FITO SANIDAD

Un enfoque actual de sanidad vegetal

- Estudio comparativo de residuos de ditiocarbamatos en papa
- Reproducción masiva de *Liriomyza trifolii* (Burguess) sobre hospedantes naturales
- Efecto de los plaguicidas sobre *Verticillium lecanii*
- Efectos alelopáticos de algunos abonos verdes y cultivos de cobertura

Volumen 2 No. 1 - 2 / 1998

Contenido

- **DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO**

Detección de partículas baciliformes en los híbridos de plátano FHIA-21 en Cuba 3

Caridad Font, Isaac Curbelo, Julián Fernández, Surey Valdés y Dania Pereira

Determinación de parámetros óptimos para la detección de Phytophthora nicotianae en suelo mediante un método de cebo 7

Ana Fernández, Verónica Toledo y Xiomara Rey

- **Ecología y Epidemiología**

Umbral de daño y umbral económico de Cyperus rotundus L. en frijol (Phaseolus vulgaris Lin.), soya (Glycine max L.Merr.) y maíz (Zea mays, Lin.) 11

Ermenegildo Paredes, Eduardo Pérez, Fermín La O, Armando Almeida, Estrella Pérez, Carlos Jiménez y Ricardo García

- **CONTROL QUÍMICO**

Estudio comparativo de residuos de ditiocarbamatos en papa 15

Rafael Hernández, Pablo Suárez y Silvia Castillo

Degradación acelerada de carbofuran en suelo por aplicaciones repetidas 19

Pura Moreno, Gonzalo Dierksmeier, Arquímedes Bequer, Caridad Ricardo, Lidia Ferrer, Dania Alvarez, Rafaela Batista y Antonio Lazo.

- **CONTROL BIOLÓGICO**

Reproducción masiva de Liriomyza trifolii (Burguess) sobre hospedantes naturales 23

Ofelia Milán, Nidia Acosta, Amelia Borges y Delfín Plá

Método de clasificación de crisálidas de Diatraea saccharalis para el uso de la técnica del insecto estéril y la esterilidad en la F-1 25

Belkis Suárez , Orlando Cabello, Lila García y Consuelo Berenguer

Estudio de diferentes alimentos y tiempo de explotación de las cajas para el desarrollo de la larva de Corcyra cephalonica Stainton 29

Maida Mollineda y Yolanda Martínez

Efecto de los plaguicidas sobre Verticillium lecanii 33

Berta Lina Muiño y Loretta Larrinaga

Colección y selección de microorganismos promisorios para el biocontrol de la maleza Rottboellia cochinchinensis (Lour) Clayton 37

Tania Bonilla, Eduardo Pérez, María Ofelia López, Julio Mena y Kendra Martínez

Efecto del biopreparado de Trichoderma harzianum (Rifai) contra Pseudoperonospora cubensis (Berk Curt) Rostow y Erysiphe cichoracearum D. C. en pepino (Cucumis sativus L.) 41

Felipe Rodríguez, Marusia Stefanova y Ulises Gómez

Nuevos procedimientos y estrategias para el establecimiento del precio de los medios biológicos 45

Anaíl Camarero, Miriam Sánchez y Tania Pérez

- **MANEJO INTEGRADO**

Efectividad de diferentes productos químicos y del biopreparado de Trichoderma harzianum (Rifai) contra enfermedades fungicas del tomate de hidroponico 51

Felipe Rodríguez e Ileana Sandoval

Efectos alelopáticos de algunos abonos verdes y cultivos de cobertura 57

Ricardo García

- **COMUNICACIONES CORTAS**

Livistona chinensis, un nuevo hospedante de Phaeotrichoconis crotolariae (Salam & Rao) en Cuba 61

Julia Almandoz, Hilda Neninger y Jesús Parra

Ortosiphon stamineus Benth, nuevo hospedante de Tetranychus tumidus Banks en Cuba 63

Rubén P. Pérez

- **RESÚMENES DE TESIS**

Biología, detección en suelo, nocividad, epidemiología y control de Phytophthora parasitica causante de la enfermedad pata prieta del tabaco 65

Ana Fernández

- **RESEÑAS**

Caracterización molecular de hongos entomopatógenos 67

Yamilé Baró

Contents

- **PHYTOSANITARY DIAGNOSIS**

Detection of rod-shaped particles in the FHIA-21 banana hybrid in Cuba 3

Caridad Font, Isaac Curbelo, Julián Fernández, Surey Valdés and Dania Pereira

Determination of optimum parameters for the detection of Phytophthora nicotianae in soil by a baiting method 7

Ana Fernández, Verónica Toledo and Xiomara Rey

- **ECOLOGY AND EPIDEMIOLOGY**

Damage and economic tresholds of Cyperus rotundus in beans (Phaseolus vulgaris Lin.), soybean (Glycine max L. Merr) and corn (Zea mays Lin.) 11

Ermenegildo Paredes, Eduardo Pérez, Fermín La O, Armando Almeida, Estrella Pérez, Carlos Jiménez and Ricardo García

- **CHEMICAL CONTROL**

Comparative study of dithiocarbamate residues in potato 15

Rafael Hernández, Pablo Suárez and Silvia Castillo

Accelerated degradation of carbofuran in soil by repeated applications 19

Dania Alvarez, Rafaela Batista and Antonio Lazo

- **BIOLOGICAL CONTROL**

Mass reproduction of Liriomyza trifolii (Burguess) on natural hosts 23

Ofelia Milán, Nidia Acosta, Amelia Borges and Delfín Plá

Method of classification of Diatraea saccharalis chrysalides for the use of the sterile insect technique and the sterility in F-1 25

Belkis Suárez, Orlando Cabello, Lila García and Consuelo Berenguer

Study of different foodstuffs and explotation time of the rearing boxes for the development of the Corcyra cephalonica Stainton larva 29

Maida Mollineda and Yolanda Martínez

Effect of pesticides on Verticillium lecanii 33

Berta Lina Muiño and Loretta Larrinaga

Collection and selection of promising microorganisms for the biocontrol of the weed Rottboellia cochinchinensis (Lour) Clayton 37

Tania Bonilla, Eduardo Pérez, María Ofelia López, Julio Mena and Kendra Martínez

Effect of the Trichoderma harzianum biopreparation against Pseudoperonospora cubensis (Berk Curt) Rostow and Erysiphe cichoracearum D. C. on cucumber (Cucumis sativus L.) 41

Felipe Rodríguez, Marusia Stefanova and Ulises Gómez

Procedures and strategies to fix the price of biological products 45

Anail Camarero, Miriam Sánchez and Tania Pérez

- **INTEGRATE MANAGEMENT**

Effectiveness of different chemicals and of the Trichoderma harzianum (Rifai) biopreparation against tomato fungus diseases in hydroponics 51

Felipe Rodríguez and Ileana Sandoval

Allelopathic effects of some green manures and cover crops 57

Ricardo García

- **SHORT NOTES**

Livistona chinensis, a new host of Phaeotrichoconis crotolariae (Salam & Rao) in Cuba 61

Julia Almandoz, Hilda Neninger and Jesús Parra

Ortosiphon stamineus Benth, new host of Tetranychus tumidus Banks in Cuba 63

Rubén P. Pérez

- **THESIS' ABSTRACTS**

Biology 65

- **REVIEW**

Molecular characterization of entomopathogenic fungi 67

Yamilé Baró

Artículos

DETECCIÓN DE PARTÍCULAS BACILIFORMES EN LOS HÍBRIDOS DE PLÁTANO FHIA-21 EN CUBA

Caridad Font[1], Isaac Curbelo[2], Julián Fernández[1], Surey Valdés[1] y Dania Pereira[1]

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 # 514 e/ 5taB y 5taF, Playa, C. de La Habana. Cuba

2. Laboratorio Central de Cuarentena de Sanidad Vegetal, (LCCV).

RESUMEN

En los últimos años la reproducción acelerada del plátano se ha incrementado con fines comerciales y para evitar la diseminación de enfermedades virales, que en la mayoría de los casos se presentan de forma asintomática, el material de partida debe ser sometido a un riguroso diagnóstico viral. En América, Centroamérica y el Caribe las virosis más difundidas son las provocadas por los virus mosaico del pepino (CMV) y el estriado del plátano (BSV), éste último cuarentenado en Cuba. Una plantación de plátano del híbrido FHIA-21, procedente de Honduras y multiplicadas en cultivo in vitro, se mantuvo en áreas controladas por Cuarentena las que se analizaron para determinar la presencia de los virus BSV y CMV. Las plantas no presentaron síntomas de enfermedades virales y de ellas se conformaron 76 muestras constituidas cada una por porciones de hojas jóvenes tomadas al azar de 4 ó 5 plantones. Las mismas se analizaron con un juego de reactivo comercial (SANOFI) para el CMV y para el BSV con el antisuero policlonal donado por el Dr. B. E. L. Lockhart (Universidad de Minnesota, USA) el cual fue purificado por precipitación salina y cromatografía de intercambio iónico; la IgG se conjugó con la enzima fosfatasa alcalina (SIGMA). Las técnicas utilizadas fueron ELISA-DAS e inmunomicroscopía electrónica (ISEM) con decoración para el BSV. Mediante la técnica ELISA-DAS todas las muestras fueron negativas para el CMV mientras que para el BSV el 41% resultaron positivas. Las muestras dudosas o negativas se confirmaron por ISEM detectándose en un 30% de ellas partículas baciliformes de 180 y 405 nm de longitud. Por los resultados antes señalados se concluye la presencia de BSV en esta área de plátano y la posibilidad de ejecutar en nuestro país técnicas de diagnóstico sensibles como parte del riguroso control fitosanitario en el material donante destinado a la obtención de vitroplantas.

Palabras claves: BSV, plátano, diagnóstico, FHIA-21

ABSTRACT

In the last years banana reproduction has been increasing very fast and in order to avoid the spreading of virus diseases, which in most cases are asymtomatic, the basic material must be submitted to a serious virus screening. In America, Central America and the Caribbean, the virus disease more prevalent are cucumber mosaic virus (CMV) and banana streak virus (BSV), the latter being a target quarantined for Cuba. From a post-entry quarantine field of banana clone FHIA-21 no usual symptoms, we conformed 76 samples of young leaves taked at random from 4 ó 5 scions. They were analysed by ELISA sandwich using a commercial kit from SANOFI for CMV and a antiserum (kindly supplied by Dr. B. E. L. Lockhart, University of Minnesota, USA) wich was purified by saline precipitation and ionic exchange chromatography and IgG conjugated with phosphatase alcaline enzyme (SIGMA) for BSV. Negative and doubtful samples for BSV were confirmed using immunosorbent electron mycroscopy (ISEM). Results showed that all samples were negative for CMV whereas 41% reacted positive for BSV by ELISA. 30% of the samples analyzed by ISEM showed baciliform particles of 180 and 405 nm of lenght . We concluded the presence of BSV in this banana plantation and the reliability to carry out in our country sensitive diagnostics techniques as a part of the program of pests control of the donor plants for in vitro micropropagation.

Key words: BSV, banana, diagnostic, FHIA-21

INTRODUCCIÓN

El plátano y el banano son muy apreciados por sus cualidades alimenticias y como fuente exportable.

A nivel mundial este cultivo está afectado por numerosas enfermedades provocadas por bacterias, hongos y virus, lo que ha llevado a tomar diversas medidas como la selección de clones resistentes que contribuyan a la disminución de daños. De esta forma se han introducido en diferentes países, entre ellos Cuba, los híbridos FHIA provenientes de Honduras, los que presentan resistencia a la Sigatoka Negra (Rowe y Rosales, 1993; Musanews, 1995), enfermedad fungosa de efecto desvastador para las plantaciones de plátano y banano.

La introducción de nuevos clones y su posible utilización para la propagación *in vitro* conlleva a un riguroso diagnóstico para descartar la presencia de patógenos, fundamentalmente virus,

los que en la mayoría de los casos se encuentran de forma asintomática (Frison y Putter, 1989; Jones y Tezenas, 1993; Diekmann y Putter, 1996).

En América, Centroamérica y el Caribe las enfermedades virales más difundidas en plátano son las provocadas por los virus mosaico del pepino (CMV) y el estriado del plátano (BSV), la primera detectada en Cuba en clones comerciales (Castro y col, 1993) y la otra informada por Jones y Lockhart (1993) en los clones Mysore y Bungulan (Jones, 1993) en el jardín clonal del Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT) las cuales fueron rápidamente destruidas. En la actualidad esta enfermedad se encuentra cuarentenada en nuestro país.

El objetivo del presente trabajo fue la aplicación de técnicas sensibles, confiables y rápidas para el diagnóstico de estos virus a partir de antisueros específicos para conocer el estado fitovirológico del híbrido FHIA-21 introducido en nuestro país.

MATERIALES Y MÉTODOS

De un área bajo régimen de cuarentena abierta situada en Bolondrón, provincia de Matanzas, se muestrearon al azar plantas asintomáticas de plátano del híbrido FHIA-21, procedentes de Honduras y multiplicadas en cultivo *in vitro*, de las cuales se tomaron 76 muestras formadas cada una por porciones de hojas de 3 ó 5 plantones.

Las muestras colectadas se analizaron por la técnica ELISA-DAS para determinar la presencia del CMV, con un juego de reactivos (Sanofi), y para el BSV con el antisuero policlonal donado por el Dr. B. E. L. Lockhart (Universidad de Minnesota, USA), a través del proyecto FAO TC P/CUB/4457.

El antisuero fue purificado por precipitación salina y cromatografía de intercambio iónico (Clark y Adams, 1977) y se conjugó con la enzima fosfatasa alcalina (Sigma) (Avrameas y col. 1978).

Se realizaron observaciones al microscopio electrónico de las muestras procesadas por el método dip (Brandes, 1957) utilizando acetato de uranilo al 2% como contrastante.

Para el BSV, las muestras negativas o dudosas por ELISA-DAS se procesaron por inmunomicroscopía electrónica de captura (ISEM) (Milne y Luisoni, 1977).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Por las técnicas ELISA-DAS y microscopía electrónica no se detectó CMV en las muestras analizadas.

Las condiciones óptimas de trabajo de la IgG y el conjugado para el diagnóstico del BSV fueron de 1 ug/ml y 1/1000, respectivamente, así como diluciones de 1:3 de la muestra en tampón PBST + 1% $NaSO_3$.

Con esta técnica resultaron positivas el 41% de las muestras en un rango de 0,32-0,50 unidades de absorbancia, frente a 0,55 para el control positivo y 0,1 para el control negativo.

Las muestras dudosas y negativas por ELISA se analizaron por ISEM (Tabla. 1) y en un 30% de ellas se observaron partículas baciliformes de 180 y 405 nm de longitud, a razón de 1-2 por campo.

Tabla 1. Resultados de los análisis para el BSV

Muestreos	ELISA*	ISEM**
I	8/22	2/14
II	8/21	3/11
III	15/28	5/10
IV	0/5	2/5

***muestras (+)/ total de muestras**

**** muestras (+)/ # de muestras dudosas o negativas**

Por el método dip no se observaron en las muestras analizadas partículas de BSV.

Los bajos valores de ELISA, las pocas partículas capturadas en ISEM unido a la ausencia de síntomas virales durante el ciclo vegetativo de la plantación sugieren baja concentración viral, lo que coincide con Lockhart (1986) y Lockhart y Olszewski (1992) aunque no debemos descartar cierto grado de reacciones heterólogas entre el aislado de este híbrido y el antisuero empleado.

CONCLUSIONES

En el híbrido FHIA-21 se detectó solamente la enfermedad viral producida por el virus estriado del plátano (BSV) mediante el antisuero específico.

RECOMENDACIONES

Conocer el estado virológico de otros híbridos FHIA y clones comerciales en Cuba.

REFERENCIAS

Avrameas S., Ternynck T. and J. L. Guesdan. Coupling of enzymes to antibodies and antigens. Scand. J. Immunol. 8:suppl. 7,7. 1978.

Brandes J, Eine electroenmikroskopishe Schnelle-Methode zum Nachweisfaden-and stakchenformiger Viren, inbesandera in Kartoffeldunk eikeine. Nachrichfenbl. Dtsch. Pflanzenschutzdienstes (Braunschweig) 9:151-152. 1957.

Castro Miriam, Ezavín Mirella, Más P, Balmaseda A, Espino A. Margarita. Detección del virus del mosaico del pepino (CMV) en el cultivo del plátano mediante el método ELISA-Indirecto. Resúmen XXXIII Reunión anual de la Sociedad Americana de Fitopatología. División del Caribe. San Salvador. El Salvador. pg 20. 1993.

Clark M. F. and A, N. Adams. Characteristcs of the microplate method of enzymelinked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34:475-483. 1977.

Diekmann M. and C. A. J. Putter, Eds. FAO/IPGRI Technical guidelines for the safe movement of germoplasm. No. 15. **Musa spp.** (2^{nd}. edition). 1-26. 1996.

Frison E. A. and C. A. J. Putter, Eds. FAO/IBPGR Technical guidelines for the safe movement of musa germoplasm. 1-22 pg. 1989.

Jones D. Report on a mission to the caribbean region (15 May-2 June). Crop Protection Cordinator. INIBAP. 1993.

Jones D. R. and B. E. L. Lockhart. Banana streak disease, Musa Disease Fact Sheet No. 1. INIBAP, Montpellier, France. 1993.

Jones D. R. and Tezenas du Montal. Movimiento seguro de germoplasma de **Musa**. Infomusa 2(2):3-4. 1993.

Lockhart B. E. L. Purification and serology of a bacilliform virus associated with banana streak disease. Phytopathology 76(10):995-999. 1986.

Lockhart B. E. L. and N. E. Olszewski. Serological and genomic heterogeneity of banana streak badnavirus: Implications for virus detection in ***Musa*** germplasm. In "Breeding banana and plantain for resistance to diseases and pests" J. Ganry. pp 105-113. Proceeding of the international symposium on genetic improvment of banana for resistance to diseases and pest, organized by CIRAD-FLHOR. Montpellier, France 7-9 September. 1992.

Milne R. G. and E. Luisoni. Rapid immunoelectron microscopy of virus preparations. En "Methods in Virology". Ed. K. Maramorosch and K. Koprowski. Ac. Press. N. Y. Vol 6:265-281. 1977.

Musanews. 5ta. Reunión del Comité Asesor (RAC) de INIBAP-LANCET celebrada en Venezuela. Infomusa 4(2):11-14. 1995.

Rowe P. and F. Rosales. Mejoramiento diploide en FHIA y el desarrollo de Goldfinger (FHIA-01). Infomusa 2(2):22. 1993.

I Simposio Internacional de Lucha Antivectorial en Instituciones de Salud

Hospital Clínico Quirúrgico Hermanos Ameijeiras. Ciudad de La Habana, Cuba 1 al 3 de julio de 1999

Podrán participar todos los profesionales, investigadores, directivos, gerentes y personas relacionadas con la lucha antivectorial, que tengan interés en:

- Discutir una estrategia de lucha antivectorial eficaz con un enfoque científico, ecológico y económico para Instituciones de Salud y afines
- Intercambiar experiencias sobre la lucha antivectorial
- Coordinar investigaciones en este campo
- Proponer Instituciones de Referencia para la lucha antivectorial

Profesionales de reconocido nivel científico impartirán conferencias magistrales sobre ecología, perspectivas de la lucha antivectorial, estrategias de esta lucha, vigilancia entomológica y resistencia a plaguicidas.

Además se desarrollarán mesas redondas conformadas por temas de cada vector, serán presentados posters y temas libres, así como se realizará exposición de firmas comerciales.

Para mayor información diríjase a:

Dr. Manuel Bastanzuri Pagés
Jefe del Departamento de Epidemiología, Hospital Hermanos Ameijeiras
San Lázaro #701, CP 10300, Centro Habana, Ciudad de la Habana, Cuba
Teléfono 537-57 6065 Fax: 537-335036 e-mail: epi@hha.sld.cu
Ing. Ofelia Milán Vargas
INISAV: Calle 110 #514, e/5ta B y 5ta F, Playa, Ciudad de la Habana, Cuba
Pizarra 22 2510 e-mail: inisav@ceniai.inf.cu

DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA LA DETECCIÓN DE *Phytophthora nicotianae* EN SUELO MEDIANTE UN MÉTODO DE CEBO

Ana Fernández[1], Verónica Toledo[2] y Xiomara Rey[2]

1. *Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, (INISAV). 110 y 5ta F # 514, Miramar, C. de La Habana, Cuba*

2. *Instituto de Investigaciones del Tabaco, Km 8 _ Carretera Tumbadero San Antonio de los Baños, La Habana, Cuba*

RESUMEN

Para determinar la densidad de inóculo (DI), de ***Phytophthora nicotiane*** *en suelo, se desarrolló un método, en el que se utilizan hojas de tabaco como cebo. Para el establecimiento del método, se estudiaron aspectos importantes, como tipo de agua empleada para realizar las suspensiones de suelo, variedad de tabaco más susceptible al patógeno, proporciones de agua-suelo, temperatura óptima para el desarrollo del patógeno y alternancia de luz-oscuridad. Se comprobó, que la infección de las hojas, fue superior en la variedad PBD6 y que las variedades Corojo y Criollo también resultaron afectadas aunque en menor cuantía. La Corojo Especial, se mostró más resistente al ataque del patógeno. Por otra parte, se verificó que en las suspensiones 1/6, 1/8 y en 1/10 fue superior el número de hojas enfermas. Las condiciones de incubación idóneas para el desarrollo del patógeno, fueron temperatura de 27-30° C y un fotoperíodo de 12 horas luz. El agua de lluvia y destilada esterilizadas o no, fueron las más adecuadas para lograr una mayor infección de las hojas.*

Palabras claves: *P. nicotianae*, **cebo, densidad de inóculo**

ABSTRACT

In order to determine inoculum density (ID) of ***Phytophthora nicotianae*** *a method was developed in which tobacco leaves are used as bait. To establish the method some important aspects were studied for example : type of water used to prepare soil dilutions, the tobacco variety most susceptible to the pathogen, soil-water proportions, optimal temperature for the development of the disease agent, and light-darkness alternance. It was proved that the infection of the leaves was higher in PBD6 variety, and corojo and criollo variety were also affected but in lower degree. The variety corojo especial showed a great resistance to the disease attacks. On the other hand, it was verified that in 1/6, 1/8 and 1/10 soils dilutions, the number of leaves was greater. The convenient incubation conditions for the development of the pathogen were the temperatures 27- 30°C and an alternance of 12 hours ligth. The rain water and distilled sterilized water or not were the most adequated in obtaining a greater infection to the tobacco leaves.*

Key words: *P. nicotianae*, **bait, inoculum density**

INTRODUCCIÓN

La pata prieta, es una de las enfermedades de mayor importancia del cultivo del tabaco en Cuba (Espino, 1996) y ha provocado grandes epidemias y pérdidas, en todas las regiones tabacaleras, fundamentalmente en las provincias de Pinar del Río y La Habana (Fernández *et al.* ,1995)

Las medidas preventivas, son de particular importancia para esta enfermedad y dentro de ellas, el conocimiento de los niveles de inóculo del patógeno en suelo, que contribuyen a la elaboración de estrategias de lucha y que permiten la disminución del potencial de inóculo en dichos suelos (Fernández, 1995)

El aislamiento de ***Phytophthora*** de suelos naturalmente infectados es difícil e imposible , a menos que se utilizen técnicas especiales, tales como medios selectivos y cebos, que correctamente empleadas suelen vencer estas dificultades y se utilizan en los análisis cuantitativos de suelo. Para el éxito de la técnica de cebo, debe tenerse en cuenta la selección y utilización de partes de plantas de hospedantes susceptibles; condiciones óptimas para el desarrollo del patógeno en el cebo; la calidad del agua y la proporción suelo-agua (Tsao, 1983).

Para las especies de ***Phytophthora,*** se han desarrollado diversas técnicas, con resultados satisfactorios en los cuales se han empleado frutos (Klotz y De Wolfe,1958), hojas (Klemmer y Nakano, 1962; Jenkins, 1962; Neher *et al,* 1993), otras partes de plantas (Ponchet *et al,* 1972; Anandaraj y Sarma, 1990), así como la combinación de métodos (Goodin *et al,* 1990; Dale y Irwin, 1990).

Este trabajo consistió, en la determinación de los parámetros óptimos de la técnica de cebo para la detección de ***Phytophthora nicotianae*** (Breda de Haan), en suelos de tabaco naturalmente infestados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se elaboró un método de detección del patógeno en suelo, más fácil y con posibilidades de uso masivo, para el cual se normalizaron algunos factores esenciales para lograr el desarrollo óptimo del patógeno en el suelo y la infección del cebo. Se estudió la susceptibilidad de variedades de tabaco al ataque del patógeno; la suspensión suelo-agua adecuada; el tipo de agua y las condiciones de incubación necesarias para efectuar un recobrado óptimo del patógeno en el suelo.

Se emplearon las variedades de tabaco Criollo, Corojo, Corojo Especial y PBD6. Para la producción de zoosporas (inóculo infectivo) se empleó el método descrito por Taylor (1978). Se tomaron 10 gramos de suelo Ferralítico Rojo y se le añadieron 5 ml de una suspensión de 5 x 10^6 zoosporas /ml. El suelo infestado se vertió en un recipiente con 100 ml de agua destilada esterilizada y se realizó una suspensión de 1/ 10. De la suspensión se tomaron 60 ml y se distribuyó 2 ml por cada orificio de una placa plástica de cultivo de tejido que contiene 24 orificios, cada uno con capacidad de 2 ml. Se emplearon 20 orificios por placa. En cada orificio conteniendo la suspensión de suelo infestado, se colocó sobre la superficie una hojita de tabaco flotando. La incubación fue a 28°C durante 72 horas y se observaron las hojas bajo el microscopio óptico para detectar los zoosporangios del hongo y cuantificar el número de hojas infectadas.

Para el estudio de la proporción suelo-agua adecuada para la infección en hojas de tabaco, se utilizó el procedimiento descrito anteriormente y las suspensiones de suelo-agua empleadas fueron de 1:2, 1:4, 1:6, 1:8, 1:10 1:12, así como la variedad de tabaco PBD6.

Se determinó la influencia de las condiciones de incubación óptima para la infección de hojas de tabaco y se probaron seis variantes: temperaturas de 20, 25, 27-30 y 30°C en oscuridad; 27-30 $C luminosidad total y 27-30 $C con fotoperíodo de 12 horas luz. Se empleó el procedimiento descrito en el primer experimento y se utilizó la suspensión suelo-agua 1:10 y la variedad de tabaco PBD6.

Para realizar la suspensión del suelo se probaron tres tipos de agua: destilada, lluvia y potable, empleándose cada una de ellas esterilizadas y sin esterilización. Se utilizó el procedimiento descrito en el primer experimento y la suspensión suelo-agua 1:10; la variedad de tabaco PBD6 y la incubación fue a temperatura de 27-30°C con fotoperíodo 12 horas luz.

Se efectuó un análisis de varianza simple con test de significación de Newman Keuls al 5 % de probabilidad de error.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinó que las hojas de tabaco fueron adecuadas como trampa para detectar ***P. nicotianae*** en suelo infestado. Se apreció que la infección de las hojas fue superior en las variedades PBD6, Corojo y Criollo; sin embargo en la variedad Corojo Especial se evidenció la menor incidencia del hongo (Figura 1). Los síntomas de la enfermedad, se observaron entre los 3 a 6 días de incubadas las hojas. Sobre la superficie y borde de las hojas, se observaron los zoosporangios característicos del hongo.

Con las diferentes suspensiones de suelo- agua probadas se observaron diferencias significativas en la infección en las hojas de tabaco, que fue superior en las suspensiones 1:6, 1:8 y 1:10. Con las suspensiones 1:4 y 1:12 se obtuvieron resultados similares; mientras que con la suspensión 1:2 se obtuvieron los menores valores de infección de las hojas (Figura 2).

Las condiciones óptimas para el desarrollo del patógeno en que se obtuvo una mayor infección de las hojas fue a la temperatura de 27-30°C y 12 horas luz. Se evidenció la importancia de la alternancia de luz y oscuridad, al comprobar que las infecciones fueron más bajas en oscuridad o luminosidad total, aún en temperaturas tan favorables para el desarrollo del hongo como 27-30°C. Se comprobó también que la temperatura es importante para la incubación del cebo, ya que bajo condiciones de oscuridad total los valores de infección fueron más altos a la temperatura de 25°C que a la de 20°C (Figura 3).

El agua de lluvia y destilada esterilizadas o no, resultaron las más adecuadas para la infección del cebo. La utilización de agua potable obtenida de la pila o grifo esterilizada con el objetivo de abaratar la técnica fue menos apropiada, pero resultó inaceptable cuando no fue esterilizada, por lo que su utilización queda descartada de la técnica (Figura 4).

Según Tsao (1983), para el éxito de la técnica de cebo, es muy importante la selección y utilización de partes de plantas (hojas, tallos, etc) de hospedantes susceptibles, requerimiento que tuvimos en cuenta al seleccionar el cultivo del tabaco, así como el empleo de hojas muy pequeñas que son muy susceptibles al ataque del hongo.

Existen numerosos informes, donde se recomienda el uso de proporciones de suelo-agua, de 1:6; 1:8 y 1:10, con lo que se evita la inhibición fungistática (Tsao, 1960) y el recobrado es satisfactorio, incluso cuando se analizan suelos con densidades de inóculo muy bajas, las cuales no suelen detectarse cuando se emplean suspensiones menores de 1:6 (Tsao y Bower, 1983; citado por Tsao, 1983).

Como se observó en nuestros ensayos la temperatura, es un factor importante en la detección de especies de ***Phytophthora*** del suelo. En este sentido, Matheron y Matejka (1992) obtuvieron un recobrado máximo de ***P. parasitica*** con temperatura que oscilaron entre 15-30°C. Bajo nuestras

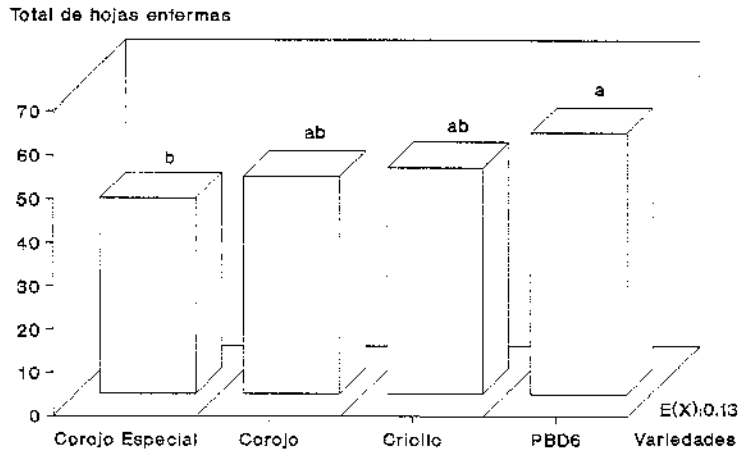

Figura 1. Influencia de las variedades de tabaco en la infección de sus hojas por *Phytophtora nicotianae*

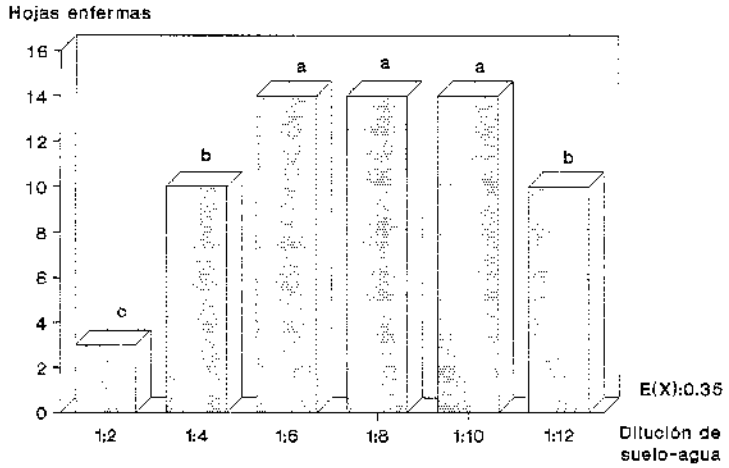

Figura 2. Efecto de la suspensión de suelo para la infección de hojas de tabaco por *Phytophtora nicotianae*

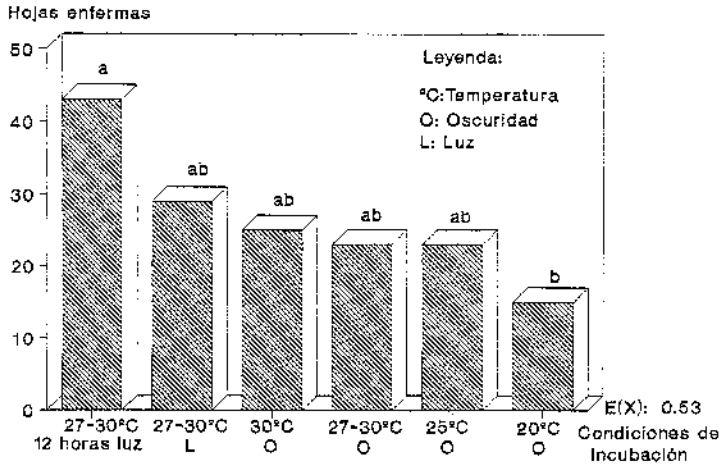

Figura 3. Efecto de las condiciones de incubación para la infección de las hojas de tabaco por *Phytophtora nicotianae*

condiciones ***P. nicotianae,*** al parecer requiere temperaturas más altas (25-30°C), para obtener un recobrado superior en suelo, según los resultados obtenidos en nuestros ensayos. También Lutz *et al* (1991) para el aislamiento de ***P. parasitica,*** realizan un tratamiento rutinario, incrementando la temperatura de los suelos a 32°C, durante 5 días antes del aislamiento del patógeno.

Tsao (1983) recomienda que para climas tropicales, la incubación de los cebos o trampas, debe hacerse en locales con adecuadas regulación de temperatura y bajo iluminación artificial. Ribeiro (1983), también considera necesaria la exposición del cebo a algunos períodos de luz, por cuanto favorece la formación de zoosporangios.

