FITOSANIDAD

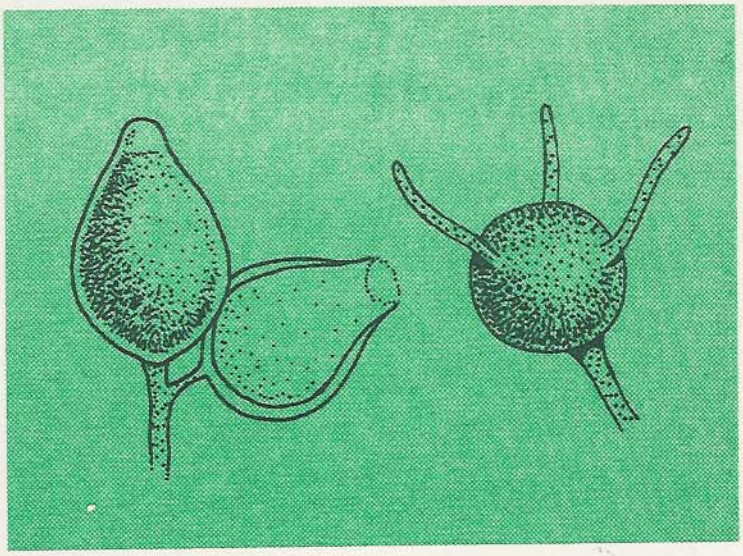
Un enfoque actual de sanidad vegetal

Zonificación de *Alternaria solani* en papa

Estudio de la residualidad de insecticidas y fungicidas en frutos cítricos

Compatibilidad de *Nodita firmini* con la bacteria *Bacillus thuringiensis*

Epidemiología de las poblaciones resistentes al metalaxyl de *Phytophthora nicotianae* en el cultivo del tabaco en Cuba



Volumen 2 No. 3 - 4 / 1998

Contenido

- **MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS**

Eficiência da manipueira (extrato líquido das raízes de cassava) no controle de *Toxoptera citricidus* -o pulgão negro dos citros 3
Julio Da Ponte e Higinio Ribeiro Dos Santos

Efecto de *Clerodendrum phillipinum* Shaver sobre Atta insularis 7
Zoila Trujillo, R. Pérez, L. Vázquez y Elina Massó

- **ECOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA**

Requerimientos de temperatura y virulencia de tres hongos del suelo sobre plantas de tabaco 11
Wendy Wong y Ana Fernández

Zonificación de *Alternaria solani* en papa, en la provincia de La Habana 15
Guadalupe Gómez, Lérida Almaguel, S. Jiménez, Irina Secada y J. Cortiñas

- **LUCHA QUÍMICA**

Estudio de la residualidad de insecticidas y fungicidas en frutos cítricos (*Citrus sinensis*) Osbeck 21
R. Hernández, A. Sisinno, A. Lazo y R. González

Efectividad de rimsulfuron sobre malezas en papa (*Solanum tuberosum*, L.) y tomate (*Lycopersicum esculentum*, Mill) 25
E. Paredes, F. La O y R. García

- **LUCHA BIOLÓGICA**

La producción de *Verticillium lecanii* (Limm) Vieg por cultivo sumergido 31
Orietta Fernández-Larrea, Lourdes Blanco y Verónica Ramírez

Técnica de liofilización para la conservación de cepas de entomopatógenos 35
Noris B. Padrón, Irina Pérez, Lidianys Lewis, Mercedes Luján, Silvia Godínez, Miriam Sánchez y Nidia Acosta

Hongos de suelo que atacan al clavel y antagonismo in vitro con *Trichoderma* spp. 41
Ileana Sandoval, María O. López, Tania Bonilla y Yoelkis Tomás

Evaluación de diferentes métodos de separación de huevos de *Galleria mellonella* (Lin.) 45
Ofelia Milán, F. Fuentes y Nelly Matos

Compatibilidad de *Nodita firmini* Navás (*Neuroptera: Chrysopidae*) con la bacteria *Bacillus thuringiensis* (Berliner) 49
Nidia Acosta y Esperanza Rijo

- **RESISTENCIA**

Epidemiología de las poblaciones resistentes al metalaxyl de *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan en el cultivo del tabaco en Cuba 53
Berta L. Muiño, Julia Almandoz, Isabel Díaz, Isabel Ponciano, Esther L. Martín, Vivian Monteagudo y Mary L. González

- **CONTROL DE CALIDAD**

Métodos de determinación del contenido de ingrediente activo de diuron y fluometuron en formulados de plaguicidas 59
K. Martínez, Cecilia Linares y J. L. González

- **COMUNICACIONES CORTAS**

Detección de un geminivirus afectando el cultivo de la habichuela (*Vigna sesquipedalis*) en Cuba 63
Dania E. Pereira y Surey Valdés

Hospedantes silvestres del virus del encrespamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV) en Cuba 65
Gloria González y Surey Valdés

Potencialidad de la cromatografía gaseosa en la determinación de especies de Moscas Blancas 67
B. Suárez, L. Vázquez y Dinorah López

Incidencia de plagas de almacén en semillas de quinua (*Chenopodium quinua* Willd) 69
L. Vázquez y Dinorah López

- **RESÚMENES DE TESIS**

Manejo de la resistencia a los fenilamidas en especies de *Oomycetes* en Cuba 71
Berta Lina Muiño

Contents

- **INTEGRATED PEST MANAGEMENT**

Efficiency of cassava root extract in the control of *Toxoptera citricidus*, the citrus black aphid 3
Julio Da Ponte and Higinio Ribeiro Dos Santos

Effect of *Clerodendrum phillipinum* Shaver on *Atta insularis* 7
Zoila Trujillo, R. Pérez, L. Vázquez and Elina Massó

- **ECOLOGY AND EPIDEMIOLOGY**

Temperature requirements and virulence of soilborne fungi on tobacco plants 11
Wendy Wong and Ana Fernández

Zoning of *Alternaria solani* on potato in the Havana province 15
Guadalupe Gómez, Lérida Almaguel, S. Jiménez, Irina Secada and J. Cortiñas

- **CHEMICAL CONTROL**

Insecticides and fungicides residuality in Citrus fruits (*Citrus sinensis* Osbeck) 21
R. Hernández, A. Sisinno, A. Lazo and R. González

Effectiveness of rimsulfuron on weeds in potato (*Solanum tuberosum* L.) and tomato (*Lycopersicum esculentum*, Will) 25
E. Paredes, F. La O and R. García

- **BIOLOGICAL CONTROL**

The production of *Verticillium lecanii* (Limm) Vieg by submerged culture 31
Orietta Fernández-Larrea, Lourdes Blanco and Verónica Ramírez

Lyophilization technique for the preservation of entomopathogen strains 35
Noris Bell Padrón, Irina Pérez, Lidianys Lewis, Mercedes Luján, Silvia Godínez, Míriam Sánchez and Nidia Acosta

Soilborne fungi attacking the carnation and antagonism in vitro with Trichoderma spp. 41
Ileana Sandoval, María Ofelia López, Tania Bonilla and Yoelkis Tomás

Evaluation of different methods for separating eggs of *Galleria mellonella* (Lin.) 45
Ofelia Milán, F. Fuentes and Nelly Matos

Compatibility of *Nodita firmini* Navás (*Neuroptera: Chrysopidae*) with the bacterium *Bacillus thuringiensis* (Berliner) 49
Nidia Acosta and Esperanza Rijo

- **RESISTANCE**

Epidemiology of the populations of *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan resistant to metalaxyl in tobacco grown in Cuba 53
Berta L. Muiño, Julia Almandoz, Isabel Díaz, Isabel Ponciano, Esther L. Martín, Vvlan Monteagudo and Mary Luz González

- **QUALITY CONTROL**

Methods for determination the amount of fluometuron active ingredient contained in formulated pesticides 59
K. Martínez, C. Linares and J. L. González

- **SHORT NOTES**

Detection of geminiviruses affecting beans crops (*Vigna sesquipedalis*) in Cuba 63
Dania E. Pereira and Surey Valdés

Wild hosts of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) in Cuba 65
Gloria González and Surey Valdés

Potenciality of gas chromatography in whiteflies species identification 67
Benigno Suárez, Luis Vázquez and Dinorah López

Incidence of storage pest in quinua seeds (*Chenopodium quinua*) 69
L. Vázquez and Dinorah López

- **THESIS ABSTRACTS**

Resistance management of the fenilamides in Oomycetes species in Cuba 71
Berta Lina Muiño

ARTICULOS

EFICIÊNCIA DA MANIPUEIRA (EXTRATO LÍQUIDO DAS RAÍZES DE CASSAVA) NO CONTROLE DE *Toxoptera citricidus* - O PULGÂO NEGRO DOS CITROS

J. Júlio Da Ponte[1] e J. Higino Ribeiro Dos Santos[2]

1 Professor-Emérito, Livre Docente de Fitopatologia

2 Professor Titular de Entomologia e Parasitologia Agrícolas Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias Caixa Postal 12168, 60356-001 Fortaleza, Estado do Ceará, Brasil

RESUMO

*A manipueira (extrato líquido das raízes de cassava, **Manihot esculenta**), cuja notável acão nematicida fora demonstrada em estudos anteriores, foi agora testada no controle do pulgao negro (**Toxoptera citricidus**), uma das mais importantes pragas da citricultura. As três diluições (50, 75 e 100%) de manipueira então testadas revelaram-se, mediante uma única pulverização, tão eficientes quanto o inseticida convencional (parathion-metílico) usado como referencial de controle químico. Con efeito, ambos os compostos determinaram a mortandade total dos exemplares desse inseto presentes nos ramos tratados.*

Palabras clave: Manihot esculenta, inseticida, *Toxoptera citricidus, citrus*

ABSTRACT

*The "manipueira" (liquid extract from cassava roots, **Manihot esculenta**), whose outstanding nematocide action had been revealed in anterior experiments, was now tested against the black-aphid (**Toxoptera citricidus**) a serious citrus (**Citrus** spp.) pest. Three "manipueira" dilutions (50, 75 and 100%), tested in only one spray, revealed as efficient as the conventional insecticide (methyl-parathion) used as chemical control. Both the compounds exercise absolute control (100%) on the aphid population that was infesting the host-plant branches.*

Key words: *Manihot esculenta*, insecticide, *Toxoptera citricidus, citrus*

INTRODUÇÃO

Na busca de alternativas para minimizar o consumo exagerado de agrotóxicos - um permanente risco à ecologia e à saúde humana - encontra-se em execução, na Universidade Federal do Ceará, en Fortaleza, Estado do Ceará, Brasil, un projeto de pesquisa que tratado aproveitamento da manipueira -o extrato líquido das raízes de cassava o mandioca (***Manihot esculenta*** Crantz)- como defensivo agrícola. Acrescente-se que a manipueira é abundantemente encontrada no Estado do Ceará e em todo o Nordeste do Brasil, pois se trata de um residuo da fabrição da farinha de mandioca, a qual se constitui em um dos alimentos básicos da numerosa população de baixa renda da região. Assim, existem milhares de pequenas fábricas dessa farinha no nordeste brasileiro.

A manipueira foi inicialmente testada como nematicida em tratamento de solo, mostrando uma potencialidade nematóxica superior à dos nematicidas comerciais (Ponte et al. 1979; 1987; Ponte e Franco, 1981; Franco et al 1990) ee sem o agravante do elevado preço e da alta toxicidade desses agrotóxicos. Para melhor orientar o uso do composto como nematicida, aspectos complementares (dosagem, diluição, tempo de estocagem, período de carência e interferência com a fertilidade e com a população rizobiana do solo) foram posteriormente esclarecidos (Ponte, 1992).

A partir de 1988, a manipueira passou a ser testada como inseticida. Os resultados do teste preliminar, envolvendo o controle da cochonilha ***Coccus hesperidum*** L., 1758, foram excelentes (Ponte et al, 1988).

Dando prosseguimento a esta segunda etapa do projeto, estudou-se a manipueira no controle do pulgão negro (***Toxoptera citricidus*** Kirk, 1901), uma das mais importantes pragas da laranjeira-doce (***Citrus sinensis*** Osb.) e citricultura em geral.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento, datado de março de 1994, foi conduzido no planalto da Ibiapaba, município de Ubajara, Estado do Ceará, a uma altitude de 850m e sol temperatura média de 22°C e umidade atmosférica de 80%.

Tabela 1. Número de exemplares do pulgão ***Toxoptera citricidus*** encontrados vivos sobre folhas de laranjeira-doce (***Citrus sinensis***), 20 minutos antes e 24 horas após a aplicação dos tratamentos com manipueira, parathion-metílico e água. (Experimento em Ubajara, Estado do Ceará, Brasil, 1994).

Tratamentos	Repetições [1]							
	I		II		III		IV	
	antes	após	antes	após	antes	após	antes	após
A- manipueira a 100%	27	0	20	0	26	0	22	0
B- manipueira a 75%	22	0	22	0	25	0	26	0
C- manipueira a 50%	25	0	20	0	22	0	25	0
D-parathion-metílico	28	0	19	0	21	0	27	0
E- água (testemunha)	25	25	21	21	16	16	20	20

1 Os números tabulados correspondem ao somatório de pulgões que foram encontrados vivos, antes e depois do tratamento, nas quatro folhas apicais de cada ramo de laranjeira-doce (repetição).

Usou-se um delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e cinco tratamentos, assim caracterizados: A - pulverização com manipueira pura (100%); B - idem com maanipueira a 75% (com adição de 25% de água); C - idem com manipueira a 50% (adição de 50% de água); D - idem con inseticida comercial do grupo parathion-metílico, na dosagem de 1 ml por litro de água, e E - idem exclusivamente com água (testemunha).

As repetições foram constituídas por ramos de laranjeira-doce, medindo cerca de 40 cm, cujas folhas apresentavam-se colonizadas pelo pulgão negro. Ao todo, escolheram-se 20 ramos, sendo quatro para cada tratamento. Os ramos então selecionados foram removidos das respectivas copas, conduzidos a un galpão e ali acondicionados, individualmente, em garrafas de plástico com capacidade para 1 litro. Este acondicionamento se fez de modo que a extremidade amputada do ramo ficasse imersa em uma solução de NaCl a 5%, contida dentro da garrafa. Assim procedendo, manteve-se a vitalidade dos ramos durante o período experimental de 24h, a contar do momento da aplicação dos tratamentos, fato ocorrido meia hora após a remoção dos ramos e subsequente acondicionamento nas garrafas.

No interior do galpão, os 20 ramos foram separados em grupos de quatro. A cada grupo, aplicou-se o tratamento que lhe foi destinado mediante sorteio. Fez-se uma única pulverização , com auxílio de um pulverizador manual com capacidade para 0,5 litro.

Utilizou-se manipueira recém colhida em uma indústria de farinha e extraída a partir de cassava c. "Bujá". Acrescentou-se à manipueira o equivalente a 1% de açúcar, a fim de garantir-lhe uma melhor aderência, de conformidade com a recomendação de Ponte (1992).

Pouco tempo (cerca de 20 minutos) antes da aplicação dos tratamentos, foi feita a contagem dos pulgões que se encontravam sobre as quatro folhas aplicais de cada ramo, enquanto as demais folhas eram removidas da haste. Esta contagem foi feita por uma equipe de oidot pessoas. Apóss 24 h, foi feita a contagem dos pulgões vivos e mortos, presentes nas mesmas folhas. Deste modo, determinou-se, para efeito de avaliação, o índice de mortandade devido a cada tratamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao fazer-se a contagem de pulgões vivos e mortos, 24 horas após a aplicação dos tratamentos, verificou-se que todos los pulgões encontrados sobre as folhas tratadas com o inseticida convencional, bem assim com a manipueira nas concentrações de 100, 75 e 50%, estavam amrtos. Portanto, um índice de mortandade de 100%, contrastando com o índice de 0% observado sobre as folhas pulverizadas apenas com água, onde todos os pulgões encontrados estavam vivos. Acresça-se que, por ocasião da contagem inicial, o número de pulgões por cada folha aapical variava de três a oito. Os resultados gerais deste ensaio estão expostos na Tabela 1.

A flagrante diferença entre os resultados apresentados pelos tratamentos químicos e a testemunha dispensa uma análise estatística para efeito de conclusão.

Sendo a manipueira um resíduo industrial de baixíssimo custo, o seu aproveitamento no combate a essa praga dos citros e outras culturas representa uma opção tecnicamente eficaz a bem mais econômica do que o inseticida comercial, além da vantagem de não deixar resíduos tóxicos ao homen.

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo atestam cabalmente a eficiência da manipueira no controle do pulgão negro dos citros, confirmando uma ação inseticida já demonstrada em teste preliminar envolvendo a cochonilha ***Coccus hesperidium*** L., 1758.

REFERENCIAS

Franco, A., J. J. da Ponte, R. S.Silva e F.A.M. Santos. Dosegem de manipueira para tratamento de solo infestado por ***Meloidogyne***: II) Segundo experimento. Nemat Brasileeira 14: 25-32, 1990.

Ponte, J.J. da. Histórico das pesquisas sobre a utilização da manipueira (extrato líquido das raízes de mandioca) como defensivo agrícola. Fitopatol. Venez. 5 (1): 2-5, 1992.

Ponte, J.J. da e A. Franco. Manipueira, um nematicida não convencional de comprovada potencialidade. Public Soc. Brasil. Nemat. 5: 25-33, 1981.

Ponte, J.J. da, A. Franco e A.E.L. Pontes. Estudo sobre a utilização da manipueira, como nematicida, em condições de campo. Nemat Brasileira. 11: 41-47, 1987.

Ponte, J.J. da, A. Franco e J.H.R. Santos. Teste preliminar sobre a utilização da manipueira como inseticida. Rev. bras. Mand. 7 (1): 89-90, 1988.

Ponte, J.J. da, J. Torres e A. Franco. Investigação sobre uma possível ação nematicida da manipueira. Fitopatol bras. 4 (3): 431-434, 1979.

EFECTO DE *Clerodendrum phillipinum* SHAVER SOBRE *Atta insularis*

Zoila G. Trujillo, R. P. Pérez, L. Vázquez y Elina Massó

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

RESUMEN

Durante el año 1993 se evaluó el efecto de la planta conocida como mil flores ***Clerodendrum phillipinum*** *Shaver sobre poblaciones de bibijaguas (****Atta insularis****) localizadas en zonas residenciales. Se realizó un chequeo previo para conocer el nivel poblacional de la plaga mediante conteo de los insectos que entraban y salían de los bibijagüeros durante un minuto a partir de las 9 p.m. donde la actividad es mayor en las condiciones de Cuba. Además se evaluaron las afectaciones existentes sobre los sembrados aledaños a las viviendas. Próximo a cada agujero del bibijagüero se sembraron cinco plantas de* ***C. phillipinum.*** *Los resultados demostraron que dicha planta en sus inicios de desarrollo es afectada por la plaga disminuyendo dichas afectaciones con el decursar del tiempo donde se observó la disminución de las bibijaguas pasado los tres meses de sembrada. A los 6 meses no se observó actividad de la plaga. Las afectaciones en los sembrados aledaños a las viviendas disminuyeron hasta su desaparición.*

Palabras clave: Hormigas cortadoras de hojas, *Clerodendrum phillipinum*

ABSTRACT

During 1993, the effect of ***Clerodendrum phillipinum*** *shower tree also known as "mil flores", on the population of leaf-cutting ants Atta insularis, located in residential areas was evaluated. A previous check out was carried out to knew the plague's populous level. It consisted on counting the number of leaf-cutting ants that went in and went out of the net during a minute. This counting started at 9:00 pm when the activity of leaf-cutting ants is bigger according to Cuban conditions. Besides, the existing affectation on sown fields wich were near by houses were evaluated. Five trees of* ***Clerodendrum phillipinum*** *were planted next to each net's. The results showed that this tree is affected by the plague in its evolution's very first steps. However, these affectations disminished when the time passed by. As a result, the population of leaf-cutting ants was smoller in three months, and in the next three months, there were no plague's activity observed. The affectations in the sown fields that wee near-by houses were disminishing until their extinction.*

Key words. leaf-cutting ants, *Clerodendrum phillipinum*

INTRODUCCIÓN

La bibijagua u hormiga cortadora de hojas en Cuba, ***Atta insularis*** (Güerin) representa un grave peligro para diferentes cultivos, pues es capaz de defoliar plantas completas en poco tiempo, debido a que cortan las hojas para llevarlas a sus "nidos" donde cultivan un hongo del cuál se alimentan. Para combatir este insecto se han usado muchos métodos, entre ellos, el combate con medios mecánicos, la quema, inundaciones, gases venenosos, aplicaciones de soluciones de insecticidas y el uso del cebo nombrado MIREX (Martínez, 1964; y Hoh y Roche, 1965).

Montalván, (1992) comunicó que la planta ***Clerodendrum phillipinum*** Shaver, conocida comúnmente como mil flores al ser plantada en el jardín de su casa ahuyentaron las poblaciones de ***A. insularis*** (Bibijaguas).

C. phillipinum, es una planta perenne, se eleva a cuatro o cinco pies de altura, presenta hojas aovadas anchas que terminan en punta de medio palmo y en la cima de la planta la macolla de rositas blancas, rosadas o moradas, de poco olor. Se propaga con facilidad (Roig, 1965).

Esta plaga constituye un azote en las viviendas ya que las excavaciones que realizan para construir sus nidos afectan los cimientos de éstas.

El objetivo del presente trabajo estuvo encaminado a valorar el efecto que ocasiona la planta *C. **phillipinum*** sobre *A. **insularis.***

MATERIALES Y MÉTODOS

En el período comprendido de Febrero - Agosto de 1993 se valoró el efecto de la planta *C. **phillipinum*** Shaver sobre las bibijaguas, en residencias del Reparto San Agustín del municipio La Lisa en Ciudad de La Habana.

Se realizó un chequeo previo sobre las afectaciones en los sembrados con el uso de la escala de 0-5 grados (Piedra, 1980). El grado de daño se determinó por la fórmula de Towsend-Henberger (Ciba-Geygi, 1981).

La actividad de la plaga se determinó en horas nocturnas (a partir de las 9 p.m.), momento de mayor actividad de la misma, mediante el conteo de los insectos que entraban y salían de los huecos durante un minuto además de cuantificar el forrajeo. Se marcaron los agujeros activos y se sembraron 5 plantas al lado

de cada uno (figura 1), y se comparó con otra residencia donde no se sembró dicha planta (Testigo). Los cultivos afectados por esta plaga en el área donde se sembró la planta en estudio eran ***Citrus aurantium, Musa paradisiaca y Psidium guajaba***, y en el área testigo, ***Citrus aurantium, Tamarindum indica y Musa paradisiaca***. Las evaluaciones posteriores se realizaron a las 24, 72 horas y 7 días mantenidas con frecuencia semanal durante el período evaluado. Al final de la experiencia se realizaron excavaciones para comprobar la ausencia de la plaga.

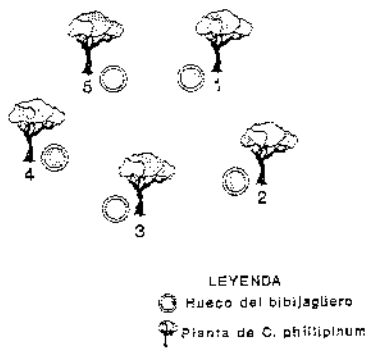


Figura 1. Croquis del experimento

Los datos de las evaluaciones fueron procesados mediante análisis de varianza y comparación de medias con un 5 % de probabilidad de error.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La planta *C. **phillipinum*** mostró daños provocados por *A. **insularis*** a partir de las 24 horas de plantada lo que motivó que en algunos casos se haya tenido que resembrar las mismas (figura 2), cesando estas afectaciones en un lapso de tiempo corto (15 días aproximadamente), después de lo cuál las poblaciones de bibijaguas y la actividad de forrajeo se mantuvieron inferiores, y se reflejó diferencias significativas con relación al área testigo.

