 (45)	26 (70)	1.9 (140)	
Simazina	A	2.8 (0)	2 (10)	2.6 (40)	2.5 (65)	0.1 (90)	nd (120)	
	S	195 (0)	200 (10)	132 (40)	95 (56)	-	1.1 (120)	
Difenamida	A	11 (0)	7.6 (6)	5.8 (14)	0.25 (22)	0.23 (35)	0.15 (40)	
	S	17 (0)	15.6 (6)	14.5 (14)	-	10 (35)	0.30 (40)	
Bromacil	A	12 (0)	9.2 (6)	7.1 (14)	4.1 (22)	3.4 (60)	3.5 (90)	0.6 (150)
	S	100 (0)	28 (6)	17 (14)	10 (22)	7.8 (60)	7.4 (90)	0.8 (150)

A* agua S** sedimento

Aunque la difenamida presenta una solubilidad en agua de 0.26 g/L una parte de éste herbicida pasó al sedimento, lo que pudo estar asociado a su afinidad por este medio.

Los niveles de bromacil encontrados en sedimentos fueron elevados lo que no se corresponde con su solubilidad en agua (0.81 mg/L). Este comportamiento pudo estar dado por las características básicas que presenta

el herbicida y el pH ligeramente ácido del sedimento y unido al área superficial del medio pudo provocar su adsorción a las partículas del sedimento (Larsen y col., 1994).

Todos los herbicidas mostraron una tendencia a degradarse en los medios estudiados, pero en general la persistencia fue superior a los 60 días, lo que deberá tenerse en cuenta si se desea utilizar agua contaminadas con herbicidas en regadío o en el consumo humano, en este

BIBLIOGRAFIA

- Barceló, D. Environmental Protection Agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in water, *Journal of Chromatography*, 643: 117-143, 1993.
- Barceló, D. Introduction to pesticide groups: chemistry, physics chemical properties, usage and environmental levels, Third Research Coordination Meeting of the IAEA CRP, Costa Rica, 1996.
- Duffy, M. J. The characterisation of herbicide persistence. Pesticide in soils and water. Current perspectives, *British Crop Protection Council Monograph*, 47: 85-93, 1991.
- Dierksmeier, G. Plaguicidas. Residuos, Efectos presencia en el medio, Tesis Doctoral, Instituto de Sanidad Vegetal, 1995.
- Hernández, R.; A. Sissino y G. Dierksmeier. Cinética de degradación de herbicidas en agua, *Protección de Plantas*, 7 (2): 91-103, 1984.
- Kaufman, D. D. and F. C. Kearney. *Microbial transformation in the soils*, *Herbicides*, Ed L. J. Anders, Academic Press London, San Francisco, p. 29-59, 1976.
- Larsen, R. and E. Weber. *Reaction mechanism in environmental organic chemistry*, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, Lewis Publishers, 7-13, 1994.
- Moreno, P.; G. Dierksmeier y C. Ricardo. Cinética de degradación de dalapon en suelo, *Protección de Plantas*, 10 (2): 91-95, 1987.
- Shiu, W. *et. al.* Solubilities of pesticide chemicals in water. Part II. Data compilation, *Review of Environmental Contributions and Toxicology*, 116: 15-189, 1990.
- Wood, M.; J. Harold; A. Johnson and R. Hance. The potential for atrazine degradation in aquifer sediment. Pesticide in soils and water. Current perspectives, *British Crop Protection Council Monograph*, 47: 78-175, 1991.

último caso las concentraciones en agua no deberán sobrepasar los 0,1 µg/L que es límite máximo de residuo permitido cuando hay presente un solo compuesto o 0,5 µg/L cuando existen un número mayor de plaguicidas presentes en agua (Barceló, 1993).

CONCLUSIONES

La atrazina, ametrina, simazina, diuron y bromacil mostraron una elevada persistencia en suelo Ferralítico Rojo.

Los residuos de dalapon y difenamida fueron inferiores a 0,15 y 0,02 mg/kg a los 4 y 50 días, respectivamente.

El dalapon y propaclor no pasan al sedimento cuando éstos llegan al agua a una concentración de 10 mg/L.

En agua el diuron mostró una elevada persistencia, mientras que en sedimento los residuos encontrados fueron bajo y desaparecieron rápidamente.

Las triazinas se mantuvieron en agua durante los primeros 70 días de iniciado el experimento a valores similares a la concentración inicial determinada en cada caso, aunque a partir de ese momento se manifestó una tendencia a la degradación.

El bromacil presentó una elevada afinidad por el sedimento y mostró una persistencia elevada en los medios estudiados.

E

stablecimiento de los Términos de Carencia de parathion-metilo carbarilo y zineb en la papa (*Solanum tuberosum* SW.)

R. Hernández y A. Sisinnio

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal

RESUMEN

Se estudió la residualidad de los insecticidas parathion-metilo y carbarilo; así como del fungicida zineb en la papa. A tal efecto se aplicaron dichos plaguicidas a las dosis de 1,0; 2,5 y 2,3 kg i.a./ha, respectivamente, sobre una plantación de papa formada por cuatro parcelas de 50 m² cada una. Se efectuaron cuatro muestreos para analizar los residuos de los plaguicidas ensayados. Esto último se llevó a cabo en el caso del parathion-metilo por cromatografía gaseosa y carbarilo, mediante cromatografía líquida de alta eficiencia; mientras que zineb se analizó por el método de "head space" seguido de cromatografía gaseosa. Los residuos de parathion-metilo y carbarilo nunca alcanzaron los niveles de los Límites Máximos de Residuos (LMRs) correspondientes. En el caso de zineb, no se detectaron residuos en ninguno de los muestreos realizados por encima del límite de determinación del método analítico empleado que es de 0,05 mg/kg.

Palabras claves: Residuos de plaguicidas, períodos pre cosecha, cromatografía líquida de alta eficiencia, cromatografía de gases, cromatografía líquida de alta presión, *Solanum tuberosum* y persistencia de los plaguicidas

ABSTRACT

Establishment of pre-harvest intervals for methyl parathion, carbaryl and zineb in potato (*Solanum tuberosum* SW.). A study of the residuality of the insecticides methyl parathion, carbaryl and zineb in potato was carried out. For this purpose, these pesticides were applied at rates of 1,0; 2.5 and 2.3 kg i.a./ha, respectively, on a potato plantation composed of four 50 m² plots. After the phytosanitary applications, four samplings were performed to analyze the residues of the tested pesticides. This was carried out by gaschromatography in the case of methyl parathion, by high performance liquid chromatography in that of carbaryl and by the "head space" method and gaschromatography in that of zineb. The residues of methyl-parathion and carbaryl never reached their corresponding Maximum Residue Limits. In the case of zineb, no residues were detected in any the sampling above the determination limit of the analytical method used which is 0,05 mg/kg.

Key words: Pesticide residues, pre-harvest intervals, gas-chromatography, high performance liquid chromatography and *Solanum tuberosum*

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la papa constituye una valiosísima fuente de alimentación en muchos países. Por tal motivo resulta sumamente importante la protección de este cultivo con el objetivo de obtener grandes cosechas que satisfagan las necesidades siempre crecientes de la población.

Uno de los sistemas más importantes en el cuidado de este cultivo es la protección fitosanitaria mediante el uso de plaguicidas, indispensables para el combate de plagas y enfermedades.

Plagas tales como el pulgón verde (*Myzus persicae* Sulzer); algunos crisomélidos y lepidópteros que dañan el cultivo, pueden ser combatidos satisfactoriamente con los insecticidas parathion-metilo y carbarilo. Por otra parte, el fungicida zineb es adecuado para la lucha contra enfermedades fúngicas, entre las que pueden mencionarse el tizón temprano (*Alternaria solani* Ell); el tizón tardío (*Phytophthora infestans* De Bary), entre otras.⁵

Como los plaguicidas son compuestos tóxicos resulta justificada la instrumentación de buenas prácticas agrícolas (BPA) entre las que se encuentra el establecimiento de intervalos precosecha o períodos de espera entre la última aplicación fitosanitaria y la cosecha para que los residuos no lleguen al consumidor en cantidades objetables.³

Es objetivo de este trabajo, es estudiar la residualidad de parathion-metilo, carbarilo y zineb en la papa y consecuentemente establecer los períodos de precosecha correspondientes, aplicables a las condiciones climáticas de Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la Estación Experimental del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, situada en La Habana, sobre una plantación de papa de la variedad 'Desiree' sobre suelo Ferralítico Rojo.

Los experimentos se enmarcaron en una extensión de 200 m², con cuatro réplicas de

50 m² cada uno, con una distancia de siembra de 90 cm entre surco y 25 cm entre planta.

Antes de realizar las aplicaciones con los plaguicidas objeto de estudio, se efectuó un muestreo para así obtener el valor de blanco. Estas aplicaciones se llevaron a cabo en momentos próximos a la cosecha (dos aplicaciones con intervalo de 10 días entre sí), se utilizó una mochila Birchmeier modelo Senior con boquilla de 1,4 mm. Las dosis de aplicación fueron 1,0; 2,5 y 2,3 kg i.a./ha para parathion-metilo, carbarilo y zineb respectivamente, con volumen de solución final de 400 L/ha.

Para los análisis de residuos se efectuaron muestreos a los 0, 5, 10 y 15 días después de la última aplicación, para lo cual se tomaron en cada parcela tres tubérculos cada 2 m² directamente de las plantas seleccionadas al azar y se almacenaron en congelación hasta realizar las determinaciones analíticas,² cuyos principios se expresan a continuación:

- Parathion-metilo: El ingrediente activo se extrae con acetato de etilo en presencia de sulfato de sodio anhidro. Se filtra y concentra a vacío y se determina la concentración en un cromatógrafo de gases con detector termiónico. El límite de determinación es 0,01mg/kg.⁴
- Carbarilo: El método de extracción es el mismo que el anterior; pero la determinación se lleva a cabo por cromatografía líquida de alta resolución y detector UV-VIS. El límite de determinación es 0,01mg/kg.^{4,7}
- Zineb: Este plaguicida se hidroliza en un medio ácido reductor en un frasco cerrado provisto de un septum. La determinación se lleva a cabo por el método de "head space" y cromatografía gaseosa con detector fotométrico de llamas, y límite de determinación 0,05 mg/kg.⁴

Los datos correspondientes a los residuos detectados se correlacionaron con los tiempos respectivos desde la última aplicación hasta la toma de muestra, para obtener las cinéticas de disipación en cada caso y en consecuencia establecer los períodos de espera respectivos, según los Límites Máximos de Residuos (LMR) establecidos.

Tabla 1. Límites Máximos de Residuos de los plaguicidas estudiados

Plaguicidas	LMRs (mg/kg)
Parathion-metilo	0.1
Carbarilo	0.2
Zineb	0.5

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se presentan los resultados analíticos del experimento y se observa claramente la baja residualidad de estos plaguicidas en los tubérculos de papa, lo que corresponde evidentemente al hecho de que los

misimos se encuentran por debajo de la superficie del suelo y además, que estos plaguicidas no son sistémicos.⁶ Se puede apreciar que en todos los casos los depósitos iniciales sobre los tubérculos no alcanzaron los niveles de los LMR establecidos.

Tabla 2. Residuos de plaguicidas en la papa, en función del tiempo transcurrido después de la última aplicación

Plaguicidas	Residuos (mg/kg)			
	Tiempo (días)			
	0	5	10	15
Parathion-metilo	0.06	ND*	ND	ND
Carbarilo	0.12	0.07	0.02	ND
Zineb	ND	ND	ND	ND

* : ND = No se detectan residuos por encima del límite de determinación del método analítico

Por otra parte es de destacar la rápida disminución de los residuos de parathion-metilo, ya que a partir de depósitos iniciales de 0,06 mg/kg, después de transcurridos cinco días sus residuos quedan por debajo del límite de determinación del método analítico. Evidentemente, esto está condicionado por el hecho que este compuesto sufre reacciones de hidrólisis con relativa facilidad, que lo transforman en especies carentes de actividad biocida.⁶

En el caso de carbarilo los residuos iniciales son ligeramente superiores; pero de manera similar al parathion-metilo, descienden relativamente rápido. Se conoce que este compuesto se degrada y pasa al naftol correspondiente.¹

las dosis iguales o inferiores a las que en el presente trabajo se ensayaron y que son las máximas recomendadas para este cultivo, los residuos correspondientes nunca alcanzarán los niveles de los LMR establecidos.

2. En el caso del zineb, no se detectan residuos por encima del límite de determinación del método analítico, en ningún momento posterior a la última aplicación de este fungicida.

RECOMENDACIONES

Teniendo en cuenta la residualidad de los plaguicidas estudiados en papa, se puede afirmar que para que haya un margen de seguridad adecuado, se deben establecer como término de carencia dos días en todos los casos.

CONCLUSIONES

1. Siempre que se aplique parathion-metilo, carbarilo y zineb sobre el cultivo de la papa a

Tabla 1.

Límites Máximos de Residuos de los plaguicidas estudiados

Plaguicidas	LMR (mg/kg)
Parathion-metilo	0.1
Carbarilo	0.2
Zineb	0.5

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se presentan los resultados analíticos del experimento y se observa claramente la baja residualidad de estos plaguicidas en los tubérculos de papa, lo que corresponde evidentemente al hecho de que los

mismos se encuentran por debajo de la superficie del suelo y además, que estos plaguicidas no son sistémicos.⁶ Se puede apreciar que en todos los casos los depósitos iniciales sobre los tubérculos no alcanzaron los niveles de los LMR establecidos.

Tabla 2.

Residuos de plaguicidas en la papa, en función del tiempo transcurrido después de la última aplicación

Plaguicidas	Residuos (mg/kg)			
	Tiempo (días)			
	0	5	10	15
Parathion-metilo	0.06	ND*	ND	ND
Carbarilo	0.12	0.07	0.02	ND
Zineb	ND	ND	ND	ND

* : ND = No se detectan residuos por encima del límite de determinación del método analítico

Por otra parte es de destacar la rápida disminución de los residuos de parathion-metilo, ya que a partir de depósitos iniciales de 0,06 mg/kg, después de transcurridos cinco días sus residuos quedan por debajo del límite de determinación del método analítico. Evidentemente, esto está condicionado por el hecho que este compuesto sufre reacciones de hidrólisis con relativa facilidad, que lo transforman en especies carentes de actividad biocida.⁶

En el caso de carbarilo los residuos iniciales son ligeramente superiores; pero de manera similar al parathion-metilo, descienden relativamente rápido. Se conoce que este compuesto se degrada y pasa al naftol correspondiente.¹

las dosis iguales o inferiores a las que en el presente trabajo se ensayaron y que son las máximas recomendadas para este cultivo, los residuos correspondientes nunca alcanzarán los niveles de los LMR establecidos.

2. En el caso del zineb, no se detectan residuos por encima del límite de determinación del método analítico, en ningún momento posterior a la última aplicación de este fungicida.

CONCLUSIONES

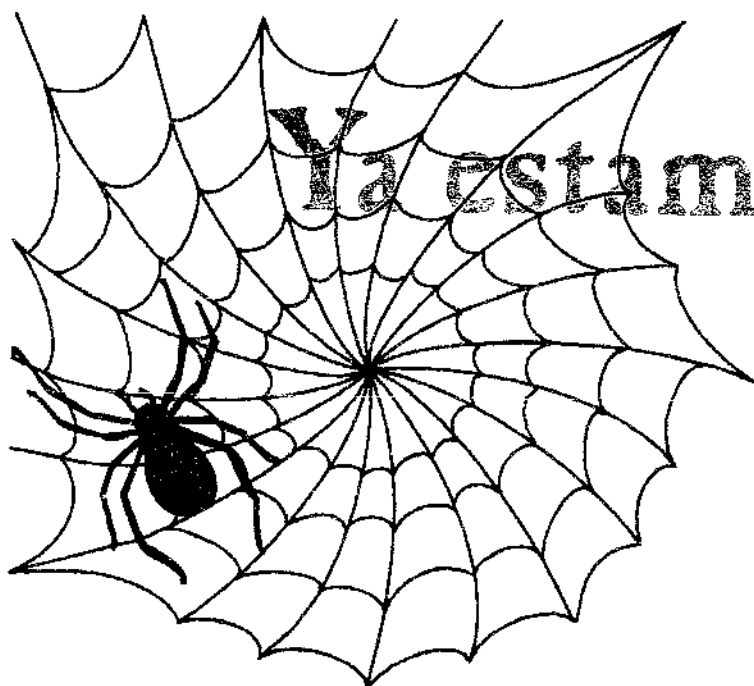
1. Siempre que se aplique parathion-metilo, carbarilo y zineb sobre el cultivo de la papa a

RECOMENDACIONES

Teniendo en cuenta la residualidad de los plaguicidas estudiados en papa, se puede afirmar que para que haya un margen de seguridad adecuado, se deben establecer como término de carencia dos días en todos los casos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barcelo, D. Environmental Protection Agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in Water, *Journal of Chromatography*, 117-143, 1993.
2. Comisión del Codex Alimentarius. CX / PR 96 / 7, *Revisión de los Métodos Recomendados de Muestreo, para la Determinación de Residuos de Plaguicidas*, 1996.
3. FAO. *Guidelines on Producing Residues Data from Supervised Trials*, Rome, 1990.
4. Ministry of Welfare Health and Cultural Affairs, Rijswijk - Netherlands, *Analytical Methods for Residues of Pesticides in Foodstuffs*, Sixth Edition, 1996.
5. República de Cuba. *Registro Central de Plaguicidas*, Lista Oficial de Plaguicidas Autorizados, 1994.
6. The Pesticide Manual. *A World Compendium*, Eighth Edition, 1987.
7. Trapar, S.; R. Bhushan and P. Mathur. Degradation of organophosphorus and carbamate pesticides in soils. HPLC determination, *Biomed. Chromatogr.*, 9 (1): 18-22, 1995.



Ya estamos en la Red Visítenos

www.ceniai.inf.cu/ciencia/inisav/

Usted encontrará:

**Misión, Estructura, Servicios, Investigaciones, Cursos y
Adiestramientos, Centro de Información, Productos
y Publicaciones.**

Uso de herbicidas contra malezas en maní

E. Paredes¹, Ma. E. Benítez² y R. C. García¹

¹ Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 No. 514 esq. 5^a B, Playa, Ciudad de La Habana

² Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Finca Vivero Carrera 22 1/2, San Juan y Martínez, Pinar del Río

RESUMEN

Se realizaron dos experimentos para evaluar la efectividad de distintos herbicidas y su selectividad al cultivo del maní, sobre suelo Ferralítico Rojo, en la Estación Experimental del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Alquizar. La fase extensiva se ejecutó en el mismo tipo de suelo en la ECV "19 de Abril", en La Habana y sobre suelo Ferralítico Cuarcítico Amarillo, en Pinar del Río. Los resultados en la fase experimental, demostraron que trifluralin a 0,96 kg/ha en presiembra incorporado al suelo a 7 y 10 cm de profundidad y combinado con metobromuron 1,0 kg/ha, linuron 0,5 kg/ha y nitrofen 2,5 kg/ha en preemergencia o fomesafen 0,25 kg/ha y bentazon 1,44 kg/ha en posemergencia de cuatro a seis hojas de maní, ejercieron buena selectividad al cultivo, así como alta efectividad sobre las malezas. De igual modo, resultaron efectivas las mezclas y combinaciones de estos herbicidas con metolachlor 1,5 kg/ha en preemergencia. En la fase extensiva, las combinaciones de trifluralin 0,96 kg/ha con metobromuron 1,0 kg/ha o fomesafen 0,25 kg/ha, en ambas provincias, demostraron ser superiores al uso de trifluralin por la alta efectividad obtenida (90 %) sobre malezas anuales y los rendimientos superiores al estándar.

Palabras claves: Herbicidas, suelos, *Arachis hypogaea* y experimentación en campo

ABSTRACT

Experiments were carried to assess the effectiveness of different herbicides and their selectivity toward peanut growing on Red Ferralitic soil at the Plant Health Research Institute, Experimental Station in Alquizar. The extensive phase was worked on the type of soil at "19 de Abril" enterprise in Havana and on Yellow Quartzic Ferralitic in Pinar del Río. In the experimental phase, the results showed the trifluralin at 0.96 kg/ha in pre-emergence, incorporated 7 and 10 cm deep in the soil, and in combination with metobromuron at 1.0 kg/ha, linuron at 0.5 kg/ha and nitrofen at 2.5 in preemergence or fomesafen at 0.25 kg/ha and bentazon at 1.44 kg/ha in posemergence of four and six peanut leaves, showed a good selectivity toward the crop and a high effectiveness against the weeds. The mixtures and combinations of these herbicides with metolachlor at 1.5 kg/ha in preemergence were effective phase, the combinations of trifluralin at 0.96 kg/ha with metobromuron at 1.0 kg/ha or fomesafen at 0.25 kg/ha were found in both provinces to be superior to the use of trifluralin, a high effectiveness (90 %) having been obtained against annual weeds and high yield with this combination herbicides.

Key words: Herbicides, weeds, soil, *Arachis hypogaea* and field experiments

El maní se cultiva en países tropicales y subtropicales para la extracción de aceites y otros usos industriales. Las pérdidas de rendimientos por interferencia de las malezas pueden llegar hasta el 70 y 80 % de la cosecha, si no se toman las medidas adecuadas (Koch y col., 1986 y Americanos, 1996).