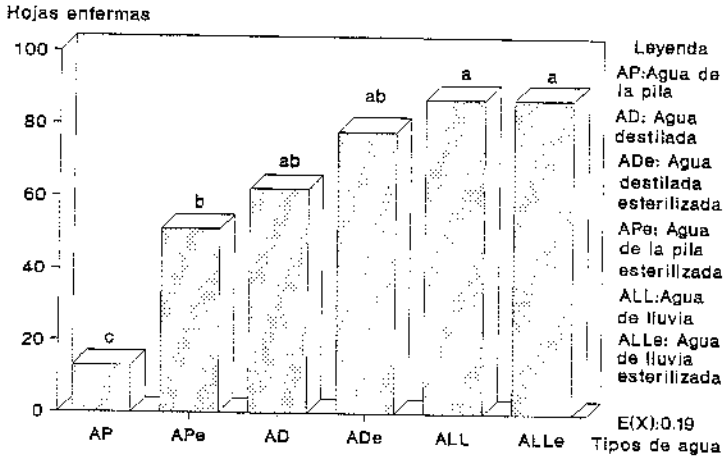

Figura 4. Influencia del tipo de agua para la infección hojas de tabaco por *Phytophthora nicotianae*

Gerrettson-Cornell (1976), señaló la importancia de la calidad del agua en la técnica con cebos y obtuvo recobrados superiores (94,32%), similares a los nuestros cuando igualmente empleó agua destilada o agua desionizada en sus trabajos con ***Phytophthora spp.***

La utilización de agua de lluvia para la técnica con cebo, es recomendada por Grimm y Alexander (1973), pero Tsao (1983) señala, que si esta técnica se emplea a gran escala, entonces es adecuado el uso de agua desionizada de buena calidad y menos costosa que el agua destilada.

CONCLUSIONES

- Las hojas de tabaco resultaron idóneas para el recobrado de ***P. nicotianae*** de suelos infectados.
- Las hojas de las variedades de tabaco PBD6, Corojo y Criollo resultaron muy susceptibles a la infección del patógeno y son cebos apropiados para el trampeo del hongo en suelo.
- El agua de lluvia y destilada, así como las suspensiones suelo-agua 1/6,1/8 y 1/10, resultaron más favorables para la infección de las hojas de tabaco.
- Un rango de temperaturas de 27-30°C y un fotoperíodo de 12 horas luz, fueron las condiciones más idóneas para el desarrollo de la enfermedad en las hojas trampas.

REFERENCIAS

Anandaraj, M. ; Sarma, Y. R. 1990. A simple baiting tecnique to detect and isolate ***Phytophthora capsici*** (***"P. palmivora "*** MFA) from soil. Mycological Research. 94 (7): 1003-1004.

Dale, M. L. ; Irwin, J. A. G. 1990. Estimation of inoculum potentials of ***Phytophthora megasperma f. sp. medicaginis*** in chick pea fields and the development of a glasshouse resistance assay. Australian Journal of Experimental Agriculture. 30(1): 109-114.

Espino, M. E. 1996. Cuban's Cigar Tobacco. (Eds.) T. F. II. Publication, Inc. 79 pp.

Fernández, A. 1995. Alternativas de lucha para la enfermedad pata prieta del tabaco. Boletín No. 4. INISAV.

Fernández, A. Biología, detección en suelo y métodos de lucha contra ***Phytophthora nicotianae*** causante de la pata prieta del tabaco en Cuba.

A.Fernández *et al*. En Forum de Ciencia y Técnica, 10. C. de La Habana. INISAV.

Gerretson-Cornell, L. 1976. Effetc of different methd of water demineralization on the recovery of ***Phytophthora cinnamomi*** Rands by lupin baiting. Phyton 34:85-88.

Goodwin, P. H.; English, J. T, ; Neher, D. A. ; Duniway, J. M. ; Kirkpatrick, B.C. 1990. Detection of ***Phytophthora parasitica*** from soil and host tissue with a species - specific DNA probe. Phytopathology. 80 (3): 277-281.

Grimm,G.B.; Alexander,A.F. 1973. Citrus leaf pieces as traps for *Phytophthora parasitica* from soil slurries. Phytopathology 63:540-541.

Jenkins, S.F. 1972. Preliminary studies for estimating the disease potential of ***Phytophthora parasitica var. nicotianae*** in infested tobacco soils.Plant Dis. Rep. 46:825-826.

Klemmer, H. W. ; Nakano, R. Y. 1962. Tecniques in isolation ***Pythiaceaus*** **fungi from soil and diseased pineapple tissue. Phytopathology. 69:1268-1272.**

Klotz, L. J. De Wolfe, T. A. 1958. Tecnique for isolating ***Phytophthora spp. which attack citrus. Plant. Dis. Rep. 42:675-676.***.

Lutz, A. L. ; Menge, J. A. ; Ferrin, D. M. 1991. Increased germination of propagules of ***Phytophthora parasitica*** by heating citrus soils sample during winter. Mycological Research. 94 (7): 1003-1004.

Matheron, M. E. ; Matejka, J. C. 1992. Effects of temperature on sporulation and growth of ***Phytophthora citrophthora*** and ***Phytophthora parasitica*** and development of foot and root rot on citrus. Plant Dis. 74: 138-140.

Mc Crady, M. H., J. 1915. Infect. Dis. ,17, 183-212.

Neher, D. A. ; Mc Keen, C. D. ; Duniway, J. M. 1993. Dispersal of Phytophthora parasitica in tomato fields by furrow irrigation. Plant Dis. 582-586.

Ricci; P. 1972. Moyens d' etude de l' inoculum du ***Phytophthora nicotianae sp parasitica (D*** astur) . parasite de l' oeillet dans le sol . Ann. Phytopathol. 4:257-276.

Schilts, P. 1967. Criation de nicotiana resistan a ***Peronospora tabacina Adams.*** Analyse histologique et biologique .Tesis presentada a la Univ. de Burdeaus para obtener el grado de Doctor en Ciencias Naturales. Francia.

Tsao, P. H. 1983. Factors affecting isolation and quantifitation of ***Phytophthora*** from soil. In : ***Phytophthora*** : Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology.

Erwin,D.C., S. Bartnick- Garcia , P. H .Tsao (Eds.). The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota.

UMBRAL DE DAÑO Y UMBRAL ECONÓMICO DE *Cyperus rotundus* L. EN FRIJOL (*Phaseolus vulgaris Lin.*), SOYA (*Glycine max*. L. Merr) Y MAÍZ (*Zea mays*, Lin)

Ermenegildo Paredes[1], Eduardo Pérez[1], Fermín La O[1], Armando Almeida[2], Estrella Perez [3], Carlos Jiménez[4] y Ricardo García[1].

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. 2. LPSV de Matanzas, 3. LPSV de Holguín 4. LPSV de Granma

RESUMEN

Se determinaron los umbrales de daño y económico de la maleza Cyperus rotundus L. en los cultivos de frijol, soya y maíz sobre suelo Ferralítico Rojo de La Habana y Matanzas, Pardo con Carbonato de Holguín y Pardo sin Carbonato de Granma. Los resultados obtenidos mostraron que se alcanzó el umbral de nocividad a los 15 días de interferencias para todos los cultivos con 64 brotes/ m^2 para soya y 16 malezas para frijol y maíz, con una pérdida de rendimiento de 0.13 t/ha para frijol, 0.114 t/ha para soya y 0.134 t/ha para maíz. El umbral económico se alcanzó con 64 brotes a los 30 días de competencias para maíz y soya y 16 brotes/ m^2 a los 30 días para frijol; tales valores corresponden a un gasto de 160 pesos/ha para todos los cultivos. Se obtuvo correlación altamente significativa entre las pérdidas de rendimiento y el tiempo de competencia, así como la combinación de este factor con el número de malezas. Se determinó la ecuación de regresión de mejor ajuste, con la cual es factible calcular las posibles pérdidas en áreas donde se presente C. rotundus .

Palabras clave: Umbral de daño, umbral económico, Cyperus rotundus

ABSTRACT

Some experiments were carried out to determine the damage and economic tresholds of the weed C. rotundus in beans, soyabeans and corn crops on red ferralitic soil of Havana and Matanzas, brown with carbonate of Holguin and brown with carbonate of Granma. The results showed that the noxioousnees treshold was reached after 15 days of interference for all crops with 64 shoots/ m^2 for soyabeans and 16 weeds for beans and corn, whith a yield loss of 0.130 t/ha for beans, 0.114 t/ha for soyabeans, and 0.134 t/ha for corn. The economic treshold was reached with 64 shoots/ m^2 after 30 days of competition for corn and soyabeans and with 16 shoots/ m^2 after 30 days for beans; these values correspond to an expense of 160 pesos/ha for all crops. A highly significant correlation was obtained between yield losses and time of competition as well as between de combination of this factor and the number of weeds. The best fitted equation of regression with which the possible losses can be estimated in areas where C. rotundus is present was determined.

Key words: Damage treshold, economic treshold, Cyperus rotundus

INTRODUCCIÓN

C. rotundus está presente en más de 52 cultivos económicos de 90 paises (Bendixen y Nardihalli 1987), es considerada entre las 11 malezas más importantes del mundo (Hawser 1967, Holm y cols. 1967 y Labrada y Paredes 1986) y como un problema grave en 37 países (Doll 1996). En Cuba se localiza en casi todos los cultivos económicos (Labrada 1990).

Esta maleza, se reproduce por semillas y propágulos vegetativos (tubérculos y rizomas), esta última vía es la fundamental (Doll 1996; Gene 1987 y Koch 1975). La interferencia con los cultivos se produce tanto por la competencia como por alelopatía (Sendoya y Doll 1976). El uso inadecuado de herbicidas selectivos y el manejo incorrecto de los cultivos han dado lugar a cambios en la composición de malezas con predominio de *C. rotundus* en varias hortalizas y granos. En maíz se producen pérdidas entre 19 y 40 % de la cosecha (Aleman 1989 y Cruz y Cárdenas 1974), y en frijol éstas pueden llegar de 50 a 80 % (Doll 1996).

Los daños o pérdidas no pueden verse aislados en el momento, sino en un conjunto de factores que se interrelacionan entre sí, los que pueden determinar si se toman o no las medidas de lucha (Holm y col. 1977 y Koch 1975). El objetivo de este trabajo fue obtener información sobre el umbral de daño y económico de *C. rotundus* en frijol, soya y maíz, cultivos de importancia económica en el país que son interferidos por la malezas en estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron experimentos para determinar los umbrales de daño y económico de la maleza *C. rotundus* en los cultivos de frijol, soya y maíz sobre suelo Ferralítico Rojo, en las provincias de La Habana y Matanzas; Pardo con Carbonato en Holguín y Pardo sin Carbonato en Granma.

Todos los experimentos se ejecutaron con diseño de bloques al azar y parcela dividida con cuatro repeticiones y un área de 1.4 metros cuadrados en frijol y soya y 1.8 metros cuadrados en maíz. Las variedades utilizadas fueron GR-315 en soya, ICA PIJAO en frijol y HT-66 en maíz. Para mantener libre de malezas a los cultivos de frijol y soya se aplicó trifluralín a 0.96 kg/ha i.a. en pre-siembra incorporado al suelo a 8-10 cm y metobromuron a 1.0 kg/ha i.a. en pre-emergencia y en maíz; atrazina a 4.8 kg/ha i.a. en pre-emergencia.

Se estudiaron tres densidades de la maleza 4, 16, y 64 individuos/metros cuadrados con períodos de competencia de 0, 15, 30, 45, 60 días y todo el ciclo del cultivo, donde se evaluó el porcentaje de cobertura y peso de la masa seca por metro cuadrado en cada ciclo evaluativo.

Los rendimientos de cada cultivo se evaluaron al momento de la cosecha. El umbral de nocividad se determinó como el valor promedio de la menor diferencia significativa para las dos medias consecutivas (S.q), tomando como base el percentil correspondiente a la tabla de Rangos Múltiples de Duncan (q) con el 5% de error.

El umbral económico se consideró a partir del valor de las pérdidas de rendimientos producidas por una densidad y tiempo de competencia que se igualan al valor de los gastos en la eliminación de la maleza con un valor de 160.00 pesos/ha como promedio. El numero de malezas y días de competencia fueron transformados a y el % de cobertura a 2 arc sen . Los valores anteriores y el peso de la masa seca fueron correlacionados con las pérdidas de rendimiento y se determinaron las ecuaciones de regresión de mejor ajuste para la posible estimación de las pérdidas de rendimientos en cada cultivo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El daño de *C. rotundus* a los cultivos de soya, frijol, y maiz, estuvo más correlacionado con el tiempo de competencia y la producción de masa seca que con la población y la cobertura de la maleza (tabla 1). Así mismo, la correlación obtenida entre población y días de competencia con las pérdidas, presentó alta dependencia en los tres cultivos y provincias evaluadas. En particular, en Holguín se presentó mejor ajuste para todas las ecuaciones evaluadas en frijol, que en el resto de las provincias. En el maiz estas ecuaciones tuvieron mejor ajuste en Granma que en La Habana y en soya solo se obtuvo alta diferencia significativa con el tiempo de competencia. En los tres cultivos estudiados se logró mayor dependencia cuando se estableció la correlación múltiple entre tiempo de competencia y población con las pérdidas de rendimiento. De estos resultados se obtuvieron las ecuaciones de regresión de mejor ajuste para determinar las posibles pérdidas de cada cultivo (tabla 2). Resultados obtenidos en frijol y soya en competencia con *Parthenium hysterosphorus* L.(Labrada y Paredes 1986), difieren de la interferencia de estos cultivos con *C. rotundus*. Esta diferencia puede tener su explicación en las características fenotípicas de cada maleza, *C. rotundus* es grandemente afectada por la falta de luz (Hawser 1967 y Helen 1997), lo que motivó que al cabo de 45-60 días de competencia,

Tabla 1. Matriz de correlación lineal y ecuación de mejor ajuste de pérdidas de rendimientos en distintos cultivos

Cultivos	Provincias	Población/m^2	Días competencia	Masa seca	% de cobertura		
		x_1	x_2	x_3	x_4	$x_1.x_2$	$x_1...x_4$
Frijol	La Habana	0.399**	0.848**	0.594*	0.560*	0.936**	0.950**
	Matanzas	0.789**	0.382**	0.928**	-	0.817**	0.929**
	Holguín	0.714	0.646	0.937**	0.956**	0.963**	0.979**
Maíz	La Habana	0.415	0.869**	0.433	0.513**	0.870**	0.968**
	Granma	0.743**	0.568*	0.806**	-	0.816**	0.938**
Soya	La Habana	0.080	0.969**	-0.562	-0.575	0.973**	0.974**

Nivel de significación: * 5% de error, ** 1% de error

Tabla 2. Ecuasión de mejor ajuste de pérdidas de rendimiento en granos a causa de *Cyperus rotundus* L.

Cultivos	Provincias	Ecuación de regresión $x_1.x_2$
Frijol	La Habana	$y = 0{,}002 + 2.7 \times 10^{-3}x_1 + 5.8 \times 10^{-3}x_2$
	Matanzas	$y = -0.0230 + 1.03 \times 10^{2}x_1 + 5.0 \times 10^{-3}x_2$
	Holguín	$y = 0.066 + 5.1 \times 10^{-3}x_1 + 7.2 \times 10^{-3}x_2$
Maíz	La Habana	$y = 0.373 + 3.69 \times 10^{-4}x_1 + 0.005x_2$
	Granma	$y = 0.298 + 8.3 \times 10^{-3}x_1 + 1.2 \times 10^{-2}x_2$
Soya	La Habana	$y = -0.002 + 8.45 \times 10^{-4}x_1 + 0.010x_2$

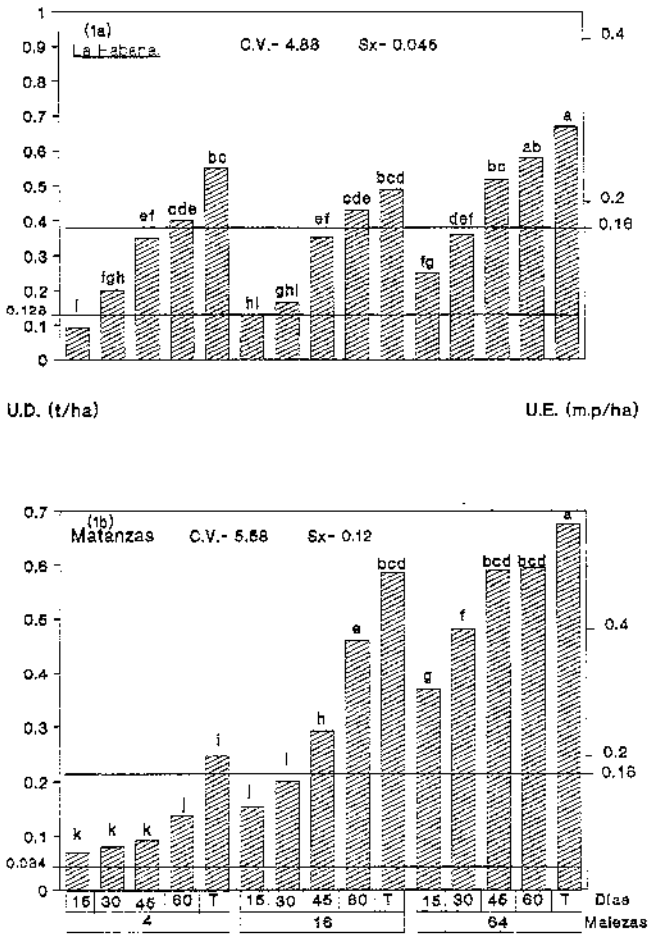

Figura 1. Umbral de daño y económico de Cyperus rotundus L. en frijol

dicha maleza se redujera solamente a la parte subterránea (tubérculos y rizomas).

En frijol las pérdidas de rendimiento fueron significativas a partir de 4 individuos y 30 días de competencia en La Habana y en Holguín y a los 45 días en Matanzas. El umbral de nocividad se obtuvo con 16 individuos y 30 días de competencia en La Habana, 4 individuos y 15 días en Holguín y en Matanzas, los valores de pérdidas con 4 individuos fueron superiores al umbral, pero sin diferencias significativas entre 15, 30 y 45 días (figura.1).

Resultados similares han sido reportado en Brasil y otros países (Koch y cols. 1982, William 1973 y Sendoya y Doll 1976), donde se determinaron pérdidas de rendimiento entre el 25 y 50 % en época de lluvia y seca.

En soya las pérdidas se hicieron significativas entre 15 y 30 días de la brotación del cultivo. El umbral de nocividad se estableció a partir de 64 individuos y 15 días de competencia (figura 2.).

En maíz se produjeron pérdidas significativas entre 15 y 30 días con todas las densidades de la maleza (figura.3). El umbral se obtuvo a partir de 16 individuos y 15 días en La Habana y Granma. Resultados similares se obtuvieron en Colombia, Cruz y Cárdenas (1974), donde la época crítica de competencia fue de 20 días después de la siembra y al competir durante todo el ciclo del cultivo, los rendimientos se redujeron en 40%. En Nicaragua las pérdidas fueron significativas durante los primeros 21 días después de la siembra. (Alemán 1989).

En frijol el umbral económico fue variable (figura 1), en La Habana se obtuvo con 16 individuos a los 30 días y en Holguín se alcanzó con 4 individuos a los 30 días.

En soya (figura 2) el umbral económico se alcanzó con 4 individuos a los 45 días y en maíz (figura 3), entre 4 y 16 individuos en 60 días en La Habana y 4 individuos en 60 días en Granma. El umbral económico es muy variable, depende de los rendimientos, valor de la producción y de la localidad independientemente de la maleza (Helen 1997 y Labrada 1990).No obstante brinda una señal para establecer parámetros de control a partir de determinado número de individuos por metro cuadrado o porcentaje de cobertura.

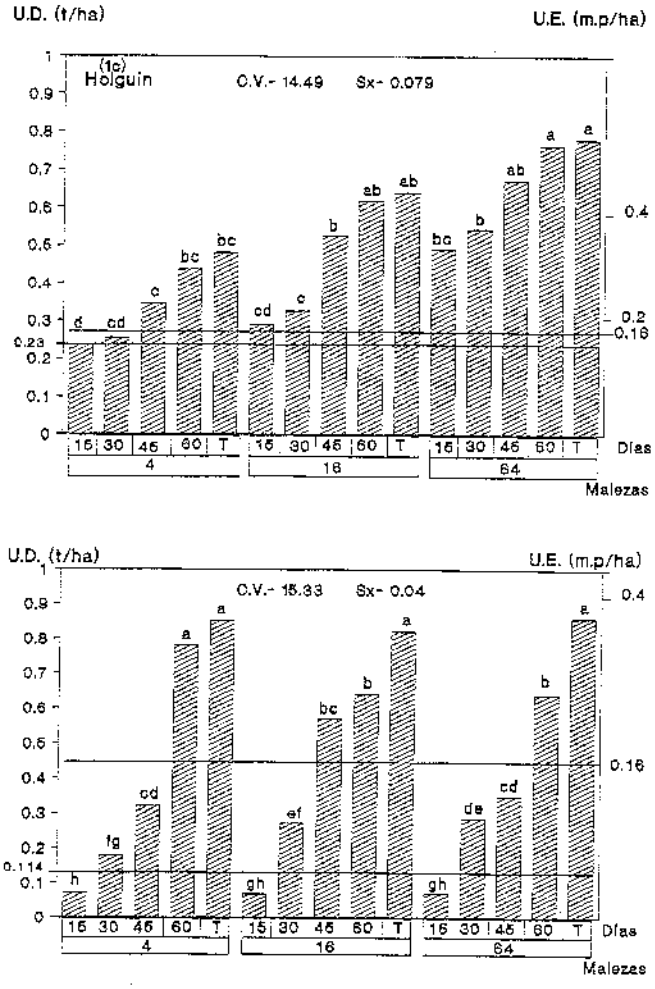

Figura 2. Umbral de daño y económico de Cyperus rotundus L. en soya, La Habana

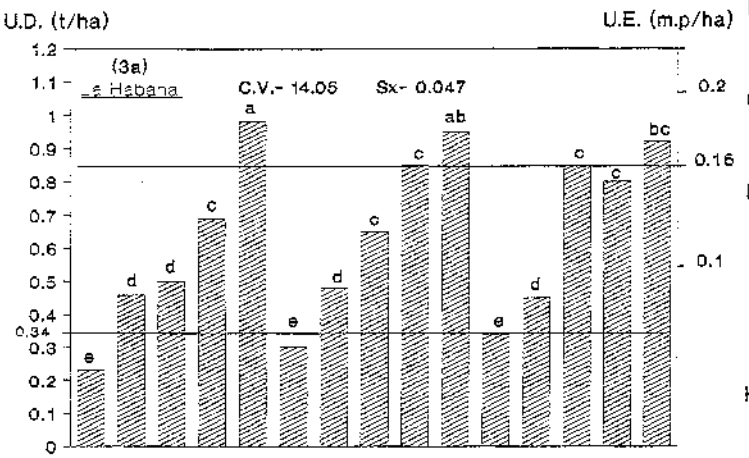

Figura 3. Umbral de daño y económico de Cyperus rotundus L. en maíz

CONCLUSIONES

La correlación del tiempo de competencia y población de la maleza/m^2 con las pérdidas de rendimiento fue altamente significativa para el primer factor, excepto en frijol en Matanzas y en maíz en Granma; y para el segundo factor frijol, maíz y soya en La Habana.

El umbral de nocividad se obtuvo a partir de 15 días de competencia para todos los cultivos hasta 64 malezas para soya y 16 para frijol y maíz.

El umbral económico obtenido fue de 16 malezas para maíz, soya y frijol con 30 días de competencia.

REFERENCIAS

Aleman Z. Freddy. Treshold periods of weed competition in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Crop Production Science.4, p:15-25, 1985.

Bendixen Leo E. and B. Nardihalli. World Weed distribution of Purple and Yellow Nutsedge. *Cyperus rotundus* and *C. esculenthus*. Weed Tech.(USA) 1 : 61-65, 1987.

Cruz R. y J. Cárdenas. Resúmenes de investigaciones sobre el control del coquillo (*Cyperus rotundus*) en el Valle de Sinu, Dpto. de Córdoba, Colombia. Rev. Comalfi 1:33, 22, 1974

Doll J. *Cyperus rotundus* L. Manejo de malezas para países en desarrollo. FAO No. 120: 56-62, 1996.

Gene D. Wills. Description of Purple and Yellow Nutsedge (*Cyperus rotundus* and *C. esculenthus*). Weed tech. (USA) 1: 2-8., 1987

Hawser E. W. Development of Purple underfield condition. Weeds 10: 315-328, 1962.

Holm L. G., D.L. Placknett, J.V. Pancho y P. Herberger. The world's worst weeds. Distribution and biology. 609 PP The University Press of Hawaii, Honolulu, 1977

Koch W. Curso básico sobre el control de malezas en Rep. Dominicana.— (s.l.) : (s.n.), — p. 12-14.1975.

Koch W., M. E. Beshier y R. Unterladstater. Pérdidas de cultivos causados por malezas. — Roma :FAO, 1982. — p 270-271.

Labrada R. y E. Paredes. Umbral de daño y económico de *Parthenium hysterophorus* L. en frijol y soya. — En VIII Congreso ALAM. Res, 1986 —. p. 88.

Labrada, R. Malezas de importancia en la agricultura cubana. X Congreso ALAM . Palacio de las Convecciones, La Habana. p:1-3,1990.

Mortimer A,M. La clasificación y ecoloogía de malezas. Manejo de Malezas para países en desarrollo. F.A.O. no.120: 13-15,1996.

Melo Helen Estrategias y tácticas para el Manejo de Malezas.Introducción a la Biología, Ecología y Manejo de Malezas.pp: 96-99, 1997.

William R. D. Competicao entre a tiririca (*Cyperus rotundus*) e a feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). Rev. Ceses-20 (112): 424-432., 1973

Sendoya F.G. y J. Doll. Efecto de la sombra sobre el crecimiento del coquillo (*C. rotundus*). Rev. Comalfi 3:114-123, 1976.

ESTUDIO COMPARATIVO DE RESIDUOS DE DITIOCARBAMATOS EN PAPA

Rafael Hernández[1], Pablo Suárez[2] y Silvia Castillo[1]

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 # 514 e/ 5taB y 5taF, Playa, C. de la Habana. Cuba
2. LPSV La Habana

RESUMEN

Se realizó un estudio comparativo entre los residuos de ditiocarbamatos en tubérculos de papa, correspondientes a las campañas 1995/1996 y los de 1997. A tal efecto se tomaron86 muestras en la primera etapa (1995/1996) y 55 muestras en la segunda (1997), todas procedentes de áreas de producción agrícolas de la provincia La Habana. Se llevó a cabo además un estudio supervisado y controlado de residuos de mancozeb en el cultivo, para lo cual se dispuso de un área cultivable de 200 m^2 y se practicaron 2 tratamientos con este fungicida a la dosis de 2.4 kg i.a./ha, con intervalo de 10 días entre ambas aplicaciones. En todos los casos los análisis de residuos de ditiocarbamatos se realizaron por el método de hidrólisis, liberación de bisulfuro de carbono, absorción en potasa metanólica y medición espectrofotométrica. En la primera etapa (95/96), los residuos detectados en los tubérculos fueron considerablemente altos, toda vez que el 60 % eran superiores al LMR (0.5 mg/kg), con un mayor valor de 20.9 mg/kg y un valor medio de 3.6 mg/kg. Los residuos originados en la segunda etapa (1997), aunque también fueron altos comparados con el LMR establecido, disminuyeron notablemente, ya que el mayor valor descendió hasta 4.0 mg/kg, con una media de 1.3 mg/kg. En el estudio supervisado de residualidad de mancozeb en papa, se encontró que 7 días después de la última aplicación los residuos eran inferiores al LMR.

Palabras Claves: Residuos de ditiocarbamatos, mancozeb en papa, método espectrofotométrico.

ABSTRACT

It was accomplished a comparative study between the residues of ditiocarbamates in potato tubers, corresponding to the campaigns 1995/1996 and of 1997. To such effect were taken 86 samples in the first stage (1995/1996) and 55 samples in the second one (1997), all of them from agricultural production areas of Havana province. It was carried out furthermore a supervised and controlled study of mancozeb residues in a cultivable area of 200 m^2 and were realized 2 treatments with this fungicide to the dose of 2.4 kg a. i./ ha, with interval of 10 days between both applications. In all the cases the residue analysis of ditiocarbamates were accomplished by the method of hydrolisis, release of carbon disulphide, absorption in methanolic solution of potassium hydroxide and spectrophotometric measurement . In the first stage (95/96), the residues were very high. 60 % were beyond the MRL (0.5 mg/kg), with a greatest value of 20.9 mg/kg and an average of 3.6 mg/kg. The residues originated in the second stage (1997), were olso high, but, lower than in the first stage, the greatest value descended to 4.0 mg / kg, with an average of 1.3 mg / kg. In the supervised study of mancozeb , it was found that 7 days after the last application the residues were inferior to MRL.

Key Words: Ditiocarbamate Residues, mancozeb in potato, spectrophotometric method.

INTRODUCCIÓN

Zineb, maneb, mancozeb y metiram; constituyentes de la familia de los etilenbisditiocarbamatos (EBDCs), son un grupo de fungicidas frecuentemente usados para el control de enfermedades fungosas en una gran variedad de cultivos. Estas sustancias no son estables en presencia de humedad y/o oxígeno, ni en sistemas biológicos y como resultado de sus procesos degradativos pueden dar lugar a compuestos tales como: etilentiurea (ETU), sulfuro de etilenbisditiocianato (EBIS) y bisulfuro de etilentiuram (ETD) entre otros (bolsoni et al, 1993; Ahmad, 1995).

Los residuos de etilentiurea en alimentos tienen una gran importancia toxicológica ya que este compuesto, que ha mostrado propiedades carcinogénicas en animales de laboratorio, es también considerado peligroso a la salud humana (Engst, 1974).

ETU es soluble en agua y facilmente absorbido y metabolizado por el tejido vegetal y es un contaminante común en fungicidas técnicos tales como maneb, zineb, naban y amoban (Engst, 1974; Newsome, 1973).

Así las cosas, se puede ver que ETU no solamente es un metabolito de los fungicidas EBDCs; sino que además, es un contaminante de sus formulaciones.

Por todo lo antes expuesto, resulta de enorme importancia mantener una estricta vigilancia relacionada con la presencia de residuos de EBDCs en los alimentos.

En Cuba, estos fungicidas se usan para el control de enfermedades fungosas en mas de 25 cultivos diferentes, entre los que se encuentra la papa, tan importante en la producción de alimentos y tan susceptible de sufrir el ataque de dichos patógenos. Lógicamente el uso de estos compuestos debe realizarse en correspondencia con Buenas Prácticas Agrícolas en el uso de plaguicidas (BPA).

Entre las acciones que se deben realizar para que se cumplan las BPA están: aplicación de las dosis y número de tratamientos mínimos necesarios para el control de las plagas, así como el establecimiento de los Términos de Carencia correspondientes.

De los fungicidas ditiocarbámicos utilizados en papa, dos de ellos tienen establecidos sus Términos de Carencia experimentales en el país : maneb (7 días) y zineb (2 días) ; no así mancozeb y metiram. No obstante, desde hace algunos años se vienen observando residuos violativos de estos compuestos en el alimento, lo que implica un riesgo para la salud de la población y ha sido necesario dirigir determinadas recomendaciones a la producción agrícola con la finalidad de evitar estos riesgos toxicológicos.

El presente trabajo da una visión de la situación existente durante las campañas 95/96 en la provincia La Habana, con relación a los residuos de ditiocarbamatos en papa y la situación actual, después de las recomendaciones dirigidas a los encargados de las atenciones fitosanitarias de la producción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron monitoreos durante dos años consecutivos (1995/1996), en áreas de producción de papa de la provincia La Habana, para determinar los niveles de residuos de ditiocarbamatos en los tubérculos.

A tal efecto se tomaron 86 muestras procedentes de diferentes zonas (Güira, Alquizar, Güines y Batabanó), siguiendo la metodología de muestreo establecida (MINAG, 1981; Codex Alim. 1996).

A su llegada al laboratorio los tubérculos fueron lavados, triturados (Codex Alim., 1985) y colocados en congelación (-18 ° C) hasta que se realizaron los análisis de residuos, los que se llevaron a cabo por el método cuyo principio se describe a continuación : Los ingredientes activos se hidrolizan en medio ácido, el bisulfuro de carbono liberado se disuelve en una solución de hidróxido de potasio en metanol para formar el xantato de potasio, al que posteriormente se le mide su absorbancia en un espectrofotómetro UV a 302 nm (Rep. Cuba, 1987).

Los residuos detectados se tabularon, se determinaron los valores máximo, medio y mínimo y se compararon con el LMR nacional. Además se determinó la Desviación típica, utilizando el software Microsoft Excel.

Al concluir la etapa, los resultados se hicieron llegar a las diferentes áreas de producción involucradas, así como al Departamento Provincial de Sanidad Vegetal y Sub-Dirección Nacional de Protección de Plantas, con las recomendaciones correspondientes a fin de que se tomaran las medidas pertinentes, para evitar tan alta residualidad en los alimentos.

Durante la próxima campaña (1997), se realizó un monitoreo dirigido a las mismas zonas y se tomaron 55 muestras de tubérculos.

El procedimiento metodológico seguido durante toda esta etapa, fue el mismo que en la anterior y los resultados obtenidos fueron enviados a la Dirección Provincial para su análisis.

Además se llevó a cabo un estudio supervisado de residuos de mancozeb en papa, para lo cual se realizaron dos aplicaciones (separadas por 7 días) con el fungicida ditiocarbámico, sobre una parcela de 200m^2. Los muestreos y análisis siguieron las mismas metodologías planteadas en el transcurso del presente trabajo.

Los resultados se compararon con el LMR nacional y se determinó el Término de Carencia correspondiente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presentan los residuos de ditiocarbamatos en los tubérculos detectados durante la primera etapa (1995/1996).

De la tabla 1 se deriva que el máximo residuo detectado (20.9 mg/kg) resulta extraordinariamente alto, con un valor medio (3.66 mg/kg) que es 7.32 veces superior al LMR nacional (0.5 mg/kg).

En este trabajo no se analizó la presencia de residuos de ETU, por no contar con el método analítico correspondiente desarrollado, por lo cual no conocemos a que nivel pudo haber llegado la residualidad de este tóxico en los tubérculos contaminados con tan altos residuos de EBDCs.