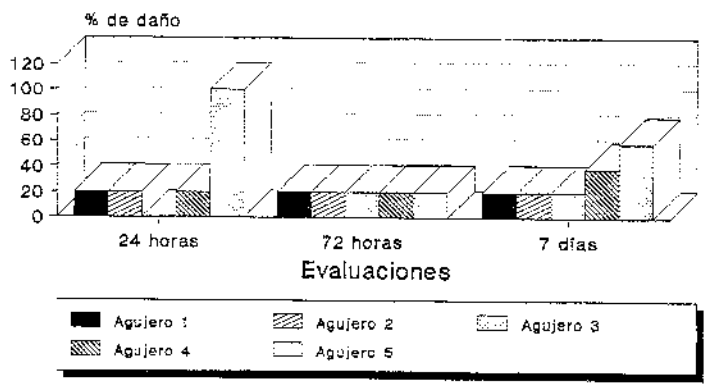


Figura 2. Daño provocado por *Atta insularis* sobre *Clerodendrum phillipinum*

Donde se sembraron las plantas de ***C. phillipinum*** desapareció la actividad del bibijagüero a los seis meses, lo cuál se comprobó con las excavaciones realizadas y en las cuales no se observaron jardines fungosos con actividad, lo que demuestra la influencia de esta planta sobre la actividad y desarrollo de ***A. insularis*** (figuras 3 y 4).

En la evaluación final de la experiencia, no se observaron daños foliares en los cultivos del área donde se sembró la planta *C. **phillipinum***, sin embargo en el área testigo se mantuvieron los mayores grados de daños sobre los cultivos sin poderse replantar los mismos, debido a la presencia de esta plaga.

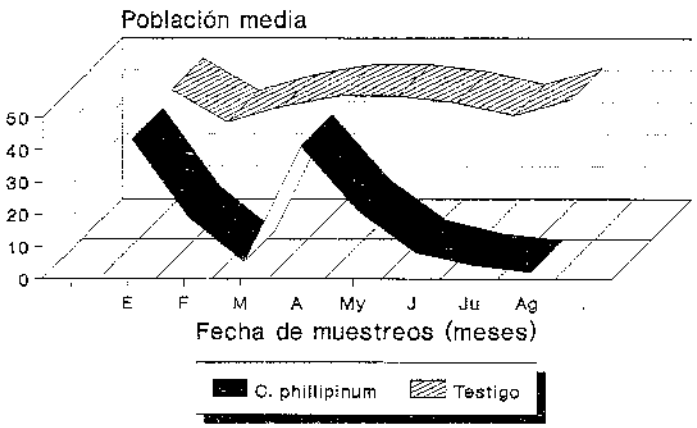


Figura 3. Efecto de *Clerodendrum phillipinum* sobre *Atta insularis*

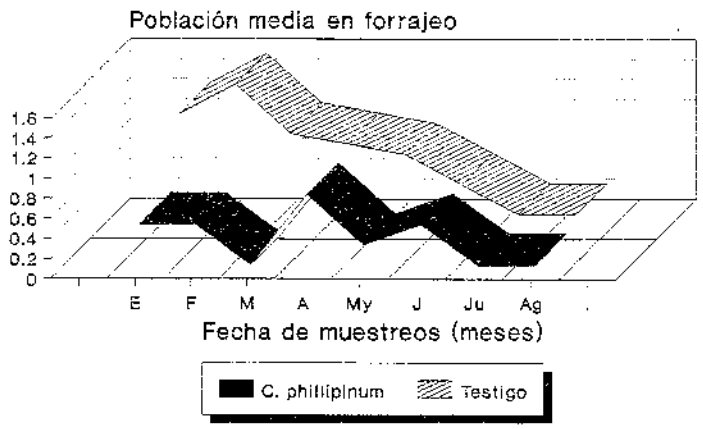


Figura 4. Comportamiento de la actividad de forrajeo de *Atta insularis*

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Montalvan, (1992) quién al sembrar *C. **phillipinum*** señaló que las bibijaguas no provocaron daños a los sembrados de patios y jardines y se eliminaron las afectaciones provocadas por estos insectos a los cimientos de la vivienda.

García (1995) obtuvo resultados satisfactorios en el combate de las bibijaguas con la planta Vetiber, recomendando la siembra de esta planta alrededor de los lugares donde habitan las bibijaguas.

López (1993) obtuvo resultados con extractos de ***Agdestes climatidae*** asperjados a las plantas afectadas por las bibijaguas donde observó disminuciones de la plaga posteriores a los

tratamientos y recomienda la siembra de ésta alrededor de los bibijagüeros con vistas a ahuyentarlas. Con ambas variantes se logra disminuir la incidencia de esta plaga.

Resultados similares fueron obtenidos por Hebling et al, (1991) citado por Bigi et al (1995), en bibijagüeros en condiciones de laboratorio donde suministró como alimento hojas de ***Canavalia ensiforme*** L. y obtuvieron como resultado la extinción del bibijagüero posterior a las 7 semanas del tratamiento.

Bigi et al (1995) corroboraron los efectos de los extractos de ***Canavalia ensiforme*** L. sobre ***Atta sexdens rubropilosa*** Forel. Los mejores resultados se obtuvieron con los extractos hexánicos y metanólicos con concentraciones de 300 mg / ml que afectaron significativamente la longevidad media de operarias de ***A. sexdens rubropilosa***, demostrando efectos tóxicos para las mismas.

Rosangela de Almeida (1995) en Brasil, estudió en condiciones de laboratorio el efecto tóxico de los extractos foliares de ***Melia azedarach*** L. sobre ***Atta sexdens rubropilosa*** Forel, en los que se utilizaron los extractos 0,0%, 12,5%, 25%, 35,5% y 5 %. Los resultados obtenidos indicaron que la curva de mortalidad fue proporcional al aumento de la concentración en el tiempo. Al final del período de exposición las mortalidades obtenidas fueron de 30%, 24,5%, 68,0%, 98,0% y 100%.

Todo ello demuestra lo beneficioso que resulta el uso de plantas y/o extractos de plantas para el combate de las bibijaguas, como una alternativa para pequeños productores y viviendas.

CONCLUSIONES

La planta ***Clerodendrum phillipinum*** Shaver conocida comúnmente como mil flores mostró efectos negativos sobre el desarrollo de ***A. insularis*** logrando la desaparición de la actividad del bibijagüero.

REFERENCIAS

Bigi, M.F.A.; Hebling, M.J.A.; Bueno, O.C.; Pagnocca, F.C.; Silva, O.A; Fernández, J.B. y Vieira, P.C. Investigaciones sobre efeitos toxicos de ***Canavalia ensiformis*** L., para formigas cortadeiras (***Atta sexdens rubropilosa,*** Forel, 1908, Hymenoptera: Formicicae). 15 Congreso Brasileiro de Entomoiogía. VI Encuentro Nacional de Fitossanitaristas. Ii Simposio Integrado de Manejo de Pragas. 12-17 de Marcos de 1995. p. 702.

Ciba-Geygy. Manual de Ensayos de Campo, 1981.

García, L. Estudios sobre el efecto de la planta Vetiber sobre bibijaguas. Informe al FORUM de Ciencia y Técnica del INIFAT, 1995.

López, E. Efecto de tóxicos de la planta ***Agdestes climatidae*** sobre bibijaguas. Informe al FORUM de Ciencia y Técnica del INIFAT, 1995.

Montalván, H. J., Comunicación personal, 1992.

Hoh, A. y R. Roche. Estudios preliminares sobre la biología, hábitos y métodos de lucha de la bibijagua (***Atta insularis***). Simposium sobre la Sanidad Vegetal en el cultivo de los cítricos, 1965.

Martínez, A. Plagas agrícolas de Cuba. pp-111-114, 1964.

Piedra, F. Estudios bioecológicos y control químico de ***H. virescens*** F. en el cultivo del tabaco. Informe final problema principal Estatal 04-1980. Archivo INISAV, 1980.

Rosangela de Almeida Pertile. Mortalidades de ***Atta sexdens rubropilosa*** Forel. Pelo Efeito tóxico do extracto foliar de ***Melia azedarach*** L. 15 Congreso Brasileiro de Entomología. VI Encuentro Nacional de Fitossanitaristas. Ii Simposio Integrado de Manejo de Pragas. 12-17 de Marcos de 1995. p. 706.

Roig, J . T. Diccionario botánico de nombres comunes.Tomo 2. p. 681, 1965.

REQUERIMIENTOS DE TEMPERATURA Y VIRULENCIA DE TRES HONGOS DEL SUELO SOBRE PLANTAS DE TABACO

Wendy Wong y Ana Fernández

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

RESUMEN

Entre las enfermedades que generalmente atacan las plantas de tabaco en la fase de semillero se encuentra el llamado "damping-off" el cual puede estar provocado por Phytophthora nicotianae, Sclerotium rolfsii y Pythium aphanidermatum. En este trabajo evaluamos la influencia de la temperatura sobre la velocidad del crecimiento micelial y la virulencia sobre plantas de tabaco de P. nicotianae, S. rolfsii y P. aphanidermatum. Para los tres patógenos las temperaturas más favorables fueron 25, 30 y 35$C a 10$C la velocidad del crecimiento micelial disminuyó significativamente en todos los casos. P. aphanidermatum y S. rolfsii fueron los que más afectaciones provocaron en las plantas causando un 75% de mortalidad, P. nicotianae de tomate fue menos virulento aunque también provocó afectaciones (56,25%).

Palabras clave: ***Phytophthora nicotianae, Sclerotium rolfsii, Pythium aphanidermatum,*** **tabaco, temperatura, virulencia**

ABSTRACT

Among the diseases that generally attacks tobacco plants in the seedbed fase we find the "damping off", wich may be provoke by Phytophthora nicotianae, Sclerotium rolfsii and Pythium aphanidermatum. In this work we evaluate the influence of temperature on the speed of micelial growth and virulence of Phytophthora nicotianae, Sclerotium rolfsii and Pythium aphanidermatum over tobacco plants. For the three patogens the more favorable temperatures were 25, 30 and 35 °C, at 10 °C the speed of the micelial growth decrece significatly in all of cases. Sclerotium rolfsii and Pythium aphanidermatum were the ones that provoke more damage on the plants, causing a 75% of mortality. P. nicotianae of tomato was less virulent even though it also provoke afectations (56,25%).

Key words: ***Phytophthora nicotianae, Sclerotium rolfsii, Pythium aphanidermatum,*** **tobacco, temperature, virulence.**

INTRODUCCIÓN

En la fase de semilleros, el cultivo de tabaco es atacado por patógenos del suelo que provocan la enfermedad denominada "damping-off", que es ocasionada frecuentemente por *Pythium* spp, *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan y, en menor cuantía, también incide *Sclerotium rolfsii* entre otros patógenos fungosos (Lucas, 1975).

Las afectaciones de los semilleros por "damping-off" se observan anualmente y causan numerosas pérdidas que generalmente no son cuantificadas y que con frecuencia son devastadoras (Shew y Lucas, 1991).

La literatura mundial disponible sobre los hongos fitopatógenos del suelo, en su inmensa mayoría está referida a países desarrollados en condiciones climáticas muy diversas y además con características edáficas diferentes (Camara, 1987). Por eso es importante conocer el comportamiento de diversas especies de hongos fitopatógenos del suelo en las zonas tropicales.

En Cuba se han realizado algunos estudios en este sentido sobre todo con *Rhizoctonia solani* Kühn, pero sobre *Pythium* spp. y *Sclerotium rolfsii* la información es escasa, con excepción de los trabajos realizados por Camara en 1987, quien abordó más profundamente la especie *Rhizoctonia solani*.

En los últimos años se ha incrementado la incidencia de patógenos de suelo en áreas tabacaleras tanto en la región central, oriental e incluso en la provincia de Pinar del Río.

El objetivo de este estudio fue conocer los requerimientos de temperatura en el desarrollo de *Pythium aphanidermatum, Phytophthora nicotianae* y *Sclerotium rolfsii*, así como comparar su patogenicidad sobre plantas de tabaco.

MATERIALES Y MÉTODOS

Influencia de la temperatura sobre la velocidad del crecimiento micelial de patógenos fungosos del suelo.

Se utilizaron aislamientos de *P. nicotianae* y *Sclerotium rolfsii* obtenidos de plantas de tomate y *P. aphanidermatum* aislado de plantas de tabaco, todos mantenidos en placas con medio de agar papa dextrosa.

Para medir el crecimiento micelial se colocó un disco de agar con micelio de 7 mm de diámetro en el centro de las placas

Petri con medio papa dextrosa agar y se incubaron a 10, 20, 25, 30 y 35 °C. Diariamente se midió el crecimiento de la colonia (mm) durante 7 días. Se emplearon tres réplicas por cada variante.

Se realizaron análisis de varianza simple con test de significación de Newman Keuls al 5% de probabilidad.

Virulencia de tres hongos del suelo en plantas de tabaco.

Se utilizaron plántulas de tabaco de la variedad Corojo, de 20 días de germinadas las semillas. Posteriormente se trasplantaron cuatro plántulas a los recipientes con el suelo Ferrralítico rojo esterilizado y se incubaron a 28 + 2 °C bajo condiciones de iluminación artificial y elevada humedad. Los patógenos utilizados fueron los mismos que en el experimento anterior.

Las plántulas fueron decapitadas e inoculadas colocándoles un disco de micelio de 5 mm de diámetro sobre la herida. Durante el experimento fueron mantenidas a temperatura ambiente y en condiciones de adecuada humedad. Fueron observadas diariamente para detectar los síntomas de la enfermedad y cuantificar las plántulas afectadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Influencia de la temperatura sobre la velocidad del crecimiento micelial de patógenos fungosos del suelo.

El requerimiento de temperatura fue muy similar para los tres hongos estudiados (Figuras 1, 2 y 3), aunque *P. aphanidermatum* y S. rolfsii crecieron más rápidamente que *P. nicotianae*. El crecimiento óptimo de este último patógeno ocurrió a temperaturas de 30 y 35 °C y a 25, 20 y 10 °C disminuyó significativamente.

Para *P. aphanidermatum y S. rolfsii*, el crecimiento fue muy favorable a 25, 30 y 35 °C sin diferencias entre estas. Mientras que a 10 y 20 °C el desarrollo del micelio fue más lento para ambos.

El estudio de la temperatura ha sido siempre de interés para numerosos investigadores, por la importante influencia que este factor ambiental ejerce sobre el desarrollo de los microorganismos. En pruebas de laboratorio, la temperatura óptima para el crecimiento micelial de *P. aphanidermatum* fue de 32 a 36°C (Lo y Ling, 1990). Se ha comprobado que *S. rolfsii* también requiere temperaturas altas para su desarrollo, lo que fue demostrado por Camara en 1987 quien señaló temperaturas óptimas entre 28 y 32 °C, aunque en nuestros ensayos se observó también un desarrollo satisfactorio a 35 °C. Según este autor a 10 $C el patógeno no se desarrolló, incluso a las 72 horas, lo que no coincide con nuestros resultados, ya que a esta temperatura en ese mismo período de tiempo el crecimiento micelial fue superior a los 10 mm.

Un rango de temperatura de 25 a 35°C es adecuado para el desarrollo micelial de *P. nicotianae* (Pérez, 1990; Hall, 1993). El óptimo de temperatura varía entre las especies de *Pythium* spp. y se señala que para *P. aphanidermatum* es de 35 °C (Shew y Lucas, 1991), lo que concuerda con nuestros estudios.

Virulencia de hongos de tres del suelo en plantas de tabaco.

Las pruebas realizadas con los tres hongos del suelo para determinar su patogenicidad sobre plantas de tabaco de la variedad Corojo se reflejan en la figura 4.

Se demostró que existe variabilidad patogénica entre los aislados probados los cuales mostraron una elevada virulencia. La mortalidad de las plantas fue de un 75 % para *P. aphanidermatum* y *S. rolfsii* y para *P. nicotianae* fue de un 56,25%. El más virulento fue *P. aphanidermatum* seguido de *S. rolfsii* y, por último, *P. nicotianae* de tomate.

Los síntomas de la enfermedad y muerte de las plantas se observaron primero en las plantas inoculadas con *P. aphanidermatum* (segundo día), posteriormente en *S. rolfsii* (tercer día) y luego en *P. nicotianae* (cuarto día). La enfermedad progresó aceleradamente con el transcurso del tiempo, pero fue más acentuada en los aislados más virulentos.

Los síntomas que provocaron estos hongos en las plantas de tabaco fueron muy similares, afectando las raíces y las partes basales del tallo, produciendo una podredumbre carmelita acuosa y blanda; las posturas se cayeron y quedaron postradas en el suelo

P. aphanidermatum puede provocar pérdidas de más del 20 % en algunos campos de tabaco, principalmente en los semilleros (Van der Plaats-Niterink, 1981). Csinos y Bertrand en 1994, en un estudio sobre distribución de razas en Georgia, observaron diferencias patogénicas de los aislados cuando fueron inoculados sobre diferentes variedades de tabaco. *Sclerotium rolfsii* puede causar pérdidas de hasta un 10 % en campos de tabaco; este patógeno ataca aproximadamente a 200 especies de plantas (Punja, 1985), e incluso en algunos cultivos como el kiwi ha provocado hasta el 100 % de mortalidad (Raabe, 1988). La variabilidad patogénica de *P. nicotianae* fue observada entre 8 aislamientos obtenidos de dos regiones (Cuba y Estados Unidos), entre los que se encuentran algunos muy virulentos (Ricci et al., 1992).

CONCLUSIONES

La temperatura ejerce un efecto marcado en el desarrollo micelial de *P. nicotianae, P. aphanidermatum* y *S. rolfsii* y el rango óptimo se encuentra entre 25 y 35°C. En temperaturas bajas como 20 y 10 °C el crecimiento de los hongos fue menor en todos los casos.

La velocidad del crecimiento micelial fue superior en *P. aphanidermatum* y *S. rolfsii*, alcanzando el máximo al segundo y tercer día del ensayo.

P. aphanidermatum resultó ser el aislado más virulento sobre el tabaco de los aislados probado; *S. rolfsii* también causó severas afectaciones pero en menor cuantía y el aislado de *P.*

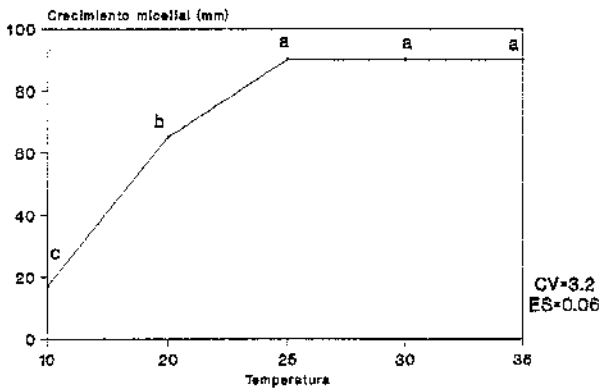


Fig 1. Efecto de la temperatura sobre la velocidad de crecimiento micelial de *Pythium aphanidermatum*.

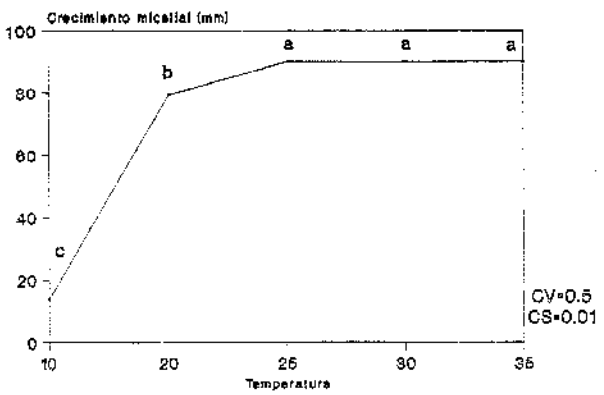


Fig 2. Efecto de la temperatura sobre la velocidad de crecimiento micelial de Sclerotium rolfsii.

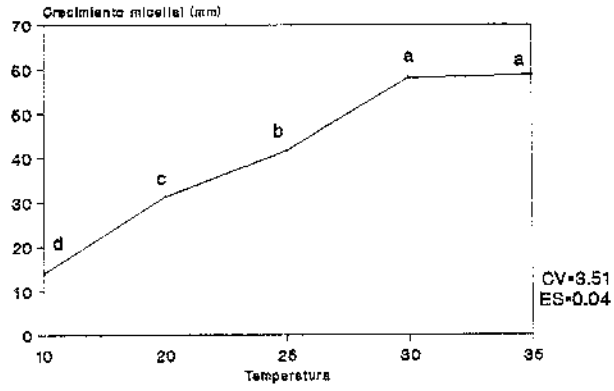


Fig 3. Efecto de la temperatura sobre la velocidad de crecimiento micelial de Phytophthora nicotianae.

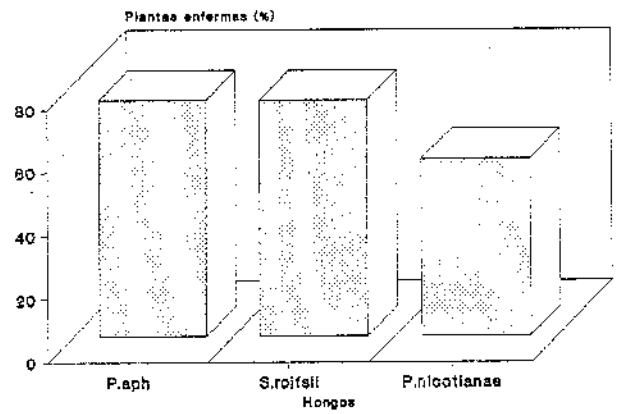


Fig 4. Patogenicidad de tres hongos de suelo sobre plantas de tabaco.

nicotianae de tomate, aunque menos agresivo, también fue patogénico sobre plantas sensibles de tabaco.

REFERENCIAS

Csinos, A. S. and Bertrand, P. F. Distribution of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* races and their sensitibity to metalaxil in Georgia. Plant Disease 78: 471-474, 1994.

Camara, M. Biología, ecología y métodos de lucha contra hongos fitopatógenos del suelo bajo condiciones tropicales. Tesis para la obtención del grado científico de Candidato a Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Central de las Villas. Facultad de Ciencias Agrícolas. Departamento de Sanidad Vegetal. Ciego de Avila., 1987, 51 p.

Hall, G. An integrated approach to the analysis of variation in *Phytophthora nicotianae* and a redescription of the species. Mycol. Res. 97: 559-574, 1993

Lucas, G. B. Enfermedades del tabaco. Instituto del libro. Edición Revolucionaria. 1975.

Pérez, M. C. Biología, Ecología y Métodos de lucha contra *Phytophthora nicotianae* var. *parasítica* Waterhouse. Tesis presentada en opción al grado científico de Candidato a Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Central de las Villas. Universidad Central de las Villas. Facultad de Ciencias Agrícolas. Instituto Superior Agrícola. Ciego de Avila, 1990.

Punja, Z. K. The biology, ecology and control of *Sclerotium rolfsii*. Annu. Rev. Phytopathol. 23: 97-127, 1985

Raabe, R. D. *Sclerotium rolfsii*. Crown and root rot of kiwi (*Actinidia chinensis*). Plant Disease 72(12): 1077, 1988

Ricci, P.; Tretin, F.; Bonnet, P.; Venard, P.; Mounton-Perronnet and Fard Bruneteau, M. Differential production of parasitein, on elicitor of necroses and resistance in tobacco by isolates of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. Plant Pathology 41: 298-307, 1992

Shew, H. D. and Lucas, G. B. Compendium of tobacco disease. APS PRESS. The American Phytopathologycal Society. 17-24, 1992.