La flora de malezas en maní es similar a la que incide en hortalizas, granos y viandas, en la que predominan *Amaranthus* spp., *Biden pilosa* L., *Euphorbia heterophylla* L., *Portulaca oleracea* L., *Parthenium hysterophorus* L., *Solanum nigrum* L. y otras. Las gramíneas y cyperáceas incluyen a *Digitaria* spp., *Eleusine indica* L., *Echinochloa colonum* (L.) Lin., *Brachiaria* sp., *Rottboellia cochinchinensis* (Lour) W.D. Clayton, *Sorghum halepense* (L.) Pers., *Cyperus rotundus* L. y *Cyperus esculentus* L. (De la Cruz y col., 1996).

Esta situación ha determinado la realización de múltiples investigaciones referentes a los métodos de lucha. En los Estados Unidos, México y otros países se aplican más de 15 herbicidas con distintos tipos de acción (Grichar y col., 1987 y Americanos, 1996) entre los más usados se señalan: bentazon, acifluorfen, metolaclor, vermolate, naptalan, difenamida, pendimetalin, setoxydin y trifluralin. Por otra parte, se informa que bentazon utilizado en dosis de 0,48 hasta 2,88 kg/ha, en distintos estadios del maní, se comporta selectivamente, sin reducir los rendimientos (BASF, 1986). En Cuba hasta el momento, solo se utilizaba trifluralin en presiembra incorporado al suelo, lo que motiva altas infestaciones de malezas tolerantes, igual que en frijol y soya (Labrada, 1987). Debido a tal situación, se procedió a la ejecución de varios experimentos para estudiar otros herbicidas que garanticen la obtención de áreas libres de malezas anuales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron dos experimentos en maní (*Arachis hypogaea* L.) con distintos herbicidas, mezclas y combinaciones en suelo Ferralítico Rojo de la Estación Experimental del Instituto del Investigaciones de Sanidad Vegetal. Los resultados más prometedores se llevaron a la fase extensiva en la Empresa "19 de Abril", Quivicán, La Habana, sobre el mismo suelo y en "Hermanos Saíz" de San

Juan y Martínez, sobre suelo Ferralítico Cuarcítico Amarillo.

El maní fue sembrado a 0,90 x 0,10 m y fertilizado con 1,0 t/ha de fórmula 8-7,5-12 en el momento de la siembra. Los tratamientos de herbicidas se realizaron con una mochila Birchmeier, modelo Senior, con boquilla Politip azul, en la fase experimental y con la asperjadora integral PO-18 en las extensiones. La solución final osciló entre 300 y 400 L/ha. Se utilizaron parcelas de 5 m de longitud por 3,6 m de anchura, con un diseño de bloques al azar y cuatro repeticiones en la fase experimental; en la extensión las parcelas tuvieron una hectárea de superficie.

Las evaluaciones de malezas se realizaron por el método del marco, el mismo se colocó cuatro veces en las diagonales de cada parcela. Para las extensiones se estimó el porcentaje de cobertura en forma visual. Otros parámetros evaluados fueron: rendimientos (t/ha) y porcentaje de grasa en grano, este último por el método de Soxhlet.

Los datos de las evaluaciones de malezas fueron sometidos a análisis de varianza y comparación de medias, mediante las prueba de rangos múltiples de Duncan (5 % de probabilidad de error). Las variantes utilizadas aparecen en las tablas de resultados, así como las dosis en t.a./ha.

RESULTADO Y DISCUSIÓN

En el primer experimento, la efectividad de los herbicidas sobre las malezas fue satisfactoria con las combinaciones de trifluralin con fomesafen (0,96 a 0,25) kg/ha y metolaclor con fomesafen (1,5 a 0,25) kg/ha o metolaclor con linuron (1,5 + 0,5) kg/ha.

Los tratamientos a base de metolaclor fueron poco efectivos contra *R. cochinchinensis*, *P. hysterophorus*, *C. rotundus*. Fue reducida en más del 60 % cuando se aplicó EPTC 2,88 kg/ha en presiembra incorporado al suelo. La masa seca manifestó similar comportamiento que el número de malezas. En general, sobresalieron los tratamientos a base de metolaclor con linuron, metolaclor con fomesafen y trifluralin con fomesafen (Tabla 1).

En el segundo experimento se observó mayor población de *C. rotundus* y *P. bysterophorus*, por el bajo efecto de trifluralin, lo que coincide con los resultados de varios autores (Basagran, 1986 y Labrada, 1996). Los mejores efectos sobre malezas anuales se obtuvieron con metolaclor en combinación con fomesafen (1,5 a 0,25) y la mezcla de metolaclor con nitrofen 2,5 kg/ha o metobromuron 1,0 kg/ha. El efecto sobre *C. rotundus* fue irregular, solo bentazon 1,44 kg/ha aplicado en posemergencia de cuatro a seis hojas del maní, redujo el número de ésta maleza, pero de forma significativa. Similar acción

provocó la combinación de trifluralin con nitrofen y trifluralin con fomesafen. Las mezclas de trifluralin con EPTC (0,96 a 2,88) kg/ha y trifluralin con benfuresate (0,96 + 1,6) kg/ha obtuvieron un efecto aceptable sobre esta maleza, pero inferior al año anterior. Las mezclas de metolaclor 1,5 kg/ha o combinaciones de trifluralin 0,96 kg/ha con nitrofen 2,5 kg/ha, fomesafen 0,25 kg/ha, metobromuron 1,0 kg/ha, y bentazon 1,44 kg/ha redujeron significativamente el número de *P. bysterophorus* y la masa seca por metros cuadrados (Tabla 2).

Tabla 1 Efectividad de los herbicidas sobre malezas en maní
Experimento 1

Tratamientos	Dosis kg/ha i.a.	Cobertura (%)						Masa seca g/m ²
		Monocotil.			Dicotil.		Total	
		Cypro	Rotex	Otras	Parhy	Otras		
Testigo sin tratamiento	-	10	8	13	8	10	49	289,8 a
Trifluralin*	0,96	36	1	2	12	2	53	245,4 a
Trifluralin* - linuron**	0,96-0,5	23	1	6	1	1	32	54,96 de
Trifluralin* - metobromuron**	0,96-1,0	25	1	1	1	2	30	51,34 de
Trifluralin* + EPTC*	0,96+2,88	4	1	1	15	1	22	51,34de
Trifluralin* - fomesafen***	0,96-0,25	13	1	1	2	-	17	62,20de
Metolaclor**	2,50	12	8	1	2	2	25	58,69de
Metolaclor + linuron	1,50+0,50	12	4	2	1	-	-	38,59e
Metolaclor + metobromuron	1,50+1,00	10	9	2	-	1	22	44,20de
Metolaclor - fomesafen	1,50-0,25	7	5	-	1	-	13	45,94de
EPTC* - metolaclor	2,88-1,50	2	9	1	5	5	22	98,50e
Sx = 8,240								

Tabla 2 Efectividad de herbicidas en malezas en maní
experimento 2

		% de cobertura						Masa
Tratamientos	Dosis kg/ha i.a.	Monocotil		Dicotil		Total	seca g/m²	
		Cypro	Otras	Parhy	Otras			
Testigo sin tratamiento		15	9	10	7	41	248,00 a	
Trifluralin	0,96	22	2	12	5	41	194,00 b	
Trifluralin + benfuresate*metobromuron	0,96+1,60-1,00	19	1	5	3	28	82,50 c	
Trifluralin - metobromuron	0,96-1,0	16	2	5	4	27	92,00 c	
Trifluralin - nitrofen	0,96-2,50	10	4	8	3	25	36,00 d	
Trifluralin - fomesafen	0,96-0,25	10	2	8	4	24	24,00 d	
Trifluralin - EPTC- metobromuron	0,96-2,88-1,00	15	1	6	1	23	52,00 d	
Trifluralin - bentazon	0,96-1,44	13	2	5	3	23	28,00 d	
Metolaclor + metobromuron	1,50+1,00	12	5	7	5	29	96,00 c	
Metolaclor - nitrofen	1,50-2,50	13	4	2	1	20	34,00 d	
Metolaclor - fomesafen	1,50- 0,25	12	1	5	3	21	21,00 d	
Sx = 10,05								

*PSI **PE ***POST. a ... e. Medias en una misma columna con letras iguales, no difieren significativamente para $P \leq 0,05$

Resultados similares a los aquí obtenidos en la eliminación de malezas dicotiledóneas fueron informados por varios autores (Basagran, 1986;

Labrada y col., 1986; Grichar y col., 1987; Labrada, 1987 y Americanos, 1996); así también la acción de EPTC sobre *C. rotundus* (4,7 y 8), por lo que se comprueba la alta eficacia del uso de mezclas o combinaciones de herbicidas en la eliminación de malezas tolerantes o resistentes al uso de un herbicida específico.

En los rendimientos los mejores resultados fueron obtenidos con la mezcla de metolaclor con linuron (1,5 + 1,0) kg/ha, seguido de la combinación de trifluralin con fomesafen (0,96 a 0,25) kg/ha y metolaclor con fomesafen (1,5 a 0,25) kg/ha en el primer experimento y metolaclor con bentazon (1,5 a 1,44) kg/ha, seguido de trifluralin con metobromuron (0,96 a 1,0) kg/ha, trifluralin con nitrofen (0,96 a 2,5) kg/ha y trifluralin con bentazon (0,95 a 1,44)

kg/ha en el segundo. El porcentaje de grasa no tuvo variaciones apreciables entre tratamiento (Tabla 3).

En la fase extensiva, las combinaciones de trifluralin con metobromuron (0,96 a 1,0) kg/ha, aplicado en presiembra e incorporado al suelo el primero, y en preemergencia el segundo, redujeron en 45 y 90 % el nivel de enmalezamiento en La Habana y Pinar del Río, trifluralin con fomesafen (0,96 a 0,25) kg/ha, el primero aplicado en idéntica forma que el anterior y fomesafen en posemergencia de cuatro a seis hojas de las malezas, redujo entre 90 y 95 % el nivel de enmalezamiento del cultivo del maní en ambas provincias. Es de destacar que el mayor enmalezamiento en las dos variantes, tanto en La Habana como en Pinar del Río, correspondió a *C. rotundus*, maleza resistente a las combinaciones de herbicidas utilizadas (Tabla 4).

Tabla 3. Efecto de los tratamientos de herbicidas sobre los rendimientos Experimento 1

Tratamientos	Dosis kg/ha	Rend. t/ha	Grasa (%)
Testigo sin tratamiento	-	0.22 d	52.25
Trifluralin - metobromuron	0.96 - 1.00	1.48 a	54.48
Trifluralin - nitrofen	0.96 - 2.50	1.43 ab	57.50
Trifluralin - bentazon	0.96 - 1.44	1.40 ab	54.07
Trifluralin - fomesafen	0.96 - 0.25	1.24 abc	56.36
Trifluralin + EPTC - metobromuron	0.96 + 2.88 - 1.00	1.18 abc	55.21
Trifluralin + bentazone - metobromuron	0.96 + 1.60 - 1.00	0.80 c	54.21
Metolaclor + metobromuron	1.50 + 1.00	1.34 ab	57.94
Metolaclor - bentazon	1.50 - 1.44	1.59 a	55.37
Metolaclor - fomesafen	1.50 - 0.25	1.23 abc	56.33
Metolaclor + nitrofen	1.50 + 2.50	1.33 ab	54.85
Trifluralin (8d)	0.96	1.07 bc	55.72
Sx = 0.125			

Experimento 2

Tratamientos	Dosis kg/ha	Rend. t/ha	Grasa (%)
Testigo sin tratamiento	-	0.67 c	53.60
Testigo con cultivos	-	1.24 bc	54.57
Trifluralin - metobromuron	0.96 - 1.00	0.92 cde	52.90
Trifluralin + EPTC	0.96 - 2.88	0.85 de	54.53
Trifluralin + linuron	0.96 - 1.00	0.72 e	56.35
Trifluralin - fomesafen	0.96 - 0.25	1.46 ab	54.55
Metolaclor	2.50	1.35 ab	51.95
Metolaclor + metobromuron	1.50 + 1.00	1.14 bcd	54.60
Metolaclor + linuron	1.50 + 1.00	1.65 a	52.09
EPTC - metolaclor	2.88 - 1.50	0.69 c	53.10
Metolaclor - fomesafen	1.50 - 0.25	1.39 ab	52.16
Trifluralin	0.96	0.65 c	55.66
Sx = 0.120			

Tabla 4. Efecto de las combinaciones de herbicidas extendidos sobre las malezas en maní

Malezas	Cobertura (%)					
	Tratamientos (kg/ha 1.a.) y provincias					
	Trifluralin (0,96)		Trifluralin-metobromuron (0,96-1,0)		Trifluralin-fomesafen (0,96-0,25)	
	Hab.	P. R.	Hab.	P. R.	Hab.	P. R.
<i>Cyperus rotundus</i>	45	5	50	15	40	-
<i>Sorghum halepense</i>	-	-	3	-	1	-
<i>Parthenium hysterophorus</i>	3	-	-	-	-	-
<i>Amaranthus dubius</i>	1	1	-	1	-	-
<i>Portulaca oleracea</i>	2	1	-	1	-	2
<i>Euphorbia heterophylla</i>	1	-	-	-	-	-
<i>Rottboellia cochinchinensis</i>	3	-	-	-	4	-
<i>Datura stramonium</i>	-	1	-	-	1	-
<i>Brachiaria platyphylla</i>	-	5	-	-	-	-
<i>Echinochloa colonum</i>	-	1	-	-	-	1
<i>Acanthospermum humile</i>	-	1	-	2	-	1
<i>Cassia tora</i>	-	1	-	1	-	1
Totales	55	16	53	10	46	5

Los rendimientos obtenidos, reafirmaron los resultados experimentales en cuanto a la selectividad de las combinaciones utilizadas. En La Habana hubo poca diferencia 0,07 t/ha, entre las variantes de metobromuron y fomesafen. En Pinar del Río el comportamiento fue similar, 0,08 t/ha de diferencia (Figura 1).

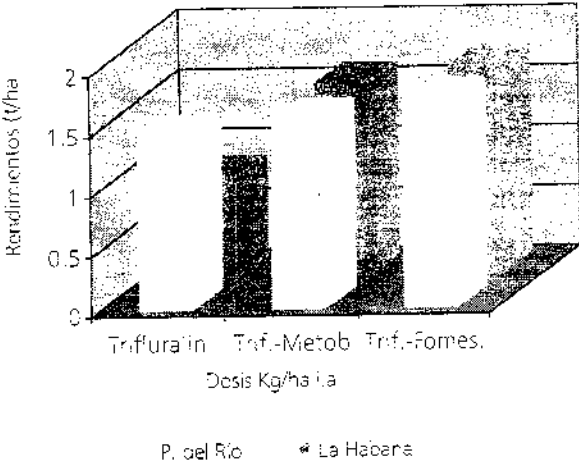


Figura 1. Efecto de los herbicidas sobre los rendimientos en maní

CONCLUSIONES

Trifluralin 0,96 kg/ha en presiembra incorporado al suelo de 8 a 10 cm de profundidad y metolaclor 1,5 kg/ha en preemergencia, son selectivos al maní y efectivos contra gramíneas anuales, no así sobre algunas dicotiledoneas como *P. hysterophorus*, *Datura stramonium* L. y otras solanáceas

Combinaciones o mezclas de trifluralin 0,96 kg/ha o metolaclor 1,5 kg/ha con linuron 1,0 kg/ha, metobromuron 1,0 kg/ha, fomesafen 0,25 kg/ha, bentazon 1,44 kg/ha y nitrofen 2,5 kg/ha, son efectivos contra las malezas antes indicadas, además aseguran rendimientos superiores al 10 % en comparación con el uso de trifluralin.

- La combinación trifluralin 0,96 kg/ha con metobromuron o fomesafen, tanto en suelos Ferralítico Rojo como en Ferralítico Cuarcítico, garantizan una cosecha libre de malezas anuales en el maní con alto potencial de rendimiento.

BIBLIOGRAFÍA

- Americano, P. G. Manejo de malezas en oleaginosas. Manejo de malezas para países en desarrollo. FAO, 120: 349-358, 1996.
- Basf. Basagran. *Boletín Técnico de Basf*. Estación Experimental Agrícola. Limburgerchg R.F.A., 1986.
- De la Cruz, R. : K. Ampong-Nyarko; R. Labrada y A. Medrano. *Manejo de malezas en leguminosas. frijol, soya y caupí*. Manejo de malezas para países en desarrollo. FAO, 120: 289-297, 1996.
- Doll, J. Control de *C. rotundus* y *C. esculentus* L. Ecología y control de malezas perennes en América Latina, FAO, 74: 89-97, 1983.
- Grichar, W. James and Thuman E. Boswell. *Herbicide Combinations in peanut (Arachis hypogaea L.)*, *Weed Technology*, 1: 290-293, 1987.
- Koch, W. M. E. Beshiee y R. Unteladstatter. *Pérdidas de cultivos causadas por malezas. Mejoramiento del control de malezas*, Actas de consulta de Expertos FAO/TWSS, p. 270-271, 1986.
- Labrada, R. *Conferencia sobre el uso de herbicidas en frijol* Holguín, 1987.
- Labrada, R.: E. Paredes y R. Morales. Herbicidas de presembrado para la lucha contra *C. rotundus* en áreas de frijol y soya. *Agrotecnia de Cuba*, 17 (1) 53-60, 1985.
- Labrada, R.: E. Paredes y R. Morales. *Herbicidas posemergentes contra malezas dicotiledoneas en frijol y soya*. México, 1986.
- Labrada, R. *Manejo de malezas en áreas de hortalizas y frijol en Cuba*. Ciudad de La Habana, p. 1-16, 1996.

CONVOCATORIA

al

VI Encuentro Nacional Científico Técnico de Bioplaguicidas
VI Expo CREE
Octubre de 1999

Como en años anteriores, convocamos a los investigadores, especialistas, productores, docentes y otros interesados en la lucha biológica contra plagas, enfermedades y malezas, a participar en este evento científico técnico comercial.

El mismo se organiza en el marco del Forum Nacional de Ciencia y Técnica, constituyendo una magnífica oportunidad para conocer los avances en la producción y utilización de controladores biológicos, tanto para la esfera vegetal, como animal y de salud pública.

Los interesados del país pueden contactar con el Comité Organizador en:

Instituto de Investigaciones
de Sanidad Vegetal

Calle 110 n. 514, e. 5a. B y 5a. E, Playa,
Ciudad de La Habana.

Telefonos: 22-2510, 22-6788

E-Mail: inisav@ceniai.int.cu

Valoración de tratamientos herbicidas en girasol (*Helianthus annuus* L.)

R. C. García y R. Labrada

INISAV. GP. 634. CP. 11300, Ciudad de La Habana

RESUMEN

Durante dos años consecutivos se realizó un experimento de cinco tratamientos y cinco repeticiones en el cultivo del girasol (*Helianthus annuus* L.) cv. 'Vinint'. Sobre suelo Ferralítico Rojo en la Estación Experimental del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Alquizar, La Habana, donde se evaluó el efecto de los herbicidas trifluralin (1,44 kg/ha i.a.), prometrina (1,5 kg/ha i.a.) en preemergencia (PE) y además la combinación de trifluralin (0,96 kg/ha i.a.) (PSI) con prometrina (1,0 kg/ha i.a.) (PE). Los mejores tratamientos fueron evaluados posteriormente en un experimento ampliado en parcelas de cinco surcos de 20 m de longitud con tres repeticiones. La totalidad de los tratamientos herbicidas mostraron una reducción satisfactoria de las malezas anuales presentes, con excepción de trifluralin a 1,44 kg/ha i.a., el cual resultó inefectivo sobre *Parthenium hysterophorus* L. La reducción de masa seca de las malezas fue de más de 80 % en el primer año, entre 60 y 65 % en el segundo y superior a 90 % en la ampliación. La mayor producción de capítulos de girasol se obtuvo con las variantes de trifluralin a 1,44 kg/h i.a. o la combinación de éste con prometrina (0,96 a 1,0 kg/ha i.a.), los que mostraron incrementos superiores a 30 % en comparación con una variante desyerbada manualmente, lo que aportó valores de rentabilidad de 278 y 288 %. Por la ocurrencia de altas precipitaciones, prometrina (1,5 kg/ha i.a.) redujo los rendimientos del girasol en 58 % en el segundo año.

Palabras claves: *Helianthus annuus*, malezas, herbicidas y *Parthenium hysterophorus*

ABSTRACT

During two consecutive years, two Latin square designed experiments with five treatments and five replications, were carried out using plots of six rows of 6 m long of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cv. 'Vinint', on Red Ferralitic soil at the Experimental Station of the Plant Protection Research Institute, Alquizar, Havana, where different herbicide treatments were assayed: trifluralin (1,44 kg/ha i.a.) pre-seedling and mechanically incorporated into the soil at a depth of 6 and 8 cm (PSI), prometrine (1,5 kg/ha i.a.) preemergence (PE) and the combined application of trifluralin (0,96 kg/ha i.a.) (PSI) with prometrine (1,0 kg/ha i.a.) (PE). The best treatments assayed were checked afterwards in an experiment in plots of five rows and 20 m long with three replications. All the herbicide treatments showed a satisfactory annual weed reduction with the exception of trifluralin 1,44 kg/ha i.a. which was ineffective against *Parthenium hysterophorus* L. Weed dry weight reduction was higher than 80 % in first year, among 60 and 65 % in the second and higher than 90 % in the last one for all herbicide treatments assayed. Best productions of fresh weight sunflower heads was achieved with treatments of trifluralin (1,44 kg/ha i.a.) and its combination with prometrine (0,96 and 1,0 kg/ha i.a.), which provided yield increase higher than 30 % in comparison with handweeded treatment and finally gave values of rentability of 278 and 288 %. In presence of high precipitations, prometrine 1,5 kg/ha i.a. reduced sunflower head production more than 58 %.