Como resultado del estudio supervisado de residualidad de mancozeb en papa, se vio que 7 días después de la última aplicación, los residuos en los tubérculos eran inferiores al LMR .

Por otra parte , en un estudio realizado en papa mediante el uso de radiotrazadores, se observó que 17 días después de la última aplicación de maneb, la mayor parte de los residuos se encontraban en las hojas, mientras que menos del 0.3 % estaba en los tubérculos (FAO, 1995).

Esta aparente contradicción de los resultados obtenidos en los estudios supervisados, con los residuos detectados durante la etapa 95/96, solo se explica teniendo en cuenta que estos residuos reflejan claramente que en dicha etapa, no se

Tabla 1. Residuos de ditiocarbamatos en papa. Primera etapa

Muestras	Residuos, mg/kg	Muestras	Residuos, mg/kg	Muestras	Residuos, mg/kg
1	0.5	30	11.7	60	ND
2	ND	31	1.5	61	12.6
3	11.7	32	ND	62	ND
4	0.8	33	0.7	63	ND
5	1.3	34	ND	64	ND
6	2.0	35	ND	65	11.2
7	7.8	36	0.8	66	1.5
8	2.5	37	5.2	67	19.8
9	9.1	38	5.0	68	5.0
10	ND	39	1.1	69	1.5
11	7.8	40	ND	70	ND
12	ND	41	5.5	71	ND
13	10.0	42	1.2	72	ND
14	2.4	43	1.1	73	13.3
15	7.9	44	0.8	74	0.7
16	20.9	45	3.7	75	9.3
17	ND	46	ND	76	ND
18	8.3	47	ND	77	6.5
19	1.3	48	ND	78	ND
20	17.6	49	0.7	79	9.2
21	1.0	50	ND	80	3.6
22	11.3	51	ND	81	7.0
23	ND	52	ND	82	ND
24	2.9	53	6.8	83	5.0
25	ND	54	1.5	84	ND
26	10.8	55	2.3	85	4.6
27	ND	56	13.0	86	ND
28	ND	57	ND		
29	ND	58	ND		

respetaron las Buenas Prácticas Agrícolas en el uso de los plaguicidas (BPA) .

Además, la desviación típica que da una medida de la dispersión de los valores, en este caso presenta un alto nivel (5.02 mg/kg), lo que puede ser interpretado como consecuencia de irregularidades durante la práctica agrícola.

Los residuos correspondientes a la segunda etapa (1997), se presentan en la tabla 2.

Aunque en esta etapa los residuos de ditiocarbamatos son altos en comparación con el LMR, se observa una clara disminución con relación a la etapa anterior. El residuo máximo detectado (4mg/kg) fue considerablemente inferior y también lo fue el valor medio obtenido (1.29 mg/kg).

En los resultados de la etapa se observa una diminución de la Desviación típica (1.22 mg/kg), lo que permite asegurar que se logró un mayor cumplimiento (aunque no completo aún) de las BPA.

CONCLUSIONES

- Siempre que se aplique mancozeb sobre el cultivo de la papa a la dosis de 2.4 kg i.a./ha; 7 días después de la última aplicación los residuos serán inferiores al LMR nacional (0.5 mg/kg).
- Queda demostrado, que siempre que los residuos de EBDCs en los tubérculos de papa al momento de la cosecha, sean superiores al LMR establecido nacionalmente, es porque no se respetan las **Buenas Prácticas Agrícolas** en el uso de los plaguicidas en el cultivo.

Tabla 2. Residuos de ditiocarbamatos en papa. Segunda etapa

Muestras	Residuos, mg/kg	Muestras	Residuos, mg/kg	Muestras	Residuos, mg/kg
1	1.7	20	ND	39	0.6
2	0.6	21	2.3	40	ND
3	3.0	22	1.2	41	0.7
4	1.3	23	1.7	42	ND
5	2.8	24	0.5	43	ND
6	2.7	25	ND	44	2.9
7	ND	26	3.0	45	2.4
8	3.1	27	1.0	46	2.2
9	1.4	28	2.0	47	2.7
10	ND	29	1.1	48	0.8
11	ND	30	1.4	49	ND
12	2.7	31	ND	50	ND
13	2.8	32	ND	51	3.8
14	0.9	33	ND	52	ND
15	2.2	34	0.8	53	2.2
16	0.6	35	ND	54	4.0
17	2.7	36	ND	55	ND
18	0.7	37	1.4		
19	ND	38	3.1		

RECOMENDACIONES

- Mantener un sistema de vigilancia de residuos de ditiocarbamatos en papa que conlleve en última instancia a la obtención de **Alimentos inócuos.**
- Desarrollar un método analítico para la determinación de residuos de **ETU** en alimentos.

REFERENCIAS

Bolsoni L. Sannino A. & Bandini M. Determination of ethylenethiurea and propylenethiurea in tomato products and in fruit purees. Food Chemistry 47. 299-302. Italy 1993.

Ahmad Nazir, Guo Lin, Mandarakas Peter and Appleby Simeone. Determination of dithiocarbamates and its breakdown products Ethylenethiurea in fruits and vegetables. Journal of AOAC International Vol. 78, No. 5, 1995.

Engst R. & Schnaak W. Residues of dithiocarbamates fungicides and their metabolites on plant foods. Res. Review 52, 45-67, 1974.

Newsome W.H. & Laver G.W. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 10, 151, 1973.

República de Cuba. Registro Central de Plaguicidas Autorizados. Año 1995/1996.

Ministerio de La Agricultura NRAG: 165. Sanidad Vegetal. Determinación de residuos de plaguicidas. Técnica de muestreo de productos agrícolas en el campo. Cuba, 1981.

Comisión del Codex Alimentarius CX/PR 96/7. Revisión de los métodos recomendados de muestreo para la determinación de residuos de plaguicidas. La Haya, 1996.

Comisión del Codex Alimentarius. CAC/PR6. Parte del producto a que se aplican los Límites Máximos de Codex para residuos y que deben analizarse. Roma, 1985.

República de Cuba. NC:29-13. Plaguicidas. ditiocarbamatos. Determinación fotométrica de residuos, 1987.

FAO. Pesticides Residues in Food. Evaluations 1995. Part I - Residues. Plant Production and Protection Paper. 137.

FAO. Residuos de plaguicidas en los alimentos. Informe conjunto FAO/OMS 1993. Estudio FAO producción y protección vegetal. 122.

DEGRADACIÓN ACELERADA DE CARBOFURAN EN SUELO POR APLICACIONES REPETIDAS

Pura Moreno , Gonzalo Dierksmeier, Arquímedes Bequer , Caridad Ricardo , Lidia Ferrer, Dania Álvarez, Rafaela Batista y Antonio Lazo

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 # 514 e/ 5taB y 5taF, Playa, C. de La Habana. Cuba

RESUMEN

Se describe el comportamiento de carbofuran en un suelo que ha recibido aplicaciones repetidas del plaguicida, para lo cual se tomaron muestras de un campo de la Empresa Arrocera del Sur de Matanzas donde ha sido aplicado el insecticida por mas de 10 años en el control de plagas en el cultivo. Una muestra similar, del mismo tipo de suelo (Oscuro Plástico) pero sin tratamientos previos, fue tomada como control. Los suelos se colocaron por separados en recipientes poco permeables y se adicionó una película de agua de unos 5 cm sobre el nivel de cada uno, la que se mantuvo durante el tiempo en que duró el experimento. La contaminación se realizó adicionando 1 g de carbofuran 5 % C a ambos suelos (sin tratamiento previo y aplicaciones repetidas). Se tomaron muestras a los 3,5,7,10,13 y 20 días de aplicado el insecticida y los residuos se analizaron por cromatografía gaseosa con detector termoiónico, con un límite de detección de 0,02 mg/kg. El carbofuran se degradó mas rápidamente en el suelo donde se habían realizado aplica-ciones repetidas , lo que provocó una disminución de su efecto biológico en la Empresa Arrocera del Sur de Matanzas donde fue reportado un control deficiente de las plagas por la aplicación de éste insecticida. Al principio se supuso, que la situación presentada en dicha Empresa podía deberse a que la calidad del formulado no era la adecuada. Sin embargo esto se descartó después que se realizaron los análisis ordinarios, así como la prueba de lixiviación forzada, que demostraron que el carbofuran satisfacía todas las exigencias para este tipo de formulado. Ello como es lógico condujo al resultado que se describe.

Palabras claves: Carbofuran, degradación, aplicaciones

ABSTRACT

It is described the behaviour of carbofuran in a soil that was treated repeatedly with this insecticide for more than ten years. For this purpose, soil from the rice Enterprise " Arrocera del Sur de Matanzas" was taken for the experiment. At the same time as control of the same characteristic was taken from a nearby pristine area. Both soils were put in plastic boxes and water added until a 5 cm layer covered them. This water level was maintained during the experiment. One gram of carbofuran 5 % C was applied in each soil. Soil samples were taken 3,5,7,10,13 and 20 days after the treatment and the carbofuran concentration determined by gas chromatography using a thermoionic detector . The detection limit was 0,02 mg/kg. Carbofuran degraded faster in the soil that was treated repeatedly than in the pristine soil. Evidently this was the reason of the low biological effect achieved in the above mention rice enterprise and not the quality of the formulated that was corroborated chemically and by the normal physical essays including the forced leaching one

Key words: Carbofuran, degradation, treatments

INTRODUCCIÓN

La degradación acelerada de los plaguicidas aplicados al suelo por repetición de tratamientos es un fenómeno que fue inicialmente señalado para el caso del 2,4 D en 1949 (Cain et al, 1991), pero actualmente son múltiples los plaguicidas que aparecen reportados en la literatura que pueden presentar esta característica entre los que se encuentran : difenamida, benomyl, isofenfos, MCPA, , propanil, linuron y carbofuran entre otros (Aharonson et al, 1993; Racke et al, 1990 ; Roberts et al, 1991)

Si por una parte la degradación acelerada de un plaguicida en suelo contribuye a la disminución de la contaminación ambiental , y de hecho ha sido utilizado su principio en la destrucción de plaguicidas en el medio (Moreno y col, 1993; Megharaj et al, 1994), por otra parte repercute en la pérdida de su actividad biológica trayendo como consecuencia un escaso control de las plagas en el cultivo donde se aplique.

Es importante en la actualidad, disponer del conocimiento de la existencia de este fenómeno, pues en muchos casos el control deficiente de una plaga es asociado a la mala calidad del formulado que se utiliza y en ocasiones se aumenta la dosis de aplicación trayendo como resultado la agudización del problema, así como la pérdida del producto.

En el presente año fue comunicado por los especialistas de la Empresa Arrocera del Sur de Matanzas un control deficiente del carbofuran después de realizados los tratamientos habituales, por lo que fue necesario realizar un estudio encaminado a determinar la causa de dicho problema.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para determinar la calidad del carbofuran utilizado en las aplicaciones, se determinaron los parámetros físico - químico en tres muestras del formulado, de acuerdo a las técnicas establecidas en el Departamento de Química del INISAV.

Se realizó el estudio del comportamiento de carbofuran en suelo, para lo cual se utilizó muestras de suelo Oscuro Plástico proveniente de la Empresa Arrocera del Sur de Matanzas donde ha sido aplicado el insecticida por mas de 10 años en el control de plagas en el cultivo del arroz (aplicaciones repetidas), así como de muestras de suelo sin tratamientos previos del insecticida de la mencionada área.

Los suelos se colocaron por separados en recipientes poco permeables y se adicionó una película de agua de unos 5 cm sobre el nivel de estos, la que se mantuvo durante el tiempo que duró el experimento. La contaminación se realizó adicionando 1 gramo de carbofuran 5 % G a ambos suelos.

Se tomaron muestras de suelo (sin tratamiento previo y aplicaciones repetidas) a los 3,5,7,10,13 y 20 días de aplicado el producto y los residuos se analizaron por cromatografía gaseosa con detector termoiónico con un límite de detección de 0,02 mg/kg

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados analíticos obtenidos en las muestras de formulados de carbofuran aparecen en la tabla 1, que demuestran que el producto cumple con las especificaciones de calidad contratadas, por lo que el control deficiente biológico observado en dicha zona no está dado por la mala calidad del plaguicida como se suponía al inicio de presentarse el problema, ya que en otras ocasiones la disminución control ha estado asociado a una liberación muy rápida del ingrediente activo del granulado, como lo demuestra la prueba de lixiviación forzada que se realiza en el laboratorio, así como el tamaño de partículas grandes o demasiado pequeñas que aumenta la liberación del ingrediente activo

En la tabla 2 se muestran los resultados del estudio de degradación del carbofuran en suelo en ambas variantes y donde se manifiesta la rápida degradación del insecticida en el suelo donde por un período de 10 años se han realizado aplicaciones reiteradas en el control de las plagas en el cultivo del arroz.

En general todo plaguicida aplicado al suelo es transformado por los microorganismos de este, pero su actividad sobre las plagas en el área aplicada puede durar de 1 a 2 meses (Felsot,1986), sin embargo en diferentes estudios realizados se ha señalado que la aplicación repetida de carbofuran sobre un mismo suelo conlleva a la adaptación de la flora microbiana, la que puede utilizar a este plaguicida como fuente de alimentación y por tanto a su rápida desaparición del medio. (Rasul et al, 1989; Pussemier L. ,1991), Estos resultados coinciden con los obtenidos en nuestro estudio

Tabla 1. Resultados físico químicos en las muestras de carbofuran

Tipo de ensayo	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Según especificaciones de calidad
Contenido de ingrediente activo % P/P	5.02	5.01	5.15	4.5 - 5.5
Lixiviación forzada	12	11	8.15	máximo 15
pH	7.96	7.52	6.61	6 - 7
Tamaño de partículas, %				
mayor de 1 mm	1.58	0.89	1.7	-
1 mm - 0.8 mm	5.83	6.06	5.06	-
0.8 mm - 0.4 mm	90.0	87.77	88.2	90 como mínimo
0.4 - 0.25 mm	2.4	5.0	3.2	-
Polvo	0	0	0	0
Humedad, %	0.4	1.2	-	máximo 1
Densidad	1.37	1.34	1.34	1.3 - 1.4

Tabla 2. Cinética de degradación de carbofuran en suelo.

Variante	Residuos(mg/kg) para t (días) después de la aplicación					
	3	5	7	10	13	20
Sin tratamiento previo	6.6	-	3.2	1.8	0.48	0.11
Aplicaciones repetidas	1.07	0.61	0.44	0.26	0.10	nd

CONCLUSIONES

El carbofuran se degrada rápidamente en suelo donde se han realizado aplicaciones repetidas del insecticida, lo cual determina la disminución del efecto biológico de este plaguicida en el cultivo del arroz .

RECOMENDACIONES

Se recomienda sustituir el carbofuran por otro insecticida no carbámico para el control de plagas en suelos que presenten estas características ya que además de no controlar la especie para lo cual se aplica hay una pérdida de producto .

REFERENCIAS

Aharonson N. and J. Katan.(1993). Delayed and enhanced biodegradation of soil-applied diphenamid, carbendazin and aldicarb. *Archieves of insect biochemistry and physiology* 22 (3/4). 451-466.

Cain R.B and I.M Head (1991). Enhanced degradation of pesticides: Its biochemical and molecular biological basis. BCPC Mono. 47 Pesticides in Soils and Water..26-39

Felsot A.S. (1986) Effect of conditioning soil for enhanced biodegradation of carbofuran on disipation of other methyl carbamate insecticides..The sixth International Congress of Pesticide Chemistry. IUPAC Abstracts. 6B-08

Megharaj M., D. R. Madhavi, C. Sreenivasulu, A. Umamaheswari and K. Venkateswarlu (1994). Biodegradation of methyl parathion by soil isolates of microalgae and cyanobacteria. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 53. 292-297

Moreno P, G. Dierksmeier , C. Ricardo y M.N. Llanes(1993). Degradación inducida de plaguicidas por medio biológico. Informe de investigación (en publicación).

.Pussemier L. (1991) Some factors affecting the accelerated biodegradation of carbofuran in sugar beet cultivations of Central Belgium BCPC Mono. 47 Pesticides in Soils and Water. 59-65.

Rasul G., L. T. Ou and W. B. Wheeler (1989). Degradation of carbofuran by soil microoganisms.The sixth International Congress of Pesticide Chemistry. IUPAC. Abrtacts 6C- 12.

Racke K.D and M. I Midland (1990). Enhanced biodegradation of insecticides in Midwestern corn soils. ACS .Symposium series American Chemical Society. 426 . 68-81

Roberts S.J, A. Walker, M.J Waddington and S.J Welch (1991). Isolation of a bacterial culture capable of degrading linuron. BCPC Mono. 47 Pesticides in Soils and Water.51-54

REPRODUCCIÓN MASIVA DE *Liriomyza trifolii* (Burgess) SOBRE HOSPEDANTES NATURALES

Ofelia Milán[1], Nidia Acosta[1], Amelia Borges[1] y Delfín Plá[2]

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 # 514 e/ 5taB y 5taF, Playa, C. de La Habana. Cuba
2. LPSV La Habana

RESUMEN

Se evaluó la reproducción masiva de ***Liriomyza trifolii*** a partir de 15 parejas alimentadas sobre plantas de tomate (Licopersicum sculentum), papa(Solanum tuberosum), haba de lima(Phaseolus lunatus), y frijol(Phaseolus vulgaris). Se observó la cantidad de larvas, el número de pupas formadas y el porcentaje de adultos emergidos. La mayor cantidad de pupas formadas se obtuvo en la variante de ***L. trifolii*** alimentada con hojas de frijol, con un 63% y la emergencia de adultos fue de un 88% ; seguida de la variante de tomate, papa y haba de lima. De las plantas evaluadas el frijol fue el que desarrolló más rápido con un promedio de 6 días para obtener una planta idónea para ser infestada por dicha mosca. Su ciclo biológico tuvo una duración promedio de 13 a 15 días en los diferentes cultivos evaluados desde la fase de huevos hasta la emergencia del adulto; las hembras depositaron un promedio de 121 a 141 huevos en dependencia del cultivo sobre el que se alimentaron.

Palabras claves: L. trifolii, reproducción masiva, hospedantes

ABSTRACT

Liriomyza trifolii mass multiplication was evaluated with a starting point of 15 couples feed over tomato (Lycopersicon sculentum), potato (Solanum tuberosum), Lime bean (Phaseolus lunatus) and bean (Phaseolus vulgaris) plants. The quantity of larvae, the number of pupae formed and the emerged adults percentage was observed. The higher quantity of formed pupae was obtained with L. trifolii variant feed with bean's leaves, with a 63% and there was an 88% of emerged adults; the variant of tomato, potato and Lime bean were after. From evaluated plants, bean plants had the faster development with a 6 days average for the obtention of a convenient plant to be infected with this fly. It's biological cycle has an average duration of 13 to 15 days at different evaluated crops from the egg ration to adult emerged; females puts an average of 121 to 141 eggs depending on the crop they used for feeding.

Key words: L. trifolii, hosts, mass reproduction

INTRODUCCIÓN

Liriomyza trifolii (Burgess) es una mosca cuyas larvas se desarrollan en el mesófilo de la hoja de numerosas plantas como: papa, hortalizas, guisantes y plantas ornamentales (Vercambre, 1980; Minkemberg y col.1986) y según los últimos autores la plaga llegó a causar pérdidas considerables a los productores de flores holandeses. Cabello y col. (1995), Rodriguez- Rodriguez y col. (1995), plantearon que esta especie de minador desplazó a otras especies en 1982 cuando se introdujo en España, sobre los cultivos hortícolas y de invernaderos.

Vercambre (1980) estudió el comportamiento biológico de ***L.trifolii*** en laboratorio y observó que el apareo se produce poco después de la emergencia y que solamente un macho fertiliza todos los huevos puesto por la hembra y obtuvo un ciclo biológico de 11 a 12 días en hierba blanca y de 14 a 16 días en frijol a temperatura de 26°C a 30°C y humedad relativa del 65 al 80 %, que la actividad de los adultos es esencialmente diurna y que la hembra deposita un total de 460 huevos cuando se alimenta con miel. Villagran(1995), diferenció las distintas especies de minadores de importancia en los cultivos de invernaderos porque son muy parecidas.

Charlton y Allen (1981); Zehnder y Trumble (1983) encontraron que los machos sólo viven 2,3 días y las hembras 7,2 días.

Larew y col (1985) reprodujeron este minador manteniendo la cría de 50-75 adultos sobre planta de 2 a 4 semanas en invernadero y las infestaban durante 24 horas con 16 horas/luz y de 23°C a 30°C de temperatura.

Minkenberg y Lenteren (1986) informaron que la temperatura óptima de desarrollo para ***L.trifolli*** en crisantemo fue de 25SC y obtuvieron la mayor emergencia de pupas a 26,7SC con un 92 % de H.R. Estos autores plantearon que las larvas producían una mina retorcida cuya consistencia y forma dependían de las plantas hospederas y que al principio no tenían color y observaron que ésto ocurría a los 3 ó 4 días de la ovoposición, tornándose amarillenta entre los 6 y 7 días coincidiendo con el 2do. y 3er. instar de la larva.

En Cuba se ha observado este minador afectando cultivos de importancia económica; pero el estudio de su comportamiento biológico en condiciones de laboratorio ha sido escaso; por tal motivo nuestro trabajo tuvo como objetivo desarrollar una

técnica que nos permita obtener grandes cantidades de este insecto para realizar estudios fundamentales y lograr la reproducción de agentes biológicos a gran escala para su empleo en los programas de control integral, así como elaborar una metodología de trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se comenzó la cría a partir de hojas infestadas colectadas en áreas de campo y se mantuvieron en condiciones de laboratorio hasta la emergencia de los adultos.

Los cultivos utilizados para este experimento fueron: tomate *(Licopersicum sculentum)*, papa (*Solanum tuberosum*), haba de lima (*Phaseolus lunatus*) y frijol (*Phaseolus vulgaris*)., los que se sembraron en recipientes metálicos de 8,6 cm de diámetro y se situaron en un local a temperatura de 26$C y 83 % de H.R. con 10:14 horas luz/oscuridad, hasta obtener plantas con 4 hojas las que se trasladaron a las jaulas de infestación.

Una vez emergido los adultos fueron sexados en un microscopio estereoscopico e introducidos en las jaulas de infestación. Las plantas permanecieron durante 48 horas para su infestación y luego son trasladaron a las jaulas de cría hasta la formación de las pupas, las que se cosecharon cortando las hojas a los 6 días de infestadas o cuando se observaron las larvas amarillas, las cuales se situaron en placas de petri de 15 x 1,5 cm sobre un disco de papel de filtro humedecido.

A las 24 horas de formada las pupas se recogieron con un pincel fino y se depositaron en las cajas de salida.

Los datos se transformaron a, y para su análisis se procesaron mediante un ANAVAR simple y las medias se compararon mediante la prueba de Rango Múltiple de Duncan para el 5 % de probabilidad de error.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en la biología de este insecto para los diferentes cultivos evaluados, observándose que el cultivo de la papa difirió significativamente del resto de los cultivos y en general el ciclo biológico osciló entre 14 y 16 día, coincidiendo con Vercambre (1980) para la variante del frijol. La duración de los adultos se comportó para las hembras entre 4 y 5 y los machos de 2,7 a 3,4 días respectivamente, datos similares a los obtenidos por Charlton y Allen (1981) y Zehnder y Trumble (1983); así como diferimos de lo planteado por Vercambre (1980) con respecto a los huevos obtenidos por hembras y con Minkenberg y Lenteren (1986) en el porcentaje de pupas, mientras que en el caso de las larvas se obtuvieron resultados similares.

El período de desarrollo de la planta desde su germinación hasta el momento de su utilización para la infestación, varió de 1 a 3 semanas en dependencia del cultivo empleado en el experimento, siendo similar a lo planteado por Larew y col.(1985) y discrepando con las horas reportadas para la infestación.

Como se observa en la tabla 2 el costo por adulto obtenido fue de 0,075 pesos.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. El mejor cultivo para la reproducción masiva de ***Liriomyza trifolii*** fue el frijol, por tener el período de desarrollo más corto.
2. El ciclo biológico de ***Liriomyza trifolii*** osciló entre 14 y 16 días y el más corto fue en el frijol.

REFERENCIAS

Charlton, C.A.; Allen, W.W. The biology of ***Liriomyza trifolii*** on beans and crysanthamums. In: Proc. IFAS-IND. Cnf. Biol. Cont. ***Liriomyza*** leafminers. Ed. by D.J. Schuster, Lake Buena Vista, Florida 42-49. 1981.

Cabello, T.; M.M Tellez; R. Moreno; J, Soria; L, Justicia y F.Pascual. Situación actual de las especies de minadores de hoja en cultivos en invernaderos del S. E. de España(Díp., Agromyzidae). R. Moreno. C.I.D.H. La Mojonera(Almería), pág.57. 1995.

Larew, H.S.; Knodel-Monts,J.J.; Webb, R. E.; Warthen, J.D. ***Liriomyza trifolii*** (Burgess) (Diptera:Agromyzidae) controlon chrysanthemomby neen sedd extract applied to soil. Jour. Econ.Entomol. 78, 80-84,1985.

Minkenberg, O.P.J.M. and J.C. Lenteren. The leafminer ***Liriomyza bryoniae*** and ***L. trifolii*** (Diptera: Agromyzidae), their parasitoso and host plant. Review. Agricultural University Wageningen Papers, 50 p.1980.

Vercambre, B. Estudes realiseesa la reunion sur lamouche marichere: ***Liriomyza trifolii*** (Burgess). Revta. Agric. Sucr. Ile Maurice 59, 147-157, 1980.

Villagran, M. D eterminación morfológica de las especies de ***Liriomyza*** Mik (Díptera: Agromyzidae) que afectan a invernaderos del S.E. Español. Revta. Agric. Sucr. Ile Maurice, pag. 101. 1995.

Tabla 1. Duración de las fases del ciclo biológico de ***Liriomyza trifolii*** (Burgess) y cantidad de huevos por hembra en diferentes cultivos.

Cultivo	Huevo	Larva	Pupa	Adultos		No. huevos/hembra
				hembras	machos	
Tomate	2b	5.86b	6.32b	4.8b	3.4a	139.0b
Papa	2.48a	7.64a	6.7b	5.0a	2.0b	121.7b
Habas limas	2b	5.9b	7.26a	5.3a	2.7	135.4b
Frijol	2b	5.92	6.2b	5.1a	2.9	141.3a
C.V. %	8.2	17.4	13.5	10.2	11.3	18.1

MÉTODO DE CLASIFICACIÓN DE CRISÁLIDAS DE *Diatraea saccharalis* PARA EL USO DE LA TÉCNICA DEL INSECTO ESTÉRIL Y LA ESTERILIDAD EN LA F-1

Belkis Suárez, Orlando Cabello, Lila García y Consuelo Berenguer

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 # 514 e/ 5taB y 5taF, Playa, C. de La Habana. Cuba

RESUMEN

La Técnica del Insecto Estéril y la Esterilidad en la F-1 son métodos que han alcanzado un gran desarrollo para la lucha contra los insectos plagas, siendo un aspecto importante en todo el proceso lograr una técnica que permita clasificar las crisálidas en la edad óptima para ser sometidas a las fuentes de irradiación. Debido a que para la irradiación de las crisálidas de ***Diatraea saccharalis*** *este procedimiento se realiza con el auxilio de un microscopio-estereoscopico o por un manejo exacto de la cría nos propusimos obtener una técnica más rápida y económica. Se realizaron pruebas iniciales con crisálidas de 24 horas de formadas para determinar en que momento se producía la flotación de las mismas determinándose que el 100 % flotaban en el intervalo de 4 -6 días. Posteriormente se escogieron al azar crisálidas machos de 4-6 días y se introdujeron en la columna de agua anotando las que flotaban y así determinar el tiempo que demoran en emerger los adultos, obteniéndose que entre las 24 y 48 horas se produce la emergencia de estas, garantizándose de esta forma un método que permite clasificar las crisálidas de dos días antes de emerger, tiempo óptimo para ser sometidas a la irradiación.*

Palaabras claves: ***Diatraea saccharalis,*** **irradiación**

ABSTRACT

Sterile insect and F-1 sterility are methods that have reached a great development for pests' control, being an important aspect all over the process the obtention of a technique for classifying optimal age chrysalis to be submitted to irradiation sources. Due to Diatraea saccharalis chrysalis irradiation is made with the help of a stereoscopic-microscope or with an exact handling of the rearing we propose to obtain a faster and more economical technique. Initial tests were made with chrysalis 24 hours formed to determine when its floating occur, determining that 100% were floating in 4-6 days interval. Posteriori male chrysalis of 4-6 days were choose randomly and were introduced in water columns annotating those who floats and so determine the emergence time of adults, obtaining that between 24 and 48 hours is produce the emergency of this, guaranty in this way a method that permit us to classify the chrysalis 2 days before emerge, optimal time to be submit to irradiation.

Key words: ***Diatraea saccharalis,*** **irradiation**

INTRODUCCIÓN

El bórer de la caña de azúcar, ***Diatraea saccharalis*** (Fab)(Lepidoptera: Pyralidae) constituye la principal plaga que ataca a este cultivo en Cuba, siendo el daño que provoca importante desde el punto de vista económico, ya que las larvas practican túneles en los entrenudos reduciendo el vigor de la planta y a veces hacen que se quiebre o se muera la parte distal del tallo, provocando la muerte de las plántulas (King, 1984). Además por las perforaciones del bórer penetran microorganismos que contribuyen activamente a la descomposición de las sustancias presentes en el tallo.

Su control se realiza principalmente mediante la utilización de medios biológicos, pero actualmente en el mundo existen otros métodos de lucha, siendo unos de los más novedosos la Técnica del Insecto Estéril y La Esterilidad en la F-1 (Knipling, 1955; González, 1988). Estas técnicas necesitan de la cría de un gran número de individuos, que serán esterilizados mediante el sometimiento de las crisálidas (unas 48 horas antes de emerger los adultos) a radiaciones ionizantes (González,1989; García,1990) que permitan la trasmisión de la esterilidad a la descendencia F-1.

Actualmente la selección de las crisálidas para ser irradiadas se realiza mediante el uso del microscopio-estereoscopico o por un manejo exacto de la cría (González, 1986), pero dichos métodos resultan muy engorrosos y agotadores para el hombre porque deben trabajar con un gran número de crisálidas en crías masivas.

Con vistas a facilitar este procedimiento se analizaron las características que cambian en las crisálidas a través del tiempo, como la coloración, el tamaño y el peso. El tamaño no tiene gran valor para definir la madurez de esta fase del insecto pues su variación es mínima y el color varía pero su determinación requiere de un equipamiento no disponible actualmente. Por ello se consideró que el peso constituía una característica que podía variar con el tiempo y era relativamente fácil de medir, por lo que el objetivo del presente estudio fue su evaluación para la clasificación de las crisálidas de ***D. saccharalis***.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron crisálidas masculinas de ***Diatraea saccharalis*** obtenidas de una cría en dieta artificial que se realiza según el método de Gónzales (1988), en el laboratorio de Cría de Bórer del INISAV, a temperatura de 291°C, 855% de HR y un fotoperíodo de 14:10 horas L

Primeramente se realizaron pruebas de flotación con 15 crisálidas de 24 horas de formadas, las que se introdujeron diariamente en una columna de agua a temperatura de 22°C, a fin de determinar el momento de la flotación.

A partir de los resultados obtenidos en el ensayo anterior se evaluó el tiempo en que demoran en emerger los adultos con posterioridad a la flotación. Para ello se realizaron 6 pruebas con 10 crisálidas cada una, colocando las crisálidas que flotaban en jaulas de emergencia y anotando el momento en que emergían los adultos, así como determinando su peso en g, para lo cual se utilizó una balanza analítica y además se determinó el intervalo de confianza de los resultados obtenidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinó que las crisálidas que se sumergían en agua a las 24, 48, 72 horas de formadas se hunden, al igual que el 66.6 % de las de 96 horas (Tabla 1), mientras que el 100% de las crisálidas de 120 horas flotan, pudiendo comprobarse además de que el peso se incrementa con el tiempo de formada la crisálida, llegando a un momento máximo en coincidencia con el tiempo en que comienza a producirse el proceso de formación del adulto, disminuyendo con posterioridad considerablemente.

Este fenómeno está relacionado con las variaciones morfológicas que se producen durante el proceso de metamorfosis, ya que las estructuras del adulto se forman a partir de los cuerpos adiposos de las larvas, del azúcar de la sangre y de los músculos en una serie de procesos de transformación que se agrupan en dos fases: histólisis e histogénesis (Ross, 1968). La histólisis es un proceso de destrucción esencialmente catabólico; los leucocitos y las enzimas transforman el cuerpo adiposo de la larva, la mayor parte de los tejidos musculares, indudablemente también partes de otros tejidos y por último los mismos leucocitos , en una materia nutritiva transportable por la sangre a los tejidos en crecimiento.

La emergencia de los adultos se alcanza como máximo a las 48 horas posteriores a que las crisálidas flotan (Tabla 2) lo que corrobora que el método de flotación permite conocer la edad óptima de las mismas para someterlas a la irradiación, ya que según (Domínguez, 1990) esto debe realizarse dos días antes de la emergencia de los adultos , momento en que tienen la madurez necesaria para ser sensibles a este elemento, en correspondencia con los requerimientos dados por (Li, 1987) para alcanzar la esterilidad de la descendencia en la F-1.

Evaluaciones realizadas con crisálidas no irradiadas permitieron comprobar que el proceso de inmersión en agua no daña somática ni corporalmente esta fase del insecto.

Se determinó un intervalo de confianza para la emergencia de los adultos a partir de las crisálidas que flotan de (1.53 ; 1.78) para un 95 % de confiabilidad.