Van der Plaats-Niterink, A. J. Monograph of the genus *Pythium*. Stud. Mycol. 21: 1-242, 1981

ZONIFICACIÓN DE *Alternaria solani* EN PAPA EN LA PROVINCIA DE LA HABANA

Guadalupe Gómez [1], Lérida Almaguel[1], S. Jiménez[1], Irina Secada [2] y J. Cortiñas [1]

(1) Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 No. 514 e/ 5ta. B y 5ta F. Playa, Ciudad de La Habana. CP 11600
(2) Instituto de Meteorología. Apartado 17032, La Habana. CP 11700.

RESUMEN

*Se zonificó la provincia de La Habana, según el comportamiento de **Alternaria solani** y el clima, en el cultivo de la papa. Con dicho objetivo fue usada la tasa de infección logística de la enfermedad ("r"), la frecuencia mensual de días con temperaturas mínimas _ 18°C y el número de períodos favorables para su desarrollo. Los análisis de componentes principales y discriminantes fueron aplicados para lograr la agrupación de los territorios. La provincia fue dividida en dos zonas, una de ellas con la "r" menor, que agrupa a Güines y Melena del Sur y la otra con la "r" mayor, representada por Güira de Melena, Alquízar, Artemisa, Quivicán, San Antonio de los Baños y Batabanó. Los resultados obtenidos pueden ser usados para una mejor aplicación de los métodos de pronóstico del tizón temprano y la metodología desarrollada puede ser utilizada con el mismo fin para otros agentes nocivos.*

Palabras clave: zonificación, *Alternaria solani*, tizón temprano, tasa de infección logística.

ABSTRACT

*The development of **Alternaria solani** in relation with climate conditions was used to get the regionalization of potato cultivation zones of Havana province. The logistic infection rate ("r"), the monthly frequency of days with minimal temperatures _18_C and the number of favorable development periods data were used. Multivariate techniques (principal components and discriminate analysis) were applied to get grouping zones. Finally, the Havana potato production areas was divided into two zones, one of them with lower "r", included G_ines y Melena del Sur counties and the other one with higher "r", grouped G_ira de Melena, Alquízar, Artemisa, Quivicán, San Antonio de los Baños and Batabanó counties. This results could be used in potato early blight forecast methods better application and by the other hand, the methodology developed could be applied, with the same purpose, on another pathogens.*

Key words: zonification, *Alternaria solani*, potato early blight, logistic infection rate.

INTRODUCCIÓN

Existen diversas clasificaciones de las diferentes partes que componen la biosfera, ejemplos de ello los tenemos en la tipificación de los suelos (Bennett y Allison, 1928; Hernández et al., 1971 y 1975; Hernández M., 1984 y Mesa et al., 1982), el clima (Arveladze et al., 1983; Lecha y Florido, 1989; Lerch, 1984 y Samek y Travieso, 1968) y la vegetación (León, 1946; Lima et al., 1988 y Paretas, 1990); sin embargo, aunque existen resultados al respecto acerca de estudios relacionados con zonificación de plagas en otros países (Hulbert y Matthes, 1988; Hulbert, 1989; Kosenkov, 1977 y Poon et al., 1982), en Cuba no se había abordado esta temática.

A finales de la década del 70 comenzaron los trabajos de señalización y pronóstico de los organismos nocivos en los cultivos agrícolas y se crearon a nivel nacional un número considerable de Estaciones Territoriales de Protección de Plantas (ETPP). Se diseñó un sistema de trabajo basado en la implantación de metodologías (INISAV, 1978), lo que condujo a la eliminación de los programas de tratamientos químicos y por tanto a un considerable ahorro de los insumos de plaguicidas.

Este primer paso en la organización fitosanitaria del país, se fue adecuando a partir de resolver los aspectos más débiles, en particular la sustitución de algunas de dichas metodologías realizadas en base a búsquedas bibliográficas, por aquellas elaboradas a partir de nuestros resultados científicos, como es el caso de los métodos para el pronóstico del moho azul del tabaco (Rodríguez y Gómez, 1984), el tizón tardío en papa y tomate (Rodríguez et al., 1989), los métodos para señalizar la polilla de la col (Massó, 1981), la palomilla del maíz (Piedra, 1981), el ácaro del moho en cítricos (González et al., 1981) y otros. Desde aquella época, se previó la necesidad de trabajar en la regionalización de las plagas más importantes en los principales cultivos, pero no se contaba con resultados concretos.

Las ETPP poseen una amplia información biológica en diferentes cultivos relacionada con la fenología de las plantas,

variedades, tipos de suelos, datos climáticos y dinámicas poblacionales de las plagas, las cuales pueden ser utilizadas para regionalizar las provincias y de esta forma aumentar los conocimientos sobre el comportamiento de los agentes nocivos en sus territorios y vincular dichos resultados con el pronóstico y las estrategias de control.

El objetivo de nuestro trabajo fue zonificar el tizón temprano de la papa en la provincia de La Habana atendiendo fundamentalmente a su relación con algunos factores meteorológicos, aun cuando la enfermedad está muy relacionada con factores agrotécnicos como la época de siembra, procedencia de la semilla, fertilización, riego y variedades (INISAV, 1990) y proporcionar una metodología que pueda ser utilizada con el mismo fin en otra región u otro organismo nocivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recopilaron las dinámicas de desarrollo del tizón temprano de la papa en ocho Empresas de Cultivos Varios (ECV) de la provincia de La Habana, según el monitoreo realizado por las ETPP a nivel de campos estacionarios (CE), desde la campaña del cultivo 1985-86 hasta 1990-91.

La intensidad de ataque alcanzada por la enfermedad se calculó según la metodología de señalización establecida para dicha patología (Piña, 1978), en las dinámicas de las tres fechas de siembra (temprana, intermedia y tardía) del calendario del cultivo en Cuba. El método empleado para correlacionar el comportamiento de la enfermedad con el clima siguió los criterios generales de Kosenkov (1978), o sea una valoración inicial sobre la información recopilada, selección de los datos y análisis con técnicas multivariadas para el procesamiento matemático.

Primero se realizó una selección del número de CEs donde se tuvo en cuenta un análisis por ECV referente a la relación entre el porcentaje de la intensidad y distribución de la enfermedad, así como la aparición para cada fecha de siembra. La tasa de infección logística (Log-I) (Van der Plank, 1963) fue calculada para cada una de las dinámicas de desarrollo de la enfermedad y se determinó un valor promedio por campaña del cultivo por cada ECV.

Para cada campaña del cultivo, basado en los datos de las estaciones meteorológicas asociadas a los diferentes territorios y a la información que se conoce sobre las variables meteorológicas que más influyen en la aparición y desarrollo de la enfermedad (Gómez et al, 1989), se calculó la frecuencia mensual desde noviembre hasta abril (N-A), desde diciembre hasta febrero (D-F) y desde enero hasta febrero (E-F) del número de días con temperaturas mínimas igual o superior a 18°C (T); número de períodos con 2-3 días consecutivos con temperaturas mínimas igual o superior a 18°C (X), número de días con humedad relativa media igual o superior a 84% (H) y número de días con humedad relativa mínima igual o superior a 60% (M).

La variable biológica (Log-I) y las climáticas (T, X, y H) se correlacionaron, para lo cual se tuvo en cuenta el tipo de siembra. La matriz de correlaciones totales fue calculada y a las variables seleccionadas según la significación, se le realizó un análisis de componentes principales, utilizando el paquete estadístico STATITCF.

Otros tres análisis de componentes principales también fueron realizados, esta vez separados los CE por época de siembra y para dilucidar si las agrupaciones eran correctas, se hizo un análisis discriminante y se calculó el estadígrafo a partir de la matriz de distancias de Mahalanobis (Linares, 1990) para demostrar la diferencia estadística entre los grupos formados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según el resultado de la matriz de correlaciones totales (tabla 1) las variables significativas fueron la tasa de infección logística y las frecuencias mensuales del número de días con temperaturas mínimas, igual o superior a 18°C y el número de períodos con 2-3 días consecutivos con temperaturas mínimas igual o superior a 18°C.

La tabla 2 nos muestra los valores propios y la contribución de cada eje a la varianza total; nótese que con los dos primeros ejes existe un 94% de aporte a la varianza total. La ubicación de los CEs en el espacio y su agrupación lógica (figura 1) está en función de las campañas del cultivo, lo cual nos indicó la necesidad de trabajar con los diferentes tipos de siembra, pues nuestro interés es la agrupación por localidades.

El resultado de los tres análisis de componentes principales que fueron realizados a los CEs separados por los diferentes tipos de siembra, puede observarse en la tabla 3, donde se muestran los valores propios y la contribución de los ejes a la varianza total para cada caso y la ubicación espacial de cada uno de ellos se pueden ver en las figuras 2, 3 y 4.

Aunque para los tres tipos de siembra la contribución de los dos primeros ejes a la varianza total son valores considerables, cuando analizamos la ubicación en el espacio de cada uno de ellos, es solo en la fecha de siembra intermedia donde los individuos (CE) se separan en forma lógica en dos grupos, uno de ellos (Güines y Melena del Sur) caracterizado por tener los valores más bajos en la tasa de infección logística (0.156) y donde las temperaturas mínimas son más bajas (20.1°C) y otro (Güira de Melena, Artemisa, Alquizar, Quivicán, San Antonio de los Baños y Batabanó) que tiene la tasa de infección logística mayor (0.163) y las temperaturas mínimas superiores (23.8°C); todo lo cual está en correspondencia con los estudios previos realizados en Cuba sobre los factores del clima que más influyen en el desarrollo epidemiológico del tizón temprano (Piña, 1978; Gómez et al, 1989).

El discriminante que se realizó para saber si la separación en esos dos grupos era correcta, arrojó un 88.1% de buena clasificación y el estadígrafo calculado a partir de la distancia de Mahalanobis resultó ser significativo.

Tabla 1. Matriz de correlaciones totales entre la variable biológica (Log-I) y las variables climáticas.

	Log-I	TN-A	TD-F	TE-F	XN-A	XD-F	XE-F	HN-A	HD-F	HE-F	MN-A	MD-F	ME-F
Log-I	1.000												
TN-A	0.514*	1.000											
TD-F	0.516*	0.942	1.000										
TE-F	0.598*	0.936	0.903	1.000									
XN-A	0.473*	0.952	0.926	0.862	1.000								
XD-F	0.481*	0.892	0.974	0.860	0.921	1.000							
XE-F	0.529*	0.903	0.884	0.968	0.873	-0.888	1.000						
HN-A	-0.428	-0.512	-0.478	-0.549	-0.458	-0.417	-0.522	1.000					
HD-F	-0.279	-0.426	-0.313	-0.450	-0.311	-0.212	-0.389	0.886	1.000				
HE-F	-0.189	-0.330	-0.280	-0.390	-0.213	-0.192	-0.350	0.756	0.879	1.000			
MN-A	-0.365	-0.275	-0.285	-0.348	-0.180	-0.186	-0.291	0.498	0.482	0.480	1.000		
MD-F	-0.268	-0.256	-0.195	-0.281	-0.156	-0.057	-0.180	0.448	0.569	0.448	0.873	1.000	
ME-F	-0.203	-0.158	-0.170	-0.226	-0.062	-0.054	-0.142	0.323	0.469	0.510	0.804	0.857	1.000

$\alpha = 0.01$

Tabla 2.-Valores propios y contribución de cada eje a la varianza total.

	1	2	3	4	5
Valores propios	5.89	0.68	0.21	0.12	0.06
Varianza total (%)	84.2	9.9	3.0	1.8	1.8

Tabla 3.- Valores propios y contribución de cada eje a la varianza total (fecha de siembra temprana, intermedia y tardía).

Fecha de siembra		EJES				
		1	2	3	4	5
Temprana	**Valores propios**	2.51	1.63	0.52	0.30	0.01
	Varianza total (%)	50.3	32.8	10.6	6.1	0.3
Intermedia	**Valores propios**	2.11	1.58	0.84	0.42	0.04
	Varianza total (%)	42.2	31.6	16.9	8.3	0.8
Tardía	**Valores propios**	2.41	1.56	0.63	0.37	0.01
	Varianza total (%)	48.2	31.2	12.8	7.4	0.4

Nuestros resultados aumentan los conocimientos sobre el comportamiento del tizón temprano en el territorio estudiado y brindan un método de trabajo que puede ser empleado para otro agente nocivo u otro territorio, además de permitir una mejor aplicación del pronóstico de la enfermedad.

CONCLUSIONES

La provincia de La Habana resultó dividida en dos zonas de acuerdo al comportamiento del tizón temprano y el clima en el cultivo de la papa.

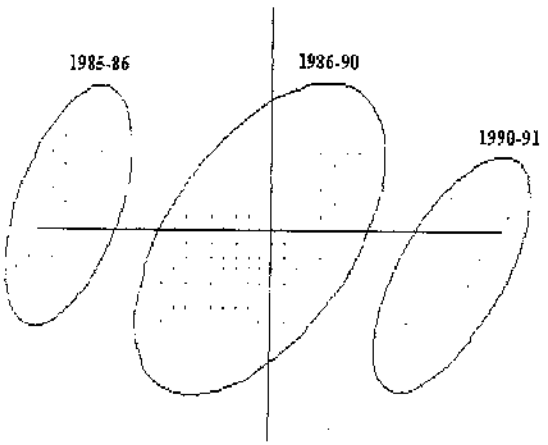


Figura 1. Ubicación de los campos estacionarios en los ejes de coordenadas dados en el análisis de componentes principales

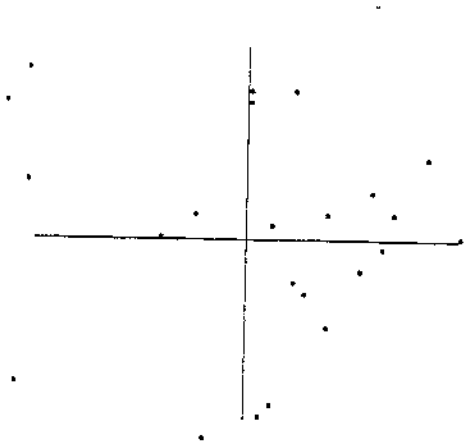


Figura 2. Ubicación de los campos estacionarios en la fecha de siembra temprana

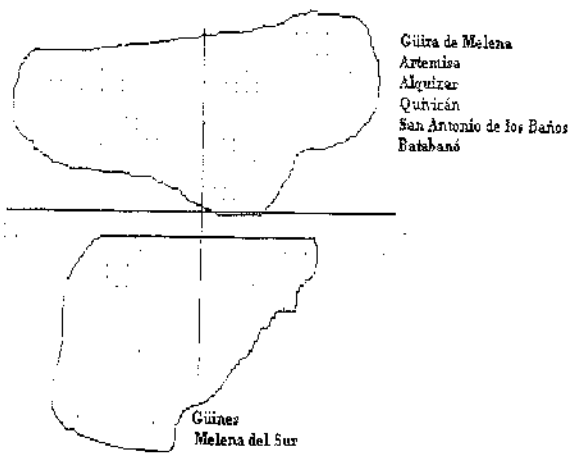


Figura 3. Ubicación de los campos estacionarios de fecha de siembra intermedia

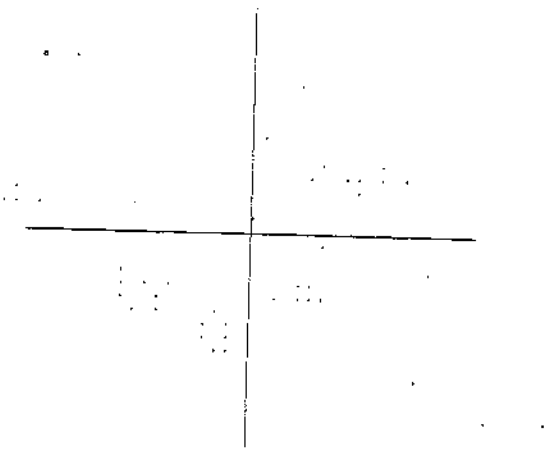


Figura 4. Ubicación de los campos estacionarios de fecha de siembra intermedia

REFERENCIAS

Arveladze, Gudusha; Menéndez, C.; Palenzuela, Enma y Planas, A. Algunas particularidades de la distribución de las precipitaciones en Cuba. Instituto de Meteorología, Academia de Ciencias de Cuba, 20p, 1983.

Bennett, H.H. and Allison, V.R. The Soils of Cuba. Tropical Plant Research Foundation 1350 B Street, Southwest, Washington, D.C., 375p, 1928.

Gómez I., Guadalupe; Rodríguez, J.; Pedroso, Ana; Sarmiento, A.; Castellanos, L.; González, Mercedes; Pico, M.V. y Alvarez, Consuelo. Pronóstico a corto plazo de ***Alternaria solani*** en papa y tomate. Informe final de tema, Cod. 519-06-02. INISAV, MINAGRI, 1989.

González, Nancy; Massó V., Elina; Mollineda, Mayda; Murguido, C. y Martínez, P. Metodología para la señalización de las principales plagas de los cítricos. III Reunión nacional metodológica sobre señalización y pronóstico, Tomo I, p.6-19. Ciudad de la Habana, Cuba, enero, 1981.

Henández, Mayda; Mesa, A.; Castellano, N.; Portal, María del Carmen y Tremols, A.J. División zonal edafoclimática de Cuba. Agrotecnia de Cuba 16 (1): 93-103, 1984.

Hernández, A.; Ascanio, O. y Pérez, M. J. Informe sobre el mapa genético de suelos de Cuba en escala 1:250000. Revista Agricultura IV(1):1-21, 1971.

Hernández, A.; Pérez J., J.M.; Ascanio, O.; Ortega, F.; Avila, L.; Cárdenas, A.; Marrero, A.; Castro, N. y Baisre, J. II Clasificación genética de los suelos de Cuba. Revista de Agricultura VIII (1): 47-63, 1975.

Hulbert, D. and Matthes, P. Apuntes y experiencias sobre el trabajo con bases fenológicas en la protección de plantas de la RDA. Nachrichtenblatt furden Pflanzenschutz in der DDR 42(4): 80-84, 1988.

Hulbert, D. Small- area zoning of the German Democratic Republic - Basis of decentralised forecasting of fungal and animal pest in arable farming. Nachrichtenblatt furden Pflazenschutz in der DDR 43(11): 223-227, 1989.

INISAV. III Reunión nacional metodológica sobre señalización y pronóstico. Ciudad de la Habana, Cuba, enero, 1981.

INISAV. Informe del Taller Nacional sobre ***Alternaria solani*** en papa y tomate. LPSV de Villa Clara. 1990.

Kosenkov, I. I. Análisis de la información ecológica y agrometeorológica para la regionalización objetiva del territorio. Boletín VIZR- Leningrado 41: 64-69, 1977.

Kosenkov, I. I. Indicaciones metodológicas para la regionalización fitosanitaria del territorio y extracción de las características informativas con aplicación de MCE. Metodicheskie Ukazaniya , VIZR- Leningrado, p.1-43, 1978.

Lecha, B. L. y Florido, T. A. Tipificación del régimen térmico del aire en Cuba. Revista Cubana de Meteorología 2(1): 34-41, 1989.

Lecha, B.L. y Florido, T. A. Principales características del régimen térmico del archipiélago cubano. Editorial Academia, La Habana, Cuba, 17p, 1989.

León, H. Flora de Cuba. Centr. Ocas. Mus. Historia Natural, Colegio La Salle. Vol I, No. 8, La Habana, Cuba, 556p, 1946.

Lerch, G. Diagramas climáticos de Cuba. Academia de Ciencias de Cuba, La Habana, 42p, 1984.

Lima, H.; Cornide, María Teresa; Alvarez, Miriam y Fromsta, E. Clasificación edafoclimática de las localidades citrícolas de Cuba. Agrotecnia de Cuba 20 (2): 63-74, 1988.

Linares, Gladys. Análisis de Datos. Ministerio de Educación Superior. La Habana, Cuba, 590p, 1990.

Massó Villalón, Elina. Polilla de la col. III Reunión nacional metodológica sobre señalización y pronóstico, Tomo I, p.23-24. Ciudad de la Habana, Cuba, enero, 1981.

Mesa, A.; Suarez, O.; Hernández, Mayda; Tremols, J. y Clemente, B. Evaluación de los suelos de Cuba referida a 35 cultivos fundamentales. Agrotecnia de Cuba 14(2): 23-32, 1982.

Paretas, J. J. Ecosistemas y regionalización de pastos. Inst. de Inv. de Pastos y Forrajes, MINAGRI, Cuba, 178p, 1990.

Pérez, E.; Piedra, Felicia y Blanco, E. ***Spodoptera frugiperda*** en maíz. Boletín Técnico (La Habana) (2):71, 1997.

Piña, M. A. Metodología para la señalización del tizón temprano, ***Alternaria solani*** en papa y tomate. INISAV, MINAGRI, Cuba, 1978.

Poon, E. S.; Lev, L.S.; Liv, G. and Chens, W. T. Pathogeographic studies of sugarcane downy mildew in Taiwan. I. Historical analysis, regional pathogeographic classification and some considerations of diseases atributes of the epidemies. Ann. Phythopathol. Soc. Japan 48: 153-161, 1982.

Rodríguez, J. y Gómez, Guadalupe. Pronóstico a corto plazo del moho azul del tabaco en Cuba. Ciencia y Técnica en la Agricultura, Serie Protección de Plantas 74 (4): 103-116, 1984.

Rodríguez, J.; Gómez, Guadalupe; Castellanos, L.; Gonzalez, Mary Luz; Figueroa, Ines; Sarmiento, A.; Alujas, Daysi y Martin, Ester L. Pronóstico a corto plazo del tizón tardío en papa y tomate. Informe de Proyecto terminado, Cod. 5190601, INISAV, MINAGRI, quinquenio 1986-90.

Samek, V. y Travieso, A. Climarregiones de Cuba. Revista Agricultura 2(1): 15-23, 1968.

Van der Plank. Plant Diseases, Epidemic and Control. New York, Academic Press, 365 p., 1963.

ESTUDIO DE LA RESIDUALIDAD DE INSECTICIDAS Y FUNGICIDAS EN FRUTOS CÍTRICOS (*Citrus sinensis*) Osbeck

R. Hernández, A. Sisinno, A. Lazo y R. González

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

RESUMEN

Se estudió la cinética de desaparición de cada uno de los plaguicidas siguientes: dimetoato, malation, carbarilo, bromopropilato, zineb y benomilo en naranja, aplicando esos plaguicidas a razón de 0,04, 0,08, 0,2, 0,035, 0,25 y 0,05 por ciento de ingrediente activo respectivamente, sobre las plantas comprendidas en cuatro parcelas de 40 árboles cada una. Excepto al carbarilo que se aplicó con un volumen final de 9 l/planta los demás plaguicidas fueron aplicados a 12 l/planta. Los muestreos se llevaron a cabo durante 25 días, analizándose el plaguicida correspondiente en la corteza y la pulpa de los frutos. Las determinaciones analíticas de los residuos se realizaron, para el caso de dimetoato, malation y bromopropilato por cromatografía gaseosa, mientras que carbarilo se analizó por cromatografía liquida de alta resolución y zineb y benomilo por espectrofotometría. En los casos de malation, bromopropilato y benomilo las concentraciones iniciales en los frutos fueron inferiores a los Límites Máximos de Residuos (LMRs) correspondientes. Dimetoato alcanzó el nivel correspondiente al LMR después de 15 días de la aplicación, carbarilo después de los 12 días y zineb después de los 5 días. Los plaguicidas dimetoato y benomilo fueron encontrados en la pulpa y la corteza; mientras que los restantes solo aparecieron en la corteza.

Palabras clave: residuos de plaguicidas en cítricos, límites máximos de residuos, cromatografía gaseosa.