Key words: *Helianthus annuus*, weeds, herbicides and *Parthenium hysterophorus*

INTRODUCCIÓN

El girasol es un cultivo muy utilizado para obtener aceites comestibles de alta calidad, aunque también son considerados beneficios como planta forrajera por su elevada producción de masa verde con alto contenido de proteína en sus hojas, tallos y flores. Esta planta puede proporcionar de 45 a 75 t/ha de forraje verde en 66 y 70 días en el período seco (Padilla y col., 1993). Por otro lado está considerada entre los cultivos de gran efecto alelopático de inhibición, tanto sobre otros cultivos (Beltrán y col., 1997) como sobre algunas malezas (Villalba y col., 1993) por lo que se emplea bastante en programas de manejo de éstas. Sin embargo, una alta presencia de malezas puede reducir notablemente su rendimiento, de ahí que el estudio de los herbicidas adecuados tiene gran importancia para la obtención de altas producciones (Ozair y col., 1992).

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se llevaron a cabo durante dos campañas de primavera en los que se evaluaron dos herbicidas y su combinación para el combate de malezas en el cultivo del girasol cv. 'Vinint', sobre suelo Ferralítico Rojo (pH 6,2 en H₂O y contenido de materia orgánica de 2,9 %) en la Estación Experimental del INISAV en Alquizar, La Habana, en parcelas de seis surcos de 6 m de longitud y 0,7 m de separación, distribuidas en un diseño de cuadrados latinos con cinco repeticiones. En esta fase experimental las variantes fueron:

1. Testigo sin tratamientos.
2. Testigo con desyerbe manual.
3. Trifluralin 1,44 kg/ha i.a. en presiembra e incorporado mecánicamente al suelo (PSI).
4. Prometrina 1,5 kg/ha i.a. en preemergencia (PE).
5. Trifluralin 0,96 kg/ha i.a. (PSI)- Prometrina 1,0 kg/ha i.a. (PE).

En la campaña siguiente se desarrolló un experimento de ampliación donde se evaluó la efectividad técnica y económica de las variantes más prometedoras en parcelas de cinco surcos de 20 m de longitud con tres repeticiones las cuales fueron:

1. Testigo con desyerbe.
2. Trifluralin 1,44 kg/ha i.a. (PSI).

3. Trifluralin 0,96 kg/ha i.a. (PSI) seguido de prometrina 1,0 kg/ha i.a. (PE).

La efectividad herbicida en la fase experimental se valoró por conteo de malezas por especie en cuatro marcos de 0,25 m², ubicados en las diagonales de los cuatro surcos centrales de cada parcela a los 45 días de la siembra; además, se evaluó la masa seca por metros cuadrados de las malezas. El rendimiento se determinó por el peso de los capítulos de girasol en el área evaluable de cada parcela, expresado en toneladas por hectáreas. La fitotoxicidad fue estimada por el método visual según la escala de grados descrita por Geshtov y colaboradores, 1979 a los 30 días de la siembra.

En el experimento en parcelas ampliadas se contabilizaron los gastos producidos desde el proceso de preparación de suelo hasta la cosecha, para su evaluación económica. La efectividad herbicida y la fitotoxicidad se evaluaron de la manera ya descrita. En esta fase se realizó un desyerbe manual fuerte con pase de azadón en la variante sin herbicida, y ligero en las demás variantes a los 24 días de la siembra.

Los resultados de las evaluaciones se sometieron a análisis de varianza y las medias se compararon mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan, con un 5 % de probabilidad de error.

Las precipitaciones ocurridas aparecen en la Tabla 5.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1, se puede apreciar que en la fase experimental, los tratamientos ejercieron buen efecto sobre las malezas anuales y *Sorghum halepense* (L.) Pers., al parecer procedente de semillas. Trifluralin a 1,44 kg/ha i.a. no fue efectivo contra *Parthenium hysterophorus* (L.). En ningún caso hubo efecto sobre *Cyperus rotundus* (L.). Es de notar cómo la masa seca de malezas se redujo en 80 % en el primer año y en 60 % en el segundo

Tabla 1. Efecto de los tratamientos en la fase experimental a los 45 días de la siembra.
Malezas por metros cuadrados

Malezas	Testigo sin tratamiento		Trifluralin 1,44 kg/ha i.a.		Prometrina 1,5 kg/ha i.a.		Trifluralin 1,44 kg/ha i.a. + prometrina 0,96 kg/ha i.a.	
	A	B	A	B	A	B	A	B
<i>Rottboellia cochinchinensis</i>	1,8	2,6	-	0,2	2,2	0,4	0,5	-
<i>Eleusine indica</i>	-	4,8	-	1,6	-	2,8	-	-
Otras gramíneas anuales	-	2,6	-	0,4	-	0,6	-	-
<i>Cyperus rotundus</i>	11,6	28,6	57,0	85,0	71,2	130,8	59,5	170,2
<i>Sorghum halepense</i>	18,6	4,4	2,4	2,6	1,6	4,0	2,5	3,6
<i>Parthenium hysterophorus</i>	3,6	30,4	6,2	42,8	0,2	5,6	-	0,4
<i>Amaranthus spp</i>	10,4	21,2	0,4	0,6	0,6	0,4	0,3	0,2
Otras dicotiledóneas	9,0	6,6	9,8	15,2	4,4	3,6	3,6	0,4
Total de malezas	55,0	101,2	75,8	148,4	80,2	148,2	66,4	174,8
Masa seca g/m ²	312,8 a	202,7 a	56,9 b	79,1 b	40,1 b	69,9 b	63,1 b	66,0 b

A - Primer experimento Sx - 1,3 Cv. - 31,1 %
B - Segundo experimento Sx - 1,2 Cv. - 28,3 %

El rendimiento de los capítulos de girasol (Tabla 2) fue superior al del testigo sin tratamiento en todos los casos. Los incrementos variaron desde 30 % hasta más de 100 % en las dos campañas, excepto en la variante con prometrina a 1,5 kg/ha i.a. que resultó fitotóxica en el segundo año, atribuible a abundantes lluvias durante todo el ciclo del cultivo, lo cual coincide por lo

observado por Lucas (1971), quien afirma que este herbicida ejerce una acción fitotóxica retardadora del crecimiento sobre las plantas de girasol en períodos lluviosos, por la lixiviación del mismo hacia un nivel inferior del suelo. Este movimiento descendente de la prometrina en presencia de alta irrigación puede ser notable en suelos ligeros y medios (Vouzounis y col., 1992).

Tabla 2. Efecto de los tratamientos sobre la producción de capítulos de girasol en la fase experimental (t/ha)

Variantes	Dosis kg / ha i.a.	Rendimiento (t/ha)	
		Primer año	Segundo año
Testigo sin tratamientos	-	1,32 b	2,26 bc
Testigo con desyerbe	-	2,40 ab	3,33 a
Trifluralin	1,44	2,05 ab	3,16 ab
Prometrina	1,5	2,37 ab	1,37 c
Trifluralin - prometrina	0,96 - 1,0	3,68 a	2,58 ab
Sx	0,15	0,3	
Cv. (%)	23,0	27,0	

En el experimento de ampliación (Tabla 3) se corroboran los resultados de eficacia de los precedentes, trifluralin 1,44 kg/ha i.a. provocó una reducción considerable de la masa seca de malezas en más del 90 %, además se logró un

aumento del 46 % en el rendimiento de capítulos de girasol. Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores a dosis similares (Guioti, 1976; Gills y col., 1985), pero a la dosis inferior de 0,96 kg/ha i.a. se señala que este

herbicida se mostró inefectivo (Bueno y col., 1986).

La combinación trifluralin-prometrina (0,96 a 1,0 kg/ha i.a.) resultó también muy efectiva sobre malezas anuales y en particular sobre *P.*

hysterophorus. Aquí la reducción de masa seca fue de 96 % y el incremento de rendimiento fue de 44 %. No se observó fitotoxicidad por parte de este tratamiento.

Tabla 3. Efecto de los tratamientos en la ampliación a los 20 días de la siembra. Malezas por metros cuadrados

Malezas	Testigo con desyerbe	Trifluralin 1,44 kg/ha i.a.	Trifluralin-prometrina 0,96-1,0 kg/ha i.a.
<i>Rotiboaella cochinchinensis</i>	183,3	28,0	24,0
<i>Digitaria sanguinalis</i>	644,3	16,0	10,7
<i>Cyperus rotundus</i>	18,7	19,3	-
Otras gramíneas	7,3	-	-
<i>Parthenium hysterophorus</i>	12,0	37,7	-
<i>Amaranthus spp.</i>	8,3	-	-
Otras dicotiledóneas	24,5	28,3	11,0
Total de malezas	898,4	129,3	64,4
Masa seca (g/m ²)	139,4 a	10,6 b	5,4 b
Sx - 2,6 Cv. - 8,7 %			

Al analizar la efectividad económica (Tabla 4) se observa que la ganancia fue superior al testigo con desyerbe manual en ambos tratamientos.

El nivel de costo por tonelada disminuyó en \$ 15,00 y la norma de rentabilidad prácticamente se duplicó en comparación con el testigo.

Tabla 4. Efectividad económica de las variantes ampliadas

Parámetro	Unidad	Testigo	Trifluralin	Trifluralin - prometrina
Dosis	kgg/ha i.a.	-	1,44	0,96-1,0
Rendimiento	t/ha	6,35	9,27	9,14
Valor del incremento	p/ha	815	1 328	1 297
Gastos por aplicación	p/t	65	50	51
Ganancia	p/ha	815	1 328	1 297
Nivel de costo de 1t	p/t	65	50	51
Efecto económico unitario	p/ha	-	513	482
Norma de rentabilidad	%	198	288	278

Tabla 5. Precipitaciones durante los experimentos (mm²)

Período	Primer experimento			Segundo experimento				Ampliación			
	Mayo	Junio	Julio	Abril	Mayo	Junio	Julio	Marzo	Abril	Mayo	Junio
1 - 15	46,0	47,0	31,5	-	71,5	36,0	103,0	-	71,0	46,0	14,5
16 - 31	32,0	61,0	108,0	2,0	180,5	159,0	177,0	20,5	24,5	27,	19,6
Total	78,0	108,0	139,5	2,0	252,0	197,0	280,0	20,0	95,5	73,0	34,1

CONCLUSIONES

- Los tratamientos a base de trifluralin (1,44 kg/ha i.a.) (PSI) y trifluralin - prometrina (0,96 a 1,0 kg/ha i.a.) en el cultivo de girasol mostraron una buena efectividad sobre malezas anuales y una reducción de masa seca superior a 60 %, con incremento de los rendimientos superiores a 40 %.
- La aplicación preemergente de prometrina (1,5 kg/ha i.a.) en época de alta pluviosidad resulta fitotóxica al girasol y reduce los rendimientos del cultivo.

BIBLIOGRAFÍA

- Anónimo. El girasol, *Correo fitosanitario* Bayer, 1: 20, 1985.
- Beltrán, L.; A. Leyva y Lucy Caparicón. Un estudio preliminar del efecto alelopático del girasol (*Helianthus annuus* L.) sobre varios cultivos económicos, *Cultivos Tropicales*. 18 (1): 40-42, 1997.
- Bueno, F. L.; R. J. A. Tafoya y O. D. M. Orrantia. Control químico de la maleza en el cultivo del girasol (*Helianthus annuus* L.), *En VII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de la Ciencia de la Maleza y VII Congreso de la*

Asociación Latinoamericana de Malezas ALAM, Guadalajara, 136 p., 1986.

- Gills, H. S. and S. Paul. Investigation on the chemical weed control in sunflower, *Weed Abst.*, 34 (4): 73, 1985.
- Geshtov, Y. N.; R. Labrada; R. Rodríguez; E. Pérez, B. Rivera; B. Cartaya y F. la O. Metodología para experimentos con herbicidas en condiciones de campo, Parte II, *Inform. Téc.*, 2 (3): 66, 1979.
- Guiotti, B. It desherbo del girasole, *Lotta Antiparasitaria*, XXVIII (4): 14, 1976.
- Luca, A. C. Le desherbage du tournesol, *Phytoma*, 230: 35, 1971.
- Ozair, A. C., M. A. R. Rana and M. A. Khan. Activity of fluazifop-butyls as influenced by surfactant and season of planting of sunflower, Newsletter, Near East Working Group for Improved Weed Management, Issue No. 12, 4 p., 1992.
- Padilla, C.; T. E. Ruíz y Delia M. Cino. El girasol (*Helianthus annuus* L.) como planta forrajera, Dirección de Información Científico-Técnica, La Habana, 1985.
- Villalva, Sonia y J. Fuentes-Pila. *Agricultura Sostenible*. Hojas Divulgadoras No. 7, 22 p., 1993.
- Vouzounis, N. A. y P. G. Americanus. Distribution of herbicide activity in leaching columns of three soil types under different amounts of water, Newsletter, Near East Working Group for Improved Weed Management, Issue No. 12, 2 p., 1992.

Combate contra el alga roja (*Cephaleuros virescens* Kunze) en cítricos

Julia E. Almándo¹, L. Castellanos², E. Pérez¹ y Teresa Rivero²

1 INISAV, Calle 110 No. 514 entre 5 y 5 F. Playa
2 Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, Carretera
Palmira, km 4, Cienfuegos

RESUMEN

Se evalúa un grupo de productos químicos para el control del alga roja (*Cephaleuros virescens* Kunze). En Cienfuegos (1991 y 1992), se realizaron experimentos en condiciones de campo, sobre suelo Ferralítico Rojo, en naranja valencia de 12 años de edad. Se pudo comprobar que los tratamientos de simazina al 0,5 %, fluometuron al 0,5 % y metiram + oxiclورو de cobre al 0,25 % y oxiclورو de cobre al 1,4 %, disminuyeron la intensidad de ataque de *C. virescens*. Se observó además, que la efectividad técnica de estos productos, con solo una aplicación, tiene cobertura de 60 días.

Palabras claves: *Cephaleuros virescens*, experimentación en campo, control químico y frutales

ABSTRACT

In order to evaluate a group of chemical pesticides for the control of the red alga (*Cephaleuros virescens* Kunze). During the period 1991 and 1992 it was carried out field experiments in Cienfuegos, on citrus grown on Red Ferralitic soil. The applications of simazine at a rate of 0.5 %; fluometuron 0.5 % methiram + cupper oxichloride 0.25 % and cupper oxichloride 1.4 % reduced the intensity of the attack. Furthermore, it was observed that this pesticides protect the citrus during 60 days.

Key words: *Cephaleuros virescens*, chemical control, field experiment and fruit-trees

INTRODUCCIÓN

El alga roja, causada por *C. virescens* Kunze, es un organismo que a finales de 1984 se diseminó en las áreas cítricas de Cienfuegos, fundamentalmente, en Lima persa (*Citrus aurantifolium* Swing), variedad susceptible (Rivero y col., 1989).

La enfermedad ataca el tronco, ramas, hojas y frutos; afecta los tejidos de estos órganos, necrosa y agrieta longitudinalmente la corteza, y a los frutos le provoca una deshidratación que los arruga, por lo que demeritan su calidad, ocasionan pérdidas que pueden ascender a más de 17 kg/planta, lo que representa un 28 % (Satyanarayana, 1979; Rondon, 1975; Valdés, 1977 y Rivero y col., 1989).

Para su control han dado resultados satisfactorios, los fungicidas acetato trifenil estaño y captafol (Satyanarayana, 1979 y Rondon, 1975).

En estas condiciones, se ha comprobado la susceptibilidad de *C. virescens* a las aplicaciones de producto a base de cobre, sólo o mezclado en emulsión de aceite o haftol (Ramallo, 1974; Valdés, 1977; Gomez y col., 1985; Rivero y col., 1989 y Rivero y col., 1991). Los estudios para determinar el momento óptimo de control del alga (Ramallo, 1974 y Rivero y col., 1991) concluyeron que en Lima persa se deben realizar aplicaciones de oxiclورو de cobre a 3 kg/ha en abril y junio, mientras que en naranja valencia debe ser en la primera brotación y repetirla en junio.

En busca de nuevas alternativas para el combate de *C. virescens* Kunze, se valoró un grupo de productos químicos: simazina y fluometuron que son dos herbicidas inhibidores de la fotosíntesis (Satyanarayana, 1970) y que por lo demás no presentan inconvenientes de fitotoxicidad a bajas concentraciones en plantaciones de cítricos (Hubson, 1969; Menashe y col., 1973 y Pérez, 1983); así como los fungicidas metiram + oxiclورو de cobre y oxiclورو de cobre + zineb, que por presentar en su formulación cobre son efectivos en el control del alga. (Ramallo, 1974; Valdés, 1977; Gómez y col., 1985; Rivero y col., 1989 y Rivero y col., 1991).

MATERIALES Y MÉTODOS

En 1991 y 1992, se evaluó un grupo de productos químicos para el combate de *C. virescens* en naranja valencia de 12 años de edad, en áreas donde se realiza un manejo integrado de la enfermedad (Rivero y col., 1991).

El primer experimento se hizo en la Empresa Cítrica Horquita y el segundo en Arimao, pertenecientes a Cienfuegos, sobre suelo Ferralítico Rojo, con un pH de 7.4 y contenido de materia orgánica de 2,5 a 2,6 %.

En el primer experimento se utilizaron las siguientes variantes: metiram + oxiclورو de cobre, oxiclورو de cobre + zineb, simazina y fluometuron al 0,25 %; así como estas dos últimas al 5 % y oxiclورو de cobre al 1,4 %. En todos los casos se mezclaron con citol al 1,5 % del formulado, excepto en las variantes de simazina y fluometuron.

En el segundo experimento, se incluyeron simazina y fluometuron al 0,5 %, metiram + oxiclورو de cobre al 0,25 % y oxiclورو de cobre al 1,4 %.

Las dosis acordadas por las variantes con mezclas a base de cobre, son las consultadas por la metodología de registro de *C. virescens* en cítrico (Rivero y col., 1989) y para las variantes simazina y fluometuron; se tomaron en cuenta los estudios de herbicida en semillero y vivero del cultivo de los cítricos por Pérez, 1983.

En el primer experimento se utilizaron parcelas de 128 m², las que comprendían cuatro plantas a evaluar, dos en bloque al azar con cuatro réplicas y en el segundo se utilizaron parcelas de 1 536 m², conformadas por cuatro hileras, para un total de 48 plantas, y se muestrearon 12 plantas fijas en los surcos centrales.

En todos los casos se realizó una sola aplicación durante la primera brotación (primera quincena de junio), en que el índice de infestación alcanzó de 11 a 25 %, que es cuando se considera pérdida del cultivo (Rivero y col., 1991), no se tuvieron que realizar más aplicaciones por no incrementare el ataque a partir de la última evaluación y conclusión del ciclo del cultivo con la cosecha.

En el primer experimento, se utilizó la máquina NA-20 de pistola con boquilla de 0,8 mm, con

una solución final de 2 000 L/ha y en el segundo experimento se empleó la máquina Sirokko, con un volumen de solución final de 3 000 L/ha.

Las plantas evaluadas se tomaron por los cuatro puntos cardinales se tomo en cuenta 2 m de longitud de la rama repartidos en el área donde se va evaluar, a través de la siguiente escala de Rivero (1991); donde 0 es ramas sanas; 1 con pocas manchas aisladas, 2 cuando las manchas ocupan el 10 % de la superficie (20 cm), 3 las manchas ocupan del 11 al 25 % de superficie (hasta 50 cm) y 4, las manchas ocupan del 26 al 50 % de la superficie (hasta 100 cm).

Se realizaron cuatro evaluaciones, una antes de la aplicación y a los 30, 45 y 60 días después de la aplicación realizada.

Con los datos obtenidos, se calculó la efectividad de los productos químicos a través de la fórmula de Abbott y la intensidad del ataque de *C. virescens* por la fórmula de Townsend y Heuberger (Ciba-Geigy, 1981).

Tabla 1

Primer experimento. Efectividad técnica de diferentes tratamientos en el control de *C. virescens* Empresa citrícola "Horquita", Cienfuegos, 1991

Variantes	Dosis % l.a.	% efectividad (días)			
		15	30	45	60
Metiram + O. cobre	0,25	70b	71b	72a	31b
O. cobre + zineb	0,25	62c	31c	31c	13c
Metiram	0,25	12d	10d	10c	10c
Simazina	0,5	74b	79b	81a	43a
Fluometuron	0,25	72b	73b	78a	41a
O. cobre	1,4	96,5a	88a	76a	44a
Testigo	-	-	-	-	-
ES:	0,223 0	0,294 0	0,317 3	0,352 1	
CV	19,08 %	21,09 %	22,12 %	22,25 %	

Fueron eficaces además metiram + oxiclورو de cobre al 0,25 %, simazina y fluometuron al 0,5 y 0,25 %, respectivamente, en estos últimos se observó de verdeo y crecimiento más vigoroso de las plantaciones; así se evitó la predisposición de la planta al alga (Rondón, 1975; Padrón, 1982; Pérez, 1983 y Rivero y col., 1991). A los 60 días de la aplicación no hubo control de la enfermedad en ningún tratamiento.