Estos resultados permitirán una reducción del costo de producción por concepto de salario, ya que con menor mano de obra en un menor tiempo se logrará separar un número

Tabla 1. Relación entre el peso y la flotación de crisálidas de *D. saccharalis* de diferentes edades introducidas en una columna de agua

Crisálidas	I Día Peso-Respuesta	II Día Peso-Respuesta	III Día Peso-Respuesta	IV Día Peso-Respuesta
1	0.133 - H	0.146 - H	0.148 - H	0.124 - F
2	0.087 - H	0.103 - H	0.135 - H	0.083 - F
3	0.077 - H	0.092 - H	0.123 - H	0.007 - F
4	0.137 - H	0.150 - H	0.127 - F	Emergió
5	0.084 - H	0.100 - H	0.134 - H	0.083 - F
6	0.095 - H	0.106 - H	0.087 - F	0.082 - F
7	0.140 - H	0.155 - H	0.158 - H	0.134 - F
8	0.090 - H	0.105 - H	0.085 - F	0.075 - F
9	0.109 - H	0.117 - H	0.118 - H	0.096 - F
10	0.143 - H	0.152 - H	0.153 - H	0.121 - F
11	0.103 - H	0.116 - H	0.100 - F	Emergió
12	0.106 - H	0.120 - H	0.124 - H	0.100 - F
13	0.086 - H	0.100 - H	0.083 - F	0.075 - F
14	0.114 - H	0.120 - H	0.127 - H	0.105 - F
15	0.080 - H	0.096 - H	0.098 - H	0.079 - F

mayor de crisálidas sin la utilización del microscopio, eliminando de esta forma lo engorroso del método actualmente utilizado en una cría masiva. Es decir, para detectar la madurez necesaria en una crisálida para ser irradiada actualmente se hace por medio del microscopio-estereoscopico, lo cual por concepto de tiempo demora 1/2 minuto por crisálida; entonces, para 1000 crisálidas serían aproximadamente una jornada laboral de 8 horas con el consiguiente desgaste físico y con este método se lograría separar estas 1000 crisálidas como máximo en una hora.

Por concepto de salario se ahorra diariamente 9.66 pesos, lo que se traduce a que en un mes se ahorren 231.84 pesos.

CONCLUSIONES

Las crisálidas que floten al ser introducidas en una columna de agua son aquellas de 5 ó más días de formadas; están en la etapa de menos dos días de emergencia como adulto y en condiciones óptimas para ser irradiadas y posteriormente ser liberadas en el campo sin ningún tipo de afectación biológica.

Tabla 2. Tiempo que demoran en emerger las crisálidas después que flotan en la columna de agua

Montajes	Total de crisálidas emergidas por día	
	I Día	II Día
1	2	8
2	2	8
3	2	8
4	2	8
5	6	3
6	6	4
Intervalo de confianza (1.53;1.78)		

REFERENCIAS

King, A.B.S y J. L. Sounders, 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. London: Overseas Development Administration (ODA).182pp.

González J.R. Inducción de esterilidad en las poblaciones de insectos mediante la aplicación de las radiaciones gamma.Boletín Reseñas Serie Prot. Plantas CIDA 30 pp.

González J. R, García J. C.1988. Evaluación de la competitividad de los adultos machos irradiados con dosis sub-esterilizantes. Informe de etapa concluida No 531- 55-65. INISAV 11. p.

González J. R, García. J. C. 1988. Desarrollo de la técnica para la cría masiva de *Diatraea saccharalis* . Informe de etapa concluida No 531-55-01. INISAV 10 pp.

González J. R, García J. C.1986. Desarrollo de *Diatraea saccharalis* en tres dietas artificiales. Ciencia y Técnica Agric. Cañera 6(3) 23-32.

González J. R, García J.C.1989. Determinación de las dosis de radiación gamma que producen esterilidad total o parcial en adultos de *Diatraea saccharalis*. Informe de etapa concluida No.531-55-04. INISAV 32 pp.

García J. C, González J .R. Esterilidad en la F1 de *Diatraea saccharalis* (Fab). Lepidóptera: Cambridae: I Efectos de las dosis subesterilizantes sobre la reproducción de la competitividad.

González,J.R, García, J. C., Emilia de Céspedes. (1987). Una nueva dieta artificial para la cría de *Diatraea saccharalis*(Fab). C. Téc. Agric. Cañera. 7(3):1-6.

Li,Y.Y., H.Q. Zhang, H.Z. Lou, C.D. Chao. (1988). The Inherity Sterility of the Corn borer . Modern Insect Control: Nuclear Techniques and Biotecnology(Proc. Panel Viena, 1987), IAEA, 403-411.

Knipling E. F. 1955. Possibilities of insect control or erradication through the use of sexually sterile males. J. Econ. Entomol. 484. 459-462.

Domínguez, Julio. 1990. Métodos de Cría masiva de *Anastrepha ludens*. Informe de etapa. Planta MOSCAFRUT

Ross, Herbert H.1968. Introducción a la entomología general y aplicada. Ediciones Omega, S.A. 154-155.

ESTUDIO DE DIFERENTES ALIMENTOS Y TIEMPO DE EXPLOTACIÓN DE LAS CAJAS PARA EL DESARROLLO DE LA LARVA DE *Corcyra cephalonica* Stainton

Maida Mollineda y Yolanda Martínez

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 # 514 e/ 5taB y 5taF, Playa, C. de La Habana. Cuba

RESUMEN

*Se evaluaron 7 tipos de alimentos para el desarrollo en laboratorio de la larva de **Corcyra cephalonica** Stainton. Los alimentos evaluados fueron: harina de maíz, harina de trigo, de soya, sorgo molido, salvado de trigo, y harina de maíz mas sémola de trigo a razón de 5 kg por cajas, en la ultima variante 2.5 Kg de cada uno de los componentes. El experimento se efectúo a temperatura ambiente que fluctúo entre 28 y 31 grados celcio. Los resultados obtenidos nos indican que el mejor alimento para el desarrollo de **Corcyra cephalonica**, resultó ser harina de maíz y se obtuvo que el desarrollo pre imaginal lo realiza en 33.8 días, se colectaron 3210 adultos y 13,86 gramos de huevos por cajas. el promedio de huevos por hembra fue de 198.13. Según los resultados las cajas no deben estar en producción por un periodo mayor de 30 días.*

Palabras claves: Alimentos, *Corcyra cephalonica*, crias masivas.

ABSTRACT

An evaluation was made of 7 types of foodstuffs for laboratory breeding of Corcyra cephalonica (Stainton) larvas. The evalusted fodstuffs were: corn-meal, wheat and soyabean flour, groun sorghum, coarse wheat bra m, fine wheat bran,and corn-meal plus wheat grits, and 5 Kg were used per box, but 2.5 Kg of each of the components in the last variant. The experiment was carried out at room temperature 28-31 grados farengeis. The results ahowed that for breeding Corcyra cephalonica, the besto food is corn-meal, and that the preimaginal development is taking place in 33.8 days. There were 3210 adults and 13.86 grams of eggs collected per box. The average egg laying per female was 198.13. According to the results, the boxes should not be kept in production for more than 30 days.

Key words: Foodstuffs, *Corcyra cephalonica*, mass rearing

INTRODUCCIÓN

Los huevos de ***Corcyra cephalonica*** Stainton son utilizados en Cuba como hospedante de sustitución del entomofago ***Trichogramma*** spp. Para obtener grandes cantidades de huevos de ***C. cephalonica*** es necesario recurrir a la cría masiva de este insecto. Dentro de los factores que mas influyen en estos resultados, es el alimento el mas importante (Torre, 1971-1993; Torre y días,1972; Amaya, 1993; Fuentes, 1994).

Breniere (1965), obtuvo que con una mezcla de maíz y maní en la proporción de dos partes de sémola de maíz y una parte de maíz mondado y triturado, el desarrollo de ***Corcyra cephalonica*** fue satisfactorio, obteniéndose 0.035 y 0.047 mg de huevos por hembra.

En estudios realizados por Torre y Díaz (1971a), con distintos alimentos, para el desarrollo de ***Corcyra cephalonica***, obtuvieron, que la duración del ciclo es mucho mas limitado cuando se criaban con harina de trigo o arroz que cuando lo hacían en sémola de trigo o en harina de maíz, siendo este ultimo el mejor de los cuatro tipos de alimentos estudiados.

Tambien, Torre (1975), después de un estudio con varios alimentos, llego a la conclusión que para un mejor desarrollo del insecto en el laboratorio se debía usar polvo de arroz sin ningún contenido de cascara y en su defecto harina de maíz. Estos mismos resultados los obtuvo Mollineda (1981).

El objetivo de este trabajo fue conocer la posible utilización de distintos alimentos en la cría de las larvas de ***Corcyra cephalonica***, y, conocer el tiempo optimo de explotación de las cajas en producción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la cría de la larva se aplico la metodología establecida en el manual metodolcgico del Dpto. de Lucha Biológica (Torre y Mollineda, 1982).

Los alimentos ensayados fueron los siguientes:

1. *Harina de maíz*
2. *Harina de soya*
3. *Sorgo molido*
4. *Harina de trigo*
5. *Salvado de trigo*
6. *Afrechillo de trigo*
7. *Harina de maíz más sémola de trigo.*

Cada fuente alimentaria se replicó 5 veces.

Para obtener los resultados se realizaron las siguientes evaluaciones biológicas.

- *Total de adultos.*
- *Gramos de huevos obtenidos.*
- *Promedio de huevos por hembra.*
- *Total de días para el desarrollo.*

Los tres primeros parámetros fueron evaluados a los 30-40-45 días de formación de las cajas, para poder determinar el tiempo que debe permanecer las mismas en producción.

Los datos obtenidos fueron procesados por un bloque al azar, modelo bifactorial. El primer factor (alimentos)y cada variante con tres niveles (días óptimos para la explotación de las cajas, 30-40-45 días) que constituyen el segundo factor.

Para procesar los datos de los días necesarios para el desarrollo larval se utilizó un bloque al azar sencillo con todos los alimentos replicados 5 veces.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se refleja la duración en días de los estados preimaginales de la cría de ***Corcyra cephalonica***, para completar su desarrollo desde las formación de las cajas hasta la primera eversión de los adultos, no arrojo diferencia significativa entre las variantes harina de maíz mas sémola de trigo, sorgo molido, Afrechillo de trigo y harina de trigo, tampoco entre harina de maíz, harina de soya y salvado de trigo, pero si difieren entre dos grupos, obteniéndose los mejores resultados con harina de maíz mas sémola de trigo, harina de soya y harina de maíz con 30.6-33.5-33.8 días respectivamente.

Tabla 1. Días necesarios para el desarrollo larval de ***Corcyra cephalonica*** Stainton en las variantes de estudio

Variantes	Medias en días	Clasif. %
7. Afrechillo de trigo	42.6	a
3. Sorgo molido	41.6	a
6. Salvado de trigo	41.2	a
4. Harina de trigo	41.0	a
1. Harina de maíz	33.8	b
2. Harina de soya	33.5	b
5. Harina de maíz + sémola	30.6	b
		E.T.=1.8
		C.V.=13.16

Estos resultados coinciden con los reportados por Torre (1972), el cual plantea que el desarrollo de las etapas pre-imaginales de este insecto es de 30-33 días.

El número de adultos obtenidos en cada variante aparecen en la tabla 2, donde se puede observar que de todas las variantes estudiadas la harina de maíz ofrece el mayor numero de adultos 3210 por cajas, siguiendole con resultados aceptables la harina de maíz mas sémola de trigo con 2597 ejemplares.

Tabla 2. Número de adultos de ***Corcyra cephalonica***, obtenidos en cada variante

Primer factor (alimento)		
Variantes	Media de adultos	Clasif. 5%
1. Harina de maíz	3210	a
5. H. de maíz + S. de trigo	2597	b
4. Harina de trigo	1652	c
6. Salvado de trigo	1487	c
3. Sorgo molido	1384	c
7. Afrechillo de trigo	811	cd
8. Harina de soya	776	d
		E.T.=1.63
		C.V.=15.26

Segundo factor (días para la explotación de las cajas)		
Variantes	Medias de adultos	Clasif. 5%
3 - 45 días	3563	a
2 - 40 días	3212	a
1 - 30 días	2824	b
		E.T.=1.06
		C.V.=15.20

En el segundo factor las variantes 40 y 45 días son iguales entre si y difieren de 30 días. aunque se obtienen un mayor numero de adultos con las variantes de 40 y 45 días creemos que su diferencia con la primera variante (339 imagos) es pequeña, comparada con las posibles infestaciones de insectos indeseables, al prolongarse el tiempo de explotación de las cajas.

No hay significación estadística entre las 21 variantes estudiadas en la interacción.

La cantidad de gramos de huevos por cada variante estudiada se expone en la tabla 3. Con la harina de maíz se obtuvo mayores producciones de huevos (13.36 gramos de huevos por caja), siguiendole la harina de maíz mas sémola de trigo con 10.5 gramos, el resto de las variantes se comportaron muy por debajo de los promedios establecidos, 13.17 gramos (Mollineda, 1981).

Tabla 3. Número de gramos de huevos de ***C. Cephalonica*** Stainton obtenidos en cada variante

Primer factor (alimento)		
Variantes	Media de gramos	Clasif. 5%
1. Harina de maíz	13.36	a
5. H. de maíz + S. de trigo	10.15	b
3. Sorgo molido	4.55	c
4. Harina de trigo	3.32	cd
6. Salvado de trigo	2.65	de
7. Afrechillo de trigo	2.06	de
2. Harina de soya	1.68	e
		E.T.=0.45
		C.V.=11

Segundo factor (días para la explotación de las cajas)		
Variantes	Medias de adultos	Clasif. 5%
3 - 45 días	4.78	a
2 - 40 días	4.45	a
1 - 30 días	3.82	b
		E.T.=0.29
		C.V.=11

El segundo factor, días óptimos para la explotación de las cajas, dio como resultado que las variantes 40 y 45 días se comportan iguales y 30 días difiere de estas.

Aunque se obtiene un mayor numero de gramos de huevos con las variantes 40 y 45 días creemos que su diferencia 0.96g es muy pequeña y, si las cajas se mantienen mas de 30 días se corre el riesgo de contaminación con otros insectos no deseables.

En la interacción no hay significación estadística entre las 21 variantes estudiadas.

La tabla 4 contiene los resultados del promedio de huevos por hembra, teniéndose que la harina de maíz es la que mayor promedio de huevos por hembra obtuvo 198.13, siguiendo la harina de maíz mas sémola de trigo con 177.44.

Mollineda (1981), informo que el promedio de huevos por hembra fue de 200.8, siendo los resultados semejantes a los de este trabajo.

En cuanto al segundo factor, y la interacción no hay diferencia significativa entre las variantes estudiadas.

Tabla 4. Promedio de huevos de ***C. cephalonica*** Stainton obtenidos

Primer factor (alimento)		
Variantes	Media de gramos	Clasif. 5%
1. Harina de maíz	198.13	a
5. H. de maíz + S. de trigo	177.44	ab
3. Sorgo molido	169.32	bc
7. Afrechillo de trigo	158.75	bc
2. Harina de soya	138.91	cd
4. Harina de trigo	113.87	de
6. Salvado de trigo	108.14	e
		E.T.=8.69
		C.V.=32.61

Segundo factor (días para la explotación de las cajas)		
Variantes	Medias de adultos	Clasif. 5%
1 - 30 días	4.78	a
2 - 40 días	4.45	a
3 - 45 días	3.82	b
		E.T.=1.06
		C.V.=15.20

CONCLUSIONES

- La harina de maíz resulto ser el mejor de todos los alimentos estudiados con el cual se determino, que es necesario 33.8 días promedio para el desarrollo de los estados pre-imaginales. Se obtuvo 3210 adultos por cajas, así como 13.26 gramos de huevos y 198.13 huevos por hembra.
- Los días que las cajas deben permanecer en producción es de 30, para no correr el riesgo de contaminaciones con insectos indeseables.

RECOMENDACIONES

- Recomendamos utilizar harina de maíz mas sémola de trigo en caso de que exista un déficit de la primera y se pueda adquirir la sémola de trigo.
- Pudiéndose utilizar para estos fines la barredura de sémola de trigo que queda en los molinos que trabajan con este producto.

REFERENCIAS

Amaya, M. El Trichogramma spp. Producción, Uso y Manejo en Colombia. Buga-Valle del Cauca-Colombia. Sur América.pag. 53-56. 1993.

Breniere, J. les Trichogrammes parasites de Proceras sacchariphagus. Baj. Borer de la couna a sucre a Madagascar. II. Estude Biologique de Trichogramme australicum (Gir). Entomophsga. 10(2):99-117. 1965.

Fuentes,F. Producción y uso de Trichogramma como regulador de plagas. Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos (RAAA). Lima. Perú.78-81. 1994.

Mollineda, M. Efecto del alimento sobre el desarrollo de Corcyra cephalonica (Stainton). I Jornada Científico Técnica Sanidad Vegetal. Cienfuegos. 17 y 18 de diciembre. Tomo 5 (s.p.).1981.

Torre, S. de la y Magaly días. Estudio analítico del ciclo evolutivo bajo condiciones variadas de alimentación en Corcyra cephalonica (Stainton) con vistas a su utilización en la cría artificial de Trichogramma.Ciencias Biologicas, Serie 4, 2:16.1971.

Torre, S. de la y Magaly Díaz. Estudio complementario de la fecundidad y ciclo evolutivo de Corcyra cephalonica (Stainton) con vistas a su utilización en la cría artificial de Trichogramma. Ciencias Biológicas. Serie 4, 2:81-89.19

Torre, S. de la y Mollineda, M. Cría de Corcyra cephalonica (Stainton). Manual Metodologico. Dpto. Lucha Biológica. INISAV. MINAG. pag.48-51. 1982.

Torre, S. de la. Trichogramma. Biología. Sistemática y Aplicación. Editorial Científico-Tecnica. C. de la Habana. pag. 112-116. 1993.

I ENCUENTRO NACIONAL DE CIENCIA DE MALEZAS

Octubre 12-14 de 1999
Centro de Capacitación Azucarera (CENCA), Municipio Boyeros.

Convocado por:
Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA)
Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV)

Objetivos:
- Intercambio de resultados y experiencias de todas aquellas personas, tanto de la investigación, producción, docencia, registro y otros campos, dedicados directa o indirectamente al mejoramiento del conocimiento del manejo de las malezas o plantas indeseables en todos los cultivos, espejos de agua y otras áreas.
- Realizar un censo actualizado de todas las personas descritas en el punto anterior, presentes o no al Encuentro, que será distribuido a todos los asistentes.
- Servir de embrión de la futura Sociedad Cubana de Ciencia de Malezas y poder establecer los vínculos con sus similares nacionales, regional y mundial.

Para mayor información contacte con:

Ing. Juan B. Fuentes Nordet
INICA
Ave. Van Troi No. 17203, Apdo. 6070,
Boyeros, CP19210, C. Habana
Fax: 666036
Tel. 579061
e-mail: osiel@inica.edu.cu

Dr. Eduardo Pérez Montesbravo
INISAV
Calle 110 No. 514 Esq. 5ta.B
Playa, C. Habana
Fax: 240535
Tel.: 222510-14 y 233907
e-mail: inisav@ceniai.inf.cu

EFECTO DE LOS PLAGUICIDAS SOBRE *Verticillium lecanii*

Berta Lina Muiño y Loreta Larrinaga

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 # 514 e/ 5taB y 5taF, Playa, C. de La Habana. Cuba

RESUMEN

*El hongo beneficioso **Verticillium lecanii** (Zimm) Viégas representa una alternativa muy importante para el control de plagas, como la mosca blanca (Bemisia tabaci) en los cultivos de frijol, tomate y otras hortalizas, por lo que se incluye actualmente en los sistemas de manejo integrado. Por tal motivo se comprobó en condiciones "in vitro", el efecto de un total de 7 fungicidas, 3 insecticidas y 5 herbicidas químicos sobre el agente biológico. Los plaguicidas benomyl, difenoconazol, dimetoato y propacloro son tóxicos a **V. lecanii**. Zineb, mancozeb y tiram son catalogados como moderadamente tóxicos. Metalaxyl, metamidofos, trifluralin, metribuzin, napropamida y oxicloruro de cobre se consideran ligeramente tóxicos, y endosulfan y difenamida son inofensivos.*

Palabras Claves: Plaguicidas, compatibilidad, Verticillium lecanii

ABSTRACT

*The beneficial fungus **Verticillium lecanii** (Zimm) Viégas represents a very important alternative in the control of insect pests, such as the whitefly (**Bemisia tabaci**) in beans, tomato and other horticultural crops, in which this fungus is included within the integrated management systems. For all this, the effect of a total amount of 7 chemical fungicides, 3 insecticides and 5 herbicides over the biological agent was tested. The pesticides benomyl, difenoconazole, dimethoate and propaclor were toxic to **V. lecanii**. Zineb, mancozeb and thiram are catalogued as moderately toxic. Metalaxyl, metamidophos, trifluralin, metribuzin, napropamide and cupper oxicloride are considered as lightly toxic, and endosulfan and diphenamide are inofensive.*

Key words: Pesticides, compatibility, Verticillium lecanii

INTRODUCCIÓN

El hongo beneficioso ***Verticillium lecanii*** (Zimm) Viégas representa una alternativa muy importante para el control de plagas como la mosca blanca (***Bemisia tabaci)*** en cultivos como frijol, tomate y otras hortalizas. En Cuba en la actualidad, se emplea ampliamente en producción, con muy buenos resultados, como un elemento más, dentro de un conjunto de medidas fitotécnicas y químicas que permiten una protección satisfactoria de estos cultivos.

A nivel mundial, desde hace algunos años, los medios biológicos ocupan cada vez más un lugar significativo en la protección fitosanitaria, lo cual permite una disminución de la incidencia de plagas en general, así como una reducción en el empleo de los medios químicos.

Debido a esto, muchos investigadores han realizado estudios sobre el posible efecto negativo que pudieran provocar los compuestos químicos sobre estos agentes biológicos. Ignoffo et al (1975) evaluaron la sensibilidad del hongo ***Nomurae rileyi*** frente a los compuestos químicos que se emplean en el cultivo de la soya. Similares estudios se han realizado también para el caso de ***Trichoderma*** sp.(Abosriwill y Clancy, 1993), para ***V. lecani*** por Delpozo, 1987; Kenneth, 1976; Thseh, 1971 y Wilding, 1972, citados por Cabrera et al (1990) y más recientemente de manera más amplia fue publicado un listado de plaguicidas y organismos beneficiosos donde se informa su compatibilidad (Jacas y Viñuela, 1993; Viñuela et al, 1993).

Por otra parte, en muchos países fundamentalmente los desarrollados, donde históricamente ha existido un empleo intensivo de los plaguicidas en la agricultura, los científicos han recurrido a la obtención de mutantes resistentes (ABD-El Moity et al, 1981) para mejorar y potenciar la efectividad en campo de estos agentes biológicos, aunque aún presenta limitaciones desde el punto de vista de su aplicación práctica.

Por tal motivo el objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de los plaguicidas que se emplean con mayor frecuencia en los cultivos de frijol y hortalizas actualmente en Cuba, sobre el hongo ***V. lecanii***.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudió el efecto de un total de 7 fungicidas, 3 insecticidas y 5 herbicidas.

Las pruebas "in vitro" se realizaron mediante el método del crecimiento radial de la colonia (6) y se utilizó el medio de agar papa dextrosa, envenenado con diferentes concentraciones en mg

i.a./l de cada plaguicida. Los ajustes de las concentraciones en el medio de cultivo se realizaron a partir de una solución madre con concentración de 2000 mg i.a./l y además se incluyó un testigo sin tratamientos. El medio preparado se vertió en placas de Petri de 9 cm de diámetro. Se prepararon 3 placas por concentración o variante. La siembra del hongo se realizó colocando un disco de agar con el inóculo a partir de una colonia del hongo con 7 días de crecida en placas. Se utilizó la cepa Y-57.

Se incubó por 7 días a temperatura de 23°C y se midió el diámetro de la colonia en centímetros para cada réplica y concentración incluyendo el testigo y se calculó el porcentaje de mortalidad por la fórmula de Abbott (1966) donde:

$$\% \text{ mortalidad} = \frac{D.T - D.C}{D.T} \times 100$$

donde:

D.T.= Diámetro de la colonia en el testigo.

D.C.= Diámetro de la colonia en la concentración.

Por otra parte se realizó una prueba similar para cada compuesto en estudio, pero mediante la siembra del hongo por estrías. La incubación se hizo de la manera descrita anteriormente y se evaluó cualitativamente el crecimiento del microorganismo mediante la siguiente escala:

+++ crecimiento intenso

++ crecimiento normal

+- colonias contables

- no crecimiento

Los plaguicidas se clasificaron en cuanto a su toxicidad, con los valores obtenidos, teniendo en cuenta la escala de clasificación de plaguicidas establecida por la OILB (Jacas,1993; Viñuela et al, 1993).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los ensayos mediante siembra de discos de inóculo (Tabla 1) podemos observar que el grupo de los fungicidas es el que mayores valores de mortalidad provocan en la concentración de 1000 mg i.a./l, la cual es similar a las dosis recomendadas en campo, incluso para algunos de ellos como el benomyl y difenoconazol provocan el 100% de reducción de mortalidad muy por debajo de 50 mg i.a./l. Estos son los compuestos que mayor toxicidad ejercen sobre *V. lecanii,* los cuales se catalogan como tóxicos. Estos fungicidas pertenecen a dos grupos (benzimidazoles y triazoles) que tienen un amplio espectro y una actividad biológica "in vitro" muy alta. Los resultados obtenidos en este trabajo son similares a los obtenidos por otros autores (Jacas y Viñuela, 1993).

Por otra parte los fungicidas ditiocarbamatos estudiados (zineb y mancozeb) y el tiram provocaron una reducción entre 65.2 y 71.0%, por lo que son moderadamente tóxicos a este hongo beneficioso. Keneth (1974), citado por Cabrera et al, (1990) informó al zineb y mancozeb como moderadamente tóxicos. Para el caso del metalaxyl a concentraciones muy elevadas provocó un 53.7% de mortalidad por lo tanto se considera ligeramente tóxico. La acción de este fungicida es específica para hongos **Oomycetes.** Comportamiento similar tuvo el oxicloruro de cobre.

Respecto a los insecticidas estudiados, el dimetoato resultó tóxico sobre el hongo, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Viñuela et al en 1993 (10).

Los herbicidas estudiados, en general, no provocaron altos porcentajes de mortalidad hongo, son ligeramente tóxicos e inofensivos con la excepción del propacloro que se cataloga como tóxico.

En los ensayos realizados mediante siembra por estrías (Tabla 2) los resultados se comportaron de una manera muy similar a los anteriores, es decir, se define claramente los plaguicidas inofensivos al hongo y aquellos que provocan toxicidad en mayor o menor grado.

Por otra parte, en estudios de compatibilidad realizados anteriormente por Cabrera et al (1990) se informaron los plaguicidas metamidofos, deltametrina y oxicloruro de cobre como compatibles con *V. lecanii,* sin embargo, zineb, metiram, mancozeb, dimetoato, carbaril, metil- paratión, malatión y cypermetrina son no compatibles "in vitro". En este caso, las dosis empleadas fueron las de campo, con una exposición total del hongo al plaguicida, cuestión que no ocurre en las condiciones de campo donde la cantidad de ingrediente activo que llega al hongo es mucho menor que la concentración inicial del caldo preparado. Por tanto, en la práctica pueden ser aplicados sin que afecte el hongo, siempre y cuando se cumpla con los intervalos y secuencia de tratamientos recomendados.

Desde el punto de vista de la aplicación práctica de este resultado, el fungicida más tóxico es el difenoconazol, por lo que deben establecerse las debidas precauciones respecto al momento de los tratamientos del compuesto químico y el agente biológico, puesto que ambos productos se aplican foliarmente. Con relación a los fungicidas ditiocarbamatos y el dimetoato ocurre de forma similar. Para el caso de los herbicidas, a pesar de que el propacloro es tóxico sobre *V. lecanii,* su aplicación es al suelo, por tanto no coincide con la forma recomendada para el agente biológico por lo tanto no debe ejercer ningún efecto negativo en condiciones de campo. Es muy importante no realizar mezclas en el momento de la aplicación con ninguno de los plaguicidas y el hongo, de acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo.

CONCLUSIONES

- Los plaguicidas benomyl, difenoconazol, dimetoato y propacloro son tóxicos para *V. lecanii*
- Los plaguicidas zineb, mancozeb y tiram se catalogan como moderadamente tóxicos para *V. lecanii.*
- Los plaguicidas metalaxyl, metamidofos, trifluralin, metribuzin, napropamida y oxicloruro de cobre se consideran ligeramente tóxicos sobre *V. lecanii.*

- Los plaguicidas endosulfan y difenamida son inofensivos a *V. lecanii.*

Tabla 1. Efecto de los plaguicidas sobre *V. lecanii*

Plaguicida	% de mortalidad de V. lecanii en las concentraciones		
	50 (mg i.a./l)	100 (mg i.a./l)	1000 (mg i.a./l)
benomyl	100	100	100
difenoconazol	100	100	100
zineb	36.8	42.1	71.0
mancozeb	47.3	65.2	65.2
tiram	68.4	68.4	71.0
metalaxyl	0	10.4	53.7
dimetoato	56.6	62.4	100
metamidofos	36.4	45.0	59.5
endosulfan	10.5	7.8	15.7
propacloro	28.9	57.8	100
trifluralin	15.7	15.7	31.5
metribuzin	18.9	21.0	50
difenamida	0	0	0
napropamida	10.4	42.1	65.3
oxicloruro de cobre	52.0	56.6	64.4

Tabla 2. Efecto de los plaguicidas sobre *V. lecanii*

Plaguicida	% de mortalidad de V. lecanii en las concentraciones		
	50 (mg i.a./l)	100 (mg i.a./l)	1000 (mg i.a./l)
benomyl	-	-	-
difenoconazol	-	-	-
zineb	+	+-	-
mancozeb	+-	-	-
tiram	+	+-	+-
metalaxyl	+++	+++	+
dimetoato	+++	+	-
metamidofos	+	+	+
endosulfan	+++	+++	+++
propacloro	+++	+	-
trifluralin	+++	+++	+++
metribuzin	+++	+++	+
difenamida	+++	+++	+++
napropamida	+++	+++	+
oxicloruro de cobre	+	+	+

+++ crecimiento intenso *+ colonias contables*

++ crecimiento normal *- no crecimiento*

Tabla 3. Clasificación de los plaguicidas de acuerdo a su toxicidad "in vitro" sobre *V. lecanii*.

Plaguicida	Categoría
benomyl	4 tóxico
difenoconazol	4 tóxico
zineb	3 moderadamente tóxico
mancozeb	3 moderadamente tóxico
tiram	3 moderadamente tóxico
metalaxyl	2 ligeramente tóxico
dimetoato	4 tóxico
metamidofos	2 ligeramente tóxico
endosulfan	1 inofensivo
propacloro	4 tóxico
trifluralin	2 ligeramente tóxico
metribuzin	2 ligeramente tóxico
difenamida	1 inofensivo
napropamida	2 ligeramente tóxico
oxicloruro de cobre	2 ligeramente tóxico

REFERENCIAS

Abd- El Moity T.H., G.C. Papavizas and M.N., Shaltha. Induction of new isolates of ***Trichoderma harzianum*** tolerant to fungicides and their experimental use for control of white rot of onion, Phytopathology 72:396-400, 1981.

Abbot. Las bases para ensayos fitosanitarios. BAYER. 16 (30). Alemania, 1966.

Abosriwill S.O., K.J. Clancy. Fungicide sensitivity of ***Trichoderma*** spp. Abs 6th International Congress of Plant Pathology pp. 295. Canadá, 1993.

Cabrera, Tania; Orietta Fdez-Larrea y Magaly Fraga. Compatibilidad de ***Verticillium lecanii*** con productos agroquímicos de uso fitosanitario. Informe interno. INISAV, 1990.

Davidse L.C. Benzimidazole compounds: selectivity and resistance. In Fungicide Resistance in Crop Protection. Eds. J. Dekker and S.E. Georgopoulos pp. 60-71,1982.

FAO. Boletin Fitosanitario. 30(2): 51-57, 1982.

Georgopoulos S.G. Genetical and biochemical background of fungicide resistance in crop protection. Eds. J. Dekker and S.G. Georgopoulos, pp 46-52, 1982.

Ignoffo C.M. , D.L. Hostetter, C. García and R.E. Pinell. Sensitivity of the entomopathogenic fungus ***Nomuraea rileyi*** to chemical pesticides used on soybeans. Environmental entomology. 4 (5):765-768, 1975.

Jacas J.A. y E. Viñuela. Los efectos de los plaguicidas sobre los organismos beneficiosos en la Agricultura. II Fungicidas. Phytoma. España. N$ 48 Abr, 1993.

Viñuela E, J.A. Jacas, V. Marco, A. Adrón, F. Badía. Los efectos de los plaguicidas sobre los organismos beneficioso en la Agricultura y el Grupo de Trabajo de la OILB. "Plaguicidas y organismos beneficiosos" I. Insecticidas y Acaricidas. Phytoma. España. N$ 45, 1993.

Lyr H. Modern Selective Fungicide. Ed. H. Lyr. 2nd Edition, 595 pp, 1995.