ABSTRACT

It was studied the disappearance kinetic of each one of the following pesticides: dimethoate, malathion, carbaryl, bromopropilate, zineb and benomyl in orange, applying for this purpose those pesticides at rates of 0,04, 0,08, 0,2, 0,035, 0,25 and 0,05 percent of active ingredient respectively on the plants grown in four plots of 40 trees each. Except to carbaryl that was applied with a final volume of 9 l/plant the other pesticides were applied to 12 l/plant. The samplings were carried out during 25 days, the corresponding pesticides were analyzed in the bark and the flesh of the fruits. The analytical determinations of the residues were accomplished, for the case of dimethoate, malathion and bromopropilate by gas chromatography, while carbaryl was analyzed by high performance liquid chromatography and zineb and benomyl by spectrophotometry. In the cases of malathion, bromopropilate and benomyl the initial concentrations in the fruits were lower than the corresponding Maximum Residue Levels (MRLs). Dimethoate reached the corresponding MRL level 15 days of the application, carbaryl after 12 days and zineb after 5 days. Dimethoate and benomyl were found in the flesh and the bark, while the others pesticides were found only in the bark.

Key words: pesticides residues in citrics, maximum residue limits, gas chromatography.

INTRODUCCIÓN

Son muchas las instituciones científicas que en todo el mundo dedican grandes esfuerzos y recursos para conocer la residualidad de los plaguicidas en los alimentos de origen agrícola (Codex Alimentarius Commission, 1992; Comisión del Codex Alimentarius, 1978). Se trata de que se realizan estudios a corto, mediano y largo plazo, para mediante ellos tener una idea cada vez más exacta de como persisten estos productos químicos en los alimentos.

Uno de estos estudios es el establecimiento de los períodos de espera entre la aplicación de un preparado químico sobre el cultivo y su cosecha, para lograr que los residuos presentes, no sobrepasen determinados niveles que como es sabido constituyen los Límites máximos de Residuos (LMR). Esto se lleva a cabo mediante experimentos realizados a nivel de campo y en condiciones semejantes a las existentes en las zonas de producción agrícola (FAO, 1981; FAO, 1990).

El Codex Alimentarius realiza anualmente a nivel mundial, un período de sesiones, donde se discuten entre otros tópicos, lo relacionado con los residuos de los plaguicidas en los alimentos y ya en los últimos años, esta problemática se discute a niveles regionales (Comisión del Codex Alimentarius, 1984).

Lógicamente, para lograr que los residuos no sobrepasen los LMRs al efectuar las cosechas, se hace necesario instrumentar una práctica agrícola que garantice tal objetivo. Esto se logra

mediante el establecimiento de los períodos pre-cosecha constituidos como normas aplicables a la producción agrícola.

Para satisfacer las necesidades planteadas nos proponemos informar el resultado de un estudio sobre las cinéticas de desaparición de un grupo de los plaguicidas más utilizados en los cítricos y en consecuencia recomendar los períodos pre-cosecha correspondientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en la Estación Experimental de Cítricos de Provincia Habana, sobre una plantación de naranja valencia en etapa de producción, la que recibió las atenciones culturales y fitosanitarias, normadas nacionalmente para dicho cultivo (MINAGRI, 1981). Se dispuso de 0,6 há, de extensión en la cual se escogieron cuatro parcelas de 40 árboles cada una, con una distancia de siembra de 4 m entre plantas y 8 m entre hileras.

Se realizó un muestreo antes de las aplicaciones fitosanitarias para así obtener el valor de blanco o testigo, fundamentales para el ajuste y comprobación de los métodos analíticos.

En la tabla 1 se presentan las dosis de las aplicaciones fitosanitarias utilizadas en cada caso.

Tabla 1. Aplicaciones de insecticidas y fungicidas en cítricos (Registro Central de Plaguicidas..., 1994)

Plaguicidas	Dosis (% i. a.)
dimetoato	0.040
malation	0.080
carbarilo	0.200
bromopropilato	0.035
zineb	0.250
benomilo	0.050

Estas aplicaciones se realizaron con la máquina Keoritz Speed Sprayer, modelo SSO-70 HCA de origen japonés, con volumen de solución final de 12 l/planta, para los plaguicidas estudiados, excepto carbarilo del que se aplicaron 9 l/planta.

En todos los casos se realizó un primer muestreo el mismo día de la aplicación y los restantes durante un período de 25 días posterior , tomando 5 frutos por árbol.

Las muestras se reunieron para formar una muestra general; y luego mediante un cuarteo adecuado se envío la décima parte al laboratorio para realizar las determinaciones analíticas de los residuos; para lo cual se procesaron por separado la pulpa y la corteza y se mantuvieron en congelación hasta el momento de efectuar los análisis (Comisión del Codex Alimentarius, 1996; MINAGRI, 1981).

A continuación presentamos una breve descripción de los métodos analíticos utilizados.

- dimetoato y malation: Los ingredientes activos se extraen con acetona, seguido de partición líquido-líquido con cloroformo y después de concentración del extracto clorofórmico se realiza la detección simultánea en un cromatógrafo de gases con detector de fósforo (MINAGRI, 1981).
- carbarilo: Se extrae con acetona, se purifica por el método de coagulación (NH4Cl-H3PO4) y se determina por cromatografía líquida de alta resolución, utilizando detector UV (NC:29-11, 1986; Trapar et al, 1995).
- bromopropilato: Se extrae con n-hexano, se purifica primero por partición líquido-líquido y después por columna de Florisil; para finalmente ser determinado por cromatografía gaseosa con detector de captura electrónica (MINAGRI, 1987).
- zineb: Este fungicida se hidroliza en medio ácido a 100°C. El bisulfuro de carbono liberado se colecta en una solución de potasa metanólica para formar el xantato de potasio que se determina en un espectrofotómetro a 302 nm, contra solución de potasa metanólica (NC: 29-13, 1987).
- benomilo: El ingrediente activo se extrae con acetato de etilo y se pasa por partición líquido- líquido a una solución de ácido sulfúrico diluido. Luego de purificación con cloroformo, se reextrae con este último solvente mediante cambio de pH. Finalmente se evapora el cloroformo y se disuelve el residuo en solución de ácido sulfúrico diluido para ser determinada su absorbancia en un espectrofotómetro a 281 nm contra solución de ácido sulfúrico diluido (MINAGRI, 1980).

Los residuos detectados tanto en la corteza como en la pulpa se convirtieron a los valores correspondientes de fruto total y éstos se correlacionaron con los tiempos transcurridos después de la aplicación en cada caso, para así obtener las cinéticas de desaparición y compararlas con los LMRs establecidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 aparecen los resultados analíticos del estudio, en la que se presentan los residuos detectados en cada muestreo de fruto cítrico. En ella se puede apreciar que en todos los muestreos, incluyendo los realizados el mismo día de las aplicaciones, los residuos de malation, bromopropilato y benomilo encontrados estuvieron por debajo de los LMRs establecidos.

En el caso específico del bromopropilato, después de transcurrir 15 días desde la aplicación, los residuos son inferiores a 0,3 mg / kg: sin embargo, en ensayos efectuados en Brasil sobre naranjas y mandarinas, aplicando las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) nacionales, 14 días después de la aplicación los residuos estuvieron al nivel de 2 mg / kg. Esto está dado por las diferencias de las BPA entre ambos países (FAO, 1993).

La baja residualidad de malation está dada por el hecho de que este plaguicida se hidroliza con relativa facilidad para dar especies no tóxicas (The Pesticide Manual..., 1994).

Tabla 2. Residuos de insecticidas y fungicidas encontrados en fruto total después de la aplicación
Límites de determinación (LD) y Límites Máximos de Residuos (LMR)

Plaguicidas	Tiempo (días)					L.D. (mg/kg)	LMR (mg/kg)
	0	5	12	15	25		
	Residuos (mg/kg)						
dimetoato	0.93	0.55	0.36	0.20	0.10	0.02	0.2
malation	0.49	0.12	0.11	0.12	nd*	0.01	0.5
carbarilo	0.99	0.68	0.50	0.36	0.14	0.10	0.5
Bromopropilato	1.25	0.38	0.30	0.27	0.12	0.02	2.0
zineb	1.04	Nd	nd	nd	nd	0.5	0.5
benomilo	1.60	0.75	0.71	0.53	0.40	0.5	2.5

*** - nd: no se detectan residuos por encima del límite de determinación del método analítico.**

Los residuos de benomilo disminuyen lentamente debido al carácter sistémico de este fungicida (The Pesticide Manual..., 1994) mediante el cual se estabiliza dentro del tejido vegetal, pero son inferiores al LMR, por ser éste bastante alto en comparación con el resto de los plaguicidas ensayados.

Por otra parte fue necesario que transcurrieran 15 días para que los residuos de dimetoato disminuyeran hasta el nivel del LMR; 12 días para que esto ocurriera con el carbarilo y 5 con el zineb.

Este último dejó un residuo inicial de alrededor de 1 mg/kg, que descendió rápidamente hasta el Límite de Determinación (0.5 mg/kg), lo que se debe a la gran facilidad con que este compuesto se degrada por efecto de la humedad y el oxígeno (Ahmad et al, 1995; Bolsoni, 1993). El efecto residual de dimetoato se justifica por la estabilidad de este insecticida y porque es sistémico (The Pesticide Manual..., 1994), no así el carbarilo que es susceptible se sufrir reacciones de hidrólisis (Barceló, 1993).

Además se dio el caso que todos los plaguicidas empleados presentaron residuos en la corteza; pero solamente dimetoato y benomilo aparecieron en la pulpa del fruto. Esto evidentemente corrobora lo planteado por algunos autores, acerca del carácter sistémico de estos últimos compuestos (The Pesticide Manual..., 1994).

CONCLUSIONES

Aún el mismo día de las aplicaciones fitosanitarias con estos plaguicidas sobre naranja valencia, los residuos de malation, bromopropilato y benomilo, son inferiores al LMR correspondiente, establecido nacionalmente.

En los casos de dimetoato, carbarilo y zineb; es necesario que transcurran 15 días, 12 días y 5 días respectivamente para que los residuos desciendan hasta el nivel del LMR correspondiente.

Transcurridos 25 días después de la aplicación, los residuos de malation en naranja valencia, son inferiores del límite de determinación del método analítico que es 0,01 mg/kg. En el caso del zineb los residuos son inferiores al límite de determinación, después de transcurridos 5 días desde la última aplicación fitosanitaria.

Dimetoato y Benomyl dejan residuos en la corteza y la pulpa de los frutos; mientras que el carbaryl , Bromopropilato, malation y Zineb sólo dejan residuos en la corteza.

REFERENCIAS

Ahmad Nazir, Guo Lin, Mandarakas Peter and Appleby Simeone. Determination of dithiocarbamates and its breakdown product ethylenethiurea in fruits and vegetables. Journal of AOAC International. 78 (5), 1995.

Barceló D. Enviromental Protection Agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in Water. Journal of Chromatography, 1993. 117-143.

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.

Codex Alimentarius Commission. Pesticide Residues in Food. Vol. 2, 1992.

Comisión del Codex Alimentarius. Informe de la Conferencia Regional Mixta FAO-_OMS sobre normas alimentarias para América Latina. México, 1978.

Comisión del Codex Alimentarius. CX / PR 96 /7. Revisión de los Métodos Recomendados de Muestreo, para la Determinación de Residuos de Plaguicidas, 1996.

Comisión del Codex Alimentarius. Taller sobre normalización de alimentos y salud para América Latina. La Habana, 1984.

FAO. Orientaciones para la experimentación de residuos de plaguicidas y establecimiento de Límites máximos de residuos. Boletín Informativo Vol. 29, 1981.

FAO Guidelines on Producing Residues Data from Supervised Trials. Rome, 1990.

FAO Residuos de los plaguicidas en los alimentos. Producción y Protección Vegetal. 122, 1993.

MINAGRI. Dirección Nacional de Sanidad Vegetal. Programa Fitosanitario del cultivo de los cítricos. C. Habana. 1981.

MINAGRI. NRAG: 165. Determinación de Residuos de Plaguicidas. Técnicas de Muestreo. Productos Agrícolas en el Campo.Cuba, 1981.

MINAGRI. NRAG 463 Plaguicidas organofosforados. Determinación de residuos. Cuba, 1981.

MINAGRI. NRAG 940. Plaguicidas. Bromopropilato. Determinación de Residuos en material Vegetal. Cuba, 1987.

MINAGRI. NRAG. Plaguicidas TBZ y MBC Determinación de residuos. Cuba, 1980.

NC:29-11. Plaguicidas. Carbaril. Determinación de Residuos, 1986.

NC:29-13. Plaguicidas. Ditiocarbamatos.Determinación Fotométrica de Residuos, 1987.

Registro Central de Plaguicidas. Lista Oficial de plaguicidas autorizados. Límites máximos de residuos de plaguicidas en alimentos. pg 235-244,1994.

The Pesticide Manual. "A World Compendium " The British Crop Protection Council. Tenth edition, 1994.

Trapar. S. ; Bhushan. R. ; Mathur. R.P. Degradation of organophosphorus and carbamate pesticides in soil. HPLC determination. Biomed. Chromatogr. ,Jan-feb 1995, 9 (1),18-22

I ENCUENTRO NACIONAL DE CIENCIA DE MALEZAS

Diciembre 14-15 de 1999
Centro de Capacitación Azucarera (CENCA), Municipio Boyeros

Convocado por:
Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azucar (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, CP 19210, 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

EFECTIVIDAD DE RIMSULFURON SOBRE MALEZAS EN PAPA (*Solanum tuberosum*, L.) Y TOMATE (*Lycopersicon esculentum*, Mill)

E. Paredes, F. La O y R. García

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

RESUMEN

Para evaluar el efecto sobre malezas entre 4 y 8 hojas y la fitotoxicidad de rimsulfurom 25% g.d. en los cultivos de papa y tomate, se realizaron cuatro experimentos en la Estación Experimental del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal en Alquízar y una extensión en la CPA "Ubaldo Díaz" en Güira de Melena, La Habana, sobre suelo Ferralítico Rojo.

Los resultados obtenidos demostraron que rimsulfuron a 0.025-0.038 kg /ha fue selectivo a ambos cultivos en post emergencia, solo o en mezcla con napropamida (0,025 +1,25 kg/ha.) La efectividad sobre malezas anuales fue similar a la producida por prometrina a 2.0 kg /ha, y metribuzin 0.35 kg /ha, usados como estándar de producción, excepto sobre Parthenium hysterophorus L. y Euphorbia heterophylla L, las que mostraron ligera tolerancia a dosis menores de 0.030 kg /ha. No tuvo efecto sobre Cyperus rotundus L., pero sí sobre Sorghum halepense (L.) Pers.

Palabras clave: rimsulfuron, napropamida, metribuzin, prometrina, control de malezas, tomate, papa.

ABSTRACT

With the objective of evaluate the herbicide effect on four to eigth leaves weeds and fitotoxicity of rimsulfuron on potato and tomato crops, four experiments were carried out at Experimental Station of Plant Health Research Institute in Alquizar and a extension at C.P.A." Ubaldo Díaz " in Güira de Melena, both in La Habana province, on Red Ferralitic soil.

The results showed that rimsulfuron between 0.025- 0.038 kg/ha alone or mixed with napropamide (0.025 + 1.50) kg/ha, or metribuzin (0.025 + 0.35) kg/ha, was not toxic to the crops. When applied in post emergentce, the effectivity on annual weeds was as same as prometrine (2.0 kg/ha) and metribuzin (0.50 kg/ha) used as standard, except on Parthenium hystherophorus L., and Euphorbia heterophylla L., wich showed some tolerance at dosis lesser than 0.030kg/ha. There was effect on Sorghum halepense (L.) Pers, but was not on Cyperus rotundus L.

Key words: rimsulfuron, metribuzin, prometrina, napropamida, weed control, tomato, potato

INTRODUCCIÓN

La papa y el tomate son cultivos de alto nivel productivo; constituyen la vianda y la hortaliza de mayor importancia mundial por la gran cantidad de países que los cultivan extensivamente.

Las malezas son una de las limitantes para la obtención de altos rendimientos, no sólo por la interferencia que causan a las plantas cultivables, sino por ser hospederas de plagas y enfermedades que reducen el potencial de los rendimientos de estos cultivos, si no se realizan medidas de manejo adecuadas oportunamente, (Carlote et al, 1994; Darren et al, 1996 y González, 1997). Las pérdidas están asociadas al potencial productivo de cada variedad y a medida que éste aumenta se hacen mayores las reducciones (Arhens et al, 1985).

Para combatir las malezas de hoja estrecha que inciden en papa y tomate se conoce el uso de distintos herbicidas de acción foliar selectivos a estos cultivos (Americanos, 1996; Labrada, 1996). Contra dicotiledóneas anuales se ha estado usando metribuzin por más de 20 años como herbicida estandar en papa, tomate, soya y espárrago (Ackley et al, 1996; Muller, 1972; Freitang y Lambrich, 1994). Este herbicida puede causar efectos fitotóxicos sobre determinados clones de papa y variedades de tomate a dosis superiores a 0.35 kg/ha, por lo que su uso debe ser con extremada precaución (Ackley et al, 1996; Fortino y Splittstoeser, 1974; López y Castellanos, 1976; Paredes y Labrada, 1982). Como nuevas alternativas dentro de la lucha química de malezas se han desarrollado distintas sustancias, entre las que se encuentran las sulfunilureas con amplio espectro de acción (Mounier and Leroux, 1994 y Pitty, 1997). Estas se absorben por las raíces, las hojas y se traslocan por el floema y xilema acumulándose en los meristemos de las raíces y brotes de las plantas (Americanos, 1996). A este grupo pertenece rimsulfuron recomendado como herbicida selectivo a solanáceas, el cual fue objeto del presente trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante los años 1994 a 1996, se realizaron cinco experimentos para evaluar rimsulfuron sobre malezas en papa, variedad Red Pontiac y tomate, variedad Campbell 28. Las fases experimental y ampliada fueron realizadas en áreas del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, en Alquízar, La Habana, sobre suelo Ferralítico Rojo y la fase extensiva en papa, en la CPA "Úbaldo Díaz"en Güira de Melena sobre el mismo tipo de suelo y variedad.

Para la fase experimental se utilizaron parcelas de 5,0 m. de largo por 3,60 m. de ancho con cuatro surcos, dos de los cuales fueron evaluables. En la fase ampliada se utilizaron parcelas de 50,0 m. de largo y 9,0 m. de ancho para papa y de 30,0 m de largo por 14,0 m. de ancho para tomate. La extensión se realizó en 3,60 ha tratadas con rimsulfuron y 4,0 ha como testigo con prometrina 2,0 kg /há como estándar.

Los riegos, fertilización y atenciones fitosanitarias fueron ejecutadas según las normas técnicas para los cultivos. Las malezas fueron evaluadas por estimación visual mediante el porcentaje de cobertura total y por especies a los 60 días de la aplicación, así como los rendimientos en las áreas evaluables en el momento de la cosecha. Los datos de las observaciones se sometieron al análisis de varianza utilizando un diseño factorial y las medias se compararon mediante la prueba de Tukey para el 1% de probabilidad de error y la prueba de Newman-Keuls para el 5% de error. Las variantes experimentales aparecen en la tabla de los resultados y las dosis de los herbicidas se expresan en kg/há i.a.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

• Tomate

Las dicotiledóneas *Euphorbia heterophylla* L, *Parthenium hysterophorus* L. y las monocotiledóneas *Cyperus rotundus* L, *Sorghum halepense* (L.) Pers y *Rottboellia cochinchinensis* (Lour) Clayton, predominaron en el primer experimento con dominancia de *E. heterophylla* en el testigo sin tratamiento. En la ampliación se incrementó el número de especies observadas. La efectividad de rimsulfuron fue proporcional a la dosis utilizada, sólo con 0,038 kg /ha se logró el mejor efecto sobre las malezas, excepto *C. rotundus*, la que fue tolerante en todos los experimentos. Es de señalar que la mejor efectividad se logró sobre las anuales *Amaranthus dubius* Mart, *Portulaca oleracea* L, y *R. cochinchinensis* (tabla 1).

La acción inicial de rimsulfuron fue observada a partir de los tres a cinco días de la aplicación, manifestándose retención del crecimiento de las malezas hasta provocar clorosis con posterior necrosis y mortalidad total en el caso de las plantas pequeñas menores de seis hojas, y en las mayores se manifestó con la muerte de los puntos de crecimiento.Tales resultados coinciden con lo reportado por varios autores, (Ackley et al, 1996; Pitty, 1997; Green 1996). En la ampliación, aunque aumentó el número de malezas registradas, se observó buena efectividad, tanto con los tratamientos de rimsulfuron 0,03 kg/há como en mezcla con napropamida 0,025 +1,25 kg/há, sin diferencias apreciables con la mezcla de napropamida + metribuzin 2,0 + 0,35 kg /há registrada como estándar de producción. En las gramíneas el síntoma externo se caracterizó por un amarillamiento en las hojas y la muerte apical, similar al observado cuando se realizan tratamientos de herbicidas sistémicos inhibidores del crecimiento meristemático. Esta afirmación es confirmada por Pitty, (1997), donde plantea que los daños de imidazolinas y sulfunilureas son similares, las plantas quedan enanas debido a la falta de aminoácidos, hay inhibición del brote, clorosis entre las venas y las hojas no se desarrollan normalmente, tomando una coloración morada, las raíces tienen pocas raicillas y los puntos de crecimeinto terminales mueren.

Los rendimientos mostraron incrementos en ambos experimentos hasta un 75% en el primero y 7% en la ampliación al compararlos con el tratamiento estándar (figura 1).

Los resultados aquí obtenidos pueden deberse a la selectividad de esta sulfunilurea. El modo de acción está dado por la producción de cuatro aminoácidos ramificados (valina, leucina e isoleucina) producido por el mismo mecanismo. Se necesitan cuatro enzimas que son comunes para estos tres aminoácidos y otra más para sintetizar la isoleucina según Stidham, (1991); citado por Pitty, (1997). De lo expresado se deduce que si no están presentes las cuatro enzimas en el mecanismo de acción no se producen los efectos antes citados, por lo que se traduce en una selectividad bioquímica de los cultivos, o malezas expuestas a estos herbicidas o plantearse la hipótesis de que estos cultivos necesitan mayor dosis del herbicida para manifestar su efecto fitotóxico. Durante la ejecución de los experimentos no se observaron síntomas fitotóxicos en el cultivo.

• Papa

En un primer ensayo, a los 30 días de la aplicación con rimsulfuron 0,025-0,038 kg /ha, se tuvo buen efecto sobre las malezas anuales, principalmente gramíneas de difícil eliminación en el cultivo de la papa como *R. cochinchinensis, E. colonum y Brachiaria platyphylla* (Griseb) Nash. Frente a *E. heterophylla* su acción fue moderada y contra *P. hysterophorus* se observó una reducción sólo con la dosis de 0.038 kg /ha i.a. Con esta misma dosis se produjo una disminución sensible de la perenne *S. halepense*, mientras que *C. rotundus* fue completamente tolerante. Comparado con el efecto de metribuzin 0.35 kg /ha., rimsulfuron fue inferior para las malezas anuales, pero controló totalmente *S. halepense* (tabla 2).

En la fase ampliada a los 60 días de la aplicación, se observó similar efectividad sobre las malezas que en el experimento, las especies anuales fueron reducidas con la dosis de rimsulfuron y la mezcla de éste con napropamida (0.025+1.25) kg /há, comparable al efecto producido por napropamida + metribuzin (2.0 +0.35 kg /há), usado como estándar.