En el segundo experimento (Tabla 2) todos los tratamientos mantuvieron la protección del

Estos valores fueron transformados en $2 \arcsin x$ y procesados por análisis de varianza y comparación de medias, mediante el Test de rangos múltiples de Duncan con el 5 % de probabilidad de error.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las aplicaciones comenzaron a partir de que la intensidad de ataque de *C. virescens* Kunze alcanzara el índice de 11 %, según la metodología al efecto (Prat, 1974) que se considera pérdida en el cultivo.

En el primer experimento (Tabla 1) se aprecia que en la primera evaluación (a los 15 días de realizadas las aplicaciones) la variante que mostró ser efectiva en el control de *C. virescens* fue el oxiclورو de cobre al 1,4 % (estándar) con un control hasta los 45 días de aplicado con 76 % de efectividad.

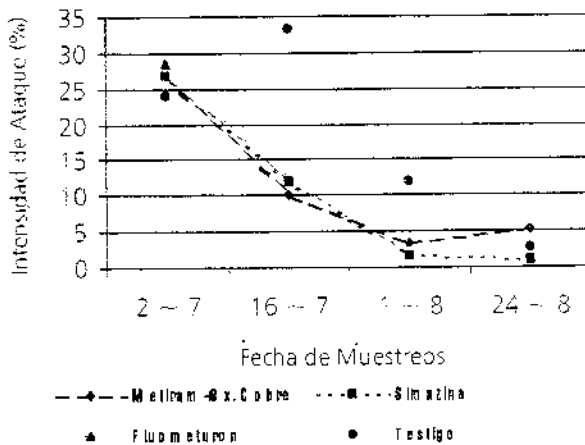
cultivo en el control de *C. virescens* se incluyó el estándar oxiclورو de cobre al 1,4 % destacaron simazina y fluometuron que alcanzaron de 97 a 98 % de efectividad hasta los 60 días de aplicado el producto.

Ninguna de las variantes evaluadas produjo efecto fitotóxico al ser aplicadas al follaje de la planta, lo que se corresponde con los resultados de selectividad señalados anteriormente (Goren, 1969; Menashe y col., 1973 y Pérez, 1983).

Tabla 2. Segundo experimento. Efectividad técnica de los tratamientos en el control de *C. virescens*. Cienfuegos, 1992

Variantes	Dosis % i.a.	% efectividad (días)			
		15	30	45	60
Metiram + o. cobre	0,25	65c	96a	95a	93a
Simazina	0,5	83b	95a	97a	97a
Fluometuron	0,5	85b	96b	99a	98a
O. cobre	1,4	98a	88a	86a	84a
ES	0,103 6 0,142 0	0,159 8	0,145 2		
CV	4,76 % 5,34 %	5,89 %	5,43 %		

En este ensayo se determinó la intensidad de ataque (Figura 1) antes de la aplicación, la que alcanzó de 27 a 30 %. A los 15 días de la aplicación, el estándar oxiclورو de cobre al 1,4 %, ejerció efecto al disminuir a 1,6 % el promedio de ataque de *C. virescens*. En el resto de los tratamientos aunque disminuye, no es tan significativo como con el estándar; sin embargo, ya en la segunda y tercera evaluación se observa una disminución significativa de la intensidad de ataque de *C. virescens* en todos los tratamientos.

**Figura 1** Intensidad de ataque de *C. virescens* en Cítricos. Cienfuegos, 1992

CONCLUSIONES

Los tratamientos simazina y fluometuron a la dosis de 0,5 % i.a. en el cultivo de la naranja valencia, logró un control eficaz de *C. virescens* Kunze; así como con metiram + oxiclورو de cobre al 0,25 % i.a.

RECOMENDACIONES

Para el control de *C. virescens* debe incluirse como alternativa una sola aplicación en la primera brotación, siempre y cuando exista el índice de ataque de 11 a 25 % (metodología de registro de *C. virescens* en cítricos) (Prat, 1974) de uno de los siguientes productos:

- Simazina a la dosis de 0,5% i.a. o fluometuron a la dosis de 0,5% i.a. o metiram+oxiclورو de cobre al 0,25% i.a.

BIBLIOGRAFÍA

- Ciba-Geigy. *Manual para ensayos de campo en protección vegetal*. Segunda edición. Basilea, Suiza, p. 34-35, 1981.
- Chairman. C. E. *Herbicide Handbook of the weed science society of America*. 5ª ed., pp. 515, 1983.
- Gómez, R. y L. A. Acevedo. Resultados preliminares de pruebas de varios fungicidas para el control químico del alga roja (*Cephaleuros virescens* Kunze) en Lima persa. En *III Jornada Científico Técnico de Sanidad Vegetal de Cienfuegos*. Resumen, p. 62, 1985.
- Goren, R. The effect of fluometuron on the behaviour by citrus leaves. *Weed research*, (9): 121-135, 1969.
- Hubson, L. Mango production in South Africa the South Africa, *Citrus Journal*, (423): 12-16, 1969.
- Menashe, I. and R. Goren. Detoxification of fluometuron by citrus tissue, *Weed research*, 13 (2): 158-168, 1973.
- Padrón, J. Algunos aspectos biológicos en el control del mildiu y la antracnosis en el mango, *Cultivos tropicales* 7 (4): 710-712, 1982.

- Pérez, E. Distribución de malezas en cítricos: aspectos bioecológicos de *Cynodon dactylon* (L.) Pers.: daños ocasionados por dicha especie y efectividad de herbicidas en semilleros, viveros y plantaciones jóvenes de cítrico, tesis para optar por el grado de Candidato a Doctor en Ciencias Agrícolas. 1983.
- Prat, R. *Guía de la Florida sobre insectos, enfermedades y trastornos de la nutrición en los cítricos*. Editorial Limusa. México, p. 121-123. 1974.
- Ramallo, N. E. Enfermedades. Estación experimental Agrícola Tucumán. *Boletín* (Argentina), (116): 12. 1974.
- Rondon, A. Enfermedades del mango. *Fitopatología. Sociedad venezolana de Fitopatología*, 2 : 27-42. 1975.
- Rivero, Teresa *et. al. Metodología de registro de C. virescens Kunze en cítricos*. Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Cienfuegos. Resumen IV Jornada Científico-Técnica, 1989.
- Rivero, Teresa *et. al. Determinación del momento óptimo para el control de C. virescens*.), 1991.
- Saryanarayana, G. Review of Plant Pathology of the *Mycology Department*, 49 (9): 454. R. 2628. 1970.
- Valdés, S. Algunas consideraciones sobre *C. virescens* Kunze en cítricos. En *V reunión Nacional de Investigaciones de Cítricos y otros Frutales*, CIDA, Jagüey Grande, Matanzas, p. 125-133. 1971.
- Roberto, J. Weaver. *Reguladores de crecimiento de las plantas agrícolas*, Editorial Trillas. México: p. 622. 1984.

- Determinación de residuos de plaguicidas en material vegetal, agua y suelo.
- Investigación del comportamiento de plaguicidas en el ambiente
- Establecimiento de los intervalos pre cosecha de plaguicidas en cultivos
- Análisis físico- químico de formulados de plaguicidas
- Determinación del comportamiento de formulados bajo condiciones de almacenamiento prolongado.
- Asesoría en el montaje de laboratorios de residuos y análisis físico-químico.
- Determinación de los componentes de los caldos de fermentación
- Determinación de la composición de ácidos grasos en muestras biológicas
- Certificación de los niveles de residuos en exportaciones agropecuarias.

Humberto Hernandez Castaneda

Gerente Básico

Calle 110 n° 514, el. 5a B y 5a F Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléf.: 29-5232, 22-9366
Fax: 22-9366, 24-0535,
E-Mail: inisav@ceniai.inf.cu

servicios de
QUIMICA

Influencia de la temperatura en la biología de las especies *Trichogramma pintoï* y *Trichogramma pretiosum*

Mayda Mollineda Caballero, Mayté López del Castillo y Miguel Milán

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal

RESUMEN

Se realizó un estudio comparativo de la influencia de la temperatura en los estados de desarrollo de *Trichogramma pintoï* Voegelé y *Trichogramma pretiosum* Riley, a cinco temperaturas controladas (32, 30, 26, 24 y 20°C). A la temperatura de 24°C los estados de desarrollo de *T. pretiosum* presentaron un mayor grado de supervivencia que los de *T. pintoï*, sin embargo, a temperaturas de 26 a 32°C, la supervivencia de *T. pretiosum* fue superior a la de *T. pintoï*. La telitokia de *T. pretiosum*, se manifestó más cuando la temperatura se mantuvo a 30°C. La baja temperatura (20°C) ejerce gran influencia en el desarrollo de los machos para el *T. pretiosum*, mientras que para el *T. pintoï* esta influencia se alcanza a alta temperatura (32°C).

Palabras claves: *Trichogramma pintoï*, *Trichogramma pretiosum*, partenogénesis y biología

ABSTRACT

Comparative study of the temperature influence in the different stages of *Trichogramma pintoï* Vorgalá and *Trichogramma pretiosum* Riley to five controlled temperatures (32, 30, 26, 24 and 20°C) was made. The *T. pintoï* stages to 24°C of temperature presented a major survival rate than *T. pretiosum* stages, however the survival rate of *T. pretiosum* from 26 to 32°C of temperature was better than *T. pintoï*. The telitoky of *T. pretiosum* showed higher when the temperature remained to 30°C. The low temperature (20°C) to exert influence large in the male develop to *T. pretiosum*, while which *T. pintoï* reach this influence in high temperature (32°C).

Key words: *Trichogramma pintoï*, *Trichogramma pretiosum* parthenogenesis and biology

INTRODUCCIÓN

La acción que ejerce la temperatura sobre el desarrollo de los insectos, ha sido el objeto de numerosos trabajos: Lund, 1934; Davidson, 1944; Huffaker, 1944; Pradhan, 1946; Venkatraman y Govil, 1953; Matteson y Decker, 1965; Savescu, 1965; Savescu y colaboradores, 1968; Mejer, 1980; Volden y Chiang, 1982; Pintureau, 1984; Qui y Zashavsky, 1984; Cabello y Vargas, 1985, 1986 y 1989; Voegelé y colaboradores, 1986; Urias y colaboradores, 1993, entre otros, pero no todos los autores estudiaron sistemáticamente la acción de este factor sobre *Trichogramma*.

Scherad (1932), atribuye a la temperatura gran responsabilidad en el apareamiento del *Trichogramma*, bajo condiciones de laboratorio, así como la duración del ciclo de vida. La reproducción máxima ocurrió a 27°C. Temperaturas menores de 8°C dan origen a especímenes deformados. Las hembras depositaron más huevos cuando la temperatura se encontraba por encima de 21°C.

Ram y Sharma (1977), observaron que la fecundidad de *T. fassiatum* Perkinsi, en huevos de *C. cephalonica* Stainton, disminuyó con el aumento de la temperatura; la máxima fecundidad la obtuvieron a 25°C. *T. pretiosum* y *T. brevicapillum* parasitaron un mayor número de huevos de *Trichopsia ni* a 25°C; el mayor número de adultos se obtuvo a 20 y 25°C (Pak y Oatman, 1982).

Ram y Sharma (1977) observaron una tendencia de mayor producción de hembras de *T. pretiosum* y *T. brevicapillum*; Pak y Oatman (1982), obtuvieron un mayor número de hembras a temperaturas altas.

La tasa de desarrollo de *T. pretiosum* criadas en huevos de *H. virescens* y en la de *S. cerealella* fueron más altas a 30°C (Goodenaugle y col., 1982).

Torre (1993), estudió la fecundidad con dos especies de *Trichogramma* en dos épocas del año y concluyó que el parasitismo de *T. oatmani* se incrementa durante el verano y para *T. pintoi* durante el invierno.

T. pintoi y *T. pretiosum* son las dos especies más utilizadas en los centros de reproducción de entomófagos y entomopatógenos del país, por tal motivo el objetivo estuvo encaminado al

estudio de algunos aspectos biológicos (parasitación, longevidad del adulto, relación de sexo en la descendencia, así como la tasa de desarrollo) relacionados con la temperatura, factor de elevada importancia a considerar en la valoración de un parásito como agente de lucha biológica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los cultivos de *T. pintoi* y *T. pretiosum* obtuvieron cepas criadas en el laboratorio, procedentes de La Habana (cepa 212) para la primera especie y de Santiago de Cuba (cepa 175) para la segunda especie, ambas criadas en los huevos del hospedante de sustitución *C. cephalonica* Stayton.

La metodología seguida para la cría del hospedante fue la establecida en la Norma Ramal para la reproducción de *Trichogramma* spp., MINAG, 1989.

En el experimento siempre se utilizaron adultos con menos de 24 h de emergidos de los huevos del hospedante, los que habían sido previamente individualizados en viales de cristal de 5 cm de longitud por 0.5 cm de diámetro.

Para cada temperatura se tomaron 30 parejas de cada especie, los que fueron colocados en viales aislados, se situaron 100 huevos del hospedante adheridos en agua azucarada a una cartulina blanca. Se le suministró a los adultos una solución de miel y agua al 15 %. Después de la muerte de los imagos del parasitoide, los huevos de estos fueron incubados en las mismas condiciones hasta la emergencia de la descendencia.

Las variantes de estudio fueron: 1. 32°C; 2. 30°C; 3. 26°C; 4. 24°C; 5. 20°C.

Los datos registrados fueron:

- Número de huevos parasitados por hembra.
- Longevidad de los adultos en días.
- Porcentaje de nacimiento de la descendencia.
- Sexo de la descendencia.

Los datos obtenidos fueron procesados por un análisis de varianza, para la comparación de media se utilizó la prueba de Newman Kels (Dagnelie, 1984), para un nivel de significación del 5 % de probabilidad de error.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Tablas 1 y 2, se recogen los valores correspondientes al número de huevos de *C.*

cephalonica parasitados por *T. pinto* y *T. pretiosum*, la longevidad de los progenitores, el sexo de la descendencia, el porcentaje de emergencia y la proporción sexual.

Tabla 1. *Trichogramma pinto*. Fecundidad de las hembras, longevidad de los adultos, sexo de la descendencia y porcentaje de nacimiento a diferentes temperaturas

Temp. en (°C)	Medias de huevos parasitados	Longevidad media del adulto (días)		Sexo		Descendencia	
		Hembras	Machos	No. de hembras	No. de machos	Proporción Sexual	Porcentaje nacimiento
32	26,96 b	4,59 c	4,2 b	9,5 b	14,56 a	1:0,6 c	87,96 b
30	16,96 c	4,96 c	5,40 b	6,56 c	9,26 b	1:0,7 c	93,27 a
26	24,73 b	4,10 c	4,80 b	11,00 b	9,30 b	1:1,2 b	82,18 bc
24	34,10 a	10,04 a	10,86 a	18,30 a	8,60 b	1:2,1 a	89,39 ab
20	10,75 d	8,33 b	5,53 b	5,10 c	4,30 c	1:1,01 b	86,03 b

Tabla 2. *Trichogramma pretiosum*. Fecundidad de las hembras, longevidad de los adultos, sexo de la descendencia, porcentaje de nacimiento a diferentes temperaturas

Temp. en (°C)	Medias de huevos parasitados	Longevidad media del adulto (días)		Sexo		Descendencia	
		Hembras	Machos	No. de hembras	No. de machos	Proporción Sexual	Porcentaje nacimiento
32	35,40 a	6,36 b	5,10 b	27,28 a	7,05 a	1:3,8 b	97,20 a
30	28,60 ab	6,00 bc	4,40 c	23,30 b	0,76 d	1:33,2 a	91,73 a
26	23,90 b	5,30 bc	4,50 c	18,96 c	4,39 c	1:4,3 b	97,60 a
24	23,20 b	5,70 bc	4,80 bc	16,60 c	5,69 b	1:2,9 b	96,00 ab
20	1,70 c	14,10 a	10,00 a	0,46 d	0,56 d	1:0,8 c	67,00 b

El análisis de la especie *T. pinto* indica que a 24°C de temperatura se manifiestan los valores máximos de todos los parámetros evaluados: cuando aumenta a 30 y 32°C, la proporción de sexo de la descendencia tiende a un número mayor de machos, lo que explica este fenómeno que comúnmente se presenta en las producciones de esta especie en Cuba. A temperatura de 20°C, disminuye la fertilidad, lo que coincide con lo observado por Cabello (1977) y Torre (1993), quienes plantean que esta especie se desarrolla mejor a temperatura de 21,3 y 24,03°C, respectivamente.

La especie *T. pretiosum*, tiene un óptimo desarrollo a 30 y 32°C, con una buena fertilidad (de 35,4 a 28,6 huevos/hembra), una longevidad de 6 y 6,3 días para las hembras y de 5 y 4,4 para los machos; la descendencia tiende al desarrollo de un número superior de hembras, por lo que es esto ventajoso para su reproducción, al evitar la honcoxigasis en las crías, así como la

disminución de la dosis de individuos por hectárea a aplicar.

A temperatura baja (20°C), su desarrollo es muy pobre y la descendencia tiende a desarrollar una mayor cantidad de machos.

Los resultados en este estudio sirven para valorar una serie de fenómenos que ocurren en el proceso de producción como son: el desbalance en el índice sexual, con tendencia a un número mayor de machos; la disminución del porcentaje de parasitismo. Dominando estos, se puede hacer un mejor uso de cada especie para el control de insectos plagas en los cultivos de importancia económica.

CONCLUSIONES

- Cada especie se diferencia por su preferencia térmica.

- Para *T. pintoi* se obtuvieron los mejores resultados cuando son expuestas a temperatura de 24°C, los valores medios obtenidos fueron: productividad, 34.1 huevos por hembra; longevidad de la hembra y el macho, 10.86 y 10.04 días promedio, respectivamente, porcentaje de nacimiento de la descendencia, 89.39 y la proporción de sexo, 1:29 (macho/hembra).
- Para *T. pretiosum*, las temperaturas en 32 y 30°C fueron las más favorables, con los valores siguientes: productividad, 35.4 y 28.6 huevos parasitados por hembra; longevidad de la hembra y el macho, de 6.36 a 6.00 y de 5.10 a 4.40 días promedio, respectivamente para ambas temperaturas: porcentaje de nacimiento de la descendencia, 97.2 y 91.3 y la proporción de sexo, de 1:3.8 y 1:33.2.

BIBLIOGRAFÍA

- Cabello, T. and P. Vargas. Temperature as a factor of influencing the form of reproduction of *Trichogramma cordubensis* Vargas and Cabello. (Hym Trichogrammatidae), *Z. Ang. Ent.*, 100: 129-137, 1985.
- Cabello, T. y P. Vargas. Influencia de la temperatura cíclica en la aparición de machos y ginandromorfos en la descendencia de las hembras de *Trichogramma cordubensis* Vargas y Cabello. (Hym Trichogrammatidae). Actas VIII. Jornadas AeE, 956-965, 1986.
- Cabello, T. y P. Vargas. Resistencia de los estados de desarrollo de *Trichogramma cordubensis* Vargas y Cabello y *T. pintoi* Voegelé (Hym Trichogrammatidae) a las altas temperaturas. 1989.
- Dagnelie, P. Theoretical metodos statistiques. *Los presses agronomique de Gembloux*, 2: 242-250. 1984.
- Davidson, J. On the relationship between temperature and rate of development of insects at constant temperatures. *J. Anim. Ecol.*, 13: 26-28, 1944.
- Huffaker, C. B. Temperature relations of the immature stages of the malaria mosquito, *Anopheles quadrimaculatus* Say., with a comparison of the development power of constant and variable temperature in insect metabolism. *Ann. Entomol. Am.*, 37: 1-27, 1944.
- Lund, H. O. Some temperature and humidity relations of two races of *Trichogramma minutum* Riley. (Hym. Chalcidoidea), *Ann. Entomol. Am.*, 27: 324-340, 1934.
- Matteson, J. W. y G. C. Decker. Development of the European corn borer at controlled constant and variable temperature, *J. Econ. Entomol.*, 58: 344-349, 1965.
- Mejer, H. P. Influence of varying temperature on the form of development, fecundity and sexratio in *Trichogramma (T. evanescens)* Westw. *Vact. Zasc. Rast.*, 1.2: 153-160, 1980.
- Pak, G. A. and E. R. Oatman. Comparison life tables behavior and competition studies of *Trichogramma buricupillum* and *T. pretiosum*. *Ent. Exp. & Appl.*, 32: 68-79, 1982.
- Pintureau, B. Notion de qualité d'un entomophage utilise en lutte biologique. Application aux Trichogrammes. 2^{ème} Reunion du groupe de travail sur les controles de qualité des élerages intensifs d'Artropodes. Wädenswil (Suisse) Août, 1984.
- Pradhan, S. Insect populations studies IV. Dynamics of temperature effect on insect development. *Proc. Inst. Sci. India*, 12: 385-404, 1946.
- Qui, M. and V. A. Zasharasky. Photoperiodic and temperature reactions in *Trichogramma euproctidis* (Hym Trichogrammatidae), *Entomol. Abst.*, 15 163, 1984.
- Ram, A. and M. K. Sharma. Laboratory assessment at different combinations of temperature and humidity of the efficiency of *Trichogramma fassiatum* Perkins. (Hym Trichogrammatidae) sclected for high fecundity. *Jour. Econ. Entomol.*, 1 (1): 47-54, 1977.
- Russo, J. and J. Voegelé. Influence de la temperature sur quatre especes de Trichogramma (Hym Trichogrammatidae) parasites de la pyrale du mais, *Ostrinia nubilalis* Hubn. (Lep. Pyralidae). 1 - Développement preimaginal. *Agronomic* 2 (6): 509-516, 1982.
- Savescu, A. Constatile. Degoaltoi insectelor polirolture si importantu lor pentre teoria si practica protectisi plantelor. *An. Inst. Cucet. Prot.*, 3: 289-304, 1965.
- Savescu, A. Cordocea y A. Ralman Ismael. Study of the rearing and development conditions of *Trichogramma evanescens* Westw. In its use in the biological control of noctuids. *Ann. Inst. Cucet. Pentru Prot. Plants*, 6 359-371, 1968.
- SCHIRAD, J. C. Behaviour of Trichogramma in field liberations. *J. Econ. Entomol.*, 25: 370 - 374, 1932.
- Torre, Salvador de la. Trichogramma. Biología, Sistemática y Aplicación. Editorial Científico Técnico. C. de La Habana, p. 1-316, 1993.
- Urias, M. A., I. E. León y V. W. González. Producción experimental de *Trichogramma* sp. (Hym Trichogrammatidae) en el estado de Tabasco, México. *Folia Entomol.*, 87: 31-41, 1993.
- Venkatraman, T. V. y M. L. Govil. Some effects of low temperature on the biology of Trichogramma evanescens minutum Filey. In mass breeding. *India. J. Ent.*, 14: 215, 1953.
- Voegelé, J.-J. Pizzol, B. Raynaud y Ky N. Hawlits. La diapausa en los Trichogrammas y sus ventajas para la producción en masa y la lucha biológica, Med. Fac. Londbouww. Rijksuniv. Cent. 51/3^o, 1986.
- Volden, C. S. and H. C. Chiang. Temperature relationships of development of *Trichogramma ostrinae*. Les trichogrammes, Antibes (France). 30-23 abril, *De. INRA Publ.*, 97-100, 1982.