COLECCIÓN Y SELECCIÓN DE MICROORGANISMOS PROMISORIOS PARA EL BIOCONTROL DE LA MALEZA *Rottboellia cochinchinensis* (Lour) Clayton

Tania Bonilla[1], E. Pérez[1], María O. López[1], Julio Mena[2] y Kendra Rodríguez[2]

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 # 514 e/ 5taB y 5taF, Playa, C. de La Habana. Cuba
2. Instituto de Ecología y Sistemática. Carretera Capdevila Finca "La Chata", Boyeros, C. de La Habana. Cuba

RESUMEN

Se efectuaron 17 colectas de la maleza ***Rottboellia cochinchinesis*** *en las provincias de Ciudad de la Habana, Habana, Cienfuegos, Pinar del Río y Holguín. Los síntomas presentes en las muestras, fueron sembrados en placas de agar-agua y en tubos con papa-dextrosa-agar, realizando posteriormente los cultivos monospóricos de los hongos obtenidos. Con el objetivo de determinar la patogenicidad de estos aislados sobre la maleza, se realizaron pruebas en cortes de hojas y plántulas; seleccionando los cepas más patogénicas mediante una escala de seis grados. De los aislados obtenidos, se reportaron 13 nuevos registros para* ***R. cochinchinensis*** *en Cuba. Se observó, además, diferencias en cuanto a la patogenicidad de cepas de iguales especies, pero de diferentes localidades, sobre la maleza. Algunas de las especies evaluadas solo mostraron síntomas en cortes de hojas y otras como* ***Bipolaris hawaiiensis, Curvularia lunata*** *var.* ***aeria, Exserohilum rostratum*** *y* ***Curvularia verruculosa,*** *no mostraron patogenicidad en ninguna de las pruebas realizadas. Los hongos* ***Bipolaris seicola, Bipolaris*** *sp.,* ***Alternaria alternata*** *y* ***C. comoriensis,*** *fueron seleccionados como promisorios por resultar los más patogénicos sobre esta maleza.*

Palabras clave: biocontrol, *B. seicola, Bipolaris* sp., *A. alternata, C. comoriensis, R. cochinchinensis.*

ABSTRACT

Seventeen collections of the weed ***R. cochinchinensis,*** *were made in the Havana City, Havana, Cienfuegos, Pinar del Río and Holguín provinces. The symptoms found in the samples were sown on agar-water plates and in potato-dextrose-agar. Afterwards, mono Ospore cultures of the fungi thus obtained were made. With the aim to determine the patogenicity of these isolates on the weed, tests were performed on leaf sections and seedlings selecting the most pathogenic strains by means of a six degrees scale. From the isolates obtained four were reported as new records for* ***R. cochinchinensis*** *in Cuba. Furthermore, differences were observed concerning the patogenicity of strains of species identical but from different parts of the weed. Some of the evaluated species showed symptoms on leaf sections and others such as* ***Bipolaris hawaiiensis, Curvulada lunata*** *var.* ***aerea, Exserohilum rostratum*** *and* ***C. verruculosa,*** *did not show pathogenicity in any of the test. The fungi* ***Bipolaris seicola, Bipolaris*** *sp.,* ***Alternaria alternata*** *and* ***Curvularia comoriensis,*** *were selected as promising for having been found pathogenic on this weed.*

Key Words: biocontrol, *B. seicola, Bipolaris* sp., *A. alternata, C. comoriensis, R. cochinchinensis*

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas más serios de la agricultura actual lo constituye la lucha contra malezas, por los daños que estas ocasionan sobre los cultivos agrícolas. Actualmente se le está brindando gran atención a los programas de manejo integrado, que incluye entre las alternativas de lucha, el control biológico Pérez y **et. al.** (1992). En varios países se han obtenido resultados satisfactorios en este sentido, y se han desarrollado proyectos de investigación en 86 especies de malezas, con 192 organismos nocivos introducidos y 25 especies, con 33 organismos nativos; incluyendo entre estos proyectos los desarrollados por Ellison (1992) para ***R. cochinchinensis***, mediante la utilización de hongos.

En Cuba, las posibilidades potenciales son favorables en este sentido. Según Hawkswort (1991) los hongos existen en una proporsión de 6:1 en relación con las plantas. En los diferentes cultivos agrícolas se conocen los príncipales patógenos, pero el nivel de conocimiento de los secundarios y de la micoflora acompañante es mucho menor Gunter (1986).

El objetivo de este trabajo consistió en evaluar la patogenicidad de diferentes cepas de hongos, sobre ***R. cochinchinensis***, y seleccionar las más patogénicas, con vistas a su posible utilización en el control biológico de la maleza.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colectas de la maleza

Se realizaron colectas en diferentes municipios y provincias del país, para un total de 17, muestreando las plantas de la maleza que presentaban síntomas foliares como manchas, clorosis, necrosis, etc. en las zonas de cultivos, no cultivadas y en terrenos montañosos. Entre las provincias muestreadas se

encuentran: Ciudad de la Habana, La Habana, Pinar del Río, Holguín y Cienfuegos.

Aislamiento e identificación

Las muestras colectadas fueron procesadas por los métodos convencionales; es decir cámara húmeda y siembra de las partes afectadas de la maleza en placas de agar-agua, incubándose a temperatura ambiente. Cuando se observó crecimiento del hongo en agar-agua se trasfirieron a cuñas de papa-dextrosa-agar, para facilitar su crecimiento y esporulación.

Las cámaras húmedas se examinaron al estereoscopio, tomando asépticamente conidios de diferentes hongos que esporularon sobre los síntomas, los cuales en algunos casos fueron sembrados en medio de cultivo.

Los hongos fueron identificados, primeramente hasta género siguiendo los criterios de Carmichel y **et. al.** (1980) para los géneros de ***Hyphomycetes*** y los de Sutton(1980) para los de ***Coelomycetes***. Para las determinaciones de las especies los de Booth(1971), Ellis(1971,1976), Alcorn(1983) y Sivanesan(1984,1987) después de obtener cultivos monoconidiales de cada cepa.

Pruebas de patogenicidad en cortes de hojas

Para esta prueba se inocularon los patógenos en cortes de hojas de la maleza colocadas en placas Petri con una solución de sacarosa, incubándose a la luz constante a una temperatura de 232°C, realizando evaluaciones diarias hasta la aparición de los síntomas. A partir de ese momento se tomaron las hojas dañadas, a las cuales se les realizó el mismo proceso de aislamiento antes mencionado, seleccionando las cepas para su posterior inoculación en plantúlas.

Pruebas de patogenicidad en plántulas

Los hongos seleccionados fueron inoculados sobre plántulas sanas de la maleza cuando estas presentaban de 3 a 5 hojas, asperjando 5ml. de inóculo sobre el follaje. Después de inoculadas se cubrieron con polietileno trasparente durante 24 horas, para lograr una mayor penetración del hongo.

A partir de la aparición de los primeros síntomas se evaluó la severidad de la enfermedad a través de una escala de 6 grados según Van Dike y **et. al.** (1989).

A los 15 días se reaislaron los patógenos de los síntomas obtenidos para corroborar la patogenicidad de los hongos probados, seleccionando como más patógenicos a los que presentaron daños a partir del grado 2 de la escala.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las muestras analizadas se detectaron los hongos que aparecen en la (Tabla 1), señalando 13 nuevos registros para ***R. cochinchinensis*** en Cuba, entre los que se incluyen los hongos ***Alternaria. alternata, Bipolaris bicolor, B. victoriae, B. seicola, B. sarchari, Cladosporium oxysporum, Curvularia cymbopogonis, C. lunata*** var.***aerea, C. verruculosa, Fusarium pallidoroseum, Nigrospora oryzae, N. sphaerica, Phaeoramularia fusimaculans*** y ***Pyricularia griseae*** . Se observó el predominio de los géneros ***Bipolaris*** y ***Curvularia*** en esta maleza, los cuales son frecuentes en especies gramíneas. Fernández (1973) registró para Cuba, tres hongos sobre ***R. cochinchinensis***: ***Colletotrichum graminicola***, ***Drechslera graminea*** y ***Uredo*** sp. Hasta el momento ninguna de las especies encontradas por nosotros, coinciden categoricamente con las reportadas por el autor.

En la (Tabla 2) se relacionan las especies inoculadas y el lugar donde fueron colectadas, observando diferencias en cuanto a la patogenicidad de aislados de la misma especie pero de diferentes localidades como, ***C. comoriensis*** de C. Habana y Batabanó y ***A. alternata*** de Jaruco y Banes.
A. alternata, Bipolaris seicola, Bipolaris sp. y ***C. comoriensis*** resultaron patogénicas a ***R. cochinchinensis***, tanto en cortes de hoja como en plántulas, por lo que se seleccionaron como promisorios para posteriores pruebas en microparcelas.

Algunas de las especies evaluadas solo resultaron patogénicas a la maleza en cortes de hojas y otras como ***B. hawaiiensis*** de Batabanó, ***C. lunata*** var. ***aerea*** de C. Habana, ***E. rostratum*** de Banes y Cienfuegos y ***C. verruculosa*** de C. Habana, no mostraron patogenicidad en ninguna de las pruebas realizadas.

Los estudios llevados a cabo sobre la micoflora de ***R. cochinchinensis***, no se encuentran ampliamente difundidos en el mundo, aunque en los ultimos años se han incrementado debido a la búsqueda de organismos para el control biológico de malezas, lo cual ha acelerado la ejecución de diferentes proyectos de investigación con microorganismos aislados de esta maleza.

Dentro de los géneros de hongos que se reportan en el mundo por su importancia para el control biológico de ***R. cochinchinensis*** se destaca el género ***Curvularia***. Ellison (1992) estudió varios aislados de hongos del continente americano que resultaron patogénicos a la maleza, los cuales pertenecen a este género. Por su parte Walker **et. al.** (1979) aislaron el hongo ***Curvularia cymbopogonis***, al sur de Lousiana el cual resultó patógenico a la maleza, siendo el primer registro de este hongo en los Estados Unidos. Esta especie se considera muy cercana a ***C. comoriensis***, difiriendo solamente en el número de septos en los conidios, ya que esta última especie puede presentar de tres a cinco septos, mientras que ***C. cymbopogonis*** siempre presenta cuatro.

Walker **et. al.** (1979) señalaron que existen cuatro hongos registrados en el Sureste de Africa para esta maleza y son: ***Puccinia rottboelliu***, ***Cercospora*** sp., ***Pyricularia setariae*** y ***Sphaceloteca ophiurli.*** Con respecto a este último Evans y Ellison (1992) realizaron varios experimentos en Tailandia e Inglaterra, utilizando el carbón ***S. ophiurii***, y evaluaron además, cepas de ***Fusarium moniliforme***, aislado de la maleza en Guatemala y Costa Rica.

Tabla 1. Relación de hongos detectados en ***R. cochinchinensis.***

Hongos	Parte de la planta donde se aisló
**Alternaria alternata*	hojas
**Bipolaris bicolor*	semillas
***B. hawaiiensis*	hojas
**B. sarchari*	hojas
***B. spicifera*	hojas
**B. victoriae*	hojas
B. seicola	hojas
Bipolaris sp.	hojas
**Cladosporium oxysporum*	hojas
***Curvularia affinis*	semillas
***C. comoriensis*	hojas
**C. cymbopogonis*	hojas
**C. lunata var. aeria*	hojas y semillas
***C. senegalensis*	semillas
***C. trifolii*	semillas
**C. verruculosa*	hojas
Colletotricum sp.	hojas
***Exserohilum monoceras*	hojas
***E. rostratum*	hojas
***Fusarium equiseti*	hojas
***F. lateritium*	hojas
F. pallidoroseum	hojas
Fusarium sp.	hojas
**Nigrospora oryzae*	hojas
**N. sphaerica*	hojas
***Phoma sorghina*	hojas
**Phaeoramularia fusimaculans*	hojas
Pithomyces chartarum	hojas
**Pyricularia grisea*	hojas

Leyenda:

*** Nuevo registro para el sustrato en Cuba.**

**** Nuevo registro para el sustrato en el mundo.**

Tabla 2. Resultados de las pruebas de patogenicidad de diferentes especies de hongos sobre ***R.cochinchinensis.***

Especies	Lugar donde se colectaron	Pruebas de patogenicidad	
		en corte de hojas	en plántulas
C. comoriensis	C. Habana	+	+
*C. comoriensis**	Batabanó	+	+
C. verruculosa	C. Habana	-	-
C. verruculosa	P. del Río	+	-
C. lunata var. aeria	C. Habana	-	-
*Bipolaris sp.**	Alquízar	+	+
*B. seicola**	Batabanó	+	+
B. seicola	P. del Río	+	-
B. hawaiiensis	Batabanó	-	-
B. spicifera	Banes	+	-
E. rostratum	Cienfuegos	-	-
E. rostratum	Jaruco	+	-
E. rostratum	Banes	-	-
E. monoceras	P. del Río	+	-
A. alternata	Jaruco	+	+
A. alternata	Banes	+	+

Leyenda:

+ Patogénico ++ Más patogénico - No patógenico.

CONCLUSIONES

1. En la mayoría de las colectas realizadas resultaron similares las especies de hongos identificadas, predominando los géneros ***Bipolaris*** y ***Curvularia.***
2. Se observó diferencia en cuanto a la patogenicidad entre diferentes cepas de la misma especie de diferentes localidades.
3. Las especies ***B. hawaiiensis, C. lunata* var. *aeria, E. rostratum*** y ***C.verruculosa*** no resultaron patogénicos a la maleza en ninguna de las pruebas realizadas.
4. Se seleccionaron preliminarmente los cuatro aislamientos que resultaron más patogénicos en cortes de hojas y plántulas: ***A. alternata, Bipolaris seicola, Bipolaris*** sp. y ***C. comoriensis***.

REFERENCIAS

Alcorn, J.L.1983. Generic concepts in *Drechslera, Bipolaris* and *Exserohilum.* Mycotaxon. 17: 1-86.

Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. C.M.I., Kew, Surrey, U.K. 237 pp

Carmichel, J., B. Kendrick, I.L. Conners and L. Sigler. 1980. Genera of *Hyphomycetes*. Univ. Alberta Press, Edmonton, Alberta, Canada, 386 pp.

Ellis, M.B. 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. C.M.I. Kew, Survey, U.K. 636 pp.

Ellis,M.B. 1976. More *Dematiaceous Hyphomycetes*.C.M.I., Kew, Survey, U.K.506 pp.

Ellison, C.A.1992. Mycoherbicidal control of *Rottboellia cochinchinensis*: a viable alternative. Plant Protection. 7(4): 163-65.

Evans, H. C y C. A, Ellison.1992. Control biológico de las malezas con referencia a la caminadora. Taller Regional "Manejo de la maleza caminadora". Memorias. Managua, Nicaragua.

Fernández, M. 1973. Catálogo de enfermedades de plantas cubanas. Academia de

Ciencias de Cuba. Serie Agrícola. 27: 64.

Gunter, R.W.A. 1986. Lista de hongos fitopatógenos de Cuba. (Revisada y Ampliada).

Editorial Científica Técnica: 174-75.

Hawksworth, D. L. 1991. The fungal dimension of biodiversity, magnitude, significance and conservation. Mycol. Res.95:641-55.

Pérez, E., F. La O., E. Paredes, R. García, R.Rodríguez, R. Labrada y A.Suey, 1992. Manejo Integrado de Malezas. Informe. INISAV.

Sivanesan, A. 1984. The Bitunicate *Ascomycetes* and their anamorphs. Vaduz. 701 pp.

Sivanesan, A.1987. Graminocolous species of *Bipolaris, Curvularia, Drechslera, Exserohilum* and their teleomorphs. Mycology. Pap. 158: 1-261.

Sutton, B.C. 1980. The *Coelomycetes*. Common Wealth Mycological Institute, Kew, Surrey, U.K., 696 pp.

Walker, H.L and J.C, Whih. 1979. *Curvularia cymbopogonis*: a pathogen of itchgrass in Sourthen Lousiana. Plant Disease Reporter. 63(8): 642-43.

Van Dike, G. C, M. Y, Chiang and K.J, Leonard. 1989. Evaluation of endemic foiiar fungi for biological control of johnsongrass (*Sorghum halepense*). Screening and host range test. Plant Disease Reporter. 63(8): 642-43.

EFECTO DEL BIOPREPARADO DE *Trichoderma harzianum* (Rifai) CONTRA *Pseudoperonospora cubensis* (Berk Curt) Rostow Y *Erysiphe cichoracearum* D.C EN PEPINO *(Cucumis sativus* L.)

Felipe Rodríguez, Marusia Stefanova y Ulises Gómez

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 # 514 e/ 5taB y 5taF, Playa, C. de La Habana. Cuba

RESUMEN

*Los mildius, velloso (**Pseudoperonospora cubensis Berk,& Curt)Rostow** y polvoriento (**Erysiphe cichoracearum D.C**) afectan seriamente el cultivo del pepino (**Cucumis. Sativus L.**) y en condiciones favorables pueden dañar considerablemente los rendimientos . Se comprobó el efecto del biopreparado de **Trichoderma harzianum (Rifai)** para reducir la incidencia de estas enfermedades . Con aplicaciones foliares de 20 l/ha. se logró disminuir la intensidad de las mismas en un 35 y 23,2 % respectivamente . Se observó además un efecto estimulante sobre las plantas relativo al incremento de la longitud del tallo, el fruto y su peso promedio.*

Palabras claves: *Pseudoperonospora cubensis, Erysiphe cichoracearum, Trichoderma harzianum*, biocontrol.

ABSTRACT

The mildews attack strongly the cucumber culture and under favorable conditions they can reduce considerably the crop yield. The effect of Trichoderma harzianum formulation in the reduction of both diseases was proved.With foliar applications at rate of 20 l/ha a reduction in the disease effect in the order of 35 and 23,2 % respectively was achieved. Furthermore, an stimulating effect on the plants was observed, specialy in the stem and fruit length and the average weight of these.

Key words: *Pseudoperonospora cubensis, Erysiphe cichoracearum, Trichoderma harzianum*, biocontrol

INTRODUCCIÓN

Dentro de la gran variedad de cultivos agrícolas el grupo de las hortalizas presenta el mayor número de especies entre las cuales el pepino (***Cucumis sativus L.)*** ocupa un lugar importante por el aporte de vitaminas , ácidos orgánicos asimilables , sales minerales y otros a la nutrición humana . En el país existen buenas condiciones para la producción del cultivo pero durante su desarrollo es afectado por diversas plagas y enfermedades , entre ellas el mildiú polvoriento (***Erysiphe cichoracearum D.C***) y el mildiú velloso (***Pseudoperonospora cubensis Berk, & Curt)Rostow*** que en condiciones favorables pueden dañar severamente el follaje y causar más de 50% de pérdidas en la cosecha.

Con el propósito de reducir el empleo de los fungicidas químicos para el control de los mildius en diversos cultivos se han realizado ensayos con bicarbonato de sodio (soda bicarbonada), diversos aceites y antitranspirante (Homma et al., 1981; Kamp,1985 ; Hoest et al., 1992 ; Quarles. 1994). En los últimos años las pruebas con antagonistas atrayeron la atención de los investigadores, especialmente para control del mildiú polverulento (***Sphaerotheca pannosa vcor. rosae*** en rosas (Hajlaoni et al ., 1992).

En Cuba actualmente se utilizan ampliamente los biopreparados de ***Trichoderma harzianum (Rifai)*** para el control de los hongos de suelo en tabaco, hortalizas y otros cultivos (Stefanova y Sandoval, 1995; Sandoval et al ., 1995). Con el propósito de comprobar su efecto sobre los mildius en el pepino se realizó el presente trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en el organopónico del municipio Playa. En plantas de pepino, de la variedad Hatuey, en un diseño de parcela grande (Ciba-Geigy 1981) compuesto de cinco canteros de 40 m. de largo por 1,20 m de ancho para la variante y el testigo.

Se utilizó un biopreparado líquido de ***T. harzianum*** (Cepa A-34) a la dosis de 20 l / ha con una concentración de 10^7 conidios / ml, el cual fue asperjado sobre el follaje del cultivo con una mochila manual, dotada de una boquilla cónica de 1.5 mm de diámetro.

Los tratamientos con el biopreparado comenzaron a partir de la aparición de los primeros síntomas y se repitieron con un intervalo de siete días .

La efectividad del biopreparado sobre el follaje de las plantas fue determinada a través de evaluaciones foliares en 10 plantas tomadas al azar en cada variante , mediante una escala de grado , la cual se describe a continuación.

0 _____ Plantas sanas

1 _____ de 0-10 % de afectación del área foliar

2 _____ de 11-25 % de afectación del área foliar

3 _____ de 26-35 % de afectación del área foliar

4 _____ de 36-50 % de afectación del área foliar

5 _____ Mas del 50 % de afectación del área foliar

Con los datos obtenidos de cada evaluación se calculó la intensidad de la enfermedad por medio de la fórmula de Tonwsend - Heuberger (Ciba -Geigy 1981)

El efecto estimulante del biopreparado se determinó en 10 plantas tomadas al azar, en las que se midió la longitud del tallo y tamaño del fruto así como el peso en gramo de este.

El rendimiento se determinó por el pesaje de los frutos de cada parcela en kg y luego llevado a su equivalente en t/ha .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El mildiu velludo apareció a los 24 días después de la emergencia de la plantas con una intensidad, entre la primera y la tercera evaluación, por debajo de 3.7 % en los canteros tratados a diferencia del testigo donde se registró un 10,1 %. En la cuarta y última evaluación , la cual coincidió con la etapa de fructificación y cosecha, la intensidad del ataque en las plantas testigo alcanzó un 60 % mientras que en la variante donde se aplicó el biopreparado se obtuvo un 25 %. (Fig 1).

El mildiu polvoriento apareció mas tarde casi al inicio de la fructificación y su incidencia en las parcelas tratadas resulto de un 16,8 % frente a un 40 % en las parcelas testigo.(Fig 2).

El efecto estimulante del biopreparado en el desarrollo de las plantas se expreso en el incremento de la longitud del tallo, el fruto y su peso siendo las cifras promedios relativas a la variante tratada superiores a las obtenidas en el testigo (tabla 1) lo cual se reflejo en los rendimientos que se incrementaron en 4 ton/ ha bajo la protección del bioagente.(Fig. 3)

El empleo de ***T. harzianum*** como biocontrol de hongos de suelo ha sido señalado como efectivo en diversos cultivos, incluyendo el pepino (Borda y Arbeláez, 1993). Los estudios relativos a su uso como biopreparado foliar son relativamente nuevos . En Cuba Perez y Echemendia (1994) en condiciones de campo bajo infección natural de ***Alternaria porri*** informaron un 20% de disminución del patógeno con la aplicación de ***T. harzianum*** en plantas de cebolla.

Referente a los mildius se señala que con el empleo de ***Sporotrarix flocculosa*** en rosas contra ***Sphaerotheca pannosa var. rosae*** se incrementa el rendimiento y la calidad de las flores comerciales (Hajlaoui et al., 1992).

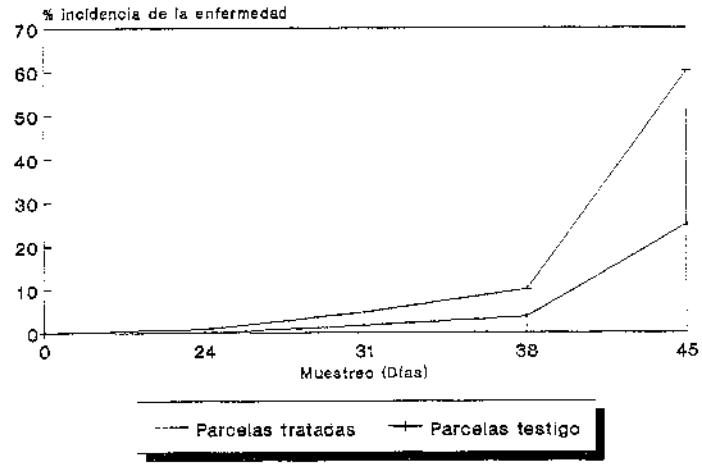

Figura 1. Efecto del biopreparado en el control de *P. cubensis* en pepino

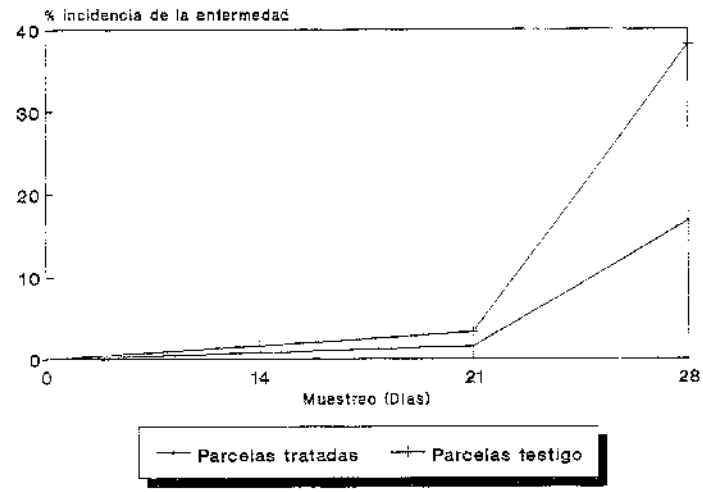

Figura 2. Efecto del biopreparado en el control de *E. cichoreacearum* en pepino

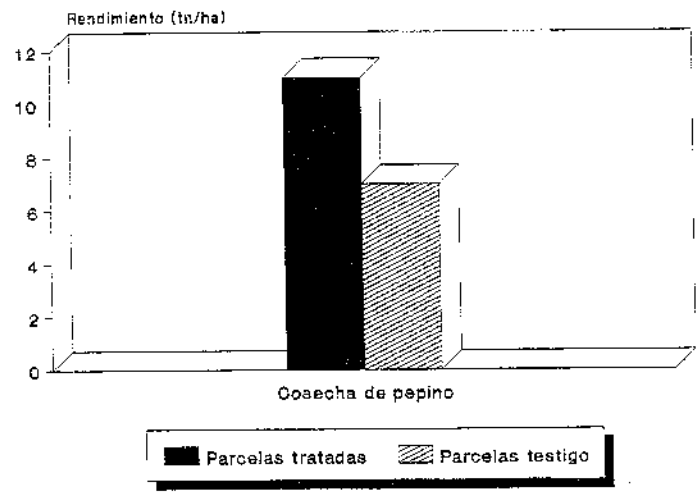

Figura 3. Efecto del biopreparado sobre el rendimiento en el cultivo del pepino

Tabla 1. Efecto estimulante del biopreparado en el desarrollo de las plantas de pepino.

Variante	Long. promedio del tallo (cm)	Long. promedio del fruto (cm)	Peso promedio del fruto (g)
Tratada	110,9	35,1	836
Testigo	96,8	27,2	708
Incremento (%)	14,5	29,04	18,07

Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran igualmente el efecto foliar de ***T. harzianum*** contra los mildius en pepino expresado en una reducción de la incidencia, del mildiu velludo en un 35 % y del mildiu polvoriento de un 23,2 % estimulando a su vez el desarrollo de las plantas.

Como una desventaja de los antagonistas foliares se señala que los mismos son efectivos solamente bajo condiciones de alta humedad relativa entre 60 -80 %. Quarles (1994) señaló como una desventaja para la aplicación de antagonistas foliares que los mismos son efectivos solamente bajo condiciones de alta humedad relativa (60-80 %), condición que existe en Cuba durante todo el año, por lo cual no constituye una limitante para su empleo y efecto.

El desarrollo actual de los organopónicos en la zona urbana demanda opciones no tóxicas para la protección de los cultivos. En ellos biopreparados de ***T. harzianum*** se utilizan para combatir los hongos fitopatógenos del suelo y por lo visto podrán encontrar un uso mayor para reducir la presencia de patógenos foliares.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La incidencia de ***P. cubensis*** y ***E. cichoracearum*** en pepino disminuye en un 35 % y un 23.2 % respectivamente con el uso de ***T. harzianum*** aplicado foliarmente a 20 l/há, el cual además tiene un efecto estimulante sobre las plantas.Por lo que se propone continuar el estudio del efecto y el mecanismo de acción del antagonista contra los mildius en pepino y a su vez extender su uso a otros cultivos contra patógenos foliares.

REFERENCIAS

Ciba-Geigy 1981 Manual de ensayos de campo Basilea, Suiza, 18 y 34 p.

Borda, F., y G. Arbeláez 1993. Determinación del antagonismo del aislamiento T-95 de ***Trichoderma harzianum*** sobre ***Fusarium oxysporum f. sp cucumerinum*** en plantas de pepino Cohombro. Agronomía Colombiana 10 (1): 45- 51.

Perez, N., y M. Echemendia. 1994. Efectividad de ***Trichoderma spp*** en el control de la mancha púrpura en cebolla. Resúmenes IX Forum de Ciencia y Técnica / II Encuentro Nacional de Bioplaguicidas, II Expo CREE . p. 25 . CID -INISAV, 25-27 de octubre . C. Habana.

Homma, G., G. Arimoto and T. Misoto. 1981. Effect of sodium bicarbonate on each growth stage of cucumber powdery mildew fungus (***Sphaerotheca fuliginea***) in its life cycle. J. Pesticide Science 6: 201- 209.

Kamp, M. 1985. Control of ***Erysiphe cichoracearum*** on ***Zinnia elegans,*** wifh a polymes- basid antitranspirant. Hort Science 20 (5) 879-881.

Horst, R.K., S.O. Kawamoto and L.L: Porter. 1992.Effect of sodium bicarbonate and oils on the control of powdery mildew and blackspot of roses. Plant Disease. 76: 247 - 251.

Quarles,W. 1994. Nou. tóxico fungicides for roses . Common Sense Pest Control 10 (3) : 15-18.

Hajlaoni, M.R., N. Benhamou and R.R. Belanger. 1992 . Cytochemical study of he antagonista activity of ***Sporothrix flocculoosa*** on rose powdery mildew, ***Sphaerotheca pannosa var.rosae.*** Phytopathology 82: 583-589.

Sandoval,I., M. López., D. García e I. Mendoza 1995. ***Trichoderma harzianum*** (Cepa A-34): Un biopreparado de amplio empleo para micopatología en tomate y pimiento. Boletín Técnico No. 3 CID-INISAV. 38p.

Stefanova, M, I. Sandoval. 1995. Efectividad de bioprepardos de ***Trichoderma spp.*** en el control de hongos fitopatógenos de suelo Boletín Técnico No 2, CID- INISAV 20p.

NUEVOS PROCEDIMIENTOS Y ESTRATEGIAS PARA EL ESTABLECIMIENTO DEL PRECIO DE LOS MEDIOS BIOLÓGICOS

Anail Camarero, Miriam Sánchez y Tania Pérez

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 # 514 e/ 5taB y 5taF, Playa, C. de La Habana. Cuba

RESUMEN

Las cuestiones relativas al precio son de las que más interés han despertado en la literatura económica. El precio como conjunto de esfuerzos y sacrificios que un consumidor debe realizar para la obtención de un determinado nivel de utilidad, desempeña un papel muy importante en la decisión de compra del mismo, además de llegar a ser una clave para el éxito o fracaso de la organización económica. El presente trabajo tiene como objetivos el diagnóstico de la situación actual de los precios de los Bioplaguicidas, el esclarecimiento de los factores internos que influyen en la toma de decisiones sobre precios y la puesta en práctica de procedimientos para perfeccionar los mismos. El diagnóstico realizado demuestra que los precios oficiales establecidos para los Bioplaguicidas son extremadamente bajos y están por debajo de los costos de producción, lo que conlleva a irrentabilidades e incluso supervivencia o costeabilidad de los Centros Reproductores de Entomófagos y Entomopatógenos (CREE). Para las producciones sólidas de hongos, el precio establecido es 1.80 $/Kg y las líquidas 1.50 $/L; el Bacillus thuringiensis tiene un precio de 1.00 $/L. Por ello la totalidad de los CREE están aplicando políticas de precios desiguales y no actualizadas que oscilan entre 3.50 $ y 17.00 $ el Kg de hongos y entre 1.50 $ - 5.00 $ el litro de B. thuringiensis, lo cual conlleva a la disminución de la demanda de medios biológicos, además de violaciones de índole legal al estar más del 50 % de ellos vinculados a los resultados productivos y tener el precio una influencia clara sobre los beneficioS. Por otra parte los resultados evidenciaron que el precio de los medios biológicos debe ser relativamente bajo pero siempre superior al precio técnico, el cual oscila en el caso de los hongos entre 3.94 - 6.97 $/Kg y en las bacterias entre 1.46 - 3.33 $/L.

Palabras claves: Precios, medios biológicos

ABSTRACT

The relative questions to the price are those that more interest has awaked in economic literature. As a set of efforts and sacrifices that a consumer must realize to obtain a definite utility level, the price plays a very important role in the buying decision of it, besides it is a key for the outcome or failure of the economic organization. The objectives of the present work are to diagnostic the current situation of biological means' prices, the clearing up of inner factors that has influence on terminal decisions about prices and bring into practice procedures to perfecting the prices. The realized diagnostic shows that biological means' official prices are extremely low and are under the production costs. This provokes unprofitabilities and even survivorship of the productive centers (CREE). For fungus solid productions the established price is 1.80 $/kg and liquid ones is 1.50 $/L; Bacillus thuringiensis has a price of 1.00 $/L. For this reason all the productive centers are applying unequal prices and non-brought up-to-date politics that oscillates between 3.50 $/kg and 17.00 $/kg (fungus) and between 1.50 $/L-5.00 $/L (Bacillus thuringiensis). This provokes a decrease of the request of biological means, besides of legal violations, since more than 50 % of those centers are tied to the productive results and the price has an evident influence on the benefits. On the other hand, the results show that the biological mean price must be relatively low but always superior to technical price that oscillates between 3.94 $/kg-6.97 $/kg for fungus and between 1.46 $/L-3.33 $/L for bacteria.

Key words: Prices, biological means

INTRODUCCIÓN

El precio desempeña un papel relevante en el proceso de decisión de compra del consumidor, lo cual justifica sobradamente la importancia de esta variable comercial en la gestión empresarial. El mismo se concibe como el conjunto de esfuerzos y sacrificios que un consumidor debe realizar como contrapartida de la obtención de un determinado nivel de utilidad (1).

Entre las razones que permiten explicar la importancia atribuida al precio pueden apuntarse las siguientes (2, 3, 4, 5):

- El precio es el único instrumento comercial que de forma directa genera ingresos sin precisar de una inversión previa.
- El precio determina directamente el nivel de volumen de ventas de una empresa, la cual no solo puede estar interesada en el hecho de que exista una demanda, sino también en la extensión de esta.
- La rentabilidad de una empresa, su capacidad para generar recursos y para competir en el mercado y en definitiva su supervivencia aparecen determinados, aunque no

exclusivamente, por los precios de los productos que comercializa.

- El precio es un instrumento competitivo sumamente poderoso.

En el campo de la producción de medios biológicos, donde ha habido un desarrollo en la generación y transferencia de nuevas tecnologías de reproducción de microorganismos, además de cambios en el contexto socioeconómico debido a la búsqueda de autofinanciamiento empresarial, se aprecia la necesidad de desarrollar estudios de precios acorde a las condiciones técnico - organizativas de los Centros de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos (CREE).

En Cuba la formación de los precios mayoristas de los Bioplaguicidas, se llevó a cabo inicialmente a partir de estimados de los costos de elaboración que estaban afectados por un subsidio estatal y una tasa de rentabilidad de acuerdo al clasificador de actividades económicas. En febrero de 1992 se propuso una reducción del precio de los productos del 35 a 50 % con respecto al vigente en aquella fecha, pero no ha existido una actualización de los mismos en base a todos los nuevos conceptos internacionalmente reconocidos en esta materia.

Actualmente existe la Resolución 118 / 92 (6), donde solo se hace referencia al procedimiento de fijar los precios de nuevos productos de producción Nacional a partir del costo más un margen de ingreso neto.