Tabla 1. Efecto del rimsulfurom sobre el porcentaje de cobertura de malezas en tomate trasplante

	Tratamientos kg/ha i.a.							
	Fase experimental.					Fase ampliada.		
Malezas	rimsulfuron 0.025	rimsulfuron 0.030	rimsulfuron 0.038	metribuzin 0.35(st)	testigo -	rimsulfuron 0.030	rimsulfuron+ napropamida 0.025+1.25	metribuzin + napropamida 0.35+2.0(st)
Euphorbia heterophylla	24	22	12	12	55	0	1	1
Parteniun hysterophorus	3	4	2	0	18	1	1	1
Portulaca oleracea	4	1	0	0	5	1	1	1
Amaranthus dubius	0	0	0	0	3	1	1	2
Lepidium virginicum	0	0	0	0	0	1	1	1
Ipomoea sp	0	0	0	0	0	1	1	1
Total dicotiledóneas	31	27	14	12	81	5	6	7
Rottboellia cochinchinensis	1	0	0	1	2	2	2	3
Eleusine indica	0	0	0	0	0	1	1	1
Echinochloa colonum	0	0	0	0	0	1	1	1
Brachiaria platyphylla	0	0	0	0	0	1	1	1
Sorghum halepense	1	1	0	2	3	1	1	1
Cyperus rotundus	13	14	15	18	14	1	1	1
Total gramíneas	2	1	0	3	5	6	6	7
Total	46	42	29	33	100	12	13	15
Efectividad	54	58	71	67	-	80	86	-

Tabla 2. Efecto de rimsulfuron sobre el porcentaje de cobertura de malezas en papa.

	Tratamientos kg/ha i.a									
	Fase experimental.					Fase ampliada			Fase extensiva	
Malezas	rimsulfuron 0.025	rimsulfuron 0.030	rimsulfuron 0.038	metribuzin 0.35	testigo -(st)	rimsulfuron 0.030	rimsulfuron+ napropamida 0.025+1.25	metribuzin+ napropamida 0.35+2.0(st)	rimsulfuron 0.030	prometrina 2.0(st)
Brachiaria platyphylla	0	0	0	0	1	2	1	3	1	3
Echinocloa colonum	0	0	0	0	3	4	2	4	0	0
Rottboellia cochinchiniensis	0	0	0	0	2	6	3	8	0	2
Otras gramíneas	0	0	0	0	1	6	6	4	0	1
Sorghun halepense	1	1	0	0	1	4	4	1	1	5
Cyperus rotundus	6	8	9	25	26	1	0	0	1	1
Total gramíneas	1	1	0	0	8	22	16	20	2	11
Amaranthus sp	1	0	1	1	2	5	4	1	0	0
Euphorbia heterophyla	20	18	15	3	20	0	0	0	1	2
Boerahavia erecta	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Partenium hysterophorus	15	10	5	0	10	9	8	3	1	1
Bidens pilosa	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
Portulaca oleracea	1	2	2	0	2	5	5	9	0	0
Otras dicotiledóneas	0	0	0	0	1	3	5	2	0	0
Total dicotiledóneas	37	30	23	4	37	22	22	15	4	4
Total	44	39	32	29	71	45	38	35	7	16
Efectividad	38	45	55	59	-	28	8	-	56	-

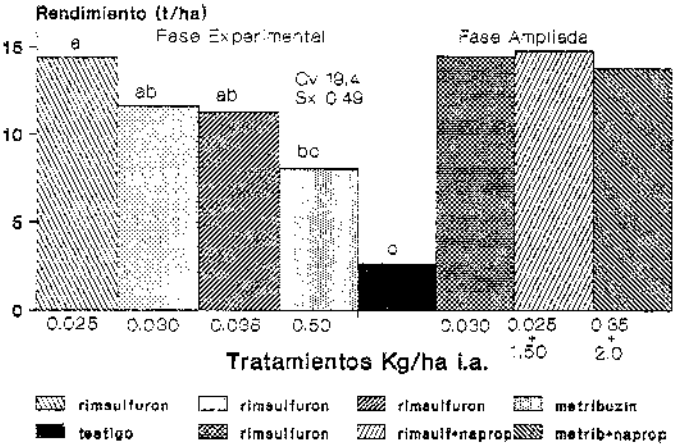


Figura 1. Efecto de rimsulfuron en tomate

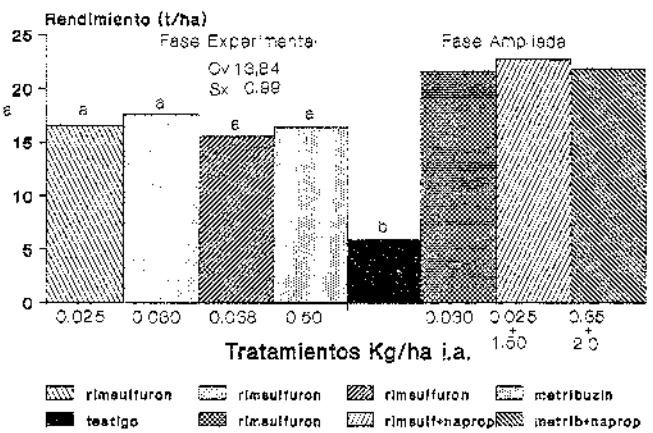


Figura 2. Efecto de rimsulfuron en papa

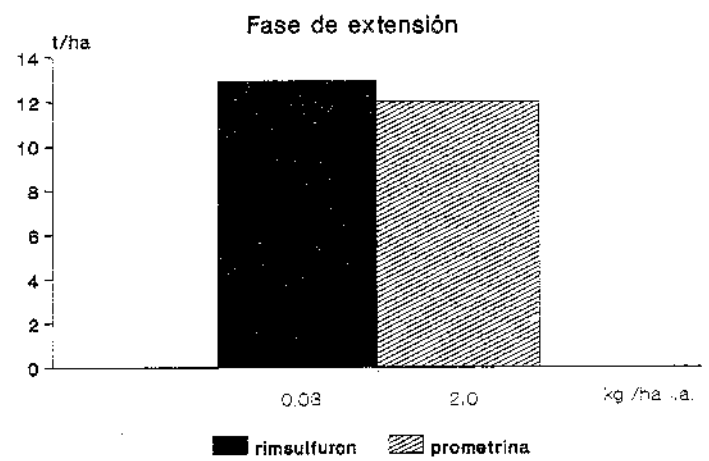


Figura 3. Efecto de rimsulfuron sobre los rendimientos en papa

Los resultados anteriores fueron corroborados en la extensión donde se apreció mejor acción sobre las gramineas.

Los rendimientos en papa no mostraron diferencia significativa respecto al estandar utilizado, excepto con el testigo sin tratamiento en la fase experimental (figura 2.) En la extensiva rimsulfuron 0.030 kg/há mostró rendimientos similares al estadar (figura 3).

Estos resultados coinciden con los informados por diferentes autores, (Ackley et al, 1996; Darren et al, 1996 y Green, 1996), donde se comprobó la selectividad de rimsulfuron en papa y tomate, así como su efectividad contra malezas anuales y la perenne *S. halepense.*

CONCLUSIONES

Se comprobó la efectividad de rimsulfuron 0,025-0,038 kg /ha aplicado en post emergencia de las malezas anuales de 4 a 6 hojas y la perenne *S. halepense* cuando presentó menos de 20 cm de altura. *C. rotunthus* fue completamente tolerante a este herbicida.

Las dicotiledóneas *P. hysterophorus* y *E. heterophylla* resultaron las más tolerantes a rimsulfuron en las dosis menores y su efecto aumentó con la más alta de 0,038 kg /ha.

Los rendimientos obtenidos con rimsulfuron 0,025-0,038 kg /ha. fueron similares a prometrina 2,0 kg /ha en papa y a metribuzin 0,35 kg/ha en tomate, lo que demuestra su selectividad a estos cultivos.

La mezcla de napropanida + rimsulfuron 1,25 + 0,025 kg /ha. debe ser integrada al manejo integrado de malezas de acuerdo a los tipos de enyerbamientos que se presenten en ambos cultivos.

REFERENCIAS

Americanos P.G. Manejo de malezas en papa. En: Manejo de malezas para países en desarrollo. R. Labrada, J.C. Caseley y C. Parker. FAO. N0.120, 403 pp., 1996.

Arhens C., H.H. Cramer, M. Mogk and H. Peschel. El impacto económico de las pérdidas en la producción. Simposio fitosanitario de Bayer A. G. La Habana, Cuba. p.10, Sept. 1985.

Ackley J. A., H.P. Wilson, and T. E. Hines. Efficacy of rimsulfuron and metribuzin in potato (*Solanum tuberosum*). Weed Techn. 10 (3): 475-480, 1996.

Charlote V.E., J.C. Whitmore, C. E. Stanger and M.J. Guttieri . Post emergence weed control in potato *(Solanum tuberosum).* Weed Techn. 8 (3): 428-435, 1994.

Darren K R., D.W. Monk and T.J. Monaco. Potato *(Solanum tuberosum).* Tolerance and suceptibility of eight weed to rimsulfuron with and whithout metribuzin. Weed Techn. 10(1) 29-34, 1996.

Freitang D., and H. Lambrich. Weed control with Sencor (metribizin) combination products post emergence in winter cereal in Europa. Pflanzenschuts nachrichten, Bayer 47 (65): 41-56, 1994.

Fortino, J. J., and W.E. Splittstoeser. Response of tomato to metribuzin. Weed Science. 22 (6): 415-419, 1974.

González, Gloria A. Virus del encrespamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV) en Cuba. Resumen de tesis presentada en opción al grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Central. Villa Clara. pag. 23-24, 1998.

Green, J. M. Interaction of surfactant dose and spray volume on rimsulfuron activity. Weed Techn. 10 (3) : 508-511. 1996.

López, R. y G. Castellanos. Influencia del tamaño de las semillas de papa y su interrelación con las malezas en el rendimiento. Revista Ciencia Agrícola. 3 (1-2): 1-18 1976.

Labrada, R. Manejo de malezas en hortalizas. En: Manejo de malezas para países en desarrollo. R. Labrada, J.C. Caseley y C. Parker. FAO. N0.120, 403 pp., 1996.

Muller, C. E. Sencor a new herbicide for potato and tomato in Republic of South Africa, Pflanznach. Bayer (3) 341-360, 1972.

Mounir, M. and G.D. Leroux. Activity of nicosulfuron, rimsulfuron and their mixture on fiel corn (*Zea mays*) and soybean (*Glycine maxi*. Weed Techn. 8 (3): 436-440, 1994.

Paredes, E. y R. Labrada. Efecto de metribuzin aplicado en diferentes variedades de tomate de siembra directa. Revista Agrotecnia de Cuba. 14(2) :49-57,1982.

Pitty, A. Modo de acción de los herbicidas. pag 243-270. Introducción a la biología, ecología y manejo de malezas. El Zamorano. Honduras. 300pp., 1997.

LA PRODUCCIÓN DE *Verticillium lecanii* (Limm) Vieg POR CULTIVO SUMERGIDO

Orietta Fernández-Larrea , Lourdes Blanco y Verónica Ramírez

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

RESUMEN

El hongo entomopatógeno Verticillium lecanii (Limm) Vieg (Vl), se caracteriza por resultar patógeno a un amplio rango de insectos, particularmente áfidos y moscas blancas. Algunos autores refieren que diferentes razas de Vl pueden ser halladas afectando insectos, arácnidos y ácaros. Esta eficiencia en campo está muy condicionada a la temperatura y la humedad. El empleo de este hongo como control biológico depende de la posibilidad de su producción masiva, lo cual es realizado en muchos países, incluyendo a Cuba, por métodos artesanales sobre soporte sólido, empleando diferentes granos y otros subproductos de la agricultura. Estas producciones, aunque pueden resultar muy efectivas, en ocasiones sus rendimientos son bajos y tienen altos costos de producción, ya que requieren de una labor muy especializada, lo cual constituye un limitante para su uso. Los procesos por fermentación sumergida, poco reportados para la reproducción de este tipo, han sido usada en el Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, para lo cual ha sido empleada la raza Y-57, que resulta muy efectiva para el control de Bemisia tabaci (mosca blanca) en los cultivos. A través de planes de optimización fue ajustada la composición del medio de cultivo, el que contenía levadura, sacarosa y carbonato de calcio. Este medio está inoculado con una suspensión del cultivo del hongo en fase de conidia. El proceso de comprobación fue llevado a cabo en un fermentador de 15 L con 9 L de capacidad efectiva, y fue establecido un régimen de aereación de 0,5 VVM en la fase de crecimiento activo y en lo adelante se redujo en un 50% hasta el fin del proceso. Durante la fermentación son adicionados además antibióticos y antiespumantes para prevenir la contaminación por bacterias y la preparación de la espuma, que puede impedir el proceso. El valor de pH inicial fue ajustado a valores ligeramente ácidos y se permite que fluctúe libremente. La máxima producción fue alcanzada entre 40-48 horas con una concentración de 6-8 x 108 conidia/ml. La eficiencia biológica fue probada en adultos de mosca blanca, alcanzando valores comparables al obtenido por los producidos con el método sólido.

Palabras clave: *Verticillium lecanii*, cultivo sumergido, moscas blancas

ABSTRACT

The mushroom entomopathogens Verticillium lecanii (Limm) Vieg (Vl) , is characterized by resulting entomopathogenic to a wide range from insects , particularly aphids and white flies . Some authors refer that different strains of Vl can be found affecting insects , arachnidan and mites. Their efficiency in field is very conditioned at the temperature and the dampness. The employment of this mushroom as biological control depends on the possibility on its massive production , something which is accomplished in many countries , including to Cuba , by arthisanal methods on solid sides , employing different grains and others sub - agricultural products. These productions though they can result very effective , in occasions its yields are low and have high production costs , since require of much specialized labor , something which can constitute a limiting for its use. The submerged fermentation processes , little reported for the reproduction of this kind , they have been approached in the Institute of Health Vegetal , for something which has been employed the strain Y-57, that results very effective for the control from Bemisia tabaci (white fly) in vegetable cultivation. Through optimization plans was adjusted the composition of the media of cultivation , the one which contains yeast , saccharose and calcium carbonate. This means is inoculated with a suspension of the cultivation of the mushroom in the phase of conidia. The spread process was carried out in a 15l. fermentator with 9 L of effective capacity , and was established a regime of aereation of 0,5 VVM during the active growth phase , and thereinafter was reduced in a 50 % until the end of the process. During the fermentation are added furthermore antibiotics and antifoams to prevent pollutions by bacteria and the foam training, that it can impede in the process.The pH value initial was adjusted to slightly acid values , and is permitted that fluctuate freely The maximum yield was reached between 40 - 48 hours with a concentration of 6-8 x 108 conidia / ml. The biological efficiency was proven on adult of white fly , reaching comparable values the obtained for the products with the solid methods.

Key words: *Verticillium lecanii*, submerged cultivation, white flies

INTRODUCCIÓN

El hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii* (Limm) Vieg (Vl.), se caracteriza por resular patógeno a una amplia gama de insectos , particulamrmente áfidos. Algunas cepas de Vl. pueden encontrarse afectando insectos chupadores, arácnidos y ácaros e incluso nemátodos (Hall, 1979; 1982; Sivakuner et al, 1987, Rijo, 1996.)

Su eficacia en campo está muy condicionada a la temperatura y la humedad . El uso masivo de este hongo como control biológico depende de sus posibilidades de reproducción a gran escala , lo cual en muchos países, incluyendo a Cuba se realiza por métodos artesanales sobre soportes sólidos con los cuales se obtienen producciones muy efectivas , pero limitadas, y con altos costos de produción (Lujan et al, 1990; Sánchez et al, 1995.)

Los procesos de fermentación sumergida han sido poco abordados para la reproducción de esta especie , por lo cual fue objeto de este trabajo ajustar los medios y parámetros de cultivo para la reproducción de la cepa Y-57 de Vl. con posibilidades para la producción industrial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fueron evaluadas las cepas Y-57 y My mantenidas y conservadas en PDA a 4 grados C. en el cepario del INISAV (Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal).

Tabla 1. Nutrientes probados para el ajuste de los medios de cultivo

Fuentes de carbono	Sacarosa Melaza de caña Cabecilla de arroz	5-10-20-30 g/ l 0-5-15 0-5-15-30 g/ l-20 g/ l
Fuentes de nitrógeno	Levadura torula Licor de remojo de maíz	0-5-15-30 g/ l 0-10-20-40 g/ l
Sales	Na Cl Ca CO_3	0-1-5 g/ l 0-1-2 g/ l

Tabla 2. Matriz experimental 4x4

Variante	Licor de maíz (ml/)l	Levadura torula (g/l)	Sacarosa (g/l)	Cabecilla arroz (g/l)
1	40	0	5	30
2	40	15	30	15
3	40	30	15	5
4	40	5	0	0
5	0	15	0	5
6	0	0	15	0
7	0	5	30	30
8	0	30	5	15
9	20	5	30	0
10	20	30	5	5
11	20	15	0	15
12	20	0	15	30
13	10	5	15	15
14	10	0	30	0
15	10	0	30	0
16	10	15	5	5

Para el ajuste de las mejores concentraciones se emplearon diseños matemáticos de optimización por el método de Rectángulos Ortogonales Latinos (Biriukov, 1968). Se emplearon matrices 4x4 y 3x3 (tablas 2 y 3)

Tabla 3. Matriz experimental 3x3

Variante	Sacarosa (g/l)	NaCl (g/l)	$CaCO^3$ (g/l)
1	15	1	0
2	15	0	2
3	15	5	1
4	10	0	1
5	10	5	0
6	10	1	2
7	20	5	2
8	20	0	1
9	20	1	0

Nutrientes constantes:

- *Levadura torula, 15 g/l*
- *Licor de maíz, 60 ml/l*
- *Cabecilla de arroz, 10 g/l*

Con el medio óptimo seleccionado se determinó el tipo de antiespumante , la edad del inóculo y la relación volúmen de medio / volúmen de frasco , para detrminar la demanda de oxígeno del cultivo. Se empleó una matriz experimental 3 x 3 (tabla 4).

El comportamiento de las dos cepas de Vl. en el medio descrito por Samsinakova y Kalokova (1976) (MS), compuesto por 2,5% de glucosa, 2,5% almidón de maíz, 2,5 % licor de remojo de maíz, 0,5 NaCl y 0,2% CaCO3 , fue estudiado teniendo en cuenta la concentración de conidios / ml y el porcentaje de blastospora al final del proceso ,lo cual se determinó mediante conteo en Cámara de Neubauer y microscopio de contraste de fases a 200 x . Se analizó además el comportamiento del pH. Las muestras fueron tomadas entre la 72 y 240 horas.

Tabla 4. Matriz experimental 3x3

Variantes	Antiespumante	Rel. (vf/vm)	Inóculo
1	silicona / aceite (1/1)	1/10	suspensión esporas
2	silicona / aceite (1/1)	1/5	cultivo 72 h
3	silicona / aceite (1/1)	1/15	cultivo 48 h
4	aceite	1/5	cultivo 48 h
5	aceite	1/15	cultivo 72 h
6	aceite	1/10	suspensión esporas
7	0	1/15	cultivo 72 h
8	0	1/5	cultivo 48 h
9	0	1/10	suspensión esporas

Medio: MO
vf/vm = relación volumen del frasco/volumen del medio

Analizando los mismos parámetros y además el consumo de carbohidratos se determinó la cinética del proceso con la cepa

Y-57 en los medios MS y el medio óptimo (MO) obtenido en los experimentos de optimización. En este experimento se trabajó teniendo en cuenta el tipo de antiespumante, edad del inóculo y volúmen óptimo de trabajo previamente ajustados.

Todos los ensayos se realizaron en una zaranda orbital a 140 rpm y con una temperatura entre 25-26 grados C. Fueron utilizados frascos erlenmeyer de 500 ml de capacidad, con 100ml de medio en los experimentos para el ajuste de los medios de cultivo.

Para la comprobación del medio óptimo (MO) y los parámetros de trabajo se utilizó un fermentador de 15 L de capacidad total marca Marubishi , el cual se trabajó a un violúmen efectivo del 60 %. La cinética del proceso se realizó entre las 0 y 72 horas , se tomaron en cuenta para la evaluación los mismos indicadores que para los estudios en zaranda y se emplearon los métodos descritos anteriormente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de los resultados obtenidos con las matrices experimentales (tablas 5 a y 5 b), se seleccionó como medio óptimo el compuesto por 15g/l de levadura torula, 15 g/l sacarosa y 2 g/l $CaCO_3$, al cual se añadió 0,1 g/l de cloramfenicol para evitar contaminantes durante el proceso , tal como lo recomienda Kononova 1986.

En relación a los antiespumantes, la mezcla de aceite con silicona en proporción 1/1 resultó la más adecuada. Un inóculo totalmente esporulado empleado al 10 % y una relación de volúmen del medio/ volúmen del frasco de 1/10 , permitieron obtener los mejores efectos en cuanto a la concentración de conidios /ml y se logró la reducción del porcentaje de blastosporas (tabla 6).

Tabla 5. Resultados del efecto de los nutrientes en la reproducción de *V. lecanii* Y-57

a)Matriz 4x4

Licor de maíz			
0/+,1	10/+0.12	20/-0.02	40/-0.05
Levadura torula			
0/-0.25	5/+1.4	15/+8.6	30/+2.5
Sacarosa			
0/-0.6	5/+2.1	15/+6.3	30/-1.4
Cabecilla de arroz			
0/-0.12	5/-0.27	15/+0.48	30/+0.63

b) Matriz 3x3

Sacarosa		
10/-1.1	15/+1.4	20/-0.3
NaCl		
0/+0.36	1/0.37	5/-0.2
$CaCO_3$		
0/-0.29	1/-0.1	2/+0.45

Tabla 6. Resultados del efecto del antiespumante, inóculo y relación de volúmenes en la producción de V. lecanii Y-57 en el medio MO

Antiespumante		
Aceite+silicona/+1.62	Aceite/-1.21	0/-1.16
Rel vf/vm		
1/15/+0.17	1/10/+0.27	1/5/-0.05
Inóculo		
Susp. esporas/0.01	48 hrs/-0.51	72 h/+1.25

Al comparar el comportamiento de la cepa Y-57 conla M-y en el medio MS (tabla 7) se encontró que para la Y-57 la concentración máxima de conidios se obtuvo a las 168 horas de cultivo, mientras que el porcentaje de blastosporas disminuyó hasta 3,8 a los 7 días. El pH a partir de las 72 horas alcanzó un valor de 7,0 , el cual se mantuvo constante hasta las 240 horas. Por su parte la cepa M-y alcanzó el máximo rendimiento de conidios a las 240 horas , sin embargo a partir de las 120 horas comenzó a observarse una reducción notable del porcentaje de blastosporas que osciló entre 2 y 5 hasta los 10 días . En relación al pH tambien mostró diferencias con la Y-57, al mantener un valor de 5,0 desde las 120 a las 240 horas. Samsinakova y Kalakova ,1976, empleando este mismo medio con otra cepa encontraron que la esporulación comenzaba entre los 4 y 5 días y obtuvieron al final del proceso un cultivo formado por conidios , blastosporas y abundante micelio , lo cual no ocurrió con ninguna de las cepas probadas por nosotros donde la presencia del micelio resultó siempre escasa.

Esto indica que la selección de la cepa es un aspecto importante a tener en cuenta para la producción a escala industrial.

Al comparar el comportamiento de las cepa Y-57 en los medios MS y MO bajo las mismas condiciones de cultivo (tabla 8), encontramos que en el medio MO a las 72 horas alcanzó la máxima concentración de conidios /ml y con sólo un 2,2 % de blastosporas. El pH se mantuvo estable y neutro desde las 48 horas y al final del proceso se consumió el 74 % de los carbohidratos presentes en el medio. Durante el mismo tiempo de cultivo la concentración de conidios en el medio MS fué 5 veces mas baja y aunque el porcentaje de blastosporas fue bajo (3,25%) el consumo de carbohidratos fue inferior quedando una concentración residual del 50 % al final del proceso.

La comprobación de los resultados en un fermentador de laboratorio (tabla 9) demostró que entre 60 y 72 horas no hubo diferencias en cuanto al rendimiento de conidios y a las 72 horas aumentó ligeramente la cantidad de blastosporas.El pH se comportó de forma similar que en la zaranda , mientras que hubo un mejor consumo de los carbohidratos y al final del proceso sólo quedó un 20 % residual.