Evaluación de diferentes materiales y condiciones para la oviposición de *Galleria mellonella* (Lin.)

Ofelia Milán Vargas y Nelly Matos
Pérez

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal

RESUMEN

Para la oviposición de *Galleria mellonella* se evaluaron tres tipos de materiales diferentes: papel parafinado blanco, nylon traslúcido blanco, plegados y lámina de plástico blanco espolvoreada con azúcar granulada. El trabajo se realizó pesando diariamente los huevos colocados en cada variante, se utilizaron 957 polillas hembras en el proceso. Se observó la influencia de la luz sobre la oviposición, se evaluó cada variante en tres posiciones diferentes: delante, en el centro y detrás. La mayor producción de huevos se obtuvo sobre papel parafinado blanco con un peso total de 41.80 g y un promedio de 0.043 g de huevos/hembra.

Al evaluar el efecto de la luz se observó que la mayor cantidad de huevos fue colocado cuando los diferentes materiales ocuparon la posición central o de semipenumbra.

Palabras claves: *Galleria mellonella*, polillas, oviposición y materiales

ABSTRACT

Three types of different materials: white paper paraffin, white translucent nylon (folders) and white plastic plate powdered with sugar cane granulated, were evaluated for the oviposition of *Galleria mellonella*. The eggs deposited in each variable, were weighed daily. In the process were used 957 waxmont female. The influence of light on the oviposition was observed. Each variable was evaluated in three different positions: in front, at center and behind. The greatest production of eggs was obtained on white paper paraffin with a total weight of 41.80 g and an average of 0.043 g of eggs per female. The effect of light on eggs was observed when the materials occupy the center position.

Key words: *Galleria mellonella*, waxmont, oviposition and materials

La polilla mayor de la cera *G. mellonella* (Lin.) habitualmente coloca sus huevos en lugares ocultos y entre superficies muy unidas. Marston y Campbell (1975), sin embargo, esta actividad se ha visto afectada cuando el sustrato utilizado ha carecido de tales condiciones.

Se han realizado algunas investigaciones acerca del material que se ha utilizado para la oviposición de esta polilla. Marston y colaboradores, 1973, utilizaron placas plásticas y pomos previamente rociados con una solución azucarada al 10 %, revestida con azúcar granulado y de ese modo observaron que las polillas hembras colocaron sus huevos debajo de los granos de azúcar. Rijo y colaboradores, 1984, estudiaron la influencia de diferentes contenedores en la oviposición de esta polilla y obtuvieron la mayor cantidad de huevos, así como un periodo de puesta y de fertilidad superiores en envases de nylon transparente de 1 380 g de capacidad, en su interior contenía papel parafinado plegado y 15 parejas de insectos.

Sobre este aspecto se ha encontrado poca información en la literatura consultada, por lo que el objetivo fue evaluar los materiales informados en la literatura para la oviposición de *G. mellonella* (Lin.) con la finalidad de comprobar su eficacia a escala de producción.

MATERIALES Y METODOS

Para realizar estos estudios se utilizaron insectos criados en el laboratorio. Los materiales utilizados para la oviposición de la polilla fueron: V1-papel parafinado blanco (testigo), V2-polietileno expandido traslúcido blanco (nylon) y V3-lámina de material plástico blanco. Los materiales utilizados en las variantes V1 y V2 fueron plegados y fijados por sus bordes a una cartulina para evitar su doblez; la lámina plástica fue humedecida con una solución azucarada al 15 %, luego se escurrió y espolvoreó con azúcar granulado por ambos extremos y posteriormente se introdujeron en la cámara de oviposición. Milán y colaboradores, 1990.

Los materiales a evaluar se colocaron en la cámara a partir de la emergencia de los adultos y se situaron en tres posiciones diferentes durante el desarrollo de la prueba, o sea: delante, en el centro y detrás, para observar si la luz tiene algún efecto sobre la oviposición.

Se montaron tres variantes y tres réplicas.

La prueba se evaluó cada dos días y se mantuvo en condiciones ambientales de temperatura (29°C) y humedad relativa (70 a 80 %).

Las puestas se recogieron abriendo los pliegos del papel parafinado y del nylon, la superficie posterior de dichas puestas fueron frotadas para facilitar su desprendimiento. En el caso de la lámina plástica los huevos fueron recogidos con ayuda de una cuchilla.

Las puestas de cada variante fueron pesados en la balanza analítica y de cada una se sacó una muestra de 100 huevos para determinar el porcentaje de eclosión.

Los datos se sometieron a análisis de varianza con un diseño de bloques al azar y mediante la prueba de rango múltiple de Duncan para el 5 % de probabilidad de error y estadística descriptiva para hallar el C.V. y E.T.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se refleja el peso de los huevos obtenidos en cada uno de los materiales utilizados, el promedio de huevos por hembras y el porcentaje de eclosión. Como se observa, estas polillas colocaron mayor cantidad de huevos sobre el papel parafinado (V1) testigo, con un total de 41,808 g durante todo el proceso, lo cual difirió significativamente con las demás variantes, entre las cuales no hubo diferencia, aunque con mayor cantidad en la de nylon (V2), 11,358 g y de 3,022 g en la placa plástica (V3), en la que fueron colocados junto al reborde superior de la ranura de la cámara, pero no entre los gránulos de azúcar, resultados que no coinciden con los obtenidos por Marston y Campbell (1975), ya que ellos obtuvieron las puestas de esta polilla en placas espolvoreadas con gránulos de azúcar.

TABLA 1

Promedio de huevos en peso obtenido en los diferentes materiales evaluados para la ovoposición de *Galleria mellonella*

Variante	Peso huevo g	Peso de huevo /H(g)	Porcentaje de eclosión (%)
Papel parafinado blanco	41,808 a	0,043 6	94,66
Nylon traslúcido blanco	11,385 b	0,011 8	94,33
Placa de material plástico	3,027 b	0,003 1	90,0
CV	5,77 %		
E _t	1,92		

El mayor promedio de huevos por hembras se obtuvo en la variante del papel parafinado con 0,043 6 g, mientras que con la de nylon fue de 0,011 8 g y 0,003 1 g en la placa plástica y de ellos se observó un porcentaje de eclosión superior al 94 % en las dos primeras variantes, mientras que en la V₃ fue de 90 % debido a que se tuvieron que despegar con una cuchilla.

El papel parafinado blanco plegado, como se observa, es el sustrato sobre el cual estas polillas depositan preferentemente sus huevos, lo cual fue comprobado por Rijo y colaboradores, 1984, los que obtuvieron la mayor cantidad de puestas

cuando utilizaron este material con 15 parejas de insectos, mientras que en este trabajo se logró el mejor resultado con dicho sustrato pero en una producción masiva superior a las 1 000 parejas, al utilizar el Vivario (Milán y col., 1990).

Se comprobó que en los materiales utilizados para la ovoposición (Tabla 2) colocados en la posición central o de semipenumbra se logró la mayor cantidad de huevos, lo que demostró que las las polillas hembras prefieren los lugares oscuros y escondidos para ovipositar como lo refieren Marston y colaboradores, 1973.

TABLA 2

Efecto de la luz sobre las polillas hembras de *Galleria mellonella*

Posiciones	Variantes								
	V ₁			V ₂			V ₃		
	Papel parafinado			Nylon traslúcido blanco			Placa con azúcar		
Delante	P ₁	12,43	b	N1	1,02	b	A1	1,0	b
Centro	P ₂	15,93	b	N2	6,305	a	A2	3,027	a
Detrás	P ₃	13,40	a	N3	4,028	b	A3	1,	b
CV		12,5 %			0,72 %			1,57 %	
E _t		5,77			2,18			5,03	

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. La mayor producción de huevos de *G. mellonella* obtenidos sobre nylon traslúcido y lámina plástica, fue significativamente inferior que en el testigo (papel parafinado), corroboró los resultados de estudios anteriores, por lo que se debe continuar utilizando el papel parafinado blanco en el proceso de oviposición de este insecto.
2. La mayor producción de huevos se obtuvo en las variantes cuando ocuparon la posición

central o de semipenumbra, por lo que no es necesario utilizar la luz eléctrica en el área de oviposición; solamente se necesita una pequeña entrada de luz natural para que las polillas se trasladen de la cámara de emergencia a la de oviposición.

BIBLIOGRAFÍA

- Marston, N.; B. Campbell and P. E. Bolt. *Mass producing eggs of the greater wax moth, Galleria*

mellonella (L.). U.S. Dept. of Agriculture. Technical Bulletin. 1510. 15 p., 1973.

Marston, N. and Bárbara Campbell. Comparison of nine diets for rearing *Galleria mellonella*. *Annals of Entomological Society of America*. 66 (1): 132-136, 1975

Milán, Ofelia, Nelly Matos, J. H. Hernández y F. Morales. *Vivario para la reproducción masiva de *Galleria mellonella**. INISAV. La Habana. Informe final del Tema 1531, 30 p., 1990.

Miller, R. *Entomogenous Nematodes*. CBSC, Carolina. Arthropod Manual The IPM. Vol. VIII. p. 9. 13 y 14. No. 8, 1986

Rijo, Esperanza, J. A. Castellanos, Aleida Barrios I. y Nelly Matos P. Estudio comparativo de diferentes envases empleados en la reproducción de *Galleria mellonella* (Lin.). *Protección de Plantas*. 7 (1): 81-89, 1984.

BOLETIN TECNICO

Con el deseo de actualizar y proporcionar los conocimientos de la creciente actividad científica e investigativa, el INISAV pone a su disposición el "Boletín Técnico", publicación especializada del Servicio Estatal de Protección de Plantas del país.

Su contenido es una muestra de los resultados científicos obtenidos por nuestros investigadores, los cuales han sido validados para su aplicación práctica dirigida a la actividad fitosanitaria del país.

Durante el año 1997 se editaron 5 números:

Pronóstico de plagas y enfermedades en cultivos agrícolas

Autores Varios

Incluye 3 artículos donde se explican tipos de pronósticos, muestreos, medios complementarios para la detección todo lo cual es ilustrado con ejemplos cubanos, en particular Sigatoka en banano y Tizón en papa.

Contribución al conocimiento de la chinche harinosa rosada (*Maconellicoccus hirsutus* Green)

Autor: Dr. Luis L. Vázquez

Se incluyen diferentes temas necesarios para el conocimiento de esta plaga, principalmente: distribución, plantas hospedantes, enemigos naturales y metodologías de control.

Spodoptera frugiperda en maíz. Colectivo de Autores

Incluye 2 artículos los cuales ofrecen alternativas de lucha que se integran en el programa MIP, principalmente medidas agronómicas, bioplaguicidas y entomófagos. Sobre éstos últimos también se detalla el procedimiento para la reproducción del *Telenomus*.

Toxinas de *Bacillus thuringiensis*. Asuntos generales y toxicológicos.

Autor: Lic. Bertha Carreras.

Permite una actualización sobre las toxinas producidas por *Bt* y sus aspectos toxicológicos, todos de importancia para los productores de este bioplaguicida en el país.

Informe sobre la problemática Mosca Blanca-Geminivirus en Cuba

Autor: Dr. Carlos Muñguído

Trabajo presentado por la comisión de Cuba en el V Taller Latinoamericano y del Caribe sobre Mosca Blanca, celebrado en la República Dominicana. Se incluyen datos relacionados con áreas afectadas, producciones de bioplaguicidas para su control y efectividad del programa de MIP.

Para adquirir los números del Boletín Técnico, contactar al Centro de Información y Documentación, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Calle No. 514, esq. 5a. B y 5ac. E, Playa, Ciudad de La Habana. O a través de nuestra página web: www.cenia.infocitencia/inisav/

Eficiencia técnica de un equipo de limpieza de huevos de *Corcyra cephalonica*

Orlando Cabello Balbín

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal

RESUMEN

Se evaluó la eficiencia técnica de un equipo de limpieza de huevos de *Corcyra cephalonica*, el cual se comparó con el método manual utilizado en los centros Reproductores de Entomófagos y Entomo-patógenos (CREE). Se comprobó que el equipo era capaz de limpiar en un tiempo inferior a 50 min la cantidad de huevos producidos en un CREE con un porcentaje de disminución de impurezas del 90 %. Además, se evaluaron los indicadores biológicos del hospedante *C. cephalonica*, porcentaje de eclosión de huevos, de parasitismo y proporción de sexos de los huevos limpios, por medio mecanizado y comparados con el manual, a través de un análisis de varianza, se utilizó estadígrafo Z para un nivel de significación del 5 %. No se obtuvo diferencias significativas entre los métodos mecanizado y manual, y se alcanzó un porcentaje de nacimiento de 98,1 y 97,8 respectivamente; en cuanto al porcentaje del parasitismo, se obtuvo como promedio 87 % para ambas variantes y se comportó la proporción de sexos hembras: machos de 0,77:1 en el sistema natural y de 0,81:1 en el mecanizado.

Palabras clave: *Corcyra cephalonica*, métodos y limpieza de huevos

ABSTRACT

It was evaluated the efficiency technical of an equipment of eggs cleanliness of *Corcyra cephalonica*, the one which was compared with the manual method used in the CREE. It was proven that the equipment was capable of cleaning in an inferior time to 50 min the quantity of eggs produced in a CREE with a percentage of impurities decrease of the 90 %. Furthermore, were evaluated the biological indicators of the lodge *Corcyra cephalonica*, percentage of eggs, parasitism and sexes proportions of clean eggs, by mechanized middle and compared with the manual. Through a variance analysis, was used estadígrafo Z for a meaning level of the 5 %. It was not obtained meaningful differences between the mechanized and manual methods and was reached a percentage of birth of 98,1 and 97,8 %, respectively, with respect to percentage of parasitism, was obtained on the average 87 % for both varying and was behaved the females sexes proportion: male of 0,77:1 in the natural system of 0,81:1 in the mechanized.

Key words: *Corcyra cephalonica*, methods and eggs cleaning

INTRODUCCIÓN

El empleo de los medios biológicos para el control de agentes nocivos ha alcanzado gran importancia en los últimos años a nivel mundial.

En Cuba los parasitoides más importantes para el control biológico de plagas son los del gen *Trichogramma* (West) (Bassari y Grossman, 1992), los cuales se reproducen en biolaboratorios destinados a esa labor, sobre hospedantes de sustitución, *C. cephalonica* y *Sitotroga cerealella* (García, 1994), polillas de alimentos almacenados.

De la eficiencia técnica en la reproducción de esas polillas depende el obtener producciones altas y estables de estos parasitoides, con el fin de dar una cobertura adecuada a cultivos como pastos, forrajes, yuca y caña de azúcar.

Uno de los procesos más engorrosos en la reproducción, tanto de *S. cerealella* como de *C. cephalonica*, es sin duda alguna, el correspondiente a la limpieza de huevos de estos hospedantes.

En el caso de *S. cerealella* se conocen métodos mecanizados de limpieza de huevos con una alta eficiencia técnica productiva, como el empleado por las biofábricas soviéticas, basadas fundamentalmente, en equipos acoplados al sistema de reproducción box, de jaulas "Flanders" a extractores y sopladores de aire, que terminaron el proceso, en un equipo similar al limpiador de semillas (Greenberg, 1983).

Otro equipo basado en sistemas de frascos acoplados con un principio de flujo de aire y sistema de atracción electrostático para la limpieza de huevos de *S. cerealella*, fue construido y comprobado desde el punto de vista técnico y biológico (Cabello, 1990).

No obstante, la mayoría de los CREE de Cuba realizan la limpieza de huevos de estos hospedantes de forma manual (MINAG, 1986), este es un método muy engorroso, lo que hace que se emplee una gran cantidad de tiempo para realizar esa labor.

Con vistas a tecnificar este proceso, se llevó a cabo la creación, análisis, diseño y construcción de un equipo de limpieza de huevos de este hospedante en etapas anteriores, el cual no reunió las condiciones adecuadas para el

cumplimiento de los requisitos del principio de flujo de aire y atracción electrostática, limpieza de los huevos (sin afectarlos) y se rectificó el prototipo de equipo de limpieza de huevos de *C. cephalonica*, el cual después de comprobado, satisfizo el propósito deseado y posteriormente, se llevó a cabo el objetivo de este trabajo: comprobación técnica y biológica del mismo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo fue realizado en la Universidad de Lucha Biológica del INTSAV, se realizó la evaluación de la eficiencia técnica y biológica del equipo de limpieza de huevos de *C. cephalonica*, para ello se tuvieron en cuenta los siguientes indicadores:

- Porcentaje de nacimiento de *C. cephalonica*, de parasitismo, proporción de sexos de *Trichogramma* spp., limpios por el método manual y mecanizado, que constituyeron las dos variantes del experimento, replicados 10 veces. Cada réplica estuvo constituida por 100 huevos de *C. cephalonica*.

Los resultados, se sometieron a un análisis de varianza por medio del estadígrafo Z para un nivel de significación del 5 %.

El efecto económico fue evaluado mediante el tiempo de demora del equipo para el procesamiento de los huevos de los hospedantes y su capacidad se comparó con la limpieza de huevos por medio manual, además, se tuvo en cuenta en un CREE de 1 000 000 000 de *Trichogramma* de producción anual, la cantidad de huevos de *C. cephalonica* por limpiar diariamente para complementar esa producción, el gasto de electricidad que genera el equipo, el costo de producción y amortización de estos, así como la fórmula utilizada, fue costo de la variante base, menos costo de la variante nueva, para un año de trabajo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestra el porcentaje de nacimiento que no difirió significativamente, entre las variantes estudiadas, limpieza de huevos de *C. cephalonica* electromecanizada y limpieza de huevos manual, fue del 97,8 y 98,1 %, respectivamente, superior incluso a los indicadores establecidos para el control de la

calidad de hospedantes en los CREE de Cuba, que fueron del 93 % o superior (Collazo y col., 1989).

El porcentaje de parasitismo no tuvo diferencia significativa entre las variantes en estudio, se comportó en ambas por encima del 85 % de parasitismo, lo que corrobora la calidad de *Trichogramma*, obtenido de estos huevos de *C. cephalonica*, limpios por uno u otro método.

La proporción de sexos se comportó similar en ambas variantes de limpieza de huevos, ésta fue de 0,81 hembras por cada macho, en el caso de la electromecanizada y de 0,77:1 en el caso de la manual.

Efecto económico

El equipo utilizado en *C. cephalonica* tiene una capacidad para 40 g de huevos en 5 min. en un CREE que produzca 1 000 000 000 de *Trichogramma* spp. anuales, se necesita limpiar 60 g de huevos diarios de *C. cephalonica*, por lo que el equipo consumiría 10 min de tiempo, con un gasto de 10 crv/h, lo que es aproximadamente 1 crv/min y el costo de producción del equipo es de \$ 60,00 aproximadamente, con una vida útil de 10 años, lo que por concepto de amortización de equipos serían de \$ 4,00 anuales. Si se conoce que un auxiliar de laboratorio realiza esta labor manualmente en 1 h, se tendrá por concepto de tiempo un ahorro de 50 min diarios, en 288 días laborables, son 30 días de ahorro, por un salario promedio que devenga el auxiliar de laboratorio de \$ 151,00. El efecto económico anual por CREE es igual $CV_B - CV_N$.

$$\text{Efecto económico anual} = \$ 151,00 - \$ 42,88 = \$ 108,12$$

Gasto equipo	\$	Gasto manual	\$
Salario	36,00	Salario	151,00
Amortización	4,00	Amortización	0,00
Consumo	2,88	Consumo	0,00
Total	42,88	Total	151,00

Características técnicas del equipo

Dimensiones : 60 x 30 x 25 cm
 Peso : 1,5 kg
 Capacidad de limpieza : 40 g de huevos
 Tiempo : 5 min
 Fuente de alto voltaje : voltaje 220 v, 60 Hz
 Voltaje de salida : 7 Kv
 Consumo : 0,07 Kw/h

CONCLUSIONES

El equipo para limpieza de huevos de *C. cephalonica* cumple con los requerimientos técnicos esenciales para su empleo, al alcance con éste, un porcentaje de nacimiento de 97,8 % y de parasitismo sobre los huevos del 87,2 %, así como una proporción de sexo similar a los alcanzados con el método de limpieza manual de 0,81:1 hembras y machos.