El presente trabajo tiene como objetivos el diagnóstico de la situación actual de los precios de los Bioplaguicidas, el esclarecimiento de los factores internos que influyen en la toma de decisiones de precios y la puesta en práctica de procedimientos para perfeccionar los mismos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en cinco Centros Reproductores de Entomófagos y Entomopatógenos (CREE), distribuídos en diferentes provincias del país: Cuidad de la Habana, Matanzas, Ciego de Avila y Granma.

En cada CREE se analizaron los siguientes aspectos:

- Estudio de los flujos de producción (7) en cada centro seleccionado para conocer de forma detallada cada uno de los pasos del proceso productivo, aspecto esencial para la elaboración de las cartas tecnológicas y las fichas de costos.

- Confección de las cartas tecnológicas para cada microoorganismo, para ello se emplearon técnicas de cronometraje de operaciones (8) con el fin de determinar los gastos de fuerza de trabajo según la complejidad del proceso.

- Determinación de los tamaños de lote óptimo y se utilizaron en este caso, índices de consumo normados para el gasto material de acuerdo a las tecnologías vigentes (9).

- Cálculo de las capacidades de producción y para ello se emplearon técnicas como Gráficos Gantt (10) y hojas de balance (11).

En el trabajo se realizaron observaciones, y entrevistas a profundidad (12, 13). Otras fuentes de información lo constituyeron el aprovechamiento de la documentación existente y las consultas con especialistas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

a) Diagnóstico de la situación actual de los precios de los Bioplaguicidas.

Los precios que hoy están legalmente establecidos para los medios biológicos(Tabla 1), son extremadamente bajos, sin embargo éstos se justificaban al inicio de la comercialización de los mismos (fase de introducción), ya que se consideró como objetivo principal obtener una penetración rápida y fuerte en el nuevo mercado, no obstante esto se realizó sin un conocimiento fundamentado de los costos de producción. Tal estrategia de precios de lanzamiento bajo es aconsejable cuando existe una amenaza de competencia potencial, es decir cuando el producto es fácil y rápidamente imitado, lo cual no es el caso pues nos encontramos en una situación monopolio con respecto a los medios biológicos.

Tabla 1. Precios establecidos de los Bioplaguicidas.

Microorganismos	Precio Actual	Precio Anterior
B. thuringiensis	1.00 $/L	2.07 $/L
Hongos (sólidos)	1.80 $/kg	2.87 $/kg
(líquidos)	0.75 $/L	1.20 $/L

La totalidad de los CREE están aplicando políticas de precios muy diferentes (Tabla 2). Para que los precios sean tan elevados como es el caso de 17.00 $/Kg en el caso de los hongos, se requiere en primer lugar la presencia en el mercado de un segmento sustancial de consumidores que manifiesten un interés por los productos lo suficientemente grande como para estar dispuestos a pagar por ellos ese precio alto y podemos considerar que esta no es una de las características relevantes de nuestro mercado, el cual se caracteriza por la existencia de una demanda derivada, no directa, muy difícil de potenciar e impulsar, además de que las decisiones de compras son por clientes conocedores de los productos a adquirir y en el mercado se encuentran también los productos químicos. Todo esto puede conllevar, si no hay control, a que los productos caigan en la fase de declive y se contraiga la demanda.

Con el proceso investigativo realizado se conocieron los diferentes factores que han conllevado a que estos precios fluctuen y varíen, de una provincia a otra e incluso dentro de una misma provincia. Ellos son:

- Los centros no están utilizando al máximo las capacidades de producción instaladas (Tabla 3).

Tabla 2. Precios no oficiales de los bioplaguicidas

CREE	Provincia	Precios	
		Hongos $/Kg	Bacterias $/L
7 de diciembre	Granma	10.00	5.00
Cítrico Ciego	Ciego de Avila	17.00	-
1ro. de mayo	Ciudad de La Habana	7.50	1.50
Laboratorio Matanzas	Matanzas	3.50	5.00
DAAFAR	Ciudad de La Habana	10.00	5.00

Tabla 3. Aprovechamiento de las capacidades de producción.

CREE	7 de diciembre		Cítrico	Laboratorio Matanzas		DAAFAR		1ro. de mayo	
Líneas de producción	B. t.	Hongos	Hongos	B. t.	Hongos	B. t.	Hongos	B. t.	Hongos
Producción actual, t/año	1.30	3.30	6.43	En fase de restauración		1.39	11.16	6.10	2.16
Capacidad de producción, t/año	1.56	10.58	20.35	1.53	11.90	3.05	23.95	64.88	8.12
Aprovechamiento capacidad, %	83.30	31.19	31.60	-	-	45.60	47.19	10.60	26.60

Tabla 4. Costos reales de producción

CREE	Periodo analizado	Costos reales promedios$/Kg	Pérdidas, %
7 de diciembre	1995	7.09	6.00
Cítrico Ciego	1996 - 1997	3.49	13.00
1ro. de mayo	1996 - 1997	3.89	12.00
Laboratorio Matanzas	1996	6.53	No hay control
DAAFAR	1994	6.35	15

- El tamaño de los lotes que producen no es el óptimo, trayendo como consecuencia que no se aproveche el fenómeno de economías de escalas, es decir de la reducción de los costos con el aumento de los volumenes de producción.
- La vinculación de los CREE a los resultados productivos.
- Las variaciones tecnológicas de los procesos.
- Los altos costos con que realmente obtienen las producciones, debido a contaminaciones (Tabla 4).

Producto de la gran fluctuación de los precios no oficiales se impone la necesidad del conocimiento de los factores internos que deben tenerse en cuenta para tomar decisiones de precios.

b) Factores internos para establecer los precios de los Bioplaguicidas.

Entre los factores internos que deben tomarse en consideración para determinar el precio de venta de los Bioplaguicidas se destacan los costos y dentro de estos es fundamental conocer sus componentes , así como la evolución del costo unitario según volumen de producción.

La estructura de costos planificados en los CREE, como reparto del costo total en sus componentes fijos y variables (Tabla 5), muestra que en todos los casos los costos fijos representan una proporción importante de los costos totales, por lo que estos centros se muestran muy sensibles al volumen de producción. Ello indica que se deben aplicar políticas de precios relativamente bajas pero siempre superiores al costo unitario para aumentar las cantidades a vender, ya que por cada unidad de producto que se venda por encima del punto de equilibrio los CREE ganan mucho en rentabilidad.

En segundo lugar es necesario conocer la evolución de los costos unitarios planificados con el nivel de actividad, (Tabla 6). Como se aprecia el costo unitario se reduce de forma significativa al incrementar el volumen de producción y esto indica una vez más que en los CREE deben ponerse en práctica políticas de precios relativamente bajas que faciliten la

Tabla 5. Estructura de costos planificados

CREE	7 de diciembre		Cítrico	Laboratorio Matanzas		DAAFAR		1ro. de mayo	
	B. t.	Hongos	Hongos	B. t.	Hongos	B. t.	Hongos	B. t.	Hongos
Costos fijos, %	84.51	74.16	79.27	73.86	61.22	71.79	66.99	80.21	84.52
Costos variables, %	15.49	25.83	20.73	26.13	38.78	28.28	33.01	19.79	15.48

Tabla 6. Costos planificados de producción según nivel de actividad. CREE Cítricos Ciego de Avila

Nivel de actividad	Producción actual hongos (V. I., P.I., B. b) 6.43 T/año		Capacidad producción 20.35 T/año	
Componentes	Gastos/lote $	Costo unitario $/kg	Gastos/lote $	Costo unitario $/kg
Preinóculos	1428.89	0.22	4522.22	0.22
Materiales fundamentales	587.70	0.09	1831.50	0.09
Materiales auxiliares	103.59	0.02	327.85	0.02
Otros materiales	64.30	0.01	203.50	0.01
Salario y Seguridad social	3779.41	0.58	3779.41	0.19
Amortización	964.50	0.15	1263.96	0.06
Energía eléctrica	400.09	0.06	1266.22	0.06
Control de calidad	5917.39	0.92	5917.39	0.29
Distribución y ventas	2580.00	0.40	2580.00	0.13
Mantenimiento y reparaciones	1720.00	0.27	1720.00	0.08
Gastos de adminisación	7843.20	1.22	7843.20	0.39
Total	25334.20	3.94	31339.00	1.54

expansión de la demanda y de este modo permitan aumentar la producción hasta la utilización óptima de las capacidades instaladas, aprovechando así las ventajas de la reducción del costo total unitario.

Una vez conocido los factores a tener en cuenta en la toma de decisiones de precios, se hace necesario el conocimiento de procedimientos prácticos para fijar los mismos.

c) Procedimientos para fijar los precios de los Bioplaguicidas.

Los procedimientos se clasifican en tres categorías según el factor interno o externo de la empresa en el que se ponga énfasis. Hablamos así de métodos basados en el análisis de: la competencia, demanda y costos.

Los costos señalan el límite inferior del intervalo de las alternativas de elección de que se dispone a la hora de fijar el precio de venta. De otro lado, la demanda establece el correspondiente límite superior por encima del cual los clientes dejan de solicitar los productos y las presiones competitivas, pueden reducir la amplitud de ese intervalo entre límites (14).

Como la situación competitiva del mercado de los medios biológicos es situación monopolio, es decir mercado dominado por una única empresa frente a un gran número de compradores, no tiene sentido este procedimiento pues no hay actuación de la competencia. No obstante en el mercado se encuentran de forma subsidiada los plaguicidas químicos los que pueden impedir que las producciones biológicas, en las condiciones actuales, tengan una proyección sostenible. Estos productos químicos los controla el Centro Nacional de Sanidad Vegetal (CNSV) y los biológicos los producen las distintas unidfades agropecuarias (empresas, cooperativas, etc.) pero regidos por el mismo CNSV, por lo que no se puede hablar de que existe rivalidad y competencia entre ellos.

Para aplicar procedimientos sobre la base del comportamiento de la demanda, se hace necesario conseguir informaciones que permitan evaluar la reacción previsible de los consumidores ante un cambio en el precio, es decir conocer la relación elasticidad - precio y nuestro sistema actual carece de la información necesaria, así como de investigaciones de mercados por lo que resulta difícil este tipo de procedimiento.

La decisión de selección del procedimiento va a descansar tan solo en uno de ellos: el de costos. Con el análisis de costos podemos identificar tres tipos de precios internos: precio límite o umbral, precio técnico y precio objetivo (15, 16).

El precio límite de los productos es aquel que coincide con su costo variable unitario planificado. Este establece el límite inferior absoluto por debajo del cual, en ningún caso, puede situarse el precio de venta y tan solo permite recuperar el costo variable unitario (Tabla 7).

Como se observa para el CREE 7 de Diciembre coincide el precio oficial establecido de hongos con el precio límite y para el Laboratorio de Matanzas y DAAFAR la diferencia entre ellos es insignificante para los dos microorganismos. El resto de los CREE, tanto para hongos como para bacterias, los precios legales están por encima del precio límite.

Tabla 7. Precio límite de los Bioplaguicidas

CREE	Precio límite	
	Hongos ($/Kg)	Bacteria ($/L)7
7 de Diciembre	1.80	0.27
Cítrico Ciego	0.78	-
Laboratorio de Matanzas	1.72	0.632
1ro de Mayo	0.63	0.273
DAAFAR	1.48	0.684

Este precio al no generar margen alguno para los costos fijos (componente de mayor impacto dentro de la estructura de costos totales), no puede establecerse en los CREE y por ello se busca el conocimiento del precio técnico.

El precio técnico coincide con el costo total unitario planificado y asegura la igualdad entre ingresos por ventas y costos (Tabla 8).

Tabla 8. Precio técnico de los Bioplaguicidas

CREE	Precio técnico	
	Hongos ($/Kg)	Bacteria ($/L)7
7 de Diciembre	6.97	1.76
Cítrico Ciego	3.94	-
Laboratorio de Matanzas	4.18	1.98
1ro de Mayo	4.15	1.46
DAAFAR	4.48	3.33

Se puede apreciar con estos resultados que los precios actualmente legalizados de medios biológicos están por debajo del precio técnico. De modo que si los CREE venden bajo las circunstancias legales, se pone en peligro su supervivencia pues los ingresos generados por las ventas de los productos son insuficientes para cubrir la totalidad de sus costos. Por otra parte si venden bajo este precio técnico los beneficios que obtienen son nulos y hoy en día se busca el autofinanciamiento empresarial de los centros. Por todo ello es imprescindible conocer el precio objetivo.

El precio objetivo es el que permite obtener un cierto beneficio que debe definirse en términos de una tasa de rentabilidad sobre el capital invertido.

Según resolución 118/92 la magnitud de ingresos netos por encima del costo se establece de acuerdo a la tasa de ingreso neto para la subrama en que se clasifican los productos, existiendo como dificultad que los Bioplaguicidas no están clasificados en ninguna subrama específica.

En el año 1992 se incluyó en la subrama de Química Básica Orgánica y posteriormente Sánchez y col. (17) propusieron su clasificación por la subrama de productos farmaceúticos debido a su afinidad con los procesos biotecnológicos, lo que implica una tasa de ingreso neto del 37 %. Todo esto indica la necesidad de establecer precios objetivos de acuerdo a los nuevos y dinámicos conceptos que existen.

En 1988 cuando se asume la creación de los CREE, comienzan a construirse nuevas instalaciones para reproducir los medios biológicos y a remodelar otras ya existentes. El capital que se invirtió en todo este proceso a nivel Nacional no está bien registrado, por lo que deben revalorizarse las instalaciones para profundizarse en este estudio de precios.

CONCLUSIONES

1. Los precios actuales de los Bioplaguicidas son extremadamente bajos y ponen en peligro la rentabilidad de los CREE.
2. Existe una gran fluctuación en materia de precios a nivel Nacional, debido a:

- La vinculación de los CREE a los resultados productivos.
- Las variaciones tecnológicas de los procesos.
- Los altos costos con que realmente obtienen las producciones.
- Los lotes de producción que montan no son los óptimos.
- Subutilización de las capacidades de producción.

3. Los costos fijos de las producciones biológicas representan una proporción importante de los costos totales: hongos entre 61.2- 84.5 % y bacteria 71.8 - 84.5 %, por lo que la política de precios a aplicar debe ser relativamente baja.
4. En los CREE se experimenta el fenómeno de economías de escalas lo que determina la aplicación de políticas de precios no elevadas. Actualmente no se hace un buen aprovechamiento de este fenómeno.
5. El precio umbral de los medios biológicos oscila de la siguiente manera:

Hongos 0.63 -1.80 ($/Kg)

Bacteria 0.27 - 0.684 ($/L

6. El precio técnico se comporta como sigue:

   Hongos 3.94 - 6.97 ($/Kg)

   Bacteria 1.46 - 3.33 ($/L)

7. El precio que debe establecerse en los CREE es el precio objetivo, el cual será superior al técnico y permitirá obtener un cierto beneficio.

8. Es evidente la necesidad de una modificación en el precio actual de los Bioplaguicidas.

RECOMENDACIONES

1. Ampliar los estudios que sustenten el procedimiento de fijación de los precio según comportamiento de la demanda.

2. Profundizar en el precio objetivo de los medios biológicos para poder legalizar los mismos.

3. Extender estos análisis a las Plantas de Bioplaguicidas.

REFERENCIAS

Serrano Goméz, F. Marketing para economistas de Empresas. ESIC, Madrid, 1990, 542 páginas.

Monroe, K. B. Política de precio. Mc Graw - Hill, Madrid, 1992, 550 páginas.

Lambin, Jean J. Marketing estratégico. Mc Graw Hill / Interamericana de España SA, 1991, 492 páginas.

Santesmases, M. Marketing. Conceptos y Estrategias, Madrid, 1992, 450 páginas.

Bello, L; Vázquez, R y Trespalacios, J. A. Investigación de Mercados y Estrategias de Marketing. Editorial Civitas, Madrid, 1993, 534 páginas.

Comité Estatal de Precios. Metodología para la formación de los precios mayoristas de los productos nuevos de la producción Nacional y de los precios de Empresa de los productos importados, así como establecer el proceso para las modificaciones de estos precios derivados del prefeccionamiento. Resolución 118. 1992, 47 páginas.

Marsán Castellanos, Juan y otros. Organización Científica del Trabajo. Editorial ISPJAE, 1987, Tomo I, 337 páginas.

Marsán Castellanos, Juan y otros. Organización Científica del Trabajo. Editorial ISPJAE, 1990, Tomo II, 611 páginas.

Fundora Miranda, Albertina y otros. Organización y planificación de la producción. Editorial ISPJAE, 1987, 532 páginas.

Alford, L. P. y J. R. Bongs. Manual de producción. Editorial Hispano América, México, 1965, 150 páginas.

Acevedo Suárez, José y otros. Instrucciones metodológicas para el cálculo y análisis de la capacidad de producción en las empresas industriales. Editorial ISPJAE, 196, 100 páginas.

Martín Armario, E. Marketing. Ariel Economía, Barcelona, 1993, 430 páginas.

Vázquez Casielles, R y otros. Investigación de Mercados y Estrategias de Marketing. Editorial Civitas. Madrid, 1994, 534 páginas.

Porter, M. Estrategia Competitiva. Compañía Editorial Continental, México, 1990, 530 páginas.

Cruz Roche, I. Fundamentos de Marketing. Ariel Economía, Barcelona, 1993, 380 páginas.

Kotler, Philip. Dirección de Mercadotecnia. Editorial Prentice - Hall, Madrid, 1992, Tomo I y II, 765 páginas.

Sánchez, M. y otros. Diagnóstico de la situación actual de la producción de Bioplaguicidas en Cuba. Bases económicas para su perfeccionamiento. X Forum de Ciencia y Técnica, INISAV, 1995, 25 páginas.

EFECTIVIDAD DE DIFERENTES PRODUCTOS QUÍMICOS Y DEL BIOPREPARADO DE *Trichoderma harzianum* (Rifai) CONTRA ENFERMEDADES FÚNGICAS DEL TOMATE DE HIDROPÓNICO

Felipe Rodríguez e Ileana Sandoval

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 # 514 e/ 5taB y 5taF, Playa, C. de La Habana. Cuba

RESUMEN

Para combatir las enfermedades de los semilleros y agentes fúngicos foliares se realizaron tratamientos de diferentes fungicidas y del biopreparado de ***Trichoderma harzianum*** *(cepa A 34) en el cultivo del tomate, variedad Floradel en el hidropónico "8 de marzo" de la provincia de la Habana. Se evaluó la efectividad del biopreparado en el control del damping-off por* ***Phytophthora parasítica*** **Dastur** *durante los 35 días del semillero, aplicando el producto en la cisterna y en el sustrato de roca de basalto, con registros del 10 % de incidencia en relación con un 40 % en las unidades testigos. El rendimiento de las unidades tratadas superaron en 6,5 tn/ha a las variantes sin tratamiento, por lo que se confirma una vez más los beneficios que reportan los tratamientos de este biopreparado y en el control de diferentes patógenos fúngicos del complejo damping-off del tomate. La mancha tiro al blanco causada por* **Corynespora cassiicola (Berk & Curt) Wei** *fue la enfermedad foliar de mayor frecuencia e intensidad y los mejores tratamientos de fungicidas para su control fueron, benomyl 0,2 - 0,3 kg i.a/ha y chlorothalonyl 1,25 kg i.a/há. Estos tratamientos propiciaron un aumento de los rendimientos de las cosechas en relación al estandar de producción.*

Palabras claves: ***Phytophthora parasitica, Corynespora cassiicola, Trichoderma harzianum,*** **biopreparado**

ABSTRACT

In order to fight seed bed diseases and other foliar fungi different treatments and the use of Trichoderma harzianum (strains A 34) chemical fungicides were camed out in the tomate culture var. Floradel grown in the hydroponic 8 of March, in Havana Province. It was evaluated the effectivity of the Trichoderma harzianum formulation against the damping - off caused by Phytophthora parasitica Dastur during the 35 days seed bed period. Thichoderma harzianum was applied in the irrigatión system of the culture and directly over the basalt substrate. Only 10% of the disease incidence was observed while the corresponding value in the control units was 40%. The yield in the treated units were 6,5 ton/ha higher than in the units without treatment, this confirm the benefits of the Thichoderma harzianum treatments for the control of the different pathogenic agents of the damping - off complex in the tomate crop. The stain "tiro al blanco" caused by Corynespora cassicola (Berk & Curt) Wei was the most intense and frequent foliar disease. This was effectively controled by benomyl at o rate of 0,2 - 0,3 kg/a.i/ha and chlorotalonyl al 1,25 kg a.i./ha, with these treatments and increase in the crop yield in relation to the control was achieved.

Keys Words: ***Phytophthora parasitica, Corynespora cassiicola, Trichoderma harzianum,*** **formulation.**

INTRODUCCIÓN

El cultivo de hidropónico es una técnica artificial que presenta diversas ventajas con respecto al procedimiento normal y dentro de las principales hortalizas que se cultivan se encuentra el tomate, el cual es atacado en fases tempranas de su desarrollo por un grupo de hongos habitantes del suelo causantes del *damping -off.*

Para el control de esta enfermedad ha sido utilizado con éxito el biopreparado de ***Trichoderma harzianum*** (cepa A34) en los hidropónicos de la provincia de La Habana, con reducción de la incidencia por ***Rhizoctonia solani y Pythium aphanidermatum*** hasta de un 5% en unidades tratadas a diferencia de 70% de plantas muertas en áreas sin tratamiento (Neyra, 1992).

Phytophthora parasítica ha sido igualmente registrado como uno de los patógenos causantes de esta enfermedad y últimamente se ha presentado en las unidades del hidropónico 8 de Marzo causando un gran porcentaje de plántulas muertas. Según estudios realizados de laboratorio y microparcelas, la aplicación de ***T.harzianum*** a las semillas y sustratos reduce la incidencia del mismo en plántulas de tomate (Sandoval et al, 1994), sin embargo no se conocen registros del control de este patógeno en condiciones de producción.

Dentro del grupo de hongos que afectan el área foliar se encuentra ***Corynespora cassiicola,*** el cual provoca la enfermedad mancha de tiro al blanco en el tomate. Este patógeno ataca después de la fase de semillero y principalmente en plantación, con necrosis severa en variedades susceptibles y defoliación. Daña los frutos y provoca pudriciones de los mismos (Sandoval, 1981).

Se conoce para su combate la aplicación de fungicidas, principalmente ditiocarbamatos y sistémicos, solos o en mezclas, pero siempre se requiere de más de una aplicación durante el ciclo del cultivo (Miller y Alfieri, 1974; Sánchez, 1970; Sánchez y Samaniego, 1984).

Por lo antes expuesto este trabajo tuvo como objetivo comprobar la efectividad de diferentes fungicidas para el control de *C. cassiicola*, así como extender el biocontrol del *damping-off* por ***P. parasítica*** con biopreparados de ***T. harzianum*** en el cultivo del tomate en condiciones de hidropónico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó durante el período 1992-1994 en tomate variedad Flora del cultivado sobre roca basáltica del hidropónico" 8 de Marzo" de la provincia de La Habana.

Se estudió el biocontrol por ***P. parasítica*** en las unidades afectadas por la enfermedad para lo cual se aplicó el biopreparado de ***T.harzianum*** (cepa A34) cultivado en sustrato de melaza levadura.

Este biopreparado alcanzó un título de 6 x 10^8 con/ml y se aplicó 10 litros del mismo a la cisterna 24 horas antes de la siembra . Esta se realizó de forma directa y se analizó la efectividad del tratamiento cada 7 días durante los primero 35 días de crecimiento de las plantas. Se registró la incidencia en 100 plantas de la unidad tratada y se comparó con los registros de unidades sin tratamiento. Cada unidad abarcaba un área evaluativa de 1há. En el período de cosecha se registraron los rendimientos obtenidos.

Entre las enfermedades fúngicas foliares se presentó con más frecuencia la producida por ***C.cassiicola*** para lo cual se evaluaron diferentes fungicidas en un diseño de bloque al azar con cuatro repeticiones. La parcela experimental constó de 6 canaletas de 0.32 m de ancho por 8 m de largo.

Los fungicidas evaluados fueron: benomyl (Fundazol 50%); chlorothalonil (Bravo 50% EC); mancozeb 80% PH y como estandar metiram (Policarbazin 80% PH). Las aspersiones contra C.cassiicola comenzaron cuando aparecieron los primeros síntomas en el cultivo. Se realizaron un total de 5 aplicaciones con ayuda de una mochila de mano, dotada de boquilla cónica, con un intervalo de 10 días; la solución final utilizada fue de 400-600 l/ha.

La efectividad de los tratamientos se determinó a través de evaluaciones foliares que se realizaron a los 65 , 75 , 85 y 95 días de la siembra en 20 plantas de cada parcela . Para efectuar la evaluación foliar se confeccionó una escala de siete grados la cual se describe a continuación.

0	Planta sana
0.1	Primeras manchas de la enfermedad
1	Menos del 10 % del área foliar afectada
2	Del 10 al 29 % del área foliar afectada
3	Del 30 al 49 % del área foliar afectada
4	Del 50 al 79 % del área foliar afectada
5	Más del 80 % del área foliar afectada

En todas las plantas evaluadas fue observado el follaje y determinado en cada una el porcentaje de área atacada.La intensidad de ataque de la enfermedad fue calculada por la fórmula de Tonwsend-Heuberger.

La eficiencia técnica de los tratamientos se determinó mediante la fórmula de Abbott y los rendimientos se valoraron en las 4 canaletas centrales de cada parcela, y se midieron en toneladas por hectárea

Después de obtenidos los datos del área foliar afectada y los rendimientos por variantes, fueron procesados estadísticamente mediante el test de Newman Keuls al 5% de significación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de los síntomas en los tallos se aisló el patógeno ***P.parasitica***, uno de los agentes reconocidos en este y otros cultivos como productor del damping-off de los semilleros. La efectividad proporcionada con la aplicación del biopreparado demostró un elevado porcentaje de germinación de plantas, con registros del 90% comparado con un 40% en las unidades sin tratamiento (Fig.1). La incidencia de la enfermedad se mantuvo prácticamente por debajo del 10% durante la fase más susceptible de la planta (hasta 35 días), sin embargo las unidades que no recibieron el beneficio del biopreparado alcanzaron registros hasta del 40% a partir de los 28 días después de la germinación (Fig.2). Consecuentemente, estas áreas registraron 6,5 tn menos que las unidades tratadas con ***T.harzianum*** (Fig.3).

Estos registros confirman la efectividad ofrecida por este biopreparado en extensión para el patógeno ***P.parasitica***, productor del *damping-off* en el cultivo del tomate.

Semejantes resultados fueron obtenidos durante la campaña 1992-1993 en el hidropónico "1° de Mayo" de la Habana, al aplicar el biopreparado en las cisterna, tratamiento a las semillas y posturas en el trasplante para el biocontrol de los patógenos presentes en la roca de basalto, lo que confirma la efectividad de este para el control del *damping-off* bajo estas condiciones (Sandoval *et al* , 1993).

Los registros de la incidencia de la enfermedad por ***C. cassiicola*** después de los tratamientos demuestran, según la figura 4, un progresivo desarrollo de la enfermedad en todas las variantes pero con un comportamiento diferente entre ellas. El análisis estadístico en la última evaluación demuestra que las mejores variantes fueron aquellas donde se aplicó benomyl a 0,3 y 0,2 kg i.a /há, aunque chlorothalonil a 1.25 kg i.a /há mostró efectos favorables sin diferencias significativas con respecto a las anteriores a partir de los 75 días de la evaluación.

La eficiencia técnica de los tratamientos apoyan estos resultados principalmente para benomyl a las dosis estudiadas y chlorothalonil a 1,25 kg. i.a /há.(Fig. 5). Igualmente los rendimientos en toneladas por hectáreas confirman la efectividad de los mismos (Fig. 6).

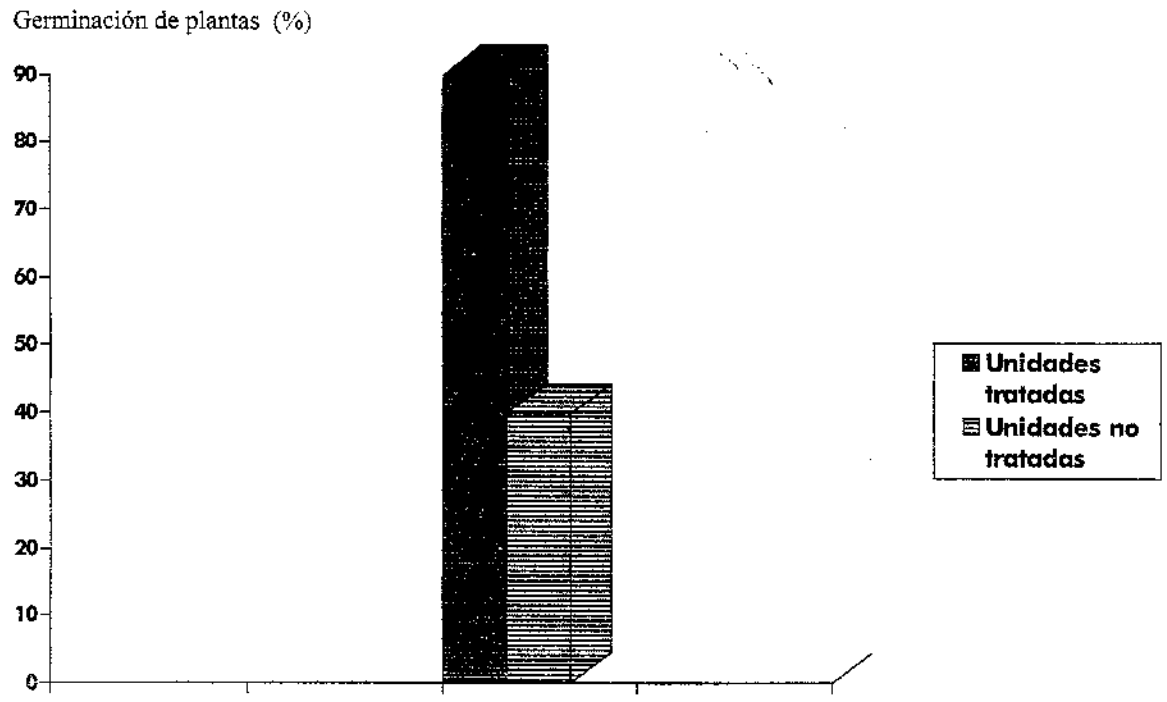

Figura 1. Efecto de los tratamientos de *T. harzianum* en la germinación de las plantas de tomate variedad Floradal

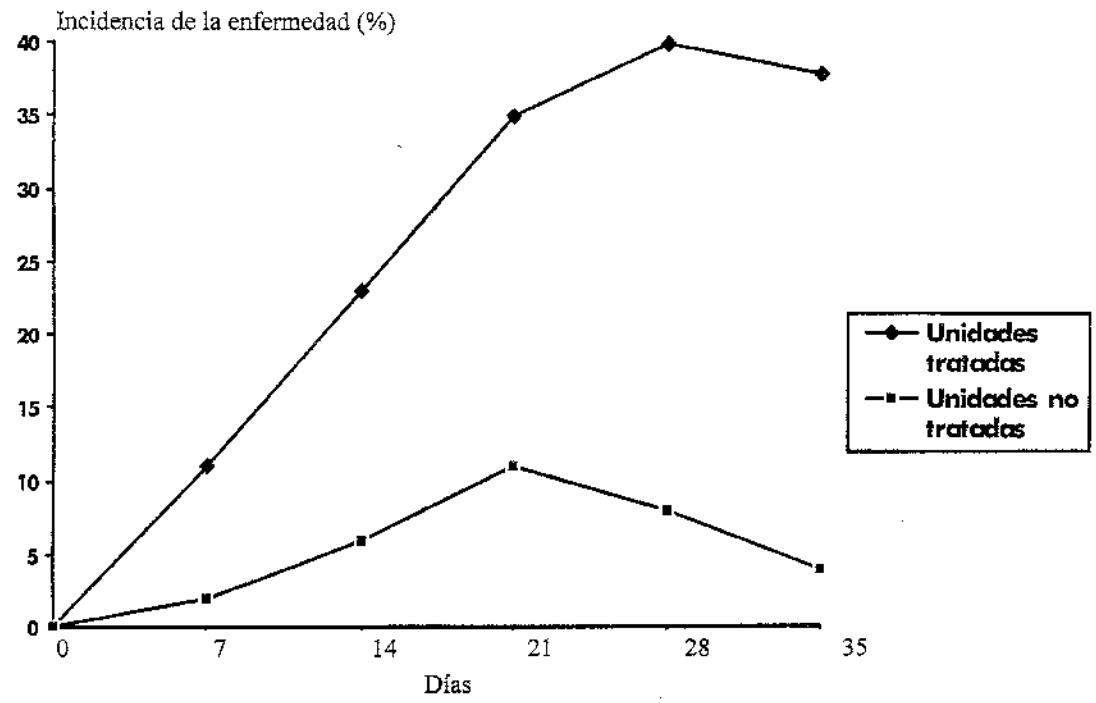

Figura 2. Biocontrol del **damping-off** por *P. parasitica* en el hidropónico con tratamientos de *T. harzianum*