Pocos autores reportan la producción de este hongo por cultivo sumergido, Bondarenko 1985 lo emplearon para la producción de la fase de inóculo y demoró de dos a tres días . Hall y Burges

Tabla 7. Comportamiento de las cepas Y-57 y M-y en medio MS

Tiempo (h)	Conidios /ml	% blastop.	pH	Tiempo	Conidios/ml	% blastop.	pH
0	10^6		6.5	0 h	10^6		6.5
72	4×10^7	3.0	6.5	72 h	2×10^7	17.6	6.0
120	4.5×10^8	13.6	7.0	120 h	4.2×10^7	1.8	5.0
168	5.0×10^8	8.6	7.0	168 h	9.32×10^7	5.5	5.0
240	4.8×10^8	3.8		240 h	2.1×10^8	3.6	5.0

en 1982 estudiaron el efecto del medio de cultivo , temperatura y el pH en cultivos agitados de Vl. y consideraron que los cultivos sólidos resultaron más estables. Sin embargo nuestros resultados permiten considerar que la producción por cultivo sumergido de Vl. es factible siempre que se eliga la cepa y el medio adecuado y que entonces, los problemas a resolver se relacionan con los procesos de recobrado y formulación que deben permitir obtener un producto efectivo y estable en el almacenamiento.

Tabla 8. Comportamiento de la cepa Y-57 en los medios de producción MO y MS

Medio MO

Tiempo (h)	Conidios/ml	% blastop.	pH	% consumo carbohid.
0	106		6.5	0
24	6.5×10^7	2.5	6.0	39
48	2.2×10^8	3.0	7.0	59
72	4.6×10^8	2.2	7.0	74

Medio MS

Tiempo (h)	Conidios/ml	% blastop.	pH	% consumo carbohid.
0	10^6		6.5	0
24	1×10^7	13.5	6.5	19
48	4.5×10^7	8.6	5.0	55
72	1×10^8	3.25	5.0	58

Tabla 9. Comportamiento de la cepa Y-57 en un fermentador de 15 L empleando el medio MO y en las condiciones de cultivo establecidas

Tiempo (h)	Conidios/ml	% blastop.	pH	% consumo carbohid.
0	10^6		6.5	0
24	5.6×10^7	10	7.0	40
48	1.8×10^8	7	7.0	52
60	6.6×10^8	3.4	7.0	78
72	6.8×10^8	4.2	7.2	80

CONCLUSIONES

- Las cepas Y-57 y M-y de V. lecanii tuvieron un comportamiento diferente en el medio MS . Con la Y-57 se logró un mayor rendimiento de conidios en un tiempo mas corto.
- El medio óptimo para la cepa Y-57 está compuesto por Levadura torula 15 g/l , Sacarosa 15g/l y CaCO3 2 g/l
- La adición de antiespumante, aceite y silicona 1/1, un inóculo a partir de conidios al 10 % y una relación de volúmen medio/frasco de 1/10 incrementaron el rendimiento de conidios en la cepa Y-57 tanto en el MO como en el MS.
- A escala de fermentador de laboratorio se logró reducir el tiempo del proceso a 60 horas.

REFERENCIAS

Biriukov V. Planificación de experimentos mediante métodos matremáticos de optimización por rectángulos ortogonales latinos. Ed. Médica . URSS. p10-16, 1968.

Bondarenko, V. Comunicación personal.,1985

Hall, R. A. The fungus *verticillium lecanii* In. A Microbial Control of Pest and Plants Diseases. 1970, Acd. Press. Ed. Burges. H. D. p 482-498, 1980

Hall, R. a. ,H. D. Burges. Control of aphids in glasshouses by the fungus *Verticillium lecanii*. Ann Applied. Biology. 93: 235-246,1982

Kononova, E. *Verticillium lecanii* caracterización y posibilidades de producción. Conferencia Ed. INISAV, MINAGRI.Cuba. 6p, 1988.

Luján, M., T. Vázquez, T. Cabrera, E. Sánchez. Metodología para la reproducción de *Verticilium lecanii* (Limm) Vieg. Manual metodológico para la producción de entomófagos y entomopatógenos. Ed. INISAV-CNSV. Cuba. p 16-21.1990

Rijo, E. *Verticillium lecanii* para el control de *Boophillus micropulus*. Tesis Dr. en Ciencias Agrícolas . INISAV. Cuba. 120p, 1996.

Samsinakova A, S. Kalokova. Mass cultivation of entomophagus fungus *Verticillium lecanii*. Ceska Mokolony. 30 (2) 18-25. 1976

Sánchez M. .Determinación de de los costos de producción de los bioplaguicidas por métodos artesanales. Informe final Resultado 0020604. PCT biotecnología Agrícola INISAV-CITMA. Cuba. 10p,1995

Sivakunar C.V., S. Jayarad. *Verticillium lecanii (Limm)* A potential biocontrol agents for the potato cyst nematodes. J. Biol Control . 1 (2): 150-'151,1987.

TÉCNICA DE LIOFILIZACIÓN PARA LA CONSERVACIÓN DE CEPAS DE ENTOMOPATÓGENOS

Noris B. Padrón[1], Irina Pérez[1], Lidianys Lewis[2], Mercedes Luján[1], Silvia Godines[3], Miriam Sánchez[1] y Nidia Acosta[1]

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 No. 514 e/ 5ta. B y 5ta F. Playa, Ciudad de La Habana. CP 11600
2. Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). Ave 23 No. 21425 e/ 214 y 222, La Coronela, La Lisa. Ciudad de La Habana
3. Instituto de nvestigaciones de la Industria Alimenticia (IIA). Carretera del Guatao km 3, La Lisa, Ciudad de La Habana, CP 19200

RESUMEN

*Se liofilizaron las cepas de **Metarhizium anisopliae, Beauveria bassiana** y **Verticillium lecanii** en un medio soporte constituido por leche en polvo descremada y glutamato de sodio. La viabilidad, concentración y virulencia de estos microorganismos se mantuvieron con valores similares a los conservados en medio agarizado, así como sus características fisiológicas y morfológicas durante un año de conservación a temperatura de 6°C. Los valores promedios de viabilidad para el hongo **M. anisopliae** fue de 98 % a las 48 horas, su concentración osciló entre (3-8) x10 ^{8}conidios x ml y la virulencia mayor al 90 %. En **V. lecanii** a las 20 horas la viabilidad fue superior al 60 % y a las 48 horas mayor del 90 %, la concentración entre (1-8) x 10^8 conidios x ml y su virulencia fue más del 90 %. Para **B. bassiana** los valores promedios de viabilidad fueron de más del 90 % a las 48 horas, la concentración entre (1-7) x 10^8 conidios x ml y la virulencia tan alta como las antes citadas. Esta técnica con este medio soporte ha permitido conservar las cepas estudiadas viables y las mismas se continuarán estudiando hasta que se mantenga su supervivencia.*

Palabras clave: ***Metarhizium anisopliae, Beauveria bassiana, Verticillium lecanii,*** **liofilización**

ABSTRACT

*The strains of **Metarhizium anisopliae, Beauveria bassiana** and **Verticillium lecanii** were lyophilized in a supporting medium made of powdered skimmed milk and sodium glutamate. The viability, concentration and virulence of those microorganisms maintained values similar to those preserved in agarized medium as well as their morphological characteristics during one year of preservation at 6 °C. The average values of viability for the fungus **M. anisopliae** was of 98% after 48 hours, its concentration varied between 3 and 8 x 10^8 conidia/ml and the virulence was higher than 90%. For B. bassiana the average values of viability were higher than 90% after 48 hour, the concentration between 1 and 8 x 10^8 conidia/ml and the virulence was higher than those mentioned above. With this technique with this supporting medium was allowed preserve the studied strains which remained viable and these will be further studied until their survival be maintained. It was evident the great vantage offered by lyophilization since one works with original cultures avoiding thus the contamination inherent to the manual process.*

Key words: ***Metarhizium anisopliae, Beauveria bassiana, Verticillium lecanii,*** **lyophilization**

INTRODUCCIÓN

Actualmente se utilizan diferentes métodos para la conservación de los cultivos puros, los cuales poseen una mayor o menor capacidad para mantener las características fisiológicas y morfológicas del cultivo, según Dalpe (1990)

Una de las técnicas de conservación de cultivos puros que ha tenido gran difusión es la liofilización, la que ofrece numerosas ventajas entre las cuales se pueden citar las siguientes; disminución del riesgo de contaminación, conservación de la viabilidad de las cepas durante largos períodos de tiempo, mantenimiento de las propiedades morfológicas y bioquímicas de la cepa original

Entre los factores que afectan la viabilidad del microorganismo liofilizado se encuentra el medio soporte empleado, el cual desempeña un importante papel y debe estar formado por lo que se conoce como coloide protector, recomendándose en la literatura el empleo de leche descremada entre otros.

Algunos autores consideran importante el uso de aditivos en el medio soporte para incrementar la supervivencia de los microorganismos durante y después de la liofilización.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la técnica de liofilización para la conservación a 6°C de los hongos entomopatógenos, con vista a entregar los bulbos a los 15 laboratorios provinciales para su transferencia y distribución a los 220 CREE que propagan masivamente los insecticidas biológicos en todo el país y así eliminar los tubos con medio agarizado técnica trabajosa por la reactivación sobre insectos

patrones con frecuencia de 6 meses; además que se consume muchos recursos; los parámetros de calidad varían considerablemente y los riesgos que se presentan en la transportación son altos; problemática que se solucionará con el material liofilizado y entre otras ventajas se destacan la supervivencia por largo periodo de tiempo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con tres género de hongos entomopatógenos preparados en medio completo semisintético.

La extracción de los conidios se realizó con perlitas de vidrio, se centrifugó y se secaron los conidios por congelación bajo presión reducida (vacío).

Como medio soporte para la liofilización se utilizó el recomendado por Lewis y Godines (1993) constituido por leche en polvo descremada al 11 %y glutamato de sodio al 1%.

Para la determinación de la viabilidad se procedió de las formas siguientes:

- Se resuspendió el contenido del frasco en tres ml de suero fisiológico al 0,9 %+ caldo nutriente al 1,3 %y se dejó en reposo durante 15 o 20 min. y 6-8 x 10^8 conidia/ml, se agitó vigorosamente hasta reconstruir el material liofilizado.
- Se realizaron diluciones seriadas de la suspensión, en tubos que contenían 9 ml de agua con Tween 80. Se sembró 1 ml de las diluciones en placas Petri por duplicados, las cuales contenían medio PDA, SMA, MC + cloranfenicol 1 g/l.
- Las placas se incubaron a temperatura de 28 +/- 2° C durante 4-5 días y se realizaron los conteos de colonias, expresándose los resultados en UFC/ml, material que se utilizó para los ensayos de virulencias.
- Se utilizaron también placas Petri con papel de filtro, tubo en v y porta conteniendo dos gotas de medio agarizado en cada extremo, las cuales fueron inoculadas con la suspensión de 10^7-10^8 para cada microorganismo en estudio, se le crearon codiciones de humedad y se colocaron a la misma temperatura antes mencionada, se contabilizó 100 conidios y se expresó en % los resultados; de igual forma se procedió con la siembra en estría, extrayéndose una gota directamente del bulbo liofilizado para su extensión.
- La concentración se determinó por conteo en camara de Neubauer y la virulencia se realizó por lo establecido en la Norma Cubana y Método de ensayo (1993)
- Todos estos estudios se realizaron al momento cero, al mes, dos meses, seis meses y un año, utilizando la tiamina con el objetivo de reactivar los microorganismos liofilizados a partir de los seis meses.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Lewis y Godines (1993) recomendaron para la conservación de hongos de la Industria Alimenticia, la técnica de liofilización empleando como medio soporte leche en polvo + glutamato de sodio y sus cepas se han mantenido viables durante 9 años. Debido a esta experiencia utilizamos este medio para la conservación de tres géneros de hongos entomopatógenos. Los resultados obtenidos han sido positivos hasta la fecha, donde se adicionó, como aditivo protector, el glutamato de sodio para incrementar la supervivencia del microorganismo durante y después de la liofilización y de esta forma alcanzar altos valores de viabilidad.

Los resultados de la tabla 1 en el momento cero del proceso de liofilización indican que los parámetros de calidad no se han afectado, pues en el caso de *M. anisopliae*, cuando se estudió la cepa mantenida en medio agarizado, la concentración fue de 3,0 x 10^8 conidios x ml y la media de los valores para el bulbo liofilizado fue de 1,5 x 10^8 conidios x ml; por lo tanto en el bulbo analizado el orden se mantuvo en los valores de 10^8, la viabilidad en cepas fue del 95% y en el bulbo por ambos

Tabla 1. Conservación de cepas de entomopatógenos en bulbos liofilizados en el momento cero del proceso

Género	Conc.(10 con/ml)	UFC	Viabilidad (%) Placa	Porta	Virul.9 (Abbott)
Metarhizium	1,4-1,6 x=1,5 x 10^8	UFC=10 400-400 x ml = 4,0 x 10^8	98 (24 h)	99 (24h)	*Cylas formicarius* (Tetuán) (13 días) I. 7 con micosis II. 8 con micosis III. 10 con micosis 83,3 %
Verticillium	8,0-2,0 x=5,0 x 10^8	UFC=10 400-300 x=350 UFCx ml = 3,5 x 10^8	68,33 (20 h) 99 (40 h)	61 (20 h) 99 (40 h)	*P. xylostella* (6 días) I. 9 con micosis II. 8 con micosis III. 9 con micosis 86 %
Beauveria	7,0-1,7 x=5,0 x 10^7	UFC=10 10-15 x=12,5 UFCx ml = 1,2 x 10^6	92 (72)	90 (72)	*P. xylostella* (6 días) 5 con micosis 10 con micosis 6 con micosis 70 %

Tabla 2. Conservación de cepas de entomopatógenos en bulbos liofilizados al mes de realizado el proceso

Género	Concentración	Viabilidad (%) Placa	Porta	Virulencia>90% (Abbott, 1925)
Metarhizium	8,5 3,0 x=5,7 x 10^8 cond/ml	99 (24h)	90 (24h)	*Plutella xylostella* (15 días) I. 7 con micosis II. 8 con micosis III. 8 con micosis 96 %
Verticillium	1,85 1,60 x=1,72 x 10^8	90 (24 h)	87 (20 h)	*Bemisia tabaci* (6 días) 93 %
Beauveria	5,95 8,15 x=7,05 x 10^7	94 (24 h)	92 (24 h)	*Cylas formicarius* (12 días) 97 %

métodos empleados fue mayor de un 98%, así como la virulencia sobre *Cylas formicarius* fue superior del 90% tanto en cepas como en bulbo, en este último un 83,3% de los tetuanes se recubrieron con el hongo y se observó una buena esporulación. Estos parámetros son los establecidos en las Normas Cubanas de Especificación y Programas de Control de Calidad, 1993 (NC: 72-03, 1993; NC: 72-04, 1993; NC: 72-05, 1993).

Con el entomopatógeno *V. lecanii* los resultados obtenidos con las cepas en medio agarizado fueron de 2,1 x 10^8 conidios x ml; 95 % de viabilidad y virulencia sobre *Plutella xylostella* del 92%; con los bulbos estudiados la concentración promedio fue de 5,0 x 10^8 conidios x ml; Las UFC x ml de 3,5 x 10^8; con una viabilidad mayor del 60% a las 20 horas (por las dos técnicas empleadas) y sus máximos valores del 99% se obtuvieron a las 40 horas. La virulencia fue de un 90% con un 86% de insectos micosados a los seis días de tratamiento. Todos los parámetros anteriormente citados coinciden con lo establecido en las Normas y Pogramas de Control de Calidad vigente.

En el caso de *Beauveria bassiana* se ha presentado alguna variabilidad en el momento cero; los valores de concentración se corresponden tanto en cepas como en bulbos de 3,75- 1,0 x 10^8 conidios x ml respectivamente, pero los valores de viabilidad aunque son aceptados en las Normas y Programas de Control de Calidad demoró más tiempo de lo previsto con valores mayores del 90% a las 72 horas y un 70% de larvas micosadas.

Por los resultados de la tabla 2 al cabo del mes de liofilizadas las cepas, se aprecia que se han conservados y estabilizan los parámetros en cuanto a concentración, viabilidad y virulencia; esta última superior o igual al 90% para todos los géneros estudiados y la cantidad de insectos micosados ha sido superior al 70%. En las observaciones realizadas a los tres géneros de estos entomopatógenos en estudio, no se observaron alteraciones morfológicas de las cepas.

Después de dos meses de conservada la cepa de *M. anisopliae* liofilizada, todos los parámetros se mantienen estables según los valores que se aprecian en la tabla 3.

Tabla 3. Conservación de los microorganismos liofilizados a los dos meses

Género	Concentración 10^8 Cond. x ml	Viabilidad (%) Placa	Porta	Virulencia > 90% (Abbott, 1925)
Metarhizium	4,5 3,7 x=4,1	96 (24h)	98 (24 h)	*P. xylostella* (6 días) I. 8 con micosis II. 6 con micosis III. 8 con micosis 73 %
Verticillium	x= 6,7	98 (18 h)	93 (18 h)	*Bemisia tabaci (6 días)* *94 %*
Beauveria	x= 2,8	90 (72 h)	90 (72 h)	*C. formicarius (12 días)* I. 10 con micosis II. 10 con micosis III. 9 con micosis IV. 9 con micosis V. 10 con micosis 98 %

Tabla 4. Conservación de los liofilizados a los seis meses con utilización de tiamina para su reactivación

Género	Concentración 10^8 conid /ml	Viabilidad (%) Placa	Porta	Virulencia 90 % (Abbott, 1925)
Metarhizium	x= 4,8	99 (40)	80 (20)	*Cylas formicarius* *I. 10* *II. 10* *III. 10* *IV. 10* *V. 10* 100 %
Beauveria	x= 2,6	99 (40 h)	80 (20h)	*Cylas formicarius* (a los 11 días) 96 %

Tabla 5. Conservación de los liofilizados al año

Género	Concentración 10^8 cond/ml	Viabilidad % Placa	Porta	Virulencia %
Metarhizium	6,4	98 (40h)	91 (40h)	*Cylas formicarius* *(12 días)* *93*
Verticillium	1,2	98 (24h)	91 (24h)	*Bemisia tabaci* *(3 días)* 84
Beauveria	4,3	97 (40h)	98 (40h)	*Cylas formicarius* *(15 días)* *90*

La viabilidad por los dos métodos ensayados fue superior al 96% y el porcentaje de insectos muertos fue mayor que 90, aunque la micosis se manifestó en el 73% de estos. Los estudios realizados por Krueger et al. en 1990, alcanzaron también una alta mortalidad sobre los insectos con los propágulos liofilizados e informaron la gran consistencia de estos cuando se inocula en suelo.

El comportamiento de la *B. bassiana* fue bueno, con una alta concentración con valores de 10^8 y viabilidad del 90%, destacándose la alta virulencia del liofilizado sobre *Cylas formicarius;* de ahí se denota la especificidad de este microorganismo contra coleópteros.

El hongo *V. lecanii* mantuvo altos valores de concentración y viabilidad, por lo que se denota que es un microorganismo que se adapta fácilmente a la técnica de liofilización.

Muchos autores refieren la superioridad de esta técnica para la conservación de microorganismos entre estos Lewis y Godines (1993), que mantuvieron cepas supervivientes durante 9 años, así como Jiménez, J; Gillespie (1990), que determinaron la viabilidad del liofilizado de *Beauveria y Metarhizium* por un período de 451 días a temperatura de 5 y 20 °C. También es bueno destacar los resultados de Dalpe (1990), el cual adicionó tiamina con el objetivo de recuperar la viabilidad de la cepa durante largos períodos de conservación y, como se observa en la tabla 4, transcurridos los seis meses de conservación de los liofilizados de estos entomopatógenos sometidos también a una reactivación con tiamina, se logró alcanzar valores similares a los obtenidos en el momento cero. En la tabla 5 observamos cómo después de un año de liofilizados, estos hongos entomopatógenos mantienen los parámetros establecidos, conservándose viables y virulentos.

CONCLUSIONES

- El método de liofilización permite conservar viables y virulentas las cepas de *M. anisopliae, V. lecanii y B. bassiana.*
- El medio soporte utilizado permitió conservar viables estos tres géneros estudiados.
- Se recomienda evaluar otros medios soportes para la conservación de estos hongos.
- Se recomienda la reactivación del liofilizado con Tiamina a partir de los seis meses.
- Se recomienda continuar los estudios y evaluaciones correspondientes a las cepas liofilizadas.

REFERENCIAS

Dalpe, Y. Endogone pisiformis: growth, morphology and preservation of cultures. Canadian Journal of- Botany. 68; 4, 910-915; 24 ref. 1990.

Jiménez, J; Gillespie, AT. Use of the optical brightener Tinopal BOPT for the rapid determination of conidial viabilities in entomogenous deuteromycetes. Micological Research, 1990, 94; 2, 279- 283, 14 ref. 1990.

Krueger, SR; Villani, MG; Martins, AS; Roberts, DW. Efficacy of *Metarhizium anisopliae* conidia and dry mycelium in soil agaist

scarabaeid larvae. Proceedings and abstracts, Vth International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control, Adelaide, Australia, 20-24 August 1990, 336. Glen Osmond, Australia; Department of Entomology, University of Adelaide. 1990.

Lewis, Lidianys y Godines, Silvia. Evaluación de la viabilidad de cepas de hongos liofilizados. Fórum estudiantil. Facultad Farmacia y Alimentos. 1993.

NC:72-02. Métodos de ensayos. Biotecnología Agrícola. Biopreparados de Entomopatógenos.1993.

NC:72-03. Biopreparados del Entomopatógeno *Verticillium lecanii*. Biotecnología Agrícola. Especificaciones. 1993.

NC:72-04. Biopreparados del Entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*. Biotecnología Agrícola. Especificaciones.1993

NC: 72-05. Biopreparados del Entomopatógeno *Beauveria bassiana*. Biotecnología Agrícola. Especificaciones. 1993.

Raper, B y Charles, T. Manual of the *Penicillia*. Ed. Me Williams and Wilbins Co. 1949.

HONGOS DE SUELO QUE ATACAN AL CLAVEL Y ANTAGONISMO *IN VITRO* CON *Trichoderma* spp.

Ileana Sandoval, María O. López, Tania Bonilla y Yoelkis Tomás

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

RESUMEN

El clavel es una planta herbácea de la familia Caryophyllaceae y presenta diversas especies que se cultivan como planta ornamental así como para flores de corte. La misma puede ser afectada por diversos patógenos fúngicos. Uno de los más agresivos es Fusarium oxysporum f.sp. dianthi, agente causal de la marchitez. Para las condiciones de Cuba este patógeno no ha sido registrado, pero en las áreas del Instituto de Investigaciones Científicas (CNIC) se ha presentado desde 1995 síntomas de secamiento y marchitamiento de las plantas. El diagnóstico realizado ha corroborado la presencia de Rhizoctonia solani, Sclerotium rolfsii y Phytophthora parasitica, en Dianthus barbatus y D. chinensis, con más del 50% de plantas muertas por cantero. Para Cuba se había registrado oficialmente P. parasitica en D. caryophyllus y D. chinensis (Fernández, 1993, Seidel, 1976), por lo que el diagnóstico en D. barbatus constituye un nuevo registro para la micoflora del clavel en nuestro país. Los estudios in vitro realizados con 12 aislamientos de Trichoderma pertenecientes al cepario del INISAV, confirman que los 4 pertenecientes a la sección Longibrachiatum no muestran efectividad hiperparasítica hacia S. rolfsii, sin embargo estos y los restantes de las secciones Pachybasium y Trichoderma fueron efectivos contra los patógenos aislados. La cepa estándar T. harzianum (A 34) mostró buena efectividad competitiva, aunque fue superada cualitativamente por otro aislamiento de la Sección Pachybasium (A-198), lo que amerita continuar los estudios in vivo y fase de extensión en vitroplantas y canteros con el fin de comprobar su efectividad.