Tabla 1 Porcentaje de nacimiento de *Corcyra cephalonica* y porcentaje de parasitismo y proporción de sexos de *Trichogramma* en huevos del hospedante, limpios por medio manual y mecanizado

	% nacimiento	% parasitismo	Proporción sexos
Limpieza mec.	97,8	87,2	0,81:1
Limpieza manual	98,1	86,7	0,77:1

Z calc.	Z tab.	Z calc.	Z tab.
0,37	1,96 S.N.	0,24	1,96 S.N.

BIBLIOGRAFÍA

- Coliázo, D.; G. Riego y M. Mollineda. *Metodología para la determinación del control de la calidad de Trichogramma spp. y sus hospedantes artificiales Sitotoga cerealella y Corcyra cephalonica*, INISAV, La Habana, 1989.
- Greenberg, M.; A. S. Abashkin y V. A. Cherkasov. Metodología para la producción industrial de *Trichogramma* en las fábricas de productos biológicos. Inst. Nac. de Investigaciones Científicas sobre métodos biológicos de Protección de Plantas. *Protección de Plantas*, 2: 133, 1983.
- Cabello, O. Equipos de limpieza de huevos de *Sitotoga cerealella*. ONIITEM, Clasificación Internacional AOIK 67/033, 1990.
- Bassari, J. and J. Grossman. *Trichogramma* role in codling moth biocontrol, *IPM Practitioner*, XIV (8): 10-12, 1992.
- García, L. Producción del hospedero. In: Anónimo. Primer taller de control de calidad en la producción masiva de *Trichogramma* spp., SARH-Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, Sociedad Mexicana, 40 p., 1994.

O

btención de un biopreparado fluido de *Bacillus thuringiensis*

O. Fernández-Larrea, A. Díaz, E.
Laguardia y A. Calderón

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal

RESUMEN

Se evaluaron un grupo de sustancias que facilitan el proceso de precipitación y otras que preservan el producto de contaminación y alargan su tiempo de almacenamiento. Como agentes precipitantes se evaluaron: cloruro de calcio, cloruro de zinc, carbonato de sodio, alumbre, sulfato de aluminio, cloruro férrico y ácido oxálico. Se determinó el valor del pH, volumen del sedimento y concentración de esporas por mililitro en el sobrenadante después de 24, 48 y 72 h de reposo a temperatura ambiente. En todos los casos después de las 72 h se obtuvo un recobrado superior al 90 %, mientras que en el control sin precipitante sólo se alcanzó el 75 %. Los mejores resultados fueron con alumbre o sulfato de aluminio a concentraciones entre 2 y 5 g/L. Como preservantes se emplearon antibióticos y ácidos orgánicos de los cuales el ácido sórbico fue el más efectivo, aunque otros ácidos orgánicos, como el ascórbico resultaron aceptables. Se consideró que valores del pH entre tres y cinco favorecieron la estabilidad de los fluidos. Los resultados en el laboratorio fueron escalados en equipos sedimentadores con una capacidad de 500 L, en los que se concentra tres veces el volumen de fermentación. La efectividad biológica del concentrado obtenido fue comprobada.

Palabras claves: *Bacillus thuringiensis*, precipitación y biopreparado

ABSTRACT

As precipitating substances were evaluated: calcium chloride, zinc chloride, calcium carbonate, ferric chloride, alunm, aluminium sulfate, and oxalic acid. It has been determinated the pH values, sediment volumes and the concentration of spores and crystals in the supernatant after 24, 48 and 72 h, at room temperature. The best result was obtained after 72 h when we used alunm or aluminium sulfate at 2 and 5 g/L. To preserve the fluid we have used different antibiotics and organic acids. The best result was obtaines with sorbic acid at 1 g/L. This results were scale up in a 500 L capacity fermentator and the biological effectiveness of the fluid concentrate was tested by bioassays under laboratory conditions.

Key words: *Bacillus thuringiensis* and precipitation

INTRODUCCIÓN

La obtención de biopreparados de *B. thuringiensis* (Bt), de forma industrial conlleva una primera etapa de concentración de la biomasa constituida por las esporas y cristales tóxicos a partir del caldo fermentado. Este proceso se lleva a cabo por diferentes métodos como son: centrifugación, filtración y precipitación (Mechalas, 1963; Megna, 1963; Vanderkar y Dulmage, 1982; Hender, 1984; Bernhard y Utz, 1993).

Las pastas obtenidas se mezclan con diferentes sustancias que garantizan la estabilidad y efectividad del biopreparado (Skborsova y col., 1974 y Pirijanova, 1990).

En el caso de las formulaciones fluidas, estos concentrados se mezclan con sustancias oleosas, alcohólicas o líquidos que posibilitan su almacenamiento y posterior aplicación (Cohn y Marshal, 1980 y Taborsky, 1992).

En Cuba, la producción de Bt por vía fermentativa se realiza en pequeñas plantas que no cuentan con equipos de recobrado y secado, y el producto se obtiene en forma líquida.

La eliminación de agua del producto fermentado resulta una necesidad por los inconvenientes del almacenamiento y traslado

de grandes volúmenes, por lo cual se determinó establecer las condiciones para obtener un producto más concentrado sin la utilización de equipos cuya instalación resulta costosa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se empleó la cepa LBT-24 de *B. thuringiensis* (Bt) perteneciente al cepario del Instituto de Sanidad Vegetal, la cual fue mantenida en cuñas con agar nutritivo a 4°C. Los biopreparados líquidos se obtuvieron por fermentación de la cepa LBT-24 de Bt en un fermentador Marubishi de 15 L. se empleó un medio compuesto por almidón y levadura (Fernández-Larrea, 1990).

La determinación de la sensibilidad a las sustancias biológicamente activas se realizó por el método de difusión en placa con agar (Harrigan y Mc Cance, 1968). Los productos y concentraciones ensayadas se muestran en la Tabla 1. El halo de inhibición fue medido cuando apareció.

La precipitación de la biomasa se llevó a cabo con sulfato de aluminio, cloruro de zinc, cloruro férrico, cloruro de calcio, ácido oxálico, carbonato de sodio, sulfato de aluminio y alumbre.

Tabla 1. Resultados de la sensibilidad de *Bacillus thuringiensis* con sustancias biológicamente activas

Producto	Concentraciones			
	10 %	1 %	0,1 %	0,01 %
Timerosal	S	S	S	S
Penicilina	10 mg/mL	1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,01 mg/mL
	R	R	R	R
Formaldehído	1 %	0,1 %	0,01 %	0,001 %
	S	S	S	R
Estreptomicina	10 mg/mL	1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,01 mg/mL
	S	S	S	S
Ácido sórbico	10 %	1 %	0,1 %	0,01 %
	R	R	R	R
Clor. de sodio	10 %	1 %	0,1 %	0,01 %
	S	S	R	R
Ácido ascórbico	10 %	1 %	0,1 %	0,01 %
	R	R	R	R
Benzoato de sodio	10 %	1 %	0,1 %	0,01 %
	S	R	R	R

S.-Sensible

R.-Resistente

Se procedió mezclando la biomasa del caldo fermentado, previa determinación de la

concentración de esporas y cristales por mililitro mediante conteo al microscopio con

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cámara de Neubauer a un aumento de 400x, con las diferentes agentes floculantes. Fueron tomadas alícuotas entre 100 y 1 000 mL, y se añadieron las sustancias a concentraciones entre 0,1 y 4 % p/v, en todos los casos se determinó el pH después de realizada la mezcla.

Las mezclas obtenidas se distribuyeron en probetas graduadas de 100 y 1 000 mL y se colocaron sobre una superficie plana a temperatura entre 20 y 25°C. Las muestras fueron tomadas después de 24, 48, 72 y 96 h de reposo, las cuales consistieron en una alícuota del sobrenadante tomada con pipeta Pasteur y con cuidado de no crear turbulencia en la mezcla. A cada muestra se determinó la concentración de esporas y cristales por mililitro mediante conteo al microscopio óptico. En cada toma de muestra se anotó el volumen del sedimento. En la muestra final fue determinado el conteo de viables mediante el método de diluciones seriadas en solución salina de NaCl 0,85 % y siembra en placa con agar nutriente, mediante el método de profundidad.

Al final del proceso, se determinó el porcentaje de recobrado por comparación de los conteos de esporas y cristales por mililitro al tiempo 0 h y final, por el volumen del recobrado, y ambos se compararon con lo obtenido en un testigo, al cual no se le añadió sustancia alguna.

Los concentrados obtenidos a los cuales se añadió además el agente preservante fueron evaluados después de seis meses de almacenamiento a temperatura ambiente entre 25 y 26°C en relación con la pureza, viabilidad de las esporas y la virulencia contra larvas de *Mocis latipes* y *Plutella xylostella*.

La presencia de contaminantes se determinó por observación microscópica y por siembra en placas con agar nutriente. La viabilidad se determinó por siembra en placas con agar nutriente de diluciones seriadas, realizadas con solución salina de NaCl estéril y posterior conteo de colonias después de incubación durante 48 h a 28 y 30°C.

La obtención del recobrado a escala de planta se realizó a partir de una fermentación obtenida en un equipo de fabricación cubana con 500 L de capacidad efectiva, en este caso se determinó el rendimiento y se analizaron muestras a las 24, 48 y 72 h, mediante la determinación de la concentración de la biomasa por conteo al microscopio óptico.

En la Tabla 1 se muestran los resultados con los preservantes ensayados. La cepa LBT-24 fue resistente a todas las concentraciones de penicilina, ácido ascórbico y sórbico, probadas con el resto de los productos se obtuvieron las concentraciones mínimas inhibitorias, con la excepción de la estreptomycin y el timerosal, los cuales resultaron sensible a las concentraciones más bajas ensayadas.

El empleo del timerosal para la conservación de preparados líquidos de *B. thuringiensis* ha sido ensayado por Montero y colaboradores, 1994 (comunicación personal), los cuales han obtenido resultados satisfactorios después de dos años de almacenamiento a temperatura ambiente. El glutamato según Pirijanov, 1987 (comunicación personal) tiene efectos estimulantes sobre los cristales y esporas de *B. thuringiensis* y lo emplea como preservante en las formulaciones en polvo. El benzoato de sodio y el ácido sórbico al igual que el glutamato de sodio son de uso frecuente como preservantes en la industria alimenticia.

De los productos probados el ácido sórbico fue el más efectivo para la preservación de los fluidos obtenidos de la fermentación de Bt, ya que no afectó la viabilidad de las esporas después de seis meses a temperatura ambiente ni aparecieron contaminantes en los caldos.

En la Tabla 2 se muestran los resultados de la adición de los diferentes floculantes en los caldos a los que previamente se añadió ácido sórbico a una concentración de 0,5 g/L. En todas las variantes donde el valor del pH fue superior a 4,0 las muestras aparecieron contaminadas después de un mes a temperatura ambiente. La viabilidad de las esporas no fue afectada cuando se empleó a alumbre o sulfato de aluminio y el recobrado en todas las variantes fue superior al testigo.

En la literatura se informa el empleo de carbonato de calcio y alumbre para facilitar la precipitación de esporas de hongos, se recomendó el uso de aluminatos y sales inorgánicas (Blandini, 1967). Por su parte Hender en 1984 propuso emplear fosfatos de sodio, potasio o amonio como floculantes en el proceso de recobrado de *B. thuringiensis*, también Skoborova y colaboradores, 1974 refieren el empleo de la precipitación como una etapa en la concentración de productos de *B. thuringiensis*.

Tabla 2 Resultados de los agentes floculantes con la adición previa de 0.5 g/L de ácido sórbico

Producto	Concentración (g/L)	% recuperado	pH	% viable	Virulencia (%)
Sulfato de Al	40	97,8	3,6	100	100
Cloruro de Ca	40	90	6,8	cont	-
A. oxálico	5	98	3,5	75	50
Cloruro de Zn	40	98	6,8	cont	-
Cloruro Fe	40	95,5	3,5	40	50
Sulfato de Fe	40	98,3	3,5	60	70
Carbonato Na	20	86,5	9,8	cont	-
Alumbre	5	99	3,6	100	100
Testigo	-	75	6,2	cont	-

cont.-Contaminado

En relación al pH, varios autores refieren el efecto inhibitorio que sobre la germinación de las esporas de especies de Bacilaceas tienen valores del pH por debajo de 5,0 (Vanderkar y Dulmag, 1982; Skharova e Ignatenko, 1984; Fernández-Larrea y Díaz, 1993; Bernhard y Utz, 1993), sin embargo, este efecto puede ser revertido cuando se restablece el pH óptimo para su crecimiento.

En relación con la efectividad biológica se mantuvo inalterable en aquellas variantes en las cuales no aparecieron contaminantes y con una máxima viabilidad como ocurrió al emplearse alumbre o sulfato de aluminio.

Los resultados fueron evaluados en una planta de producción donde se corroboró que la mezcla de ácido sórbico con alumbre o sulfato de aluminio, permitían obtener un recupero de la biomasa mayor del 90 %, que resultó estable por seis meses a temperatura ambiente.

CONCLUSIONES

La adición de ácido sórbico a concentración de 0,5 g/L y alumbre o sulfato de aluminio a 5 g/L, resultó la mejor combinación para la obtención de un fluido concentrado de *B. thuringiensis* mediante precipitación, que permitió un almacenamiento estable del producto durante seis meses, a temperatura ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

- Bernhard, K. Utz R. *The production of B. thuringiensis for experimental and commercial uses*. An Enviromental Biopesticides, Theror and Practice, Ed. by Entwistle, p. 255, 1993.
- Blandini, B. Composición de un pesticida agrícola. Procedimientos para su aplicación. Pat. 52: 6262, E. U., 1967.
- Cohn, M. and P. A. Marshal. Carrier and dispersal mechanisms for a microbiological larvicide. Pat. 41, 87, 290, E.U., 1980.
- Fernández-Larrea, O. y A. Díaz. Influencia del pH en el cultivo de *Baillus thuringiensis*. *Rev Prot de Plantas*, 1990.
- Harrigan, F. y M. Mc Cance. *Métodos de laboratorio en microbiología*. Ed. Eco. España, p. 45, 1968.
- Hender, K. Procedimiento para la preparación de productos pesucidas biosintéticos. Pat. 850, 1954, España, 1984.
- Mechalas, B. J. Methods for production of microbial insecticides. Pat. 3, 086, 922, E. U., 1963
- Megna, J. C. Preparations of microbial insecticides Pat. 3, 063, 749, E. U., 1963.
- Rodríguez, R. M. y M. E. Rodríguez. *Metodología para el cultivo líquido estático de Bacillus thuringiensis*. CNSV-INISAV, La Habana, p. 8, 1989.
- Ignoffo, H. M. Effects of antibiotics on the insecticidal activity of *B. thuringiensis*. *J. of Inv. Pathology*, 30 (2): 277, 1987.
- Y. Sporulation and crystal formation of *B. thuringiensis* with growth mutation via nutrients broth. *Mikrobiologiya*, 53 (2): 279, 1984.
- Skoborova, M.; N. Malecheva y V. Alexina. Procedimientos para la separación de esporas y cristales de *B. thuringiensis*. Pat. 15, 1030, E. U., 1974.
- Smithi, A. and P. Karlheen. Liquid composition of *B. thuringiensis*. Pat. 40, 002, 58 E. U., 1977.
- Vanderkar, M. and H. Dulmage. Guidelines for production of *B. thuringiensis* H 14. Proc. of Consultation Suiza, p. 95-115, 1982.

Detección y evaluación de beta- exotoxina(s) en caldo de cultivo de *Bacillus* *thuringiensis* (Berliner)

Bertha Carreras, José R. Barquín
y Caridad Ricardo

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal

RESUMEN

De un caldo de cultivo de *Bacillus thuringiensis* que tiene acción acaricida, se separaron dos exotoxinas mediante la acidulación con HCL concentrado y la adsorción en carbón activado, la recuperación se hizo por elución con metanol. La presencia de las exotoxinas en el eluido se determinó por cromatografía en capa fina, la presencia de ribosa se midió mediante la técnica del Orcinol. También se analizó el espectro de absorción en un espectrofotómetro U.V. La termoestabilidad fue confirmada por el tratamiento en autoclave a 1,2 atm, 15 min. El ensayo biológico incluyó un método en el cual se estimó la inhibición de la bacteria *Micrococcus luteus* por la exotoxina; la actividad hemolítica fue otro criterio que se utilizó para medir la actividad de las exotoxinas.

Palabras claves: Ensayo, *Bacillus thuringiensis* y exotoxinas

ABSTRACT

From *Bacillus thuringiensis* culture with acaricide action were isolated two exotoxins by acidulation with concentrate HCL and adsorption on charcoal. The toxic fraction was eluted from the charcoal with methanol. Both, thin layer chromatography and Orcinol test of the toxic eluate showed the existence of two exotoxins. It was determined the U.V. spectral characteristics of the eluate, too. The heat stability of the exotoxins was confirmed through autoclavig at 1,2 atm 15 min. The biological essay was measured by growth inhibition of *Micrococcus luteus* in plate essay due to the effect of the exotoxins. The hemolytic activity was another utilized criterion to measure exotoxins activity.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, exotoxins and essay

INTRODUCCIÓN

B. thuringiensis (Bt), es considerada como una de las principales bacterias de importancia en el control biológico de insectos. Este microorganismo se caracteriza por producir una gran variedad de toxinas con diversas propiedades, entre las que se destacan las beta-exotoxinas.

Ellas se caracterizan por ser solubles en agua, termostables a 120°C por 15 min (Faust y col., 1982) y ser producidas durante la fase de crecimiento exponencial por algunas variedades de Bt (Ignoffo y col., 1972).

Además del serotipo H1 (Carlberg, 1973), se ha informado sobre aislados pertenecientes a otros serotipos como productores de beta-exotoxina: serotipo 4ac (Burgerjon, 1967), serotipos 5 y 7 (Cantwell y col., 1964) y los serotipos 9 (De Barjac y col., 1968) y 10 (Oehler y col., 1982).

Una característica de este compuesto es su espectro amplio de toxicidad que abarca diversos órdenes de insectos como: Orthoptera, Coleoptera, Lepidoptera y Diptera principalmente (Guerer, 1994; Weiser y col., 1994), también se ha informado su toxicidad sobre nematodos (Devidas y col., 1992).

La investigación planteó los siguientes objetivos: aislar e identificar, así como evaluar mediante un método indirecto, la(s) beta-exotoxina(s) de un producto biológico a base de Bt con acción acaricida para extenderlo a otras cepas productoras de la misma y de esta manera ampliar el conocimiento sobre la producción de estos metabolitos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el aislamiento de la(s) exotoxina(s) se trabajó con un producto biológico a base de *B. thuringiensis* al que se le determinó su actividad frente al ácaro rojo (*Tetranychus tumidus*) sobre plátano.

A este producto una vez conocido su pH inicial, se acidificó con HCL concentrado hasta pH = 1, se dejó en reposo y se eliminó el precipitado formado, el líquido sobrenadante se llevó a su pH inicial con Na₂CO₃ y se llevó a autoclave a 1,2 atm durante 15 min para detectar la presencia de exotoxina(s) termoestable(s) mediante bioensayo frente a *M. luteus* por el método de difusión en agar (Gause, 1965) a diferentes concentraciones.

Para el aislamiento de la(s) exotoxina(s) del líquido sobrenadante se realizó una adsorción en carbón al 1 % durante 12 h, transcurrido este tiempo se centrifugó a 10 000 rpm, 10 min. El precipitado (carbón), se mezcló con 50 mL de metanol y se puso en agitación a 150 rpm durante 1 h. Se centrifugó a 10 000 rpm, 10 min. Este paso de elución de la(s) exotoxina(s) del carbón se repitió tres veces, los tres sobrenadantes se reunificaron en uno.

A este sobrenadante se le determinó la presencia o no de ribosa mediante la técnica del Orcinol y se le determinó el espectro U.V. (230 a 280 nm).

Se realizó una evaporación al vacío de 45 a 50°C, hasta 1/2 del volumen inicial y una cromatografía en capa fina sobre sílica gel 0,75 mm; el sistema de solventes utilizado fue: butanol : acetona : ac. acético : amonio 5 % en la relación 8:2:1,5:1 y 8:2:2,5:1,25.

Se recuperaron las bandas de las placas y se volvieron a suspender en agua destilada para realizarles la técnica del Orcinol, bioensayo frente a *M. luteus* y actividad hemolítica, después del tratamiento térmico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra el efecto tóxico que presentó el producto biológico sobre el ácaro rojo, expresado por el porcentaje de mortalidad, este fue de un 87,5 % en la dilución 1/32 al cabo de las 48 h; efecto que se mantuvo después de recibir tratamiento térmico, lo que indica la presencia de alguna sustancia termostable con acción acaricida.