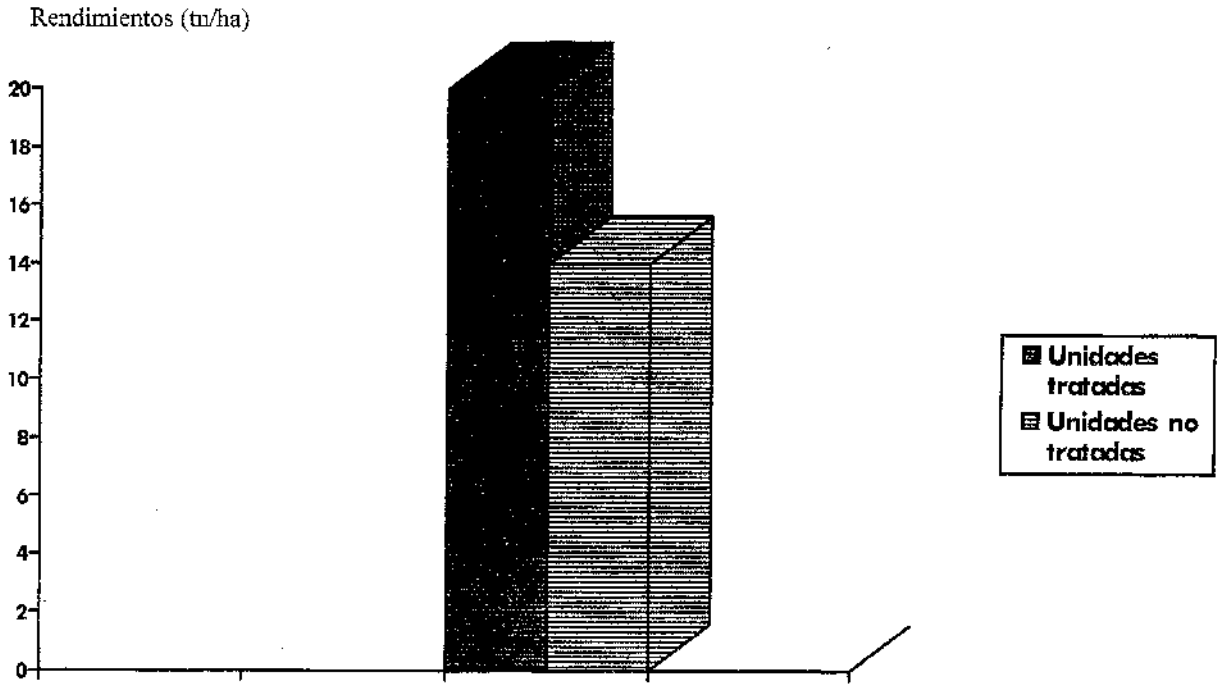

Figura 3. Rendimientos obtenidos en el hidropónico "8 de marzo" con el tratamiento de *T. harzianum* en el tomate

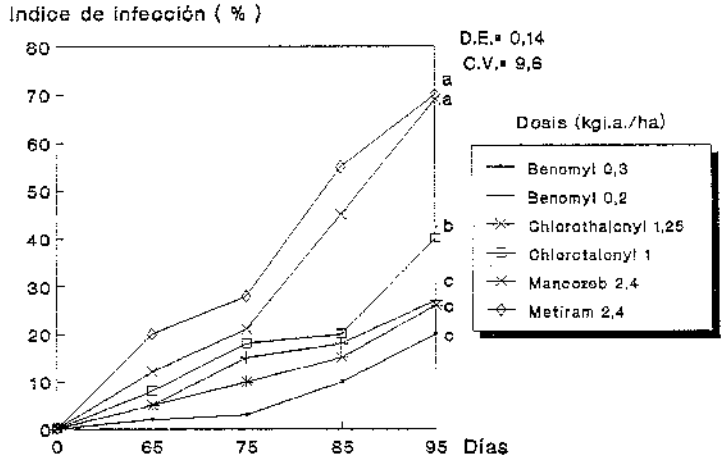

Figura 4. Efecto de los diferentes fungicidas en el control de *C. cassiicola* en el cultivo del tomate variedad Floradel

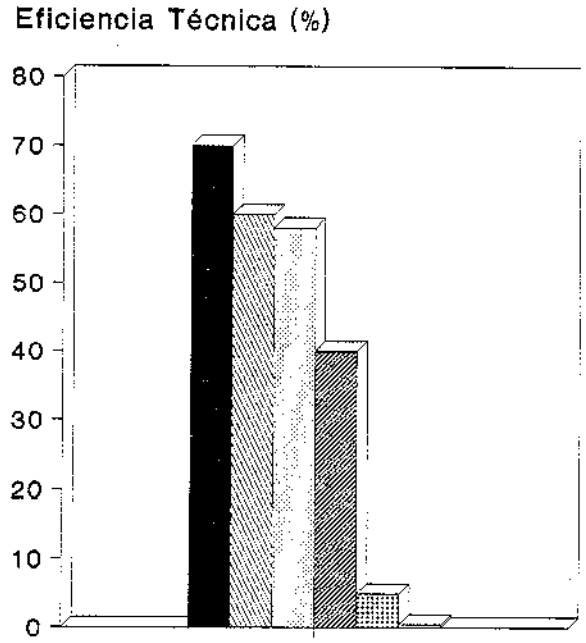

Figura 5. Eficiencia técnica de los tratamientos contra *C. cassiicola* en el cultivo del tomate variedad Floradel

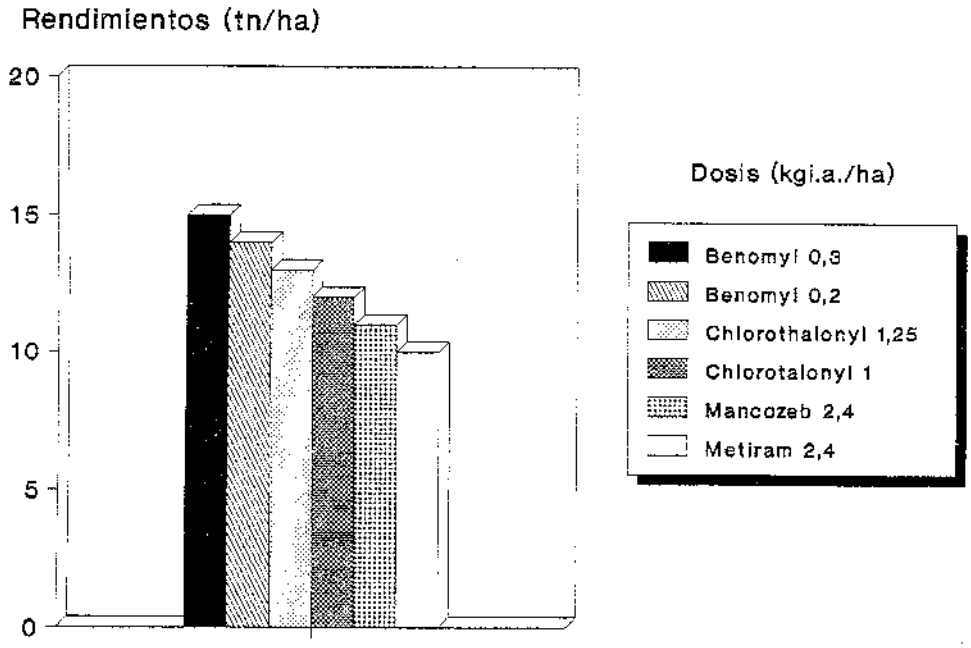

Figura 6. Rendimientos obtenidos en el tomate con los tratamientos de fungicidas contra la mancha foliar por *C. cassiicola*

El fungicida benomyl (Benlate 0,5 g/l) ha sido uno de los recomendados para el control de ***C. cassiicola*** en los cultivos que ataca (Miller y Alfieri, 1974) así, como la mezcla de chlorothalonil más zineb o maneb a razón de 1.5; 2 y 3 kg i.a /ha con cinco aplicaciones a intervalos semanales para el control de la enfermedad en el cultivo del pepino (Sánchez, 1979).

Nuestros resultados coinciden con algunas de las variantes anteriormente mencionadas, principalmente para el benomyl y chlorothalonil, aunque este último a dosis menores de las recomendadas y sin mezcla de ditiocarbamatos, mostró buena efectividad en el control de la enfermedad en el tomate.

CONCLUSIONES

Se comprobó la efectividad proporcionada por el biopreparado de ***T. harzianum*** (cepa A34) en el biocontrol del *damping-off* por ***P.parasitica*** en condiciones de hidropónico.

Los tratamientos del biopreparado aumentaron el porcentaje de germinación de las plantas con respecto a las unidades no tratadas y redujeron en un 10 % el damping-off de las posturas a diferencia de registros del 40 % obtenidos en las unidades sin protección.

Se registró un aumento de los rendimientos de 6,5 tn/há en relación con las áreas sin tratamiento con el biopreparado.

Los mejores tratamientos para el control de ***C.cassiicola*** fueron benomyl a 0,2 y 0,3 kg i.a /há así como chlorothalonil a 1,5 kg i.a /há.

RECOMENDACIONES

Realizar las aplicaciones del biopreparado de ***T. harzzianum*** (cepa A34) en los hidropónicos para el control del *damping-off* por ***P.parasitica.***

Ante la aparición de un 5-10 % de incidencia por ***C. cassiicola*** realizar aplicaciones cada 10 días de benomyl 0,2 kg. i.a /há o chlorothalonil a 1.25 kg. i.a /há.

REFERENCIAS

Miller, J.W; Alfieri, S.A. Leaf spot of ***Ligustrum sinensis*** caused by ***Corynespora cassiicola*** and its control. **Phytopathology**. 64(2): 255-256, 1974.

Sánchez, M.A. Leaf blight caused by ***Corynespora***: a new disease on cucumber (***Cucumis sativus***) in the Valle of Culiacán, Sinaloa, Mexico and its chemical control. **Plant Disease Reporter**, 63 (7): 599-601, 1979.

Sandoval, Ileana. Podredumbre del fruto y mancha foliar producidas por ***Corynespora cassiicola*** en el cultivo del tomate en Cuba. **Ciencia y Técnica. Agrícola**, Serie **Protección de Plantas**, 3(2-3):77-78, 1980.

Sandoval, Ileana; Neyra, M.; García, D.; López, M.; Mendoza, I. ***Trichoderma***: Biocontrol de hongos fitopatógenos en el cultivo del tomate en hidropónicos. Resumen VI Simposio de Botánica, Ciudad Habana, Junio de 1993.

Sandoval, Ileana; López, M.; D.; Mendoza, I.;***Trichoderma harzianum*** (cepe A-34): Un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomate y pimiento. Resumen IX Forum de Ciencia y Técnica, II Encuentro de bioplaguicidas, II Expo CREE. INISAV, p. 73-74, 1994.

Neyra, M. Evaluación técnica de ***Trichoderma sp***. en el cultivo del tomate contra damping- off bajo condiciones de producción. Informe Técnico, INISAV, 6 p. 1992.

EFECTOS ALELOPÁTICOS DE ALGUNOS ABONOS VERDES Y CULTIVOS DE COBERTURA

Ricardo C. García

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 # 514 e/ 5taB y 5taF, Playa, C. de La Habana. Cuba

RESUMEN

*Se evaluó el comportamiento alelopático de los abonos verdes frijol de terciopelo (**Stizolobium aterrimun**) (Wright) Piper, canavalia (**Canavalia ensiformis**) (L) P.D.C. y leucaena (**Leucaena leucocephala**) (L) Benth y el cultivo de cobertura boniato (**Ipomoea batatas**) (L) Lam, por medio de extractos acuosos a 10% y 4% (p/v) respectivamente y la incorporación al suelo al 10% (p/p) de los primeros sobre semillas de arroz (**Oryza sativa**) L, tomate (**Lycopersicum esculentum**) Mill, millo (**Sorghum vulgare**) Pers, lechuga (**Lactuca sativa**) Lin, marabú (**Dichrostachys cinerea**) (L) Wight & Arn y bulbos de cebolleta (**Cyperus rotundus**) L en pruebas de laboratorio. Se encontró que los abonos verdes pueden presentar efectos inhibitorios sobre arroz, tomate, millo y lechuga y los extractos acuosos de raíces y follaje de boniato afectaron la germinación de semillas de marabú y el desarrollo de bulbos de cebolleta, lo que demuestra que estos cultivos deben estudiarse antes de decidir una asociación o rotación ,para obtener mejores resultados.*

Palabras clave: alelopatía, abonos verdes, cultivos de cobertura.

ABSTRACT

Allelopathic behaviour of green manures velvet bean, (*Stizolobium aterrimun*) *(Wright) Piper, canavalia (**Canavalia enciformis**) (L) P.D.C. and leucaena (**Leucaena leucocephala**) (L) Benth and the cover crop batata (**Ipomoea batatas**) (L) Lam, were evaluated by 10% and 4% (w/v) aqueous extracts respectively and by plant material incorporated to soil at 10% (w/w) over rice (**Oryza sativa**) L, tomato (**Lycopersicum esculentum**) Mill, sorghum (**Sorghum vulgare**) Pers, lettuce (**Lactuca sativa**) Lin and marabu (**Dichrostachys cinerea**) (L) Wight & Arn seeds, and purple nutsedge (**Cyperus rotundus**) L tubers in laboratory tests. Inhibitory effects of green manures on rice, tomato, sorghum and lettuce seedlings were observed. The foliage and root batata extracts affected marabu seeds germination and the develope of nut sedge tubers. The results proves that the use of green manures should be studied before decide a crop association or rotation, to reach better results.*

Key words: allelopathy, green manures, cover crops

INTRODUCCIÓN

El estudio de las capacidades alelopáticas de las plantas sin duda se convertirá en una práctica común con sólidos fundamentos científicos (Putnam,1988) debido al fuerte desarrollo que ha experimentado en los últimos tiempos; así se ha encontrado que no sólo por competencia, sino también por acción alelopática, muchas malezas como ***Sorghum halepense*** (L) Pers., ***C. rotundus*** L., ***Cynodon dactylon*** (L) Pers., ***Convulvulus arvensis*** L y ***Nicandra physaloides*** L entre otros, afectan la germinación de semillas y el desarrollo de muchas plantas cultivables como tomate, frijol cebolla, pepino, col, maíz, trigo y cártamo (Labrada et al., 1990; Contrera, 1991;Pereira y Braga, 1991).

Aunque se ha estudiado menos, también se ha observado que algunos cultivos pueden afectar el desarrollo de malezas, como los extractos acuosos de follaje de plátano y caña y estos mismos follajes además el de maíz incorporados al suelo afectaron considerablemente malezas de importancia económica como ***S.halepense, C.rotundus*** y ***Rottboellia cochinchinensis*** (Lour) Clayton entre otras (Rodríguez,1990; Labrada y García C.,1990); también el girasol , el arroz y el boniato han mostrado fuerte actividad alelopática de inhibición (Dilday et al.; 1992; Park, 1993;Harrison and Peterson,1986). Por otro lado se ha señalado que algunas plantas estimulan a unas mientras que deprimen a otras, como la ***Portulaca oleracea*** (L), que ejerce una influencia positiva sobre maíz y pepino, mientras que daña el desarrollo del arroz (García C,1995) lo cual muestra que los efectos de la interacción entre especies no deben generalizarse.

Actualmente se estimula en gran parte del mundo el empleo de abonos verdes y cultivos de cobertura como componentes de un grupo de aspectos encaminados a alcanzar una agricultura sostenible, menos dependiente de productos químicos, para el control de plagas y malezas (Altieri, 1995), aumentar la capilaridad de los suelos y suministrar nitrógeno. Ya es práctica habitual sembrar frijol de terciopelo, frijol lablab, canavalia, crotalaria y otros, bien a voleo (Anónimo, 1996), incorporados al suelo o intercalados en rotaciones de cultivos (Sánchez, 1995; Fuentes,1993) y asociados con cultivos como maíz (Anónomo, 1994; Flores, 1993) de forma que se restituya la vida orgánica contribuyendo a disminuir el agotamiento e incrementar los rendimientos de los cultivos. Estas prácticas generalmente ofrecen buenos resultados aunque a veces la combinación puede resultar perjudicial (Guzmán et al., 1995),

lo que indica que para utilizar las características alelopáticas de los abonos verdes y cultivos de cobertura deben ser estudiados de forma casuística y tener en cuenta el cultivo asociado o en rotación.

El conocimiento y dominio de los efectos alelopáticos dirigidos acertadamente sin dudas puede contribuir al mejor uso de estas plantas como una herramienta científica en la práctica agrícola.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material vegetal fresco de los abonos verdes y boniato se cortó en fracciones menores de 1 cm, después de lavado y secado al aire. Para los extractos acuosos se tomaron 50 gramos y se batieron con agua destilada en ultrabatidora por cinco minutos, el homogenato se diluyó a 250 ml, se agitó bien y se filtró por tela de gasa doble. Del filtrado se tomaron alícuotas para preparar soluciones al 10% (p/v) para los abonos verdes y al 4% (p/v) para el boniato.

Con las disoluciones se humedecieron papeles de filtro en placas de Petri de 13 cm de diámetro donde se colocaron 50 semillas de arroz, tomate, millo y lechuga que se dejaron germinar sobre los extractos de abonos verdes, a temperatura ambiente (26-28^{0}C) durante 6-10 días, al cabo de los cuales se evaluó la germinación total y la longitud de la radícula de 20 plántulas por placa; sobre los extractos de boniato se colocaron semillas de lechuga, arroz y marabú que se evaluaron de igual forma.

La inmersión de bulbos de ***C. rotundus*** se llevó a cabo sumergiéndolos una hora en los extractos acuosos de boniato, se dejaron secar al aire y se pusieron a germinar 20 bulbos por placa sobre papel de filtro humedecido con agua destilada. Cada 7 días se evaluó la germinación y el No. de brotes/bulbo.

La prueba de incorporación al suelo se realizó mezclando el material vegetal fresco con suelo Ferralítico rojo a la concentración de 10% (p/v). La mezcla se colocó en placas de Petri de 13 cm y se sembraron 25 semillas de arroz y de millo y a los 14 días se evaluó la emergencia y la altura.Para los testigos de los extractos acuosos se tomó agua destilada y en la prueba de incorporación se utilizó suelo solamente.

Todas las pruebas se realizaron por duplicado. Los resultados reportados constituyen el promedio de las dos réplicas del total de plantas evaluadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los extractos acuosos de frijol de terciopelo, leucaena y canavalia mostraron que, aunque están comprendidos entre los abonos verdes, pueden ejercer efectos negativos al reducir entre 8 y 16% la germinación de semillas de arroz y entre 8 y 44% las de lechuga. Canavalia y leucaena mostraron ser muy agresivas sobre lechuga y moderadas sobre tomate y por el contrario frijol de terciopelo ejerció un buen estímulo sobre las semillas de millo (Fig. 1a).

En cuanto al crecimiento de la radícula (Fig. 1b) la lechuga mostró ser muy susceptible a los tres abonos verdes con una reducción de 30 a 40% de la longitud; todos estimularon el desarrollo de las demás excepto la leucaena que redujo la radícula de tomate en un 13% y la de millo en casi 40%. Estos resultados demuestran el comportamiento desigual de estas plantas empleadas como abonos con respecto a diferentes cultivos.

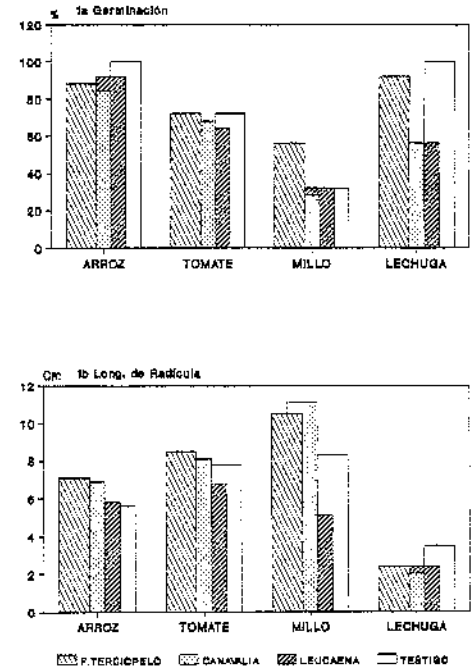

Figura 1. Efecto de extractos acuosos de abonos verdes al 10% sobre algunas semillas "in vitro"

La práctica habitual de sembrar, previa incorporación al suelo de estas plantas, podría traer consecuencias negativas si no se tiene en cuenta el cultivo, pues como se puede apreciar en la Fig. 2 a y b, los tres inhibieron la germinación de millo mientras que sólo el frijol de terciopelo afectó al arroz y, de igual forma, se comportaron sobre la altura de la plántula. Estos resultados pueden parecer contradictorios con relación a estas gramíneas en la prueba "in vitro", sin embargo sólo indican que el suelo como medio dinámico de interacción puede hacer variar los efectos de los compuestos bioquímicos propios de las plantas alelopáticas, por lo que no se debe descartar su participación y además demuestra la importancia que tiene la alelopatía en la decisión del cultivo a rotar después de la incorporación de un abono verde.

Con relación a los extractos acuosos de follaje y raíces del boniato se observó que fueron similares al testigo en la germinación de semillas de lechuga y arroz pero inhibieron las de marabú y muy marcadamente la de raíz (Fig. 3a), este último resultado es muy importante pues todo lo que afecte algún proceso fisiológico de esta maleza tan agresiva reviste gran interés. La longitud de radícula de lechuga fue estimulada mientras que la de arroz presentó inhibición (Fig. 3b). Al

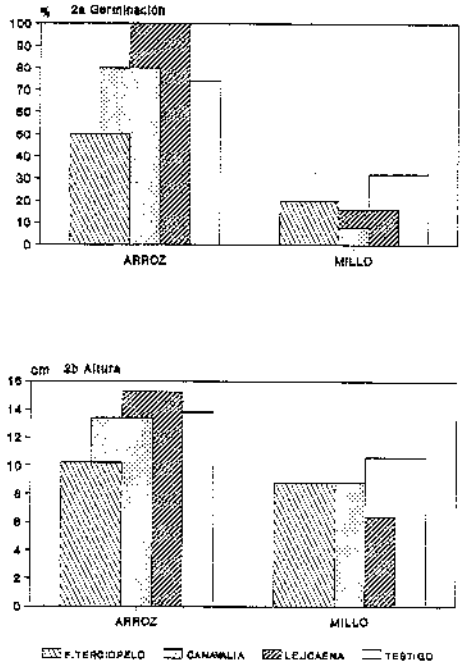

Figura 2. Efecto de la incorporación al suelo de material vegetal de abonos verdes al 10% sobre arroz y millo

sumergir bulbos de ***C. rotundus*** en los extractos durante una hora (Fig. 4a y b) se les provocó una fuerte inhibición de la germinación y la emisión de brotes que se prolongó durante 29 días, lo cual constituye una afirmación de que no solo por competencia el boniato disminuye la población de esta maleza en un campo infestado de la misma, según han informado Harrison y Peterson en 1986.

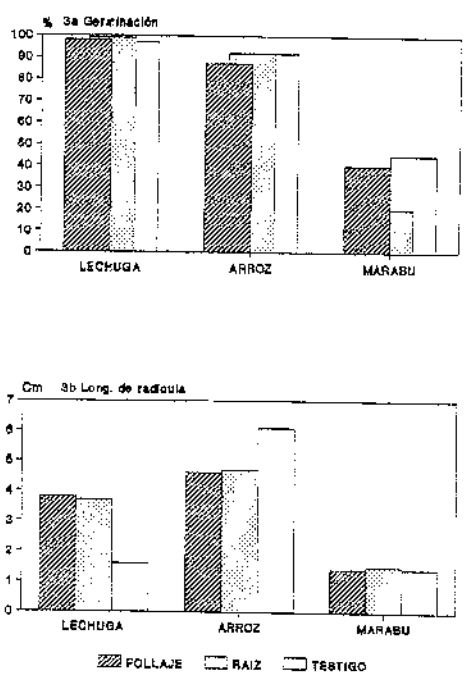

Figura 3. Efecto de extractos acuosos de follaje de raíces de boniato al 4% sobre semillas "in vitro"

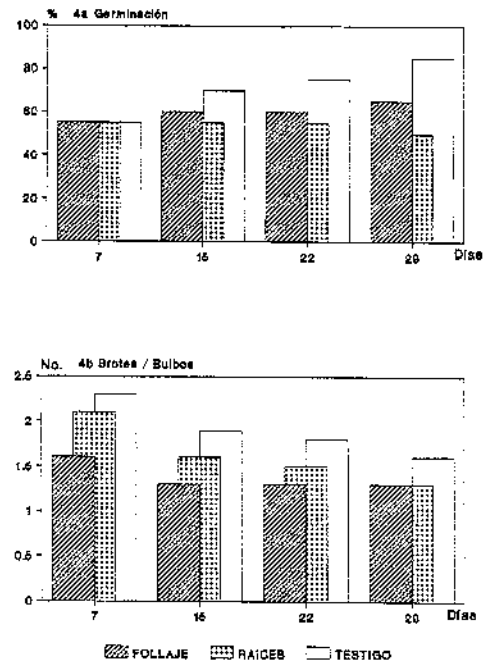

Figura 4. Efecto de la inmersión por 1 hora de bulbos de *Cyperus rotundus* en ext. ac. de follaje y raíces de boniato al 4%

CONCLUSIONES

- Frijol de terciopelo, canavalia y leucaena, aún cuando estimulan algunas plantas, pueden mostrar alta capacidad inhibitoria sobre otras por lo que al utilizarse como cobertura viva o abono verde deben estudiarse antes en su relación con otras plantas para, decidir la mejor asociación o sucesión.
- Los resíduos y extractos vegetales de follaje y raíces de boniato provocan efectos inhibitorios interesantes sobre bulbos de ***C. rotundus*** y semillas de marabú que deben continuar estudiándose por las perspectivas útiles que ofrecen.

REFERENCIAS

Anónimo. 1996. Boletín de la Asociación de Agricultura Orgánica No. 22 Junio Brasil, p.4-5.

Anónimo. 1994. La utilización de leguminosas de cobertura en plantaciones perennes.CIDICCO. Noticias sobre cultivos de cobertura No. 7. Honduras, 3 p.

Altieri, M.A. 1995. Bases y estrategias agroecológicas para una agricultura sustentable. Agroecología y Desarrollo. CLADES, Chile No. 8 / 9, p: 21-30.

Contrera, C.E. 1991. Potencial alelopático de extractos acuosos y diluídos de la correhuela (***Convolvulus arvensis***). Memorias XII Congreso Nacional de la Ciencia de la Maleza, México, 74 p.

Dilday, R.H., R.E. Frans, N. Semidey and R.J.Smith. 1992. Weed control with crop allelopathy. Arkansas Farm Research. 41 (4): 14-15.

Flores, M. 1993. El uso de frijol lablab por pequeños agricultores de varios lugares de Honduras. CIDICCO.Informe Técnico No. 2, 2 p.

Fuentes, J.L. 1993. La fertilización en una agricultura alternativa. Hojas divulgadoras No. 10, Madrid, 9p.

García, R.C. 1995. Un estudio preliminar de la capacidad alelopática de la verdolaga (***Portulaca oleracea*** L.). Resúmenes. Plaguicidas Biológicos de Origen Botánico. INIFAT, Cuba. 112 p .

Guzmán, J.J., Virginia Marrero y A. Roque, 1995. La asociación de cultivos como alternativas para la agricultura cubana. I Curso Taller "Sistemas de Cultivos Múltiples". ACAO. Inst. Inv. Hort. "Liliana Dimitrova", Cuba, 13 p.

Harrison, H.F. and J.K. Peterson. 1986. Allelopathic effects of sweet potato (***Ipomoea batatas***) on yellow nudsedge (***Cyperus sculentus***) and alfalfa (***Medicago sativa***) Weed Sci. 34: 623-627.

Labrada, R., Caridad Font, R. Pazos y J. Hernández, 1986. Alelopatía de malezas perennes sobre distintas plantas cultivables. Efecto sobre la germinación. Ciencia y Técnica en la Agricula , Prot. de Plantas, 9(4) : 13-17.

Labrada, R. y R. C.García. 1990, Utilización de cultivos alelopáticos en la lucha contra malezas. INISAV, Informe Técnico. Etapa.

Park, K. H. 1993. ecological weed management by allelopathic rice germplasm. Newsletter. Asia end the Pacific Working Group for Improve Weed Management, I-3, 4p.

Pereira, R.C. y P.E.T.Braga. 1990. Efecto del extracto acuoso de ***Nicandra physaloides*** sobre la germinación de semillas de maíz. Resúmenes X Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas. Cuba. 84 .

Putnam, A.R. 1988. Allelochemicals from plants as herbicides. Weed tech. 2(4): 510-518.

Rodríguez, Josefina. 1990. Efecto alelopático de diferentes extractos de hojas de plátano y caña de azúcar sobre el crecimiento de ***Sorghum halepense*** (L) Pers y ***Cyperus rotundus*** L. Resúmenes X Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas, Cuba, 81 p.

Sánchez, R. 1995. Experiencia en la cooperativa habanera "Gilberto León". Agricultura Orgánica 1 (1), Cuba, p: 5-7.

Comunicaciones cortas

Livistona chinensis: UN NUEVO HOSPEDANTE DE *Phaeotrichoconis crotolariae* (Salam & Rao) Subram EN CUBA

Julia Almándoz[1], Hilda Neninger[2] y Jesús Parra[3]

1 y 3: Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 # 514 e/ 5taB y 5taF, Playa, C. de La Habana. Cuba
2: Laboratorio de Cuarentena. Centro Nacional de Sanidad Vegetal

RESUMEN

En la Empresa Tropiflora, Wajay en la provincia de La Habana, se observó en el follaje de un gran número de la palmácea Livistona chinensis, lesiones parduscas de bordes regulares, afectando su utilización con fines ornamentales, fundamentalmente para la exportación. Se realizaron muestreos de hojas para el aislamiento e identificación del patógeno Phaeotrichoconis crotolariae encontrado por primera vez en Cuba en hojas de Livistona chinensis se corroboró que los síntomas de necrosis presentados a nivel de laboratorio son similares a los observados en campo.

Palabras claves : Livistona chinensis,Phaeotrichoconis crotolariae.

ABSTRACT

In Tropiflora enterprise, Wajay, Havana province it was observed in several palm trees Livistona chinensis a browniah damage of regular shape, impairing the export valve of this ornamental plant. Leaf samples of the damage plants were taken and a pathogen Phaeotrichoconis crotolariae was isolate and identified for the first time in Cuba. It was observed that the necrotic symtoms in laboratory and field plants, were similar.

Key words : Livistona chinensis,Phaeotrichoconis crotolariae

Livistona chinensis, es una Arecaceae con fines ornamentales por el aspecto de sus hojas que la hacen atractiva. Se encuentra distribuida en la India, Sureste de la Florida, Sureste de California, Florida, China, Australia y Cuba.(Blatter,1978; Jones, 1987; Mc Currach,1960).

En Cuba, se realizan producciones de esta especie en la actualidad para la exportación en el vivero"El Chico", perteneciente a la Empresa Tropiflora, en la provincia La Habana.

En el mes de Octubre de 1989, en el vivero se observaron frecuentes ataques en en el follaje de un gran número de posturas de *Livistona chinensis*, sembradas en bolsas de polietileno de 26 x 42 cm de diámetro.

Las lesiones fueron manchas de color pardo oscuro, de forma oval con anillos concéntricos en un gran número de estas posturas.

Para el aislamiento e identificación del patógeno se sembraron partes del tejido foliar afectado, en placa de agua - agar y la incubación se efectuó a temperatura de 26°C, una vez observado el crecimiento micelial se pasaron a un medio más nutritivo (papa - dextrosa - agar).

A los 7 días se observaron colonias pardos-grisáceas, algodonosas.Se realizaron preparaciones, tomando un portaobjeto, colocando una gota de lactofenol y sobre ello la fructificación del hongo.

Se observó con el microscopio óptico un micelio pardo - oscuro, conidioforos pardos, rectos, geniculados y conidios pardos obclavados, solitario con septos transversales y con un largo apéndice filiforme y subhialino .

Se realizaron mediciones de conidioforos y conidios. Los conidioforos estuvieron en el rango de 158-170 largo y 5,2-7

ancho. Conidio de 5-6 septos de 60-80 de largo x 16-20 de ancho y el apéndice o pico de 40-120 x 1,2 ancho.

Se llegó a la conclusión que el hongo estudiado coincidía en morfología, color y tamaño con los descritos para *Phaeotrichoconis crotolariae* (Salam & Rao) Subram por Ellis, 1971.

Para comprobar la patogenicidad, se tomaron conidios del hongo y se pasaron a tubos de ensayos y a los 10 días de crecimiento en PDA, se realizaron suspensiones del cultivo en agua destilada estéril, con una concentración de 10^6 esporas.

Se tomaron 6 posturas de *Livistona chinensis*, sembradas en bolsas de polietileno. Tres de las posturas, fueron inoculadas con las suspensiones y las otras se asperjaron con agua destilada estéril sólo. Todas las posturas, fueron colocadas en un cuarto obscuro, tapadas con naylon, en condiciones de laboratorio, con 96% de humedad y 26 °C de temperatura. A las 24 horas, se le retiró el naylon.

A los 15 días, comenzaron a aparecer los primeros síntomas foliares en aquellas posturas donde se había realizado la inoculación del hongo, igual que los observados en el campo.

A partir de estas afectaciones foliares, se logró el reaislamiento del hongo *Phaeotrichoconis crotolariae* (Salam & Rao) Subriman .

Según Farr et al (1995) para la familia Arecaceae está registrado *Phaeotrichoconis sp*, no se reporta para *Livistona chinensis*, por lo que *Phaeotrichoconis crotolariae* constituye un nuevo registro de este patógeno para el cultivo en el Mundo y para nuestro país.

REFERENCIAS

Blatter Berl Ethel. The palms of british India and Ceylan periodical experts book agency D-42 vivek Vittar. Delhi - 110032. 1978. 600pp.

Ellis, MB. Commonwealth. Mycological. Institute Kevy. Dematiaceous. Hyphomycetes. 1971. 436 pp.

Farr, David F; Bills F. Gerald; Chumuris, George, P; Rossman Y Amy. Fungi on plants and plant products in the United States. 1995. APS. Press the American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota. USA. 1252 pp.

Jones, David. Palms in Australia. Reed Books Pity LTD. 1987. Pag. 206.

Mc Currach, James C. Palms of the world. Library of Congress catalog card number : LC - 60 - 5968. 1960. Pag. 120.

Comunicaciones cortas

Orthosiphon stamineus Benth, NUEVO HOSPEDANTE DE *Tetranychus tumidus* Banks EN CUBA

Rubén P. Pérez

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 # 514 e/ 5taB y 5taF, Playa, C. de La Habana. Cuba

En general, las plagas que afectan al cultivo del té de riñón, ***Orthosiphon stamineus*** Benth, están pocos estudiadas. Entre las plagas que afectan dicho cultivo se informa al gusano de cuerno, un esfíngido, cuyas orugas destruyen las hojas y retoños terminales y parcialmente los tallos que aun están tiernos. En un corto período de tiempo, dos orugas pueden deshojar completamente las plantas, (Svanidze, 1960).

Svanidze y Ostrouskii (1967) le confieren al nemátodo, ***Heterodera radicícola***, gran importancia económica, ya que daña fuertemente al té de riñón, tanto en condiciones de invernadero como de campo. Las raíces dañadas frecuentemente se pudren, lo que provoca la destrucción del proceso de nutrición, transpiración y otros principios fisiológicos que retrasan el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Las observaciones sobre la incidencia de ***Tetranychus tumidus***, fueron realizadas en las plantaciones de té de riñón, ubicadas en la Empresa de Flores de Güira de Melena, provincia de La Habana, durante los años 1989-1990 donde fueron descritos los daños ocasionados en las condiciones de Cuba.