Palabras clave: *Dianthus* spp., *Trichoderma* spp. hongos fitopatógenos

ABSTRACT

Pink is a herbaceous plant of the family Caryophyllaceae and presents several species, which are cultivated as ornamental plants. Several pathogenic funguses can affect it. One of the most aggressive is Fussarium oxysporum f. sp. dianthi, causal agent of withering. In Cuba this pathogenic not has been registered, but in the areas of the Scientific Research Institute (CENIC) it has presented from 1995 drying symptoms and wilting of the plants. The diagnostic has corroborated the presence of Rhizoctonia solani, Scierotium rolfsii y Phytophthora parasitica on Dianthus barbatus and Dianthus chinensis, with more than the 50% from the plants dead by flowerbed. For Cuba, has been registered officially P. parasitica on D. caryophyllus and D. chinensis (Fernández, 1993, Seidel, 1976); for this reason, the diagnostic on D. barbatus constitutes a new record for the micoflora of pink in our country. "In vitro" studies made with 12 Trichoderma isolates, belonging to the ceparium of INISAV, confirms that the 4 belonging to the section Longibrachiatum, don't show hyperparasitic activity toward S. rolfsii, however, these and the remainder of the section Pachybasium and Trichoderma were effective against isolated pathogenic. The standard stock T. harzianum (A 34) shows good competitive effect, although was surpassed qualitatively by other isolation of Pachybasium section (A-198); this makes necessary to continue "in vivo" and in extension phase studies on in vitro plants and flowerbed with the objective of verifying its effectiveness.

Key words: *Dianthus* spp., *Trichoderma* spp. Phytopathogens fungus.

INTRODUCCIÓN

El clavel es una planta herbácea perenne originaria de Europa y Asia. Pertenece a la familia *Caryophyllaceae*, género *Dianthus* y se cultiva como planta ornamental y para flores de corte. Existen diferentes especies de este género, como son *D. chinensis, D. barbatus, D. caryophyllus, D. armenia, D. plumarius* entre otros (USDA, 1960). Requiere para su cultivo suelos de textura suelta, con buen drenaje, pH entre 6.8-7.2, temperaturas preferiblemente entre 15-21 $C y buena iluminación para la formación de flores (Romero, 1989).

En numerosos países del mundo la producción de flores con destino a la exportación se hace cada día más importante para el ingreso de divisas. Un ejemplo de ello lo tenemos en Colombia, donde la floricultura es el tercer renglón exportable después del banano y el café. Este país se ha convertido en el segundo exportador de flores en el mundo después de Holanda y el principal hacia Estados Unidos (Asocolflores, 1992).

Una de las principales limitantes en la producción de flores de clavel, en el país de referencia lo constituye el marchitamiento vascular por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Arbeláez, 1987, 1993). Para las condiciones de Cuba este patógeno no ha sido registrado, y en las áreas del Instituto de Investigaciones Científicas (CNIC) se han encontrado síntomas de marchitamiento, que pueden afectar más del 50 % de las plantas en los canteros, lo que constituye una limitante en la producción de flores en este cultivo, tanto en fase de vitroplantas y sobre todo en el campo donde se presenta severamente la enfermedad.

Por tal razón el presente trabajo tiene como objetivo principal determinar la etiología del agente causal de la marchitez del clavel bajo estas condiciones y comprobar *in vitro* la efectividad de un grupo de aislamientos de *Trichoderma* con vistas a su utilización para el control de la enfermedad en fase de adaptación de vitroplantas en cepellones; así como en canteros después del trasplante.

MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de plantas afectadas de clavel (***D. barbatus*** y ***D. chinensis***) con síntomas de marchitamiento se realizaron las siembras de las partes del tallo y raíces afectadas. Las muestras fueron procesadas según los métodos tradicionales de siembra en agar-agar y en agar-papa-dextrosa. Se realizaron las identificaciones y descripciones de los patógenos y de los síntomas observados.

Para los ensayos del biocontrol se realizaron pruebas *in vitro* en cultivo dual agar -papa-dextrosa entre los patógenos y 12 aislamientos de ***Trichoderma*** procedentes de la colección del Laboratorio de Micología (2 representantes de la Sección ***Trichoderma,*** 4 de la Sección ***Longibrachiatum*** y 6 de la Sección ***Pachybasium***) entre las que se encuentra la cepa estándar ***T. harzianum*** (A-34) generalizada en la producción para el biocontrol de diferentes patógenos del suelo.

Por cada aislamiento se montaron tres placas o réplicas. La incubación se realizó a 27 $C y se midió diariamente el diámetro de las colonias hasta su enfrentamiento (5-7 días). Se determinó el nivel de competencia por el sustrato, así como el hiperparasitismo por parte del patógeno de acuerdo con el nivel de crecimiento y esporulación sobre la colonia.

Para el recobrado de hongos de la Clase Oomycetes se utilizó el trampeo de suelo según Ricci (1972) con pétalos de clavel a diferentes profundidades (5, 10 15 y 20 cm), así como de la rizosfera de plantas de clavel afectadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las porciones afectadas del tallo y raíces se aislaron tres hongos fitopatógenos del suelo: ***Sclerotium rolfsii, Rhizoctonia solani y Phytophthora parasitica*** a partir de plantas de ***D. chinensis*** y ***D. barbatus*** , esta última con severas afectaciones por su susceptibilidad a la enfermedad.

El síntoma que predominaba en las plantas consistía en una pudrición blanda de la raíz principal y base de los tallos, con una coloración pardo claro. El tejido se presentaba deshilachado y las plantas se tornaban de un color amarillo hasta color pajizo. Estos síntomas coinciden con los descritos para la marchitez por ***Phytophthora*** según Tello (1990) y es el que predomina en plantas adultas en fase de floración. Sin embargo, otros que no presentaban esta marchitez podían registrar necrosis de los haces vasculares y raíces, color pardo y presencia de un micelio en algunos casos color blanco en la base del tallo, en cuyo caso pudimos comprobar la presencia de ***S. rolfsii***. El patógeno provocó además damping-off de las plantas en fases tempranas de su desarrollo.

Tambien fue registrada la presencia de ***R. solani,*** con necrosis en las raíces y tallos, donde se observó a nivel vascular una coloración marrón, los que coinciden con las descripciones realizadas por Arbeláez ***et al*** (1993) en este cultivo.

A pesar de que este complejo hongo se presenta en el clavel, es de destacar que el principal productor del marchitamiento lo constituye ***P. parasitica,*** ya que en reiteradas ocasiones que se analizaron muestras de ***D. barbatus***, predominó la presencia de este patógeno.

P. parasitica se aisló del suelo de la rizosfera de las plantas afectadas según el método de Ricci (1972). Los pétalos de clavel se infectaban en las primeras 24 horas con los esporangios del patógeno corroborando la presencia de este hongo en las muestras analizadas. El registro fue positivo a 5, 10, 15 y 20 cm de profundidad en los canteros con más del 50% de ***D. barbatus*** afectadas.

Otro aspecto importante de esta patología es que se agudizó en los momentos más cálidos y lluviosos del año, lo cual está en correspondencia con las exigencias de este hongo; mientras que la incidencia de la enfermedad disminuye a medida que comienza la etapa invernal. A pesar de estas observaciones, se requiere profundizar en la epidemiología de esta nueva enfermedad para ***D. barbatus***, en las condiciones de Cuba, ya que los registros oficiales sólo lo han señalado para ***D. caryophyllus*** y ***D. chinensis*** (Seidel, 1976; Arnold, 1986).

S. rolfsii y ***R. solani*** han sido informados en Cuba en ***D. caryophyllus*** y ***D. chinensis*** según los diagnósticos realizados en diferentes provincias (Martínez, 1986, Calafet, 1988, García,1988) por lo que nuestras observaciones constituyen también nuevos registros en ***D. barbatus.***

Los estudios del antagonismo ***in vitro*** entre 12 aislamientos de ***Trichoderma*** y los 3 patógenos del clavel (tabla 1) demostraron que la mayoría de los aislamientos limitaron el crecimiento de ***P. parasitica*** y se comportaron con elevada actividad hiperparasítica a excepción de las cepas ***T. harzianum*** (A-53), ***T. longibrachiatum*** (PR- 617) y la A-164 de la Sección ***Pachybasium.***

La cepa estándard ***T. harzianum*** (A-34) que ha mostrado buenas potencialidades para estos patógenos en los cultivos hortícolas y está ampliamente extendida en producción (Sandoval *et. al,* 1995, 1997) se mostró particularmente efectiva hacia estos patógenos según la competencia por el sustrato y el hiperparasitismo mostrado (tabla1), sin embargo la cepa (A-198) de la Sección ***Pachybasium*** presenta unas características culturales particulares, con formación abundantes cristales en el sustrato, superó competitivamente a la cepa (A-34) frente a ***S. rolfsii*** y ***R. solani,*** no así a ***P. parasitica*** (figura 1), aunque cualitativamente mostró un fuerte hiperparasitismo y cambió la coloración de los patógenos.

Tabla 1. Actividad antagónica e hiperparasítica de diferentes aislamientos de *Trichoderma* hacia los patógenos del clavel

Aislamiento	*Trichoderma*	*S. rolfsii*	*Trichoderma*	*P. parasítica*	Trichoderma	R. solani
T. harzianum (A 34)	5.7*	3.3*	7.5*	1.5*	5.1*	3.8*
T. harzianum (A 53)	5.3*	3.7*	7.2	1.8	4.7	4.2
T. harzianum (A 84	5*	4	7.5*	1.5	5.1*	3.9
T. viride (A 86)	5.5	3.5	6.7*	2.3	4.5*	4.5
T. longibrachiatum (A 2)	4.7	4.3	7*	2	5	4
T. longibrachiatum (PR 617)	3.4	5.6	7.8	1.2	4.3*	4.6
Sección ***Longibrach*** (A59)	5.6	3.4	7*	2	4.7	4.2
Sección ***Longibrach*** (A146)	4.6	4.4	7.3*	1.7	4.8	4.1
Sección ***Pachybasium*** (A113)	4.1*	4.9	7.4*	1.6	4.6*	4.3
Sección ***Trichoderma*** (A160)	5.4*	3.6	6.8*	2.2	4.3*	4.3
Sección ***Pachybasium*** (A164)	5.1	3.9	6.9	2.1	4.9*	4.1
Sección ***Pachybasium*** (A198)	6.3*	2.7	6.7*	2.3	5.3*	3.7

* Colonia hiperparasitada completamente

Colonia hiperparasitada en el borde

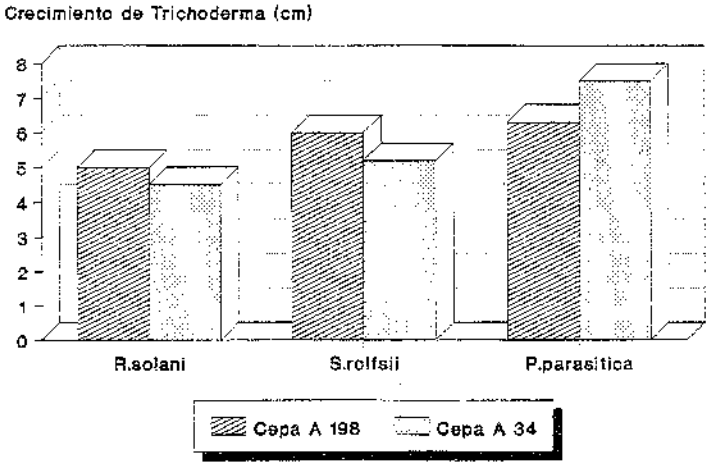


Fig.1 Crecimiento *in-vitro* de *Trichoderma* (A34 y A198) frente a *R.solani, S.rolfsii* y *P.parasitica*

P. parasitica adquirió una coloración amarillo fuerte y ***R. solani*** carmelita púrpura. La colonia de ***S. rolfsii*** fue cubierta totalmente y no produjo esclerocios en el sustrato.

Estos elementos observados nos permiten estudiar con más profundidad ambas cepas en conjunto para comprobar la efectividad que pueden mostrar hacia estos patógenos en el biocontrol de la enfermedad que producen en plantas de clavel.

CONCLUSIONES

- La marchitez del clavel (***D. barbatus*** y ***D. chinensis***) en las condiciones estudiadas es provocada por ***P. parasitica.***
- Se registraron asociados a estos síntomas otras necrosis en raíces y tallos por ***S. rolfsii*** y ***R. solani.***
- P. parasitica, ***R. solani*** y ***S. rolfsii***, constituyen nuevos registros para ***D. barbatus.***
- Del total de cepas de ***Trichoderma*** probadas ***in vitro,*** se destacan contra los patógenos detectados la cepa estándard ***T. harzianum*** (A-34) y la (A-198) de la Sección ***Pachybasium.***

REFERENCIAS

Arbeláez, G. Fungal and bacterial diseases on carnation in Colombia. Acta Horticultural. 216: 151 - 157, 1987.

Arbeláez, G. Las enfermedades vasculares del clavel en Colombia y en el mundo. Agronomía Colombiana 10(1): 12 - 19, 1993.

Arbeláez, G; Guzmán, Silvia; León, J; González, M; Molina, J.C; Parra, J; Angulo, J.F; Alvarez,J. D. Control integrado del marchitamiento vascular del clavel ocasionado por Fusarium oxysporum f.sp. dianthi. Agronomía Colombiana 10 (1): 68-89, 1993.

Arnold, G.R.W. Lista de hongos fitopatógenos de Cuba. Editorial Científico Técnico. Ciudad de la Habana, Cuba, 206 pp, 1986.

Asocolflores. Indicadores de la evolución económica nacional e internacional. Revista Asocolflores 31, 35, 1992.

Calafet, Aniole. Relación de enfermedades causadas por hongos en cultivos de importancia económica de la Provincia de Matanzas. Informe Laboratorio Provincial Sanidad Vegetal. MINAGRI 1988.

Fernández, Roseñada, M. Catálogo de enfermedades de plantas cubanas. Serie Agrícola, No. 27, Academia de Ciencias de Cuba, 78 pp, 1973.

García, Graciela. Relación de enfermedades causadas por hongos en los cultivos de importancia económica de la Provincia de Camagüey. Informe Laboratorio Provincial Sanidad Vegetal. MINAGRI 1988.

Martínez, M.L. Catálogo de enfermedades fungosas 1978- 1988. Informe Laboratorio Provincial Sanidad Vegetal, Pinar del Río, Cuba. MINAGRI, 29 pp, 1988.

Ricci, P. Moyens d'etude de l'inoculum du Phytophthora nicotianae f. sp. parasitica (Dastur) Water de l'oeillet dans le sol. Ann. Phytopathol. 4: 257-276, 1972.

Romero, M. Implantación del clavel en invernaderos. Normas técnicas para la toma de decisiones. Serie: Divulgación Técnica 5. Región de Murcia. Consejería de Agricultura, Ganadería y Pesca, 57 pp,1989.

Sandoval, I; López, M.O; García, D; Mendoza, I. Trichoderma harzianum (cepa A34): Un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomate y del pimiento. CID - INISAV, Boletín Técnico, 4-36 pp, 1995.

Sandoval, I; Stefanova, M; López, M.O; García, D; Bernal, B; Neyra, M; Rodríguez, F. Una alternativa ecológica y efectiva para el biocontrol de enfermedades fúngicas con la utilización de Trichoderma harzianum (A34). Resúmenes II Seminario Científico Internacional Sanidad Vegetal, 23 - 27 junio, La Habana, p 127 - 128, 1997.

Seidel, D. Lista preliminar de hongos fitopatógenos de Cuba. Editorial Pueblo y Educación, La Habana, 186 pp, 1976.

Tello, J. C. La Podredumbre del cuello y de la base del tallo del clavel causada por Phytophthora de Bary en los cultivos españoles. Cuadernos de Fitopatología. Revista de Fitopatología y Entomología. Año VII, N° 22: 9-12, 1990.

USDA. United State Department of Agriculture. Index of Plant Disease, 531 pp, 1960.

EVALUACIÓN DE DIFERENTES MÉTODOS DE SEPARACIÓN DE HUEVOS DE *Galleria mellonella* (LINN.)

Ofelia Milán, F. Fuentes y Nelly Matos

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

RESUMEN

Se utilizaron soluciones de hipoclorito de sodio e hidróxido de potasio a las concentraciones del 1 al 6%, para separar las puestas de ***Galleria mellonella,*** *evaluando puestas de 50 huevos en 3 ml de cada una de ellas. El trabajo se realizó agitando las soluciones por método manual y mecánico, contabilizando la cantidad de huevos separados a intervalos de 15 minutos en temperatura ambiente (29°C) y controlada (60°C) y se comparó con un testigo de huevos sin tratar, superpuestos y sin superponer. Se observó que la mayor cantidad de huevos separados correspondió a las concentraciones de 5 y 6% en hipoclorito de sodio e hidróxido de potasio tanto en temperatura ambiente como controlada. Estos huevos se sometieron a la parasitación por Trichogramma pintoi Voegelé (grupo pintoi) y se obtuvo hasta un 49% de parasitismo en los huevos tratados y 69% en los no tratados y sin superponer.*

Palabras claves: ***Galleria mellonella, Trichogramma pintoi,*** **huevos, parasitismo**

ABSTRACT

Sodium hypochlorite and potassium hydroxide solutions to the concentration of 1 to 6% were used to separate the ***Galleria mellonella*** *eggs, evaluating 50 eggs in 3 ml of each one of them. The work was accomplished agitating the solution by manual and mechanical method, counting the amount of separated eggs to intervals of 15 minutes in ambient temperature (29°C) and controlled temperature (60°C) and it was compared with an egg witness without treating, superposed and without superposing. Was observed that the major quantity of eggs separate corresponded to the concentrations of 5 and 6% in sodium hypochlorite and potassium hydroxide, so much in ambient as controlled temperature. These eggs are submitted to the parasitation by* ***Trichogramma pintoi*** **Voegelé** *(pintoi group) and were obtained until a 49% of parasitism in the treated eggs and 69% in not treated and without superposing ones.*

Key words: ***Galleria mellonella, Trichogramma pintoi,*** **eggs, parasitism**

INTRODUCCIÓN

La polilla mayor de la cera, *Galleria mellonella* es un insecto cuyas hembras ponen gran cantidad de huevos, los que se utilizan para el desarrollo de organismos útiles; sin embargo los colocan en camadas y recubiertos por escamas, lo que es rechazado por algunos insectos como el parasitoide *Trichogramma* spp., que solo llega a parasitar los huevos que quedan descubiertos. Marston et al (1973), estudiaron las posibilidades que tenían las puestas de este hospedante para la reproducción de parásitos y plantearon que los huevos de dicha polilla pueden considerarse como un sustituto de los de *Sitotroga* y otras polillas para la cría de *Trichogramma* o depredadores. El método que utilizaron estos autores para obtener las puestas, fue colocando placas plásticas humedecidas con solución azucarada y espolvoreadas con gránulos de azúcar, debajo de los cuales ovipositaron las polillas y este contenido lo sumergieron en agua para desprender los huevos con ayuda de una esponja, mientras que las escamas fueron eliminadas adicionando un detergente biodegradable seco.

Fuentes y Hernández (1985), efectuaron pruebas con hidróxido de potasio para separar las puestas de *G. mellonella* a las concentraciones de 2,5 y 10%, o los centrifugaron con agua y en ninguno de los casos lograron obtener más del 20% de parasitismo por *Trichogramma.*

En Cuba *G. mellonella* se reproduce con fines investigativos, sin embargo son escasos los estudios de la utilización de sus huevos y la posibilidad de contabilizarlos con facilidad, por tal motivo nuestro trabajo tuvo como objetivo lograr la separación de las puestas de esta polilla en huevos individuales y libres de escamas para poderlos utilizar con fines investigativos y en la parasitación por *Trichogramma spp.*

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron huevos de *G. mellonella* obtenidos en el laboratorio de reproducción masiva de insectos. Para la separación de las puestas se utilizó hipoclorito de sodio comercial e hidróxido de potasio, ambos, a las concentraciones de 1, 2, 3, 4, 5, y 6%, a temperatura ambiente y controlada de 60 °C, en una estufa. De las soluciones preparadas se tomaron 3 ml y se vertieron en frascos de cristal previamente

desinfectados y numerados. En cada frasco se introdujeron puestas de 50 huevos contabilizados bajo el microscopio estereoscópico, los que se removieron hasta lograr que se mojaran totalmente.

Esta prueba se evaluó cada 15 minutos agitando los huevos de forma manual con un gotero y de forma mecánica por medio de zaranda de movimiento horizontal; agitador magnético y mediante ultrasonido, durante 1, 2, y 3 minutos en este último caso y hasta 2 horas en las anteriores, donde se observó el comportamiento de dichos huevos, los cuales se contabilizaron en cada tiempo.

Los huevos separados se lavaron durante 15 minutos con agua corriente y luego se colocaron en tarjetas de cartulina blanca, previamente humedecida con solución azucarada al 10% y se dejaron secar para colocarlas dentro de frascos de vidrio de 800 ml, donde se situó una pareja de *Trichogramma* spp. por cada 50 huevos.

Se evaluó el parasitismo de los huevos tratados con las mejores soluciones, comparado con huevos no tratados, superpuestos y con escamas, los que se obtienen en la misma forma en que son depositados por las polillas y con huevos sin superponer y libres de escamas, que se recolectaron del papel parafinado plegado en el vivario (Milán et al, 1985).

Para evaluar el resultado estadístico del trabajo, se utilizó un diseño de bloques al azar con 6 réplicas y 12 tratamientos, los datos se transformaron a y se sometieron a un análisis de varianza estableciendo las diferencias según la prueba de rangos múltiples de Duncan para el 5% de probabilidad de error.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se describe en la tabla 1, cuando se utilizó hipoclorito de sodio a temperatura ambiente se observó que la mayor cantidad de huevos separados correspondió a las concentraciones de 5 y 6%, donde el tiempo que demoraron en separarse fue de 57,2 y 40 minutos respectivamente, mientras que al 3 y 4%, demoraron más tiempo.

Similar comportamiento se obtuvo cuando esta sustancia se calentó hasta 60 °C; los huevos se separaron totalmente en las soluciones del 2 al 6% pero demoraron menos tiempo en las variantes del 5 y 6% respectivamente y aunque el 2,3 y 4% no difirieron con éstas, el tiempo fue más largo.

En la tabla 2 se demuestra que el hidróxido de potasio a temperatura ambiente dio mejores resultados en las concentraciones de 5 y 6%, donde se logra menor tiempo para separarse, con mayor cantidad de huevos separados y las que menos tiempo estuvieron expuestas a la acción de dichas sustancias.

De forma similar se observó que cuando esas soluciones se calentaron a 60 °C el tiempo que demoraron los huevos en separarse fue de 26 y 18 minutos en las concentraciones de 5 y 6% respectivamente, entre las que no hubo diferencia significativa y en cuanto al número de huevos separados solo existió diferencia con el 4%, pero se logró la total separación con menos tiempo en las de 5 y 6%, respectivamente.

Se observó además, en la mayoría de los casos, que del 4,1 al 11,6% de los huevos expuestos a las concentraciones más bajas, eran dañados debido a que permanecieron mucho más tiempo al contacto con estas sustancias y esto también fue observado por Fuentes y Hernández, (1985), que después de someter puestas de esta polilla a la acción de hipoclorito de potasio al 2, 5 y 10%, observaron muchos de ellos dañados, después de centrifugarlos durante 1 minuto.