La fase líquida resultante del tratamiento con HCL concentrado hasta pH 1 de este producto, se autoclaveó a la temperatura y tiempo citados y el ensayo con *M. luteus* de esta fase mostró actividad hasta la dilución 1/8 (Tabla 2), expresado en el halo de inhibición que se formó alrededor del pocillo de aplicación, fue indicada también la presencia de la sustancia.

La fase líquida resultante del tratamiento con HCL concentrado hasta pH 1 de este producto, se autoclaveó a la temperatura y tiempo citados y el ensayo con *M. luteus* de esta fase mostró actividad hasta la dilución 1/8 (Tabla 2), expresado en el halo de inhibición que se formó alrededor del pocillo de aplicación, fue indicada también la presencia de la sustancia.

Tabla 1. Efecto del producto biológico autoclaveado y sin autoclavar sobre el ácaro rojo

Concentración	Sin autoclavar % mortalidad		Autoclaveado % mortalidad	
	24 h	48 h	24 h	48 h
1/2	92,5 %	-	100 %	-
1/4	92,5 %	-	100 %	-
1/16	-	85 %	-	100 %
1/32	-	87,5 %	-	100 %
Testigo	0 %	-	0 %	-

Tabla 2. Efecto de la fase líquida autoclaveada del producto biológico sobre el crecimiento de *M. luteus*

Concentración	Producto biológico Halo de inhibición (mm)
Puro	15
1/2	10
1/4	7
1/8	5
1/16	-

Aunque en 1973, Carberg menciona que este método es poco sensible y requiere de concentraciones de exotoxinas mayores de 0,5 mg/L, en 1985 Shim y colaboradores, lo utilizaron para estimar la inhibición de la bacteria *M. flava* por la beta-exotoxina

Farkas y colaboradores, en 1976, propusieron la estructura química de la beta-exotoxina como un derivado nucleotídico de adenina unido por una molécula de glucosa a un ácido fosfoalárido, con una absorción máxima a 260 nm. basado en esto se determinaron las características espectrales al U.V. del eluido y se determinó presencia de ribosa en la muestra mediante la técnica del Orcinol. No hubo una absorción máxima a 260 nm, sino una meseta en la zona 255 a 260 nm, que es la zona donde absorben los nucleótidos: la técnica del Orcinol resultó positiva. Este compuesto en presencia de un ácido fuerte concentrado

produjo un complejo de color verde que indica la presencia de ribosa, lo que se corresponde con los resultados de por Barjac y Dedonder en 1965 en los estudios realizados para el análisis de la estructura química de esta sustancia.

El análisis por cromatografía en capa fina sobre sílica gel mostró la presencia de dos bandas de diferente polaridad, una de ellas denominada banda 1, se separó con las proporciones 8:2:1,5:1 y la otra, banda 2, con las proporciones 8:2:2,5:1,25 en el sistema de solventes antes mencionado en materiales y métodos, esto señala la presencia de dos sustancias en el eluido las cuales presentaron actividad frente al *M. luteus* (Tabla 3) y dieron positiva a la técnica del Orcinol (verde intenso).

Tabla 3. Efecto de las sustancias separadas por cromatografía en capa fina sobre el crecimiento de *M. luteus*

Concentración	Banda 1 (H. inhibición) (mm)	Banda 2 (H. inhibición) (mm)
	(H. inhibición) (mm)	(H. inhibición) (mm)
puro	12	13
1/2	9	10
1/4	7	7
1/8	4	4
1/16	1	4

La banda 1 presentó actividad hemolítica expresado esto en el halo de inhibición que se formó alrededor del pocillo de aplicación en la placa de agar sangre, a diferencia de la banda 2 que no mostró halo de inhibición (Tabla 4).

Existen evidencias de heterogeneidad entre las beta-exotoxinas de Bt incluso de un mismo

serotipo, dado esto por las diferencias de toxicidad hacia insectos plagas y hacia mamíferos, lo que hace que algunas sean consideradas como insecticidas (Dulmage H. T., 1981 y Gingrich, 1994), de ahí la importancia de la identificación de estas dos exotoxinas.

Tabla 4. Actividad hemolítica de las sustancias separadas por cromatografía en capa fina

	Act. hemolítica (H. inhibición-mm)
Banda 1 (pura)	7
Banda 2 (pura)	-

CONCLUSIONES

1. El método de difusión en agar con el empleo *M. luteus* puede ser utilizado para detectar exotoxinas en caldos de cultivos de *B. thuringiensis*.
2. Presencia de dos sustancias termoestables en caldo de cultivo de *B. thuringiensis* con acción acaricida, según cromatografía en capa fina.
3. Las dos sustancias termoestables presentan ribosa en su estructura.
4. Una de las dos sustancias termoestables separadas por cromatografía en capa fina presentó actividad hemolítica.

BIBLIOGRAFÍA

- Barjac, H. de and Dedowder R. C.r. hebdom. Séanc. Acad. Sci. Paris. 260: 7050-7053, 1965.
- Burgerjon, A. and H. Barjac de. Another serotype (4:4a,4c) of *Bacillus thuringiensis*. Which produces thermostable toxin. *J. Invertbr. Pathol.*, 9 (4): 574-577, 1967.
- Cantwell, E. G.; A. M. Heimpel and M. J. Thompson. The production of an Exotoxin by various crystal forming bacterial related to *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* berliner. *J. Invertebr. Pathol.*, 6: 466-480, 1964.
- Carlberg, G. *Biological effects of the thermostable beta exotoxin produced by different serotypes of Bacillus thuringiensis*. Univ. of Helsinki. Academic Dissertation for Public. Criticism., 1973.
- De Barjac, H. and R. Dedonder. Purification de la toxine thermostable de *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* et analyses complementaires. Bulletin de la Société et analyses complementaires, *Bulletin de la Société de Chimie Biologique*, 50 (4): 941-944, 1968.
- Devidas, P. and L. A. Rehberger. The effects of exotoxin (thuringiensin) from *Bacillus thuringiensis* on *Meloidogyne incognita* and *Caenorhabditis elegans*, *Plant Soil.*, 145 (1): 115-120, 1992.
- Dulmage, H. T. Insecticidal activity of isolates of Bt and their potential for pest control. In: *Microbiol control of insects and mites*, Ed. by H.D. Burges. Academic Press, London and New York, 1981.
- Farkas, J.; K. Sebesta and K. Horska. Structure of thuringiensis, the thermostable exotoxin from *B. thuringiensis*, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.* p. 42, 1976.
- Faust, R. M. and L. Jr. Bulla. *Bacterial and their toxins as insecticides in Microbial and Viral Pesticides*, Ed. Edouard Kurstaki, New York, p. 75-206, 1982.
- Gause, G. F. *Conferencia sobre antibióticos*. Edición Universitaria, C. de la Habana, p. 220-232, 1965.
- Guerer, M. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* on *Plutella xylostella* and *Drosophila melanogaster*, *J. Turkish-Phytopathol.* 23 (1): 47-51, 1994.
- Gingrich, R. E. Demonstration of Bt as a potential control agent for adult Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (wied.), *J. Appl. Ent.*, 104: 378-385, 1987.
- Ignoffo, C. M. and B. Gregory. Effects of *Bacillus thuringiensis* beta exotoxin on larval mutation, adult longevity, fecundity and egg viability in several species of lepidoptera, *Entomological Society of America*, 1 (3): 269-272, 1972.
- Oehler, D. D.; R. E. Gingrich and M. Haufier. High Performance-Liquid-Chromatographic termination of beta exotoxin produced by *Bacillus thuringiensis*. *J. Agric. Food. Chem.*, 30 (2): 407-408, 1982.
- Shin, Ch. B.; H. H. Lee and H. M. Lee. Purification and partial characterization of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* exotoxin. *Misaengmul Hakboechi*, 23 (4): 271-284, 1985.
- Weiser, J. and Z. Zizca. Effect of *Bacillus thuringiensis* beta-exotoxina on ultraestructura of midgut cells of *Culex sitiens*, *Cytobios.* 77 (308): 19-27, 1994.

Análisis económico de la producción artesanal de *Trichoderma* spp. Dos alternativas de cultivo

A. M. Sánchez y A. Camarero

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal

RESUMEN

Se llevó a cabo un análisis económico de los gastos mínimos necesarios por partida y por fase de producción para la obtención por tecnología artesanal del hongo antagonista *Trichoderma* spp. en dos alternativas de cultivo. La utilización de métodos normativos, técnicas de cronometraje y fotografía laboral, permitieron profundizar en el conocimiento del costo de la producción por cultivo bifásico líquido-líquido y líquido-sólido de este hongo, según las características técnico-organizativas de la infraestructura productiva actual. Se determinó que el ciclo de producción del hongo puede durar como mínimo 15 días en las condiciones estudiadas. La propagación del hongo sobre el soporte sólido con la utilización de bandejas resultó un método más productivo, al requerir menos fuerza de trabajo directa para procesar una unidad de producción con respecto al método líquido con frascos, a pesar de ello, el balance general de gastos fue ligeramente superior en el método sólido, con 0,21 h/día por cada kilogramo de producto y un costo total de 4,30 pesos/kg. en función de obtener un incremento en la calidad de la producción, con respecto al producto líquido. Los gastos requeridos para lograr la garantía y calidad de la unidad de producto sólido en función del lote de producción, sugieren que puede haber un máximo aprovechamiento de esta erogación con el incremento del tamaño de lote hasta el límite óptimo, de acuerdo con el potencial tecnológico y la disponibilidad de fuerza de trabajo en cada centro productor.

Palabras claves: *Trichoderma* spp., costo de producción, gastos y cultivos alternativos

ABSTRACT

Economic analysis of the *Trichoderma* spp. hand-made production. Two culture alternatives. An economic analysis of the minimum necessary expenses per item and phase of production was carried out to obtain the antagonist fungus *Trichoderma* spp. in two growing alternatives through a hand-made process. The use of normative methods chronometrical techniques and laboral photograph allowed to go deeper in the knowledge of the production cost through bifasic liquid-liquid and liquid-solid culture of this fungus, taking into consideration the technic-organizational characteristics of the productive infrastructure at present. It was determined that the fungus production cycle last at least 15 days in the studied conditions. The fungus propagation on the solid medium using trays come to be a more production method while requiring less direct work to process one unit of the production in relationship to the liquid method in bottles. In spite of this, the general expenses balance was slightly higher in the solid method with 0,21 h/day per kilogram of the product and a total cost of 4,30 \$/kg to get an increment in the quality of the production, in compared with the liquid product. The required expenses to get the unit guarantee and quality of the solid production in function of the lot of production suggest that you can get a maximum advantage of the erogation with the increment of the lot size to the optimum limit, according to the technological potential and to the availability of the laboral resources in each production center.

Key words: *Trichoderma* spp., cost production, expenses and culture alternatives

INTRODUCCIÓN

La producción artesanal de biopreparados a base de especies del género *Trichoderma*, está siendo introducida en Cuba aceleradamente, por su fácil reproducción y por su efectividad en la protección de cultivos contra los hongos del suelo.⁷

A partir de cepas nativas, aisladas y seleccionadas por su acción más promisoría en el biocontrol, pueden utilizarse diferentes alternativas para su reproducción, hay que tener en cuenta las características de la cepa, la necesidad de almacenamiento y el método de aplicación a utilizar.^{2 y 5}

El uso de medios líquidos compuestos por subproductos de la industria azucarera, levadura tortita y de medios sólidos a base de bagacillo de caña y cabecilla de arroz, ajustados de acuerdo con la cepa utilizada, son las más extendidas en el país, de acuerdo a su disponibilidad en las distintas regiones donde se produce.

Productores, investigadores y funcionarios del Sistema Estatal de Protección de Plantas se encuentran enfrascados en la búsqueda de la eficiencia económica en la producción de insumos biológicos, para favorecer su uso en la agricultura mediante una mayor competitividad con otros medios fitosanitarios, por lo que este trabajo tiene el objetivo de profundizar en aspectos económicos-organizativos de dos alternativas de producción del hongo y establecer premisas para la formación de precios de venta de estos productos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fue utilizado el método normativo⁴ para el estudio del costo de producción estándar del hongo antagonista *Trichoderma* spp., cepa 34 por cultivos bifásicos estáticos: líquido-líquido y líquido-sólido. Los índices de consumo material fueron tomados de las metodologías y normas vigentes para la reproducción del hongo^{1 y 2} considerán también los necesarios para mantener la garantía y la calidad del proceso biotecnológico.

Las normas brutas de gastos materiales fundamentales y auxiliares para la producción fueron estudiados en las condiciones de los centros reproductores (CREE): Augusto Cesar

Sandino, Primero de Mayo y Niceto Pérez, de La Habana. El estudio se basó en un tamaño de lote promedio nacional, obtenido mediante encuestas.

Los requerimientos de fuerza de trabajo se determinaron mediante la aplicación de técnicas de cronometraje y fotografía laboral, fueron establecidas tiempo en la realización de todas las operaciones necesarias durante el flujo de producción artesanal.

Los gastos indirectos de la producción fueron estimados a través de un coeficiente predeterminado, que se aplicó al salario básico gastado para la obtención de un lote de producción y que tiene en cuenta las condiciones técnico-organizativas de los centros reproductores de estos medios en Cuba y el diseño de un CREE típico con cuatro líneas de producción.⁶

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los Anexos 1 y 2 muestran la representación gráfica de las operaciones del flujo de producción en las dos alternativas estudiadas, según las actividades básicas del proceso tecnológico y el recorrido de los materiales en un centro de reproducción típico, a partir de las cuales fueron determinados los gastos de fuerza de trabajo en las diferentes categorías ocupacionales para el desarrollo del proceso, se consideró la complejidad técnica de la operación y la duración mínima del flujo de producción por ambos métodos, para un tamaño de lote definido y que se resumen en la siguiente.

La propagación del hongo sobre soporte sólido, con la utilización bandejas, resultó ser un método más productivo que la utilización de frascos, con una menor cantidad de fuerza de trabajo directa para procesar una unidad de producto, ya que disminuye la manipulación en el proceso.

Sin embargo, el requerimiento de fuerza de trabajo para la garantía y control de la calidad de una unidad de producto terminado en la tecnología de producto sólido en bandejas sugiere que puede ser utilizado un mayor tamaño de lotes de producción para un máximo aprovechamiento de los gastos por este concepto, y evalúa el límite óptimo que minimice el costo de producción unitario en función de la capacidad tecnológica y la

disponibilidad de fuerza de trabajo de cada centro productor, de forma tal que no se

incrementa el ciclo de producción.³

Tabla 1 Estudio del flujo de producción estándar

No.	Indicadores estudiados	UM	Métodos	
			Líquido-líquido en frascos	Líquido-sólido en bandejas
1	Fuerza de trabajo/lote	h/días	12,05	4,95
1.1	Auxiliares	h/días	8,85	2,71
1.2	Técnico-medio	h/días	1,74	0,80
1.3	Profesionales	h/días	1,46	1,44
2	Balance de FT/unidad producto	h/días/L	0,20	0,21
		h/días/kg		
2.1	FT directa/unidad producto	h/días/L	0,17	0,14
		h/días/kg		
2.2	FT para control calidad por unidad	h/días/L	0,03	0,07
		h/días/kg		
3	Tamaño de lote utilizado	kg o L	60	24
4	Duración ciclo de producción	Días	15	15

Puede observarse que el gasto de fuerza de trabajo para el control de calidad de una unidad de producto líquido obtenido en frasco, fue menor al utilizarse un mayor tamaño de lote, según resultó el promedio nacional en este centro.

El empleo de una mayor cantidad de fuerza de trabajo de la categoría auxiliar, en las actividades cuya complejidad o exigencia técnica lo permitan, resulta una vía para optimizar los gastos de salarios sin comprometer la garantía y calidad de la producción para las dos variantes estudiadas.

La Tabla 2 muestra las partidas de gastos que conforman la ficha de costo estándar de las dos alternativas de cultivo, consideran todos los gastos socialmente necesarios para la producción y tienen cuenta las características de la infraestructura productiva actual.

El salario resultó ser el componente fundamental del costo en ambos métodos de cultivo, con un valor ligeramente menor en la variante sólida por un menor empleo de fuerza de trabajo directa para el proceso productivo.

Los gastos de cepas y de medios de cultivos fundamentales no tienen un impacto significativo en el costo de producción de este hongo; sin embargo, sí lo tienen los gastos materiales auxiliares, principalmente, los relacionados con las tapas de los recipientes para la producción, esta partida ocupa de 8,0 a 15,3 % del total del costo en la variante sólida. En el análisis de los gastos por elementos se corroboró el alto precio del papel metálico que se emplea con estos fines. También tienen un impacto importante en el costo los gastos relacionados con el control de calidad.

La contaminación mínima en el proceso fue considerada como 2 %, ya que según los productores, en la práctica, no se han presentado con regularidad valores críticos de contaminaciones en la reproducción masiva de este hongo, criterio que ha sido corroborado por Papavias y colaboradores, 1984, plantean que si se toman todas las medidas de precaución no deben existir serios problemas en el proceso productivo de este hongo.

Tabla 2. Costo de producción de *Trichoderma* spp. por unidad de producto

Partidas de gastos	Líquido-líquido	En frascos	Líquido-Sólido	En bandejas
	\$ / L	%	\$ / kg	%
Cepa	0,01	0,3	0,03	0,7
Medios de cultivos	0,004	0,1	0,03	0,7
Materiales auxiliares	0,28	8,0	0,66	15,3
Salario y seg. social	1,61	46,0	1,34	31,2
Energía eléctrica	0,14	4,0	0,14	3,3
Amortización	0,08	2,3	0,08	1,9
Gastos de c. calidad	0,34	9,7	0,86	20,0
Gastos indirectos	1,04	29,7	1,16	27,0
Total gastos/unidad	3,50	100	4,30	100

La Tabla 3 muestra el balance total de gastos, distribuidos por fases de producción, en evidencia se pone el mayor costo para la propagación en el cultivo líquido, mientras que los mayores gastos en la fase de preinóculo corresponde a la propagación sobre sustrato sólido, estos gastos adicionales se justifican

desde el punto de vista económico con la obtención de un producto de calidad superior y más estable, cuya concentración de $1 \text{ a } 5 \times 10^9$ conidios/gramos, supera a la del producto líquido de $2 \text{ a } 5 \times 10^8$ conidio/mL y que además posee mayores ventajas para su conservación y almacenamiento.⁴

Tabla 3. Análisis de gastos directos por fase de producción:

Fases de la producción	Líquido - Sólido				Líquido-Líquido			
	Materiales p/kg	F. de trabajo h.d/kg	Salario p/kg	Total p/kf	Materiales p/kg	F. de trabajo h.d/kg	Salario p/L	Total p/L
Fase preinóculos	0,0800	0,04	0,38	0,46	0,03	0,01	0,11	0,14
Fase de propagación	0,6300	0,03	0,25	0,88	0,26	0,11	1,07	1,27
Fase de inoculación	0,002	0,02	0,21	0,212	0,001	0,01	0,15	0,15
Crecimiento	-	0,007	0,09	0,09	-	0,002	0,02	0,02
Control de calidad	0,003	0,07	0,86	0,863	0,001	0,03	0,34	0,341
Cosecha	-	0,03	0,23	0,23	-	0,02	0,16	0,16
Fregado y desinfección	0,001	0,02	0,17	0,171	0,001	0,02	0,15	0,15
Otros gastos asociados al proceso	0,22	-	-	0,22	0,22	-	-	0,22
Total g/unidad	0,93	-	2,19	3,12	0,51	-	1,94	2,47

CONCLUSIONES

1. El estudio de los gastos por partidas y por fase de producción permitió un análisis más adecuado de los elementos que influyen en el costo de las dos alternativas de producción.

por lo que sirven de punto de referencia para la optimización de ambas tecnologías.

2. El ciclo de producción del hongo antagonista *Trichoderma* spp., cepa 34, tiene una duración mínima de 15 días, por los dos métodos de cultivo estudiados.

3. La tecnología de bandejas permite reducir los requerimientos de fuerza de trabajo para procesar una unidad de producto en el cultivo líquido-sólido.
4. La inversión de recursos laborales y materiales para garantizar la calidad de cada lote de producción sugiere la necesidad de definir el tamaño óptimo del lote, en función de minimizar los costos unitarios, de acuerdo con la capacidad tecnológica de cada centro productor.
5. El incremento de los costos unitarios en el cultivo líquido-sólido, se justifica desde el punto de vista económico, por estar en función de un incremento de la calidad del producto terminado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fernández-Larrea, O., A. Calderón y M. Fraga. *Metodología para la reproducción masiva de Trichoderma spp. para el control de hongos fitopatógenos*. s.n. Ciudad Habana. 1995a
2. Fernández-Larrea, O. y I. Sandoval. *Producción de Trichoderma spp. por métodos artesanales. Controles de calidad del proceso y del producto final*. INISAV. 2 pp. 1993.
3. Fundora Albertina et al. *Principios de dirección industrial*. Facultad de Tecnología U.H. La Habana, 1974.
4. JUICEPLAN. *Lineamientos generales sobre costos: Planificación, Registro, Cálculo y Análisis del costo de producción*. S.N.C., Sección I. Tomo II, 1989.
5. Papavizas, G. C.; M. T. Dunn, J. A. Lewis, and J. eagle-Ristano. Liquid fermentation technology for experimental production of biocontrol fungi. *Phytopathology*, 74, (10): 1171-1175. 1984
6. Sánchez, A. M. et al. Eficiencia económica de la producción de biopreparados por tecnologías artesanales. MCTMA. Ciudad Habana. 43 p. 1995.
7. Stefanova, M. et al. *Empleo de biopreparados de Trichoderma spp. en el control de hongos fitopatógenos de suelo en tabaco, pimiento y tomate de hidropónico*. INISAV. Ciudad Habana. 1993.