Las poblaciones de ***T. tumidus*** se localizan sobre las partes aéreas (hojas y ramas) de las plantas. Los síntomas producidos por el ataque de esta plaga, comienzan con puntuaciones rojizas, las cuales se tornan pardo amarillentas y con el avance de la infestación y la actividad succionadora de este ácaro, surge una tenue clorosis la cuál se acentúa en los bordes y avanza hacia el nervio central.

Cuando el ataque es muy fuerte las hojas se tornan totalmente cloróticas dando la apariencia de una enfermedad virosa o semeja la carencia de algún nutriente, lo cuál se descarta fácilmente al observarse gran número de ácaros y la producción de abundante tela de araña la cuál puede alcanzar las ramas, y en casos extremos, comienza una defoliación de las plantas lo cual conlleva a la afectación de los rendimientos, ya que son precisamente las hojas, la materia prima para la industria farmacéutica.

Pérez (1996) en la lista de plantas hospedantes de ***T. tumidus***, no señala al té de riñón, por lo que estos resultados confirman la existencia, en nuestras condiciones, de un nuevo hospedante de esta especie, el cuál engrosa la amplia lista de plantas que son afectadas por este polífago. Su distribución y afectaciones se han observado en las provincias de Ciudad de La Habana y La Habana.

REFERENCIAS

Cuba. Ministerio de la Agricultura. Instructivo técnico del cultivo del té de riñón. Dirección Nacional de Cultivos Varios. 22 p. 1985.

Livschitz, I. S. y A. Salinas C. Preliminares acerca de los Acaros "Tetránicos" de Cuba. Instituto del libro. p. 40. 1968.

Pérez, A. R. Elementos para el Manejo Integrado del ácaro rojo ***Tetranychus tumidus*** Banks (Acari: ***Tetranychidae***) en los cultivos de plátano y banano. Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Central de Villa Clara. 84 p. 1996.

Svedouskaya, N.P. El cultivo del té de riñón en los subtrópicos y su empleo en la medicina. "Cultivos Subtropicales" No. 3. 1966.

Svanidze, N.V. El gusano de cuerno (Esfíngidos) de las convuláceas: parásito del té de riñón. "Protección de plantas contra plagas y enfermedades". No. 8. 1960.

Svanidze, N.V. y Ostrouskii, N.I. Evaluación de los diferentes métodos de lucha contra la anguílula meridional de las raíces en el té de riñón. "La química en el Sector Agropecuario". No. 2. 1967.

Resúmenes de Tesis

BIOLOGÍA, DETECCIÓN EN SUELO, NOCIVIDAD, EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL DE *Phytophthora nicotianae* CAUSANTE DE LA ENFERMEDAD PATA PRIETA DEL TABACO

Ana Fernández Morales

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Ministerio de Agricultura. Caveta 634, 11300 Ciudad de La Habana. E-Mail: inisav@ceniai.inf.cu.

La pata prieta causada por ***Phytophthora nicotianae*** Breda de Hann, es una de las enfermedades que más afectaciones ha causado a la producción tabacalera cubana, fundamentalmente en los semilleros, donde han ocurrido epidemias severas lo que ha provocado anualmente cuantiosas pérdidas en el cultivo. A pesar de que esta enfermedad está presente en Cuba desde principios de siglo, en el país se han realizado sólo algunos estudios al respecto por, lo que fue necesario profundizar en los conocimientos sobre la biología, epifitotiología y nocividad, así como valorar la efectividad de diversas alternativas de lucha, que permitieran un manejo adecuado de la enfermedad y disminuir las afectaciones y pérdidas en el cultivo.

Por primera vez se obtuvo en el país la fase sexual del patógeno "in vitro", así como se determinó la presencia de los dos grupos de compatibilidad sexual A_1 y A_2 que posibilita la formación de la fase sexual del patógeno. Se detectaron en campos de producción ambos grupos de compatibilidad sexual, aunque en los mismos predominaron los aislados del hongo del grupo sexual A_1, lo que no descarta la posibilidad de la formación de estas estructuras en la naturaleza, que le permiten al patógeno una mayor sobrevivencia en el suelo y una población con elevada variabilidad genética.

Se precisó que para el crecimiento micelial, formación de zoosporangios y de la fase sexual, es más apropiado el empleo de medios naturales como la avena, V-3, maíz y papa dextrosa que los medios sintéticos como Czapeck y se determinó el efecto estimulante que ejercieron las fuentes de carbono, de nitrógeno orgánico e inorgánico en las que se destacaron el almidón, la leucina y el nitrato de amonio.

Se determinó que los principales procesos biológicos del patógeno, se desarrollan óptimamente bajo las condiciones climáticas que imperan durante casi todo el año fundamentalmente en los meses del establecimiento de los semilleros en Cuba, ya que el patógeno crece desde 9°C hasta 35°C, con rango favorable de 20 a 35°C y óptimo a 30°C, la formación de zoosporangios ocurre desde 15°C hasta 30°C, óptimo de 20 a 25°C y la germinación de las zoosporas se inicia a la hora de ser incubadas en la mayoría de las temperaturas y ocurre desde 10 hasta 40°C, con óptimo a 27- 30°C . El crecimiento del tubo germinativo fue superior a temperaturas desde 20 hasta 30°C, óptimo de 25 a 27°C y decrece a temperaturas por debajo de 20 y por encima de 30°C y el período de incubación del patógeno fueron de 2-3 días a temperaturas de 25, 30 y 35°C. A 15 y 20°C este se prolongó más de 6 días.

La motilidad de las zoosporas es superior a temperaturas bajas (5, 10 y 20) y decrece con el incremento de la temperatura. La viabilidad de las zoosporas es también superior a temperaturas bajas, a 10 y 20 permanecen viables por más de 30 días, a 30°C sobreviven 15 días y a 37°C sólo 8 días.

Se demostró la importancia de la temperatura en la reproducción sexual y fue óptimo a 25°C, en 30°C fue abundante y a 20°C disminuyó, a 10°C fue mínimo y a 35°C no se observaron.

La luz estimuló la formación de los zoosporangios (fase asexual), pero inhibió la formación de fase sexual del patógeno, la cual se incrementó en la oscuridad y el agua favoreció la formación de los zoosporangios del hongo y la infección del patógeno sobre las plantas de tabaco, que aunque no se observaron diferencias significativas entre las humedades probadas, para el suelo Ferralítico Rojo fue superior en 70 y 80 % de capacidad de retención del agua y en el suelo FCAL ocurrió en 100 %.

Se determinó la variabilidad cultural, por lo que existen aislamientos que presentan un crecimiento micelial rápido y otros moderados, así como la patogenicidad en los que se muestra diferencias en cuanto a la virulencia. Se informa por primera vez la patogenicidad sobre tabaco de aislados de *P. nicotianae* de vicaria, tomate, fresa, cítrico, piña, berenjena, que contribuyen al conocimiento epifitotiológico de la enfermedad y se señala la potencialidad patogénica de esta especie en Cuba.

Se modificó un medio selectivo, al que se le redujeron las concentraciones de dos productos, que permitió el ahorro de los mismos y afectó menos el crecimiento del hongo que el medio original, así mismo se elaboró una técnica en la se emplean hojas de tabaco como trampa, las variedades PBD6, Corojo, Criollo y Pelo de Oro; diluciones de suelo 1:10; 1:8 y1:6; la incubación a temperaturas de 27-30 °C y 12 horas luz. Fue comprobada la efectividad de ambos métodos para el aislamiento y la detección del patógeno en más de 92 campos de producción, que permitió la detección preventiva y conocer el nivel de contaminación de los suelos antes de la siembra y se observó una menor incidencia de la enfermedad en aquellos campos con niveles de infección bajo, según el análisis previo de los suelos.

La distribución horizontal del patógeno en suelo fue al azar en los campos evaluados y en la distribución vertical la población decreció con el incremento de la profundidad del suelo y el mayor número de propágulos se observó entre 0 y 5 cm. En el muestreo de suelo para lograr una detección positiva fue más adecuado la toma de suelo de 40 puntos / ha.

Los propágulos del patógeno permanecieron viables en suelo naturalmente infestado bajo condiciones controladas alrededor de 15 meses y se determinó que aunque el agua es necesaria para la formación de los zoosporangios, los extractos de diferentes suelos estimularon también este proceso, así como la infección de las plantas.

Se determinó la afectación de la enfermedad en semilleros y plantaciones de tabaco en las principales provincias tabacaleras del país y se observó un incremento de la enfermedad a partir de la campaña 1982-1983, que fue muy elevada entre 1985 y 1988, la cual que fue disminuyendo debido al empleo de diferentes medidas como la rotación de cultivo entre otras.

La edad de la planta y la variedad de tabaco, influyó en la susceptibilidad al ataque de la enfermedad y se determinó el efecto de la intensidad del ataque sobre los caracteres morfológicos como la altura, número y peso de las hojas de las variedades Corojo y Criollo, en la cual se observó una correlación altamente significativa y negativa entre estos parámetros.

Se determinó la influencia marcada de la lluvia en el desarrollo epifitotico de la enfermedad y se observó que las temperaturas en los meses donde se establecen los semilleros, son siempre favorables para el desarrollo de la enfermedad. Los modelos Logístico y Gompertz fueron adecuados para describir la enfermedad en el tiempo, con correlación del 84 al 99 %. Se observó una correlación directa y proporcional entre la densidad de inóculo inicial en suelo y la incidencia posterior de la enfermedad en plantas de tabaco.

Las densidades de plantas altas favorecieron el desarrollo de la enfermedad y se determinó que la selección de áreas para semilleros, la detección del nivel de infección del suelo antes de la siembra, la rotación de cultivo entre otras prácticas posibilitaron la disminución de la incidencia de la enfermedad en el cultivo. Se determinó otros métodos de lucha promisorios para el control de la enfermedad como la solarización y el empleo de hongos formadores de micorrizas, que provocaron el primero la desinfección del suelo y el segundo la reducción de la afectación por pata prieta en tabaco.

Se apreció que en semilleros con antecedentes de elevada incidencia de pata prieta no resultó eficaz ninguna de las medidas de lucha aplicadas y que como premisa fundamental se observó que en campos con antecedentes de baja incidencia de la enfermedad o con niveles bajos de infección en suelo las afectaciones fueron mínimas lo que confirma que para el manejo de pata prieta es necesario la reducción de los niveles de inóculo en suelo, el empleo de campos con niveles de infestación bajos , junto a otras medidas como la aplicación al suelo del biocontrol *Trichoderma harzianum* entre otras.

Reseñas

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Yamilé Baró

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV). Dpto de Biopesticidas. Calle 110 No 514 e/ 5taB y 5taF Playa, 10600. Ciudad de La Habana. e-mail: inisav@ceniai.inf.cu

RESUMEN

El presente trabajo aborda de forma simplificada la caracterización molecular de algunos hongos entomopatógenos de gran importancia en el control biológico de insectos plagas en la agricultura. Se hace referencia a algunas técnicas que se emplean actualmente en dicha caracterización como son : PCR, RFLP, cariotipo, análisis isoenzimático entre otras, ejemplificando con el trabajo realizado por diferentes autores. Estos estudios constituyen una poderosa herramienta para los investigadores, ya que tienen la ventaja de poner en evidencia las variaciones a niveles moleculares.

Palabras claves: hongos entomopatógenos, técnicas moleculares, caracterización.

ABSTRACT

The present work approaches the molecular characterization of some entomopatogenic fungi of importance in biological control of insect pest of agriculture. We made a report about some molecular techniques that nowadays are employed in this characterization such as: PCR, RFLP, cariotype, exemplifying with the work done by different authors. This studies are a powerful tool for researches since they have the advantage of evidence the variations at molecular levels that are very specific.

Key words: entomopathogenic fungi, molecular techniques, characterization.

Los hongos entomopatógenos son un grupo de microorganismos ampliamente estudiados en todo el mundo, existiendo más de 700 especies reunidas en 100 géneros. Ellos tienen la particularidad de parasitar a diferentes tipos de artrópodos (insectos y ácaros), aunque existen especies que sólo tienen un efecto limitado. El rango de hospederos de estos hongos difiere grandemente en correspondencia con la especie. Dentro del mismo género hay especies que infectan insectos de varios órdenes, mientras que otros sólo atacan un género o algunos géneros relacionados.Las enfermedades fúngicas de los insectos son comunes y a veces son lo suficientemente severas como para eliminar casi una población de insectos en un habitat dado. Tales epizootias son atribuibles a una conjunción de circunstancias que favorecen la enfermedad. Entre estas son importantes un ambiente húmedo y una densa población de insectos. Asimismo, los hongos pueden jugar un papel muy importante en la salud humana ya que algunas especies son virulentas para moscas y mosquitos (Roberts et al.; Papierok, 1991, 1996).

La gran mayoría de las micosis de insectos son provocadas por los grupos sistemáticos *Phycomycetes* y los *Hyphomycetes*. Las especies que se encuentran frecuentemente pertenecen a los géneros *Beauveria, Metarhyzium, Paecylomices, Nomurae* y *Verticillium* entre los cuales determinadas cepas han sido seleccionadas y comercializadas para ser utilizadas en el control biológico (Ferron et al. 1991).

En el proceso de infección los hongos entomopatógenos emplean diferentes estrategias para penetrar a través de la superficie protectora del hospedante y desarrollarse exitosamente dentro de este organismo. Estas estrategias involucran la intervención de señales químicas, particularmente las enzimas, toxinas e inhibidores del sistema inmune producidos por el patógeno. Algunas de estas moléculas son conocidas como lectinas, que son proteínas o glicoproteínas de origen no inmunológico pero que pueden provocar *in vitro* fenómenos semejantes a reacciones inmunológicas (Vey, 1996).

Existen otras sustancias de naturaleza química que son los mucopolisacáridos de la pared de las esporas; estas sustancias o secreciones mucilaginosas aparecen en las primeras horas del contacto entre el hospedante y el patógeno. Este fenómeno puede estar relacionado con cambios a nivel conidial como la producción de esterasas, elastasas, lipasas y n-acetil glucosaminidasas durante la fase pregerminativa (St Leger, 1988).

La producción de toxinas por los hongos entomopatógenos es muy importante en el proceso de infección ya que las mismas pueden, en ciertos casos, provocar la muerte del insecto debido a sus propiedades insecticidas, además que actúan como inhibidoras de las reacciones de defensa del hospedante por

alteraciones de los hemocitos y retardo en la agregación de las células de la hemolinfa (Vey y Gotz, 1986).

Las toxinas que producen los hongos entomopatógenos son de dos tipos:

- macromoléculas proteicas

- sustancias de bajo peso molecular.

Las macromoléculas proteicas son enzimas extracelulares secretadas en cantidades significativas en medios de cultivos o en el interior del insecto.

En *Beauveria bassiana,* por ejemplo, se han detectado dos proteasas; una fracción de peso molecular elevado y pH ácido y otra de peso molecular bajo y pH básico , además de una quitinasa y una amilasa (Lysenko y Kucera, 1971). En *Metarhizium anisopliae* también fueron separadas dos proteasas , la serilproteasa y la sulfhidrilproteasa, igualmente se detectaron otras enzimas como lipasas y una glicogenasa (Kucera, 1980).

La producción de toxinas de bajo peso molecular (PMÒ) es una propiedad genética de cada hongo, pero su producción puede ser alterada por factores como: nutrientes, pH, temperatura.

Los principales metabolitos de este grupo son los ciclodepsipéptidos producidos por *B. bassiana* y *M. anisopliae,* siendo las más conocidas las destruxinas. La relación entre la producción de destruxinas y la patogenicidad de los hongos fue sugerida por Samuels (1988), pudiendo ser ellas la causa de la mortalidad del insecto luego de la infección fúngica. Otros ciclodepsipéptidos pero aislados de *B. bassiana* son: "beauvericine", también producido por *Paecilomyces fumoseroseus* y cuya acción insecticida fue determinada para el coleóptero *L. decemlineata,* "bassianolide" aislado de *V. lecanii.* Asimismo, se debe citar al "enniantin" A y C cuya estructura es próxima al beauvericine y fue encontrado en *Fusarium sp.*

La importancia del estudio de estas micotoxinas radica en que ellas son más determinantes de la virulencia de una cepa que de su patogenicidad. Asimismo, el estudio de los mecanismos de acción, así como de las relaciones estructura-actividad apoyan los datos de que las toxinas sintetizadas y liberadas por los hongos entomopatógenos son capaces efectivamente de distorsionar la defensa celular del hospedante y hacer más fácil la invasión a su organismo (Vilcinskas et al. 1996).

Con el objetivo de formar grupos dentro de una especie o identificar un aislamiento particular cuando éste es responsable de una epizootia, se hace necesario buscar criterios diferentes a la caracterización morfo-ontogénica. Los caracteres moleculares basados en el estudio de proteínas (isoenzimas, inmunología, ácidos nucleicos, cariotipos, RFLP, PCR y secuenciación) presentan la ventaja de poner en evidencia las variaciones a niveles moleculares que son muy específicos (Kohn, 1992).

ANÁLISIS ISOENZIMÁTICO

Según Micaeles et al. (1992), el análisis isoenzimático se utiliza para resolver problemas de taxonomía, identificar taxones desconocidos, caracterizar una cepa patentable, analizar la variabilidad genética dentro de una población, describir el origen de un patógeno, seguir la segregación de loci e identificar la ploidía de un organismo. El método consiste en separar por electroforesis en geles de poliacrilamida o de almidón , proteínas extraídas del hongo y luego colorear los geles para visualizar las actividades enzimáticas específicas. Las isoenzimas pueden ser reveladas en la medida que la proteína mutante difiera de la original en cuanto a carga, conformación o punto isoeléctrico.

Para estudiar los taxones, sólo se toman en cuenta el número y las posiciones de las bandas y la interpretación de los patrones en términos de alelos específicos permite detectar las relaciones filogenéticas.

El análisis isoenzimático del género *Metarhizium* confirma la gran variabilidad genética observada en los caracteres de patogenicidad y de adaptación al ambiente. En la especie *M. anisopliae,* conocida por su amplia distribución geográfica, St leger et al.(1992) confirman la existencia de por lo menos cinco variedades. Las cepas de esta variedad son muy heterogéneas y pueden ser caracterizadas por perfiles esterásicos distintos (Riba et al. 1990).

Entre los *Hyphomycetes* entomopatógenos, el género *Beauveria* es aquel aislado con más frecuencia de los cadáveres de insectos infectados. Por lo menos se reconocen seis especies según los criterios morfológicos y bioquímicos entre los cuales *B. bassiana* y *B. brogniartii* son las que se usan en la lucha biológica. El análisis isoenzimático muestra que a pesar del mantenimiento de una fuerte variabilidad natural dentro de las poblaciones de *B. bassiana* (St leger et al. 1992), existen homogeneidades dentro de grupos de aislamientos provenientes de ciertos hospedantes y ciertas áreas geográficas (Bridge et al. 1990). De los estudios isoenzimáticos de 131 cepas de *B. bassiana* aisladas de diferentes insectos y orígenes geográficos algunos autores concluyen que existe una estructura clonal de las poblaciones.

Asimismo el análisis de enzimas ha permitido caracterizar una variabilidad genética intraespecífica en *Nomurae* (Joslyn y Boucias, 1980).

INMUNOENSAYOS

La serología suele aplicarse para diagnóstico, pero las diferencias en estructuras antigénicas pueden ser útiles también en taxonomía. Utilizando la técnica de inmunodifusión también llamada de Ouchterlony, la cual consiste en una difusión doble sobre geles de agarosa, Toriello et al. (1989) han podido discriminar diversos géneros de *Entomophthorales.* Esta técnica toma en cuenta la formación de un arco de precipitación único entre los pozos que contienen los antígenos

y aquel donde se encuentra el suero. La inmudifusión ha permitido distinguir los aislamientos de *Metarhizium,* pero el examen de los niveles intraespecíficos se ha realizado con otros métodos que permiten el estudio distintivo de un gran número de antígenos dentro de los cuales se pueden citar:

- **inmunoelectroforesis**, que consiste en la separación electroforética de los antígenos sobre gel de agarosa seguida por una inmunodifusión, esta técnica ha sido utilizada para estudiar cepas de *Metarhizium anisopliae* (St Leger et al. 1987).

- **Western blot**, cuyas etapas incluyen la separación de las proteínas sobre geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) y luego una transferencia a una membrana de nitrocelulosa seguida de la incubación con el suero, permitió a Tan y Ekramoddoullah (1991) identificar gracias a sus pérfiles antigénicos, 5 aislamientos de *B. bassiana.* Esta caracterización posibilitó precisar la variabilidad observada por otra técnica inmunoserológica, la seroaglutinación. Usando SDS-PAGE y un anticuerpo disponible comercialmente, Bath et al. (1996) establecieron la producción de 70 proteínas hsp (proteínas de shock térmico), por *M. anisopliae* y *M. flavoviridae.* Estas proteínas son de gran importancia en los hongos entomopatógenos porque pueden ayudar a protegerlos de las temperaturas extremas y del estrés asociado al encuentro con el organismo blanco.

- **ELISA**, ha sido puesto a punto para determinados hongos entomopatógenos (Shimizu et al. 1993), sin embargo su aplicación en detección ha sido realizada solamente a partir de infestaciones artificiales en los laboratorios (Hajek et al. 1991).

"Cariotipo.

La electroforesis en campo pulsado, permite la separación en geles de agarosa de moléculas de ADN cuyo tamaño pueda alcanzar más de 10 mega bases (Mb), posibilitando la identificación de cromosomas intactos de eucariontes inferiores (Mills y Mc Cluskey, 1990). En general, diferentes especies presentan cariotipos electroforéticos distintos y además suelen existir muchas variaciones intraespecíficas, observables gracias a las diferencias en los patrones o en la intensidad de las bandas (Kohn, 1992).

El mapeo de genes y la electroforesis en campo pulsado ha permitido un mayor conocimiento de la organización genómica en *Beauveria,* necesario para su mejoramiento genético. El cariotipaje eletroforético muestra un polimorfismo significativo en la longitud de los cromosomas entre los aislados de este hongo (Muriel et al. 1996).

A través de estos estudios se ha determinado que el número de cromosomas en *P. fumosoroseus* es de 6 y su tamaño varía de 2.8 a 8.1 Mb, es de 7 en *M. anisopliae* y 8 en *B. bassiana* con 2.9 a 8.1 Mb. Asimismo se ha puesto en evidencia, por hibridización en Southern blot, diferencias en la información genética contenida en los cromosomas posicionados de manera idéntica (Shimizu et al.1993).

"RFLP (polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción).

Los RFLP se observan por hibridización de los fragmentos como resultado de la digestión del ADN por una enzima de restricción, separados electroforéticamente con sondas de copia única. Cuando las moléculas de ADN hidrolizadas son pequeñas y homogéneas, como el ADN mitocondrial, en el gel corrido con bromuro de etidio se observará un patrón de bandas mientras que la hidrólisis de ADN nuclear produce un chorreado continuo de bandas de secuencias únicas con algunas bandas marcadas correspondientes a ADN repetitivo.

El ADNmt circular, varía entre los hongos de 19 a 176 kb (Klich y Mullaney, 1992). El ADNmt de *B. bassiana* extraído con cloruro de cesio, presenta un tamaño estimado en 28.5 kb. Typas et al. (1992) distinguieron *V. lecanni*, patógeno de insectos, de otras especies de *Verticillium* fitopatógenas o no patógenas, por observación del ADNmt revelado en fragmentos de restricción de la enzima Hae . La enzima corta fragmentos de ADNmt liberando fragmentos de 1.5 a 12 kb mientras que hidroliza ADN nuclear en fragmentos de 1 kb. Por este método Bridge et al. (1993) pudieron caracterizar cada uno de los aislamientos pertenecientes a las especies *M. anisopliae* y *M. flavoviridae.* Igualmente Mavridon y Typas (1996) detectaron polimorfismo interespecífico en 19 aislados de *M. anisopliae.*

Los RFLP de ADN nuclear se detectan con más frecuencia luego de la transferencia sobre membrana de nylon, del ADN seguido de hibridización. El uso de sondas únicas o multicopias permite la caracterización fina de cepas genéticamente próximas, tales como una cepa salvaje de *B. bassiana* y una mutante (Kosir et al. 1991). También ha sido muy utilizado el ADN ribosomal aprovechando su naturaleza conservada que permite usar sondas heterólogas para caracterizar relaciones intergénicas e interespecíficas.

"PCR (Amplificación en cadena de la polimerasa).

La PCR es una técnica que permite determinar relaciones filogenéticas entre especies y constituye una buena herramienta de análisis de la biología de las poblaciones. La PCR consiste en la amplificación enzimática de un fragmento de ADN en presencia de iniciadores específicos de ese fragmento . El método es sensible, son suficientes apenas algunos ng de ADN templado. Una región frecuentemente amplificada en los estudios concernientes a los hongos es el ADN ribosomal, en particular la región de los espaciadores transcriptos, zona variable, por lo tanto interesante, para analizar el parentesco y la variabilidad entre especies (White et al. 1990). Este método se ha utilizado para detectar genes comparables en *Metarhizium* spp.

La técnica RAPD (polimorfismo del ADN amplificado al azar) es una PCR que utiliza un sólo iniciador, cuyo tamaño es en general de 10 bases, e hibrida a secuencias repartidas aleatoriamente sobre el ADN. Provee patrones de bandas cuyo número y tamaño permiten el análisis de variaciones moleculares (Strigman y Mackay, 1993). Este método ha sido utilizado por Cravanzola y Ozino (1996) para evaluar la presencia de polimorfismo genético entre 28 cepas de *Beauveria brogniartti* de diferentes orígenes geográficos e insectos hospederos.

CONCLUSIONES

La mayoría de las veces se observa una buena correlación entre los caracteres moleculares y los caracteres morfo-ontogénicos; sin embargo los estudios filogenéticos basados en análisis moleculares permiten a veces acercamientos de género y especies que se distinguen por la clasificación fenotípica.

La elección del método de análisis dependerá del organismo estudiado y sobre todo de su variabilidad genética; mientras que para delimitar especies o grupos dentro de especies se han utilizado ampliamente marcadores de tipo proteínas o isoenzimas. Las técnicas basadas en el análisis comparado del tamaño de los fragmentos de ADN permiten distinguir aislamientos específicos. Así, cuidando de efectuar las comparaciones sobre un número de muestras lo más variado posible, estas herramientas permitirán distinguir una cepa de otra.

REFERENCIAS

Bath, A.; Clarkson, I.; Bailey, A.; Screen, S. and Charnley, A. (1996). Heat shock proteins produced by *M. anisopliae* and *M. flavoviridae.* ABSTRACTS Society for invertebrate pathology (SIP). 29th annual meeting and IIIrd International colloquium on *Bacillus thuringiensis.* Universidad de Córdova, España: 7.

Bridge, P. ; Abraham, Y. ; Cornish, M., and Moore, D. (1990). The chemataxonomy of Beauveria bassiana isolates from the coffee bermy borer Hypothenemus hampel (Coleoptera: Scolytidae). Mycopathologia 11: 85-90.

Farguez, J.; Dueriez, T. Popeye, R.; Robert, P. (1981). Inmunological characterization of the entomopathogenic hiphomycetes Beauveria and Metarhizium. Mycopathologia 75: 101-108.

Federica Cravanzola and Olga Ozino. (1996). Detection of genetic polymorfism in strains of the entomophatogenicfungus B.brogniartti by RAPD-PCR. ABSTRACTS Society for invertebrate pathology (SIP). 29th annual meeting and IIIrd International colloqium on Bacillus thuringiensis. Universidad de Córdova, España: 62.

Ferron, P.; Farguez, J. and Riba, G. (1991). Fungi as microbial insecticides against pest. In: Handbook of applied mycology. Marcel Dekker, Inc.; New York, 2: 665-706.

Hajek, A. ; Butt, T. ; Strelow, L. and Gray, S. (1991). Detection of entomophaga maimaiga (zygomicetes: entomophtorales) using ELISA. J. Invertebr. Pathol. 58: 1-9.

Joslyn, D. and Boucias, D. (1980). Isozyme differentiation among three pathotypes of entomogenous fungus Nomurae rileyi. Can. J. Microbiol. 27: 364-366.

Klich, M. and Mullaney, E. (1991). Molecular methods for identification and taxonomy of filamentous fungi. In: Handbook of Applied Mycology; eds Marcel Dekker, Inc. New York, 4: 35-55.

Kohn, L. (1992). Developing new characters for fungal systematics: an experimental approach for determining the rank of resolution. Mycologia 84: 139-153.

Kosir, J. ; Macpherson, J. and Kachatourians,G. (1991). Genomic analysis of a virulent and a less virulent strain of the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana using restriction fragment lenth polymorphisms. Can. J. Microbiol. 37(7): 534-541.

Kucera, M. (1980). Proteases from the fungus M.anisopliae toxic for galleria mellonella larvae .J. of Invertebr. Pathol. 35: 304-310.

Lysenko, O. and Kucera, M. (1971). Microorganism as sources of new insecticidal chemicals: toxins. In: Microbial control of insects and mites. London; Academic Press: 205-277.

Mavridon, A. and Typas, M. (1996). Molecular typing of M. anisopliae isolates using RFLP analysis of the rDNA gene complex and the mitochondrial LrRNA-SrRNA gene probes.ABSTRACTS Society for invertebrate pathology (SIP). 29th annual meeting and IIIrd International colloqium on Bacillus thuringiensis. Universidad de Córdova, España: 53.

Micaeles, J. ; Bonde, M. and Peterson, G. (1992). Isozyme analysis in fungal taxonomy and molecular genetics. Handbook of Applied Mycology. Marcel Dekker, New York. 4: 57-77.

Mills, D. and Macluskey, K. (1990). Electrophoretic kariotypes of fungi: the new cytology. Mol. Pl. Microbe Interactions 3: 351-357.

Muriel Viaud; Ivonne Couteaudier and Guy Riba. (1996). Genomic organization of hypervirulent hybrids in the imperfect fungus B. bassiana. ABSTRACTS Society for invertebrate pathology (SIP). 29th annual meeting and IIIrd International colloqium on Bacillus thuringiensis. Universidad de Córdova, España: 87.

Nordbring-Hertz, B. (1988). Ecology and recognition in nematodes-nematophagous fungus system. Advances in microbial ecology 10: 81-114.

Papierok, B. (1996). The world of entomophatogenic fungi. ABSTRACTS Society for invertebrate pathology (SIP). 29th annual meeting and IIIrd International colloqium on Bacillus thuringiensis. Universidad de Córdova, España: 60.

Riba, G.; Rakatonirainy, M. and Baygoo, Y. (1990). Phylogenic relationships within the genus Metarhizium. In: Coll. Internat. Pathol. Invertebr. and Microbial .

Roberts, R. ; Fuxa, J.; Gaugler, J.; Goether, M.; Jacques, R. and Maddox, J. (1991). Use of pathogens in insects control. In: Handbook of pest management in agriculture. CRC Press. 2: 243-278.

Samuels, R. ; Charnley, A. and Reynolds, S. (1988). Applications of reversed phased HPLC in separations and detection of the ciclodepsipeptide toxins produced by the entomophatogenic fungus M. anisopliae. J. of Chromatographic Science 26: 15-19.

Shimizu, S.; Arai, Y. and Matsumoto, T. (1992). Electrophoretic kariotype of M. anisopliae. J. of Invertebr. Pathol. 60: 185-186.

Shimizu, S.; Tsuchitani, Y. and Matsumoto, T. (1993). Serology and substrate specificity of extracelular proteases from our species of entomopathogenic hyphomicetes. J. Invertebr. Pathol. 61: 192-195.

St Leger, R. ; Charnley, A. and Cooper, R. (1987). Characterization of cuticle -degrading proteases produced by the entomophatogen M. anisopliae. Archives of Biochemistry and Biophysics 253 (1): 221-232.

St Leger, R. ; Durrands, P. ; Charnley, A. and Cooper, R. (1988). Role of extracellular chymoelastases in the virulence of M. anisopliae for Manduca sexta. J. Invertebr. Pathol. 52: 285-293.

St Leger, R.; May, B.; Allee, L.; Frank, D. ; Staples, R. and Roberts, D.(1992). Genetic differences in allozymes and information of infection structures among isolates of the entomophatogenic fungus M. anisopliae. J. Invertebr. Pathol. 80: 89-101.

Strigman, D. and Mackay, M. (1993). Discrimination between Hirsutella longicolla var. longicolla and Hirsutella longicolla var.

cornuta using random amplified polymorphic DNAfingerprinting. Mycologia. 85: 65-70.

Tan, Y. and Akramoddouliah, K. (1991). Inmunochemical characterization of the entomophatogenic fungus B.bassiana. J. Invertebr. Pathol. 57: 269-276.

Torriello, C.; Zeron, E.; Latge, J. and Mier, T. (1989). Inmunochemical separation of entomophthorales genera. J. Invertebr. Pathol. 53: 358-360.

Typas, M. ; Griffin, A. ; Baindridge, B. and Heale, J. (1992). Restriction fragment lenth polymorfism in mitochondrial DNA and ribosomal RNA genes complexes as and aid to the characterization of species and subspecies population in the genus Verticillium. FEMS. Microbiol. Letters 95: 157-172.

Vey, A. and Gotz, P. (1986). Antifungal cellular defense mechanism in insects. In: Hemocytic and humoral immunity in arthropods. New York, John Willey. 89-115.

Vey, A. (1996). Bases of fungal pathogenicity to insects, with a special reference to mycotoxins.ABSTRACTS Society for invertebrate pathology (SIP). 29th annual meeting and IIIrd International colloqium on *Bacillus thuringiensis*. Universidad de Córdova, España: 87.

Vilcinskas, A.; Dumas, C.; Cavelier, F.; Gotz, P.; Vey, A.(1996). Mechanism of destruxins action and structure-activity relantioships among these mycotoxins. ABSTRACTS Society for invertebrate pathology (SIP). 29th annual meeting and IIIrd International colloqium on *Bacillus thuringiensis*. Universidad de Córdova, España: 22.

White, T.; Bruns, T.; Lee, S. and Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR protocols. Academic Press, New York: 315-322.