De los métodos utilizados para separar puestas se obtuvo el mejor resultado con el método manual, en el cual se observó que comenzaban a separarse a partir de los 15 minutos de haberse expuesto a estas sustancias, debido al constante burbujeo que se produjo cuando se agitaron; sin embargo con ninguno de los métodos mecánicos utilizados, se logró la

Tabla 1. Efecto del hipoclorito de sodio sobre huevos de *Galleria mellonella* en diferentes condiciones de temperatura

Temperatura de 60 °C			Temperatura ambiente		
Concentración	$\bar{x}$ del tiempo utilizado	$\bar{x}$ de huevos separados	Concentración	$\bar{x}$ del tiempo utilizado	$\bar{x}$ de huevos separados
1	120 a	11.5 a	1	120 a	0.5 c
2	95 a	50 a	2	110 a	21.16 b
3	71.66 b	50 a	3	107.5 a	42.5 a
4	55 bc	50 a	4	72.5 b	47.5 a
5	46.66 c	50 a	5	57.2 bc	48.66 a
6	35 c	50 a	6	640 c	48.83 a
CV	9.96 %	15.44 %	CV	12.5 %	15.40 %
Et	0.43	0.99	Et	131	1..70

Letras iguales no difieren significativamente para el 5% de probabilidad de error.

Tabla 2. Efecto del hidróxido de potasio sobre los huevos de *Galleria mellonella* en diferentes condiciones de temperatura

Temperatura de 60 °C			Temperatura ambiente		
Concentración	X del tiempo utilizado	X de huevos separados	Concentración	X del tiempo utilizado	X de huevos separados
1	98,33 a	44,33 a	1	130 a	24,33 ab
2	68,33 b	46,33 a	2	132,5 a	26,66 ab
3	43,33 c	50 a	3	112,5 ab	32 a
4	87,22 a	1 b	4	125 ab	1,66 b
5	26,66 d	50 a	5	100 bc	44 a
6	18,33 d	50 a	6	87,5 c	41,83 a
CV	10,38%	5,21%	CV	9,52 %	19,6%
Et	0,42	0,14	Et	0,48	1,03

Tabla 3. Efecto del KOH y ClONa sobre la parasitación por *Trichogramma pintoi*

	KOH		CLONa		Huevos sin tratar superpuestos y con escamas (testigo)	Huevos sin tratar obtenidos sin superponer
	5%	6%	5%	6%		
No. huevos Parasitados	12.1 c	14.2 c	17.1 bc	24.9 b	3.2 d	34.7 a
Porcentaje de Parasitismo	24.2%	28.4%	35.4%	49.8%	6.4%	69.4%
No. de hembras emergidas	5.2 b	6.5 b	9.8 ab	13.2 a	1.0 c	17.8 a
No. de machos emergidos	3.8 c	4.3 bc	6.4 bc	8.4 ab	2.1 d	12.6 a
Relación de sexo (macho-hembra)	1:1.36	1:1.51	1:1.53	1:1.57	1:0.476	1:1.36
Porcentaje de larvas nacidas	2.16%	3.1%	2.3%	1.98%	93%	13.8%

separación de dichas puestas y además los huevos en muchos casos se desintegraron.

Como se observa en la tabla 3, la mayor cantidad de huevos parasitados por *Trichogramma pintoi* correspondió a la variante cuyos huevos fueron obtenidos en el vivario y que son depositados generalmente en una sola camada y libres de escamas, donde se obtuvo un 69,4% de parasitismo, la cual difirió con el resto de las variantes; no obstante, en las variantes de los huevos tratados con hipoclorito de sodio e hidróxido de potasio también se logró buena parasitación, si se observa que con hipoclorito de sodio al 6% se obtuvo 49,8%; sin embargo el menor porcentaje correspondió a la variante donde las polillas colocaron los huevos de forma natural, o sea, superpuestos y recubiertos por restos de escamas, lo que trajo como consecuencia que se limitara la actividad parasítica; datos que coinciden con los resultados obtenidos por Fuentes y Hernández (1985), los que parasitaron puestas de *G. mellonella* obtenidas por este método y lograron menos del 20% de parasitismo.

Se pudo observar que de los adultos emergidos la mayor cantidad correspondió a las hembras, manteniéndose una relación de sexo normal, aunque en el caso del testigo ésta se comportó diferente.

En todos los casos hubo emergencia de larvas, pero el mayor porcentaje correspondió al testigo con 93%, mientras que en las variantes de hidróxido de potasio e hipoclorito de sodio fue menor debido a que el 1,8 - 5,6% de los huevos se desintegraron.

CONCLUSIONES

- Las puestas de *Galleria mellonella* demoraron menos tiempo en separarse con las concentraciones de 5 y 6% de hipoclorito de sodio o hidróxido de potasio a temperatura ambiente y de 60^0 C respectivamente; pudiéndose utilizar este método para obtener huevos individuales para trabajos investigativos y de parasitación por *Trichogramma pintoi*, a escala de laboratorio.
- Se logró el mayor de porcentaje de parasitismo en los huevos obtenidos por el método de vivario, con 69,4%, por lo que

las puestas obtenidas por dicho método pueden ser utilizadas en la reproducción de este parasitoide, pues se obtienen sin superponer y libres de escamas.

- El método manual para separar las puestas, fue el más adecuado, por el corto tiempo de exposición y por dañarse menos los huevos.

REFERENCIAS

Fuentes, F.; J.Hernández. Separación de los huevos de ***Galleria mellonella*** con hidróxido de potasio. Resumen de trabajo de ***Trichogramma* spp.** Quinquenio 1981-85. INISAV. 1985.

Marston, M: B. Campbel and E. Boldt. Mass producing eggs of the greater wax moth ***Galleria mellonella*** (Lin). Technical Bulletin No. 1510. US. Dept. of agricultura 15 p. 1973.

Milán, Ofelia; Nelly Matos, J. Hernández y F. Morales. Vivario para la reproducción masiva de ***Galleria mellonella***. informe Final del problema 53/50. Quinquenio 1981/85. INISAV. 1985.

COMPATIBILIDAD DE *Nodita firmini* NAVÁS (*Neuroptera: Chrysopidae*) CON LA BACTERIA *Bacillus thuringiensis* (BERLINER)

Nidia Acosta y Esperanza Rijo

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

RESUMEN

Se evaluó la compatibilidad del depredador ***Nodita firmini*** *Navás (**Neuroptera: Chrysopidae**) con la bacteria* ***Bacillus thuringiensis*** *(Berliner) (1.2x 10^8 esporas/ml). El experimento consistió en dos ensayos, en el primero los huevos se sumergieron en la solución del biopreparado y en el segundo se tomó 0.3 ml de la solución y se mezcló con 0.060 g de huevos de* ***Corcyra cephalonica,*** *el cual fue suministrado al estado larval del entomófago. Se obtuvo que la bacteria B. thuringiensis es inocua al entomófago, al no presentar los insectos tratados efecto teratológico, ya que completaron su desarrollo y presentaron descendencias viables hasta la tercera generación, así como la duración de cada una de las fases de desarrollo del ciclo de vida de N. firmini a temperatura de 24±°C y 85-90 HR no presentó diferencias significativas en ninguna de las generaciones evaluadas y cada una de ellas tuvo una duración como promedio de 29,3 días.*

Palabras clave: *Nodita firmini, Bacillus thuringiensis,* **compatibilidad, depredador**

ABSTRACT

The compatibility of the predator ***Nodita firmini*** *Navás (**Neuroptera: Chrysopidae**) with the bacterium* ***Bacillus thuringiensis*** *Berliner (1.2x 10^8 spores/ml) was evaluated. The experiment consisted two assays, in the first the eggs were submerged in biopesticide solution and in the second, 0,3 ml of solution were taken and mixed with 0,060 g of* ***Corcyra cephalonica*** *eggs which were furnished to the larval state enthomophagus. Was obtained that the bacterium B. thuringiensis are innocuous to the enthomophagus, because the insects treated doesnt presented teratological effects, since completed its development and presented viable issues until the third generation. The time of each fases of life cycle development of Nodita firmini to temperature of 24±°C and 85-90 HR not presented significant differences in any evaluated generations and each one had an average duration of 29,3 days.*

Key words: *Nodita firmini, Bacillus thuringiensis,* **compatibility, predator**

INTRODUCCIÓN

En la literatura especializada se registra la importancia de los insectos de la familia Chrysopidae como reguladores de las poblaciones de fitófagos, por citar algunos nos referiremos a los trabajos de Beglyarov y Smelnik, (1977) en que muestra las reducciones de hasta un 98% de la población de *Myzus persicae* Sulz y *Aphis craccivora* Koch, así como de un 100% en *Leptinotarsa decemlineata* Say por la acción única de liberaciones masivas de *Chrysoperla carnea* Steph .

Para la evaluación de los efectos secundarios de los plaguicidas sobre los enemigos naturales hay que llevar a cabo todo el test secuencial propuesto por la Organización Internacional de Lucha Biológica (OILB), ya que con frecuencia los plaguicidas (químicos y biológicos) que fueron muy tóxicos en el laboratorio, son inocuos o al menos tienen una toxicidad más baja en el campo (Viñuela et al,1996; Viñuela y Jacas, 1993; Izquierdo y Longley, 1994 y Jacas y Viñuela, 1994).

Adylov y col. (1990) probaron en condiciones de campo en el cultivo de algodón, soluciones de *B. thuringiensis* de distintas variedades a las dosis de 1 a 0,4 kg/ha y observaron que los estados inmaduros de las crisopas y los coccinélidos no sufrían ninguna alteración, a su vez Bennison (1992) planteó que en un manejo integrado para controlar áfidos en el cultivo de pepino se liberó *C. carnea, Orius* spp y se aplicó el entomopatógeno *V. lecanii*, y observaron que hubo una reducción de áfidos y no se presentó incompatibilidades entre el hongo y los enemigos naturales.

El objetivo fundamental de este trabajo consistió en conocer la compatibilidad del preparado microbiológico a partir de *B. thuringiensis* y el predador *N. firmini* en condiciones de laboratorio, y poder recomendar la utilización de esta bacteria en el control de plagas agrícolas sin que se afecten las poblaciones naturales de este entomófago.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para este trabajo se utilizaron insectos de la F-1 de *N. firmini*, obtenidos de una cría de laboratorio y el biopreparado a base de *B. thuringiensis* (cepa LBt-1), reproducido en el

Departamento de Bioplaguicidas del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal.

Se evaluó el efecto de *B. thuringiensis* sobre 10 huevos y 10 larvas del primer instar de *N. firmini*, cada ensayo fue comparado con una variante control y replicado tres veces.

En la variante de compatibilidad de huevo del depredador con el biopreparado con el biopreparado *B. thuringiensis* ($1.2x10^8$ esporas/ml), éstos se sumergieron en la solución durante 30 segundos y en la del estado larval la experiencia consistió en mezclar el alimento suministrado (0,060 g de huevos de *C. cephalonica)* con 0,3 ml de la solución del biopreparado. En la variante control del primer ensayo los huevos se sumergieron en agua y en la segunda el alimento de las larvas se mezcló con 0,3 ml de agua.

Para determinar la compatibilidad se registró la cantidad de huevos, larvas, cocones e imagos viables; así como la fecundidad de éstos, al mismo tiempo se midió la duración en días de cada uno de los estados del ciclo de vida de *N. firmini* hasta la F-3, para conocer el efecto teratológico. Todo el experimento se desarrolló a 241°C y 85-90 HR.

Los datos de conteos de huevos, larvas, cocones e imagos del ensayo de compatibilidad del entomófago con la bacteria, así como la duración en días de cada uno de los estados de desarrollo del insecto fueron sometidos a la transformación $(x + 1)^{1/2}$ y procesado por un análisis de varianza bifactorial y simple, respectivamente. La comparación de medias se realizó por la prueba de Newman Keuls, para un 5 % de probabilidad de error (Dagnelie, 1984).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los huevos y larvas de *N. firmini* tratados con el biopreparado a base de la bacteria entomopatógena *B. thuringiensis* (cepa LBt-1), a la concentración 1.2×10^8 esp/ml no presentaron diferencias significativas con los insectos testigos en la viabilidad de los huevos, larvas, cocones e imagos, además se pudo apreciar que la cantidad de huevos ovopositados disminuyó en las generaciones sucesivas, tanto en las variantes tratadas con el biopreparado como en los respectivos controles, lo cual probablemente se deban a las condiciones artificiales de cría. Las mayores cantidades de huevos corresponden a la F-1 en el ensayo de huevos tratados con el entomopatógeno como en el de las larvas y ambos difieren significativamente de las F-2 y ésta a su vez de la F-3, efecto éste que se manifiesta en los insectos tratados con el producto biológico, así como en la variante control. (tabla 1 y 2).

Los resultados arrojaron que el producto a base del entomopatógeno *B. thuringiensis* no indujo afectaciones a la F-1, F-2 y F-3 de *N. firmini*, en los diferentes parámetros evaluados, lo que se corresponde con lo planteado por Adylov y col. (1990) que demostraron la compatibilidad del biopreparado a partir de *B. thuringiensis* a los estados inmaduros de *Chrysopa* spp. en condiciones de campo. Nuestros resultados reafirman la compatibilidad que los crisópidos muestran en condiciones naturales a los entomopatógeno.

Por otro lado Jacas y Viñuela (1993), indicaron que las aplicaciones fitosanitarias con plaguicidas biológicos como *B. thuringiensis* son de gran importancia en el manejo integrado de plagas.

Tabla 1. Compatibilidad de *B. thuringiensis* ($1.2x10^8$ esporas/ml) a huevos de *N. firmini* y su posible efecto teratológico

Generación	Tratamiento	Cantidad de huevos viables	Cantidad de larvas viables	Cantidad de cocones viables	Cantidad de imagos viables	Total de huevos
F-1	B. thuringiensis	8	8	8	8	159
F-2	B. thuringiensis	9	9	7	6	109
F-3	B. thuringiensis	9	9	8	6	77
F-1	Testigo	10	9	9	8	108
F-2	Testigo	9	8	8	6	107
F-3	Testigo	9	8	7	6	80
		NS	NS	NS	NS	NS
F-1						133 a
F-2						108 b
F-3						79 c
DE		0.16	0.11	0.25	0.24	0.43
CV		5.4%	3.7%	8.9%	9.4%	4.2%

Medias con letras iguales, no difieren significativamente, según la prueba de Newman Keuls para un 5% de probabilidad de error.

Tabla 2. Compatibilidad de *B. thuringiensis* ($1.2x10^9$ esporas/ml) a larvas de *N. firmini* y su posible efecto teratológico

Generación	Tratamiento	Cantidad de larvas viables	Cantidad de cocones viables	Cantidad de imagos viables	Total de huevos
F-1	B. thuringiensis	10	9	9	194
F-2	B. thuringiensis	10	9	9	108
F-3	B. thuringiensis	8	8	8	92
F-1	Testigo	10	9	9	175
F-2	Testigo	8	7	6	107
F-3	Testigo	8	7	6	71
		NS	NS	NS	NS
F-1					
F-2					
F-3					
DE		0.19	0.17	0.20	0.42
CV		6.5%	6%	7.4%	3.9%

Medias con letras iguales, no difieren significativamente, según la prueba de Newman Keuls para un 5% de probabilidad de error.

Tabla 3. Duración en días de los estados del ciclo de vida de *N. firmini* en las diferentes generaciones.

Generaciónes	Huevos	Larvas	Cocón
F_1 (Bt.)	5.3 a	12.0 a	12.0 a
F_1 (Testigo)	5.3 a	11.0 a	12.0 a
F_2 (Bt.)	4.5 a	12.3 a	9.3 a
F_2 (Testigo)	4.6 a	11.0 a	10.0 a
F_3 (Bt.)	4.5 a	10.0 a	10.0 a
F_3 (Testigo)	4.6 a	10.6 a	10.0 a
D.E.	0.13	0.22	0.14
C.V.%	6.1	6.6	4.4

Con respecto a la duración de cada una de las fases de desarrollo del ciclo de vida de *N. firmini* a temperatura 24±1 °C y 85 - 90% H.R no presentó diferencia significativa en ninguna de las generaciones evaluadas y la duración de cada una de ellas fue de 29,3 días como promedio, similares resultados fueron obtenidos por Rijo (1980a) para *Ch. exterior* Navás, donde evaluó la duración del desarrollo a 25 °C y 87% H.R. y obtuvo que esta especie desde la puesta del huevo hasta la emergencia del imago duró como promedio 27 días, además concuerda con lo planteado con Nicoli et al (1991) que la temperatura es un factor que influye directamente en la duración del desarrollo de *Ch. carnea* al igual que en otros insectos.

CONCLUSIONES

Los huevos y larvas de *N. firmini* son compatibles con el biopreparado a partir de *B. thuringiensis* cepa LBt-1 a la concentración de $1.2x10^8$ esp/ml.

El biopreparado a partir de *B. thuringiensis* cepa LBt-1, no produjo efecto teratológico sobre *N. firmini* hasta la tercera generación

REFERENCIAS

Adylov, Z.K.; Khaknov, A.; Babebekov, K. y Agzamova, K.H. Influence of microbiological preparations on the entomophages of the cotton agrocoenosis. Zashchita-Rastenii, No,7 p. 34. 1990.

Alayo, P. Los Neuropteros de Cuba. Poeyana. Serie B #2. Inst. Biología. A.C.C. p: 25-127. 1968

Beglyarov, G.A. and A.I. Smelnik. Seasonal colonization of entomophages in the URSS.

Ridgway, R. L. and Vinson, S.B. (eds). Biological control by augmentation of natural enemies. New York Plenum Press. pp 283-328, 1977.

Bennison, J.A. Biological control of aphids on cucumbers. Use of open rearing systems or banker plants to aid establishment of Aphids matricareae end Aphidoletes aphidimyza. 44 International Symposium on Crop Protection. Gent. (Belgium). Rijksuniversiteit Faculteit Laudbouweteuschappen, Gent (4) 44, 457-466, 1992.

Dagnelie, P. Theoric al metodes statisques. Les Presses Agronomiques de Gremblouv. 2:242-250. 1984.

Izquierdo, J.L. y M. Longley. Efectos de los plaguicidas sobre parasitoides de pulgones (Hym: Aphidiidae). Phytoma 55: 34-41. 1994.

Jacas, J.A y E. Viñuela. Los efectos de los plaguicidas sobre los organismos beneficiosos en la agricultura. II Fungicidas. Phytoma 48:45-63. 1993.

Jacas , J.A y E. Viñuela. Normalización del método para estudiar los efectos secundarios de los fitosanitarios sobre Opius concolor Szepligetti (Hym: Braconidae). Bol. San.Veg. Plagas 20(2):409-417. 1994.

Nicoli, G.; D. Galazzi; M. Mostia and G. Burgio. Embryonic and larvae development of Chrysopa carnea Seteph (Neuroptera:Chrysopidae) at different temperature regimenes. Bull.S. R. O. P. 14 (5): 43-49.1991.

Rijo, C., Esperanza.Ciclo biológico de Chrysopa exterior (Neuroptera: Chrysopidae)en condiciones de laboratorio. Ciencia tec. Agric. Proteción de Plantas. 3(1): 11-19. 1980 a.

Samson, P.R.and P.R, Blood. Voracity and scarching ability of *Chrysopa signata* (Neuroptera: Chrysopidae) *Micromuc tacmariae* (Neuroptera: Hemorobilidae) and *Tropiconabis capsiformis* (Hemiptera: Heteroptera,Nabidae). Austral. Jour. Ecol. 28(4): 575-580. 1980

Viñuela E. y J.L. Jacas. Los efectos de los plaguicidas sobre los organismos beneficiosos en agricultura. III Herbicidas. Evaluación ecotoxicológica. Phytoma 51:44-49. 1993.

Viñuela E.; H. Handel y H. Vogt. Evaluación en campo de los efectos secundarios de dos plaguicidas de origen botánico, una piretrina natural y un extracto de neem, sobre Chrysopoperla carnea Steph (Neup: Chrysopidae). Bol. San. Veg. Plagas. 22(1):97-106 1996.

EPIDEMIOLOGÍA DE LAS POBLACIONES RESISTENTES AL METALAXYL DE *Phytophthora nicotianae* BREDA DE HAAN EN EL CULTIVO DEL TABACO EN CUBA

Berta L. Muiño[1], Julia Almandóz[1], Isabel Díaz[2], Isabel Ponciano[2], Esther L. Martín[3], Vivian Monteagudo[4] y Mary L. González[4]

1. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 No. 514 e/ 5ta. B y 5ta F. Playa, Ciudad de La Habana. CP 11600
2. Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal Pinar del Río. San Juan y Martínez. Pinar del Río.
3. Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal Villa Clara. Carretera Maleza Km 2 1/2. Santa Clara, Villa Clara
4. Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal La Habana. Calle 27 No. 22816 e/ 228 y 234. La Coronela, La Lisa. Ciudad de La Habana

RESUMEN

*La pata prieta causada por **Phytophthora nicotianae** Breda de Haan constituye la segunda enfermedad de importancia económica en el cultivo del tabaco en Cuba, después del moho azul. Para su control, desde 1980, se introdujo el metalaxyl, con una alta efectividad técnica en sus inicios, sin embargo, después de tres años de emplearlo en la práctica se detectaron las primeras poblaciones resistentes del hongo a este fungicida. Se determinaron las líneas base de sensibilidad DL_{50} y DL_{95} para aislamientos sensibles conocidos mediante el método del crecimiento radial de la colonia. Se realizaron muestreos aleatorios de las zonas afectadas y se comprobó la sensibilidad al metalaxyl a 357 aislamientos del hongo. Se estudió la relación entre la incidencia de la enfermedad y de la resistencia, la frecuencia de aparición de las poblaciones resistentes durante el ciclo del cultivo, por campañas y su distribución en las zonas de Pinar del Río, La Habana y Villa Clara. Los valores de DL_{50} y DL_{95} determinados para aislamientos sensibles de **P. nicotianae** son de 0.02 y 0.49 mg i.a./l respectivamente. Las poblaciones resistentes emergen y se establecen en las condiciones naturales de los suelos de Cuba de forma persistente y se manifiestan asociadas a diferentes niveles de adaptabilidad o capacidad competitiva de los individuos. Los períodos en que ocurre la mayor frecuencia de poblaciones resistentes coinciden con las condiciones climáticas favorables, mayor cantidad de inóculo sometido a selección y mayor cantidad de tratamientos, el cual está comprendido, por orden de importancia, en los meses de noviembre, diciembre y octubre.*

Palabras clave: Phytophthora nicotianae, epidemiología, fungorresistencia, metalaxyl

ABSTRACT

*The Black Shank, caused by **Phytophthora nicotianae** Breda de Haan constitutes the second economically important disease in the Cuban tobacco crop. For its control, since 1980 metalaxyl was introduced letting to achieve high technical effectiveness at the biginning. However, after 3 years of its employment, resistant populations of the fungus were found in yield areas. Sensitivity base lines ED_{50} and ED_{95} were determined for known sensitive isolates, by means of the radial grown method. Randomised samples (357 isolates) were obtained in order to check their sensitivity to metalaxyl. Characteristics of the sensitive and resistant isolates were also established as for their infection frecuency. Studies were carried out on the relation between the incidence of the disease and that of the resistance, resistant populations occurring during the crop cycle in every season and their distribution in zones of the Pinar del Río, La Havana and Villa Clara provinces. ED_{50} and ED_{95} values determined for **P. nicotianae** sensitive isolates were of 0.02 and 0.49 mg a.i./l respectively. Resistant populations of this pathogen emerged and were established under natural conditions of the Cuban soils in a persistent way. Resistance was found in an associate way at different levels of adaptability or competitive capability of the strains. Periods in which the higher frecuency occurred for resistant populations were comprised within the months of November, December and October, these coincided with favourable climatic conditions, a higher quantity of treatments.*

Key words: Phytophthora nicotianae, epidemiology, resistance, metalaxyl

INTRODUCCIÓN

El tabaco es atacado por una enfermedad de origen fungoso llamada pata prieta, causada por *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan, la cual constituye la segunda enfermedad en importancia, desde el punto de vista económico, después del moho azul. En condiciones favorables puede destruir totalmente la planta y provocar pérdidas considerables, principalmente en