V alidación del Método de Pronóstico de las condiciones climáticas favorables para el desarrollo del ácaro rojo *Tetranychus tumidus* Banks en Cuba

Rubén P. Pérez Alvarez, Lérica Almaguel
Rojas, Misleibis Márquez Clavijo y
Eudaldo de la Torre López

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal

RESUMEN

Desde 1985 y hasta 1990, se realizaron estudios sobre el ácaro rojo *Tetranychus tumidus* Banks y se estableció la influencia de los factores abióticos (temperatura y precipitaciones), y bióticos (plantas y enemigos naturales) sobre el comportamiento poblacional de esta especie. Los resultados condujeron al establecimiento de dos periodos bien definidos para el desarrollo de dicha especie: uno en condiciones favorables determinado por las temperaturas medias semanales que oscilan entre los 21 y 25°C, o por más de cuatro días de la semana, sin precipitaciones o inferiores a 30 mm durante dos o menos días y otro en condiciones no favorables establecido cuando las temperaturas medias de la semana son inferiores a los 21°C o superiores a 25°C, al menos por más de cinco días de la semana y/o precipitaciones superiores a los 30 mm por más de tres días de la semana. La validación del método de pronóstico de las condiciones favorables para el desarrollo del ácaro rojo en las condiciones de La Habana, Villa Clara y Las Tunas, alcanzaron valores del 88,9; 93,7 y 92,6 % de validez, respectivamente.

Palabras claves: Ácaro y técnicas de producción *Tetranychus tumidus*

ABSTRACT

During 1985 to 1990, studies on red mites, *Tetranychus tumidus* Banks were accomplished. In addition, it was established the influence of abiotic's factors as temperature and rainfall and biotic's factors as plant and natural enemies upon this species population behavior. The results led to establish two well-defined periods to the development of the red mite: a period of favorable conditions determined by weekly mid temperatures oscillating between 21 to 25°C or distinguished by lack of rain for more than four days per week or below 30 mm during two or less than two days, and another period of unfavorable conditions established by weekly mid temperatures below 21 or above 25°C, at least for more than five days per week and/or rainfall above 30 mm for more than three days per week. The validation of favorable conditions prognostic method in Havana, Villa Clara and Las Tunas's conditions reached 88,9; 93,7 and 92,6 % of validity respectively.

Keys words: mite, *Tetranychus tumidus* and prognostic techniques

INTRODUCCIÓN

Estudios realizados desde 1985 y hasta 1989 demostraron que el ácaro rojo del plátano *Tetranychus tumidus* Banks, se puede desarrollar en cualquier época del año en dependencia de los factores del clima. Todos los factores estudiados, tanto los abióticos (temperatura, humedad relativa, precipitaciones, velocidad del viento, irradiación solar) como los bióticos (fenología de la planta, enemigos naturales, etcétera) influyen en mayor o menor medida en el comportamiento de esta plaga en las condiciones del país, pero los que ejercen una marcada influencia y determinan su comportamiento son la temperatura y las precipitaciones (Pérez y col., 1990).

Castellanos y Roselló (1985), desarrollaron un método de pronóstico de los períodos favorables para el incremento de las poblaciones de *T. tumidus* en el cultivo del plátano basado en los regímenes de precipitaciones ocurridas y lo enmarcaron en dos épocas del año, desde el primero de noviembre hasta el 30 de abril y la segunda desde el primero de mayo hasta el 30 de octubre. En la primera época clasificaron las semanas como favorables cuando no se producían precipitaciones o eran inferiores a 30 mm, por dos días de la semana y en la segunda cuando éstas ocurrían o eran inferiores a los 40 mm por menos de tres días por semana. Según estos autores, el pronóstico resultó confiable hasta los 10 y 11 meses de edad de la plantación, es decir, en parte de la fase de fomento no se recomienda su aplicación en otros ciclos.

Pérez y colaboradores 1990, establecieron un método de pronóstico de las condiciones climáticas favorables para el desarrollo de esta plaga basado en los rangos de temperaturas y el régimen de precipitaciones en el cultivo del plátano en el cual señalaron que en los períodos con temperaturas entre los 21 y 25°C, sin precipitaciones, o con más de cuatro días de la semana con dicho rango y dos o menos días de precipitaciones inferiores a los 30 mm, favorecen el crecimiento de las poblaciones de esta plaga. Cuando estos sobrepasan estos límites se producen condiciones adversas que motivan el decrecimiento de las poblaciones.

Estos métodos resultan muy útil en el establecimiento del comportamiento de los ácaros en las condiciones de Cuba y

desempeñan un papel importante dentro de los programas de lucha y búsqueda de métodos más sencillos y económicos para el manejo de esta plaga.

El objetivo de este trabajo fue el de validar el método de pronóstico de las condiciones climáticas para el desarrollo de *T. tumidus* en los cultivos de plátano y banano con el fin de lograr una mayor eficiencia en la lucha contra esta plaga.

MATERIALES Y MÉTODOS

La validación del método de pronóstico climático se realizó en las Empresas de Cultivos Varios de Alquizar, en La Habana (1990 a 1992); Valle del Yabú en Villa Clara (1991 a 1992) y Vázquez, en Las Tunas (1991 a 1993) sobre la base del comportamiento poblacional de la plaga en estas regiones y los factores del clima que incidieron en los períodos estudiados, fueron declaradas y calculadas las condiciones reales que resultaron favorables para esta especie, por lo que la efectividad del mismo fue validada.

Los datos computados fueron:

- Población de ácaros por semanas.
- Temperatura media diaria.
- Frecuencia de temperatura semanal inferior a los 21°C.
- Frecuencia de temperatura semanal superior a los 25°C.
- Frecuencia de temperatura semanal entre los 21 y 25°C.
- Precipitaciones diarias.
- Días con precipitaciones inferiores a los 30 mm.
- Días con precipitaciones superiores a los 30 mm.
- Días lluviosos de la semana.

Con estos datos se validaron los períodos favorables y no favorables para el desarrollo de *T. tumidus* en plátano y banano, como sigue:

Favorables: Cuando las temperaturas medias de la semana oscilan entre los 21 y 25°C o con más de cuatro días de la semana entre los 21 y 25°C; sin precipitaciones o que se produzcan dos o menos días lluviosos inferiores a los 30 mm.

No favorables: Cuando las temperaturas medias de la semana son inferiores a los 21°C o superiores a los 25 (por más de cinco días de la semana) y/o precipitaciones superiores a los 30 mm con tres o más días de la semana lluvioso.

Después de establecer estas condiciones se procedió a comparar la concordancia de dichas condiciones (reales y teóricas) calculadas, así como el porcentaje de validez del método para cada región.

La valoración económica de la aplicación del método de pronóstico se realizó teniendo en cuenta:

- Tiempo empleado en el muestreo de campo (en horas).
- Tiempo empleado en el conteo de las poblaciones (horas) de forma visual o con el uso de un estereoscopio.
- Salario (pesos) pagado por concepto de muestreo de campo y conteos de las poblaciones.

Se calculó el efecto económico (pesos): disminución de los gastos (%) y reducción de la fuerza laboral técnica (hombres). se utilizaron las siguientes fórmulas (Cuba, 1984):

$$EE = Gb - Gn$$

$$G = \frac{Gb - Gn}{Gb} \times 100$$

$$Rf = \frac{Ctb - Ctn}{Ftt}$$

Donde: EE = Efecto económico.

Gb = Gasto en la variante base. (metodología de señalización tradicional)

Gn = Gasto en la variante nueva. (método de pronóstico climático).

G = Reducción de los gastos (%).

Rt = Reducción de la fuerza de trabajo.

Ctb = Cantidad de trabajadores en la variante base.

Ctn = Cantidad de trabajadores en la variante nueva.

Ftt = Fuerza de trabajo total.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las condiciones de la E.C.V. Alquizar (zona occidental) se determinaron 18 semanas favorables para el desarrollo del ácaro y 27 no favorables en las condiciones reales del cultivo, mientras que por el método de pronóstico se establecieron 16 semanas favorables de las cuales 13 coincidieron con la realidad. Las cinco semanas que se pronosticaron no favorables y que realmente existían las poblaciones en el campo estuvieron dadas por los cambios entre condiciones (favorables y no favorables) y las semanas que les siguieron confirmaron estos parámetros, lo cual no provocó daños a las plantaciones.

Además se pronosticaron 29 semanas no favorables de las cuales 24 coincidieron con la realidad, lo que significó que en dicho período (seis meses aproximadamente) no era necesario muestrear estas áreas con el consiguiente ahorro de recursos humanos y materiales. Las tres semanas no correspondían con la realidad no provocan daños alguno, ya que se pronosticó condiciones favorables y realmente no existen poblaciones importantes del ácaro. Esto pudiera tener su explicación por la acción de otros factores entre los que se encuentran: los enemigos naturales y la mortalidad propia de la especie. Al finalizar las observaciones del período analizado el método de pronóstico alcanzó el 82,2 % de correspondencia con las condiciones reales y una validez total del 88,9 % (Tabla 1)

En la Tabla 2 se exponen los indicadores utilizados para la realización de los muestreos, sólo con el uso de la fuerza laboral técnica, donde se manifiesta que se realiza un gasto de \$ 3,70 en cada muestreo ejecutado por concepto de la toma de las muestras y los conteos de las poblaciones.

Teniendo en cuenta la necesidad de realizar los muestreos semanales en el campo, el gasto por concepto de salario ascendió a \$ 166,64 para muestrear las 45 semanas que contempló este trabajo, lo cual se pudo reducir a \$ 59,25 si se hubiera aplicado el pronóstico, donde sólo ha sido necesario muestrear 16 semanas (Tabla 3).

Esto hace que se logre un efecto económico de \$ 107,39 por campo, por año de evaluación. De igual forma se redujeron los gastos en un 64,44 % y la fuerza laboral en 8,34 hombres (Tabla 4).

Tabla 1. Validación del pronóstico de las condiciones climáticas para el desarrollo de *T. tumidus* en plátano CENSA 3/4. Alquízar 1990-1992

Semana	Condiciones	Real	Calculada	Concordancia	%	% Concordancia total
45	Favorable	18	16	13	72,2	82,2
	No favorable	27	29	24	88,9	
No de concordancia en las condiciones						
Reales / calculadas		Cantidad		%		% de validez
No fav. /fav.		3		6,6		88,9
Fav. /no fav.		5		11,1		

Tabla 2. Indicadores utilizados para muestrear las poblaciones de *T. tumidus* en plátano

	Tiempo en el muestreo horas	Hombres utilizados horas	Salario por hora (pesos)	Salario total pesos	Gasto total por muestreo
Toma de muestra	1,30	1,3	1,61	2,09	3,70
Conteo de población	1,00	1,0	1,61	1,61	

Tabla 3. Gastos incurridos en los muestreos. Alquízar 1990 a 1992

Método de toma de muestras	No. de muestreos realizados	Duración por muestreo h	Total de horas muestreo	Hombres horas utilizados	Gasto en salarios (\$298)
Tradicional (semanal)	45	2,3	103,5	103,5	166,64
Con condiciones favorables	16	2,3	36,8	36,8	59,25

Tabla 4. Indicadores económicos obtenidos con la implantación del pronóstico de *T. tumidus* en plátano

Indicadores	Calculos
Efecto-económico	\$ 107,39
Disminución de los gastos	64,44 %
Reducción de la fuerza laboral	8,34 hombres

Para las condiciones de Santa Clara (zona central del país) se pronosticaron 43 semanas en el periodo comprendido desde 1987 a 1988 de las cuales 19 resultaron favorables. De ellas 16 semanas correspondieron con la realidad para

el 84,4 % y 20 de las 24 calculadas como no favorables coincidieron para el 83,3 % con 83,7 % de concordancia del pronóstico. Para estas condiciones la validez del método se calculó en 93,7 % (Tabla 5).

Tabla 5. Validación del pronóstico de las condiciones climáticas para el desarrollo de *T. tumidus* Banks en banana Parecido al Rey. Villa Clara 1991 a 1992

No. semana	Condiciones	Real	Calculada	Concordancia	%	% Concordancia total
43	Favorable	19	19	16	84,3	83,7
	No favorable	24	24	20	83,3	

No concordancia en las condiciones			% de validez
Reales / Calculadas	Cantidad	%	
No fav. / fav.	4	9,3	93,7
Fav. / no fav.	3	6,9	

El gasto de salario ocasionado por el método tradicional de muestreo semanal ascendió a \$ 159,10 mientras que con el pronóstico fue de \$ 59,20. El efecto económico fue calculado en \$ 99,90 con un 62,79 % de disminución de los gastos por dicho concepto y una reducción de la fuerza laboral de 7,76 hombres.

En Las Tunas (zona oriental) se pronosticaron 95 semanas comprendidas desde 1982 a 1984. De ellas 33 coincidieron con condiciones

favorables y se correspondieron con la realidad (20 semanas para el 74,1 %). Del resto, coincidieron 61 de las 68 semanas con condiciones no favorables para el desarrollo del ácaro para un 89,7 % de eficiencia. Sólo siete semanas de cada categoría fueron pronosticadas erróneamente y coincidieron según dinámica poblacional con los cambios del pronóstico. Todo ello hace estimar la validez del método para la región en 92,6 % (Tabla 6).

Tabla 6 Validación del pronóstico de las condiciones climáticas para el desarrollo de *T. tumidus* Banks en banano, Parecido al Rey, Las Tunas 1991 a 1993

No. Semana	Condiciones	Real	Calculada	Concordancia	%	% Concordancia total
95	Favorable	27	33	20	74,1	85,3
	No favorable	68	62	61	89,7	

No concordancia en las condiciones				% de validez
Reales/calculadas	Cantidad			
No fav./fav.	7	7,3		92,6
Fav./no fav.	7	7,3		

Al calcular los parámetros económicos de la aplicación del pronóstico para esta región se obtuvo un efecto económico de \$ 229,40 con el 83,15 % de reducción de los gastos por concepto de no inspección de las áreas, lo que equivale a reducir la fuerza laboral técnica necesaria en 17,83 hombres al utilizar el pronóstico.

Como se puede apreciar la validez del método de pronóstico de las condiciones climáticas para el desarrollo de *T. tumidus* en plátano y banano, desarrollado en las zonas: occidental, central y oriental del país, presenta valores aceptables y constituye una nueva técnica a emplear en el cultivo que facilita aún más el manejo de esta plaga con beneficios económicos importantes, si se tiene en cuenta que sólo se incluyó el concepto de fuerza laboral técnica y no los gastos por la utilización del transporte,

combustible y tiempo empleado para ir y retornar de las áreas bajo inspección fitosanitaria

CONCLUSIONES

1. El método de pronóstico de las condiciones climáticas favorables para el desarrollo de *T. tumidus* en plátano y banano alcanzó un porcentaje de validez alto en cada una de las regiones validadas por lo que su uso conlleva a la obtención de significativos beneficios en la protección del cultivo.
2. Con la aplicación del método de pronóstico se logra disminuir en más del 50 % los gastos por concepto de muestreos de campo.

3. Se logra una significativa reducción de la fuerza laboral técnica, al implantar el método de pronóstico comparado con el método tradicional de muestreos semanales de las plantaciones.

RECOMENDACIONES

1. Implantar el método de pronóstico de las condiciones climáticas favorables para el desarrollo de *T. tumidus* en los cultivos de plátano y banano en las áreas agrícolas del país.

BIBLIOGRAFÍA

- Castellanos, L. y Barbara Roselló. *Metodología de pronóstico a corto plazo de la araña roja del plátano (Tetranychus tumidus Banks)*. Informe final de extensión, Lab. Prov. de Sanidad Vegetal, Cienfuegos, 15 p., 1985.
- Cuba. Ministerio de la Agricultura. Sistema de evaluación económica de los logros de las investigaciones científicas y su introducción en el sector agropecuario. Unidad de pronóstico y Estudios Económicos Agropecuarios. Ciudad de La Habana, p. 13-23, 1984.
- Pérez, A. R., L. Almaguel R. y N. González. Determinación de los parámetros bioecológicos y de comportamiento de *P. oleivora* en naranja valencia; *P. latus* en lima persa y *T. tumidus* en plátano. Informe Final de la etapa 519-12-01, Secretaría Científica del INISAV. 100 p., 1990.

Lista actualizada de las especies de *Colletotrichum* y sus hospedantes encontradas en Cuba

Yoelkis Tomás, María O. López,
Tania Bonilla y Giselle Estrada

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal

El género *Colletotrichum* Corda es uno de los más importantes y difundidos en la naturaleza, supuestamente con más de 1000 especies. Muchas son parásitas de plantas y causan las enfermedades conocidas como antracnosis (Sutton, 1980).

Han sido registradas numerosas especies de *Colletotrichum*, algunas son patógenas de plantas importantes en la agricultura y la silvicultura, otras han sido descritas en ornamentales, medicinales, forrajeras y otras plantas (Farr et al, 1995).

En Cuba, se habían reportado anteriormente 12 especies de este género por autores como (Seidel, 1976; Arnold, 1986; Urtiaga, 1986), pero actualmente con el estudio y análisis de las mismas se han alcanzado un total de 14 especies.

La lista de los sinónimos de las especies de este género es esencialmente larga. Los autores modernos ahora aceptan un concepto genérico de *Colletotrichum* publicando varios estudios

monográficos y claves que reúnen las especies aceptadas.

Sin embargo aún existe poca precisión alrededor del concepto de algunas de las más comunes especies del género, como *C.gloeosporioides*, la que algunos autores consideran como "grupo" y otros como una especie muy variable con numerosos taxa infraespecíficos y el criterio de ampliación o estrechamiento de la variación morfológica es, por tanto, diverso según el autor de quien se trate. A pesar de eso, se coincide en la separación de *C. gloeosporioides* y *C. acutatum*, aunque en la práctica se obtienen aislamientos intermedios de muy difícil ubicación según las técnicas convencionales (Van der Aa et al, 1990). Freeman y Katan (1997) las pudieron separar utilizando exitosamente técnicas moleculares.

Este trabajo se realiza con el objetivo de actualizar el conocimiento que sobre la distribución de las especies patógenas de este género existe en Cuba.

Tabla 1. Las especies registradas y sus hospedantes son:

Especies	Hospedantes
<i>C. acutatum</i> *	<i>Carica papaya</i> (Estrada et al, 1996)
<i>C. capeisi</i> *	<i>Carica</i> , <i>Solanum melongena</i> (Arnold, 1986)
<i>C. circinans</i> *	<i>Allium</i> (Arnold, 1986)
<i>C. coccodes</i> *	<i>Solanum</i> (INISAV, datos no publicados)
<i>C. crassipes</i> *	<i>Persea</i> (Seidel, 1976)
<i>C. dematium</i>	plurivoro (Urtiaga, 1986)
<i>C. gloeosporioides</i> *	plurivoro (Arnold, 1986)
<i>C. graminicola</i> *	Poaceae (Arnold, 1986)
<i>C. lindemuthianum</i> *	Fabaceae (Arnold, 1986; Urtiaga, 1986)
<i>C. lineola</i>	<i>Shorgum sudanense</i> (Seidel, 1976)
<i>C. malvarum</i>	Malvaceae (Urtiaga, 1986)
<i>C. musae</i> *	<i>Musa</i> (Arnold, 1986)
<i>C. orbiculare</i> *	Cucurbitaceae (Arnold, 1986)
<i>C. truncatum</i> *	Fabaceae (Arnold, 1986; Urtiaga, 1986)

Las marcadas con un asterisco han sido determinadas en el transcurso de este trabajo.

Los principales aspectos morfológicos fueron: forma del conidioma, presencia y dimensión de las setas, y forma y dimensión de conidios y apresorios.

Se continúa la búsqueda de nuevas especies y se abordarán otras técnicas no convencionales para las delimitaciones específicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Arnold, G. R. W. Lista de hongos fitopatógenos de Cuba. __ La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1986. __ 206 p.
- Estrada, G., M.O López and L. Pérez. Hongos asociados a las pudriciones postcosechas en el cultivo de la fruta bomba (*Carica papaya* L) en Cuba. En: II Congreso Latinoamericano de Micología, 1996
- Farr, D.A. Fungi on plants and plant products in the United States. __ Minnesota: American Phytopathological Society, 1995. __ p. 637-640
- Freeman, S., and T. Katan. Identification of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose and root necrosis of strawberry in Israel. *Phytopathology* (EUA) 87: 516-521, 1997
- Seidel, D. Lista preliminar de hongos fitopatógenos de Cuba. __ La Habana: Editorial Pueblo y Educación, 1976. __ 206 p.
- Sutton, Brian C. Coelomycetes fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. *CMI. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria* (England), 1980.
- Urtiaga, R.. Índice de enfermedades en plantas de Venezuela y Cuba. __ Barquisimeto: Editorial Nuevo Siglo, 1986. __ 202 p.
- Van der Aa, H.A., M.E. Noordeloos and J. De Gruyter. Species concepts in some larger genera of the Coelomycetes. *Mycology* 32: 3-19, 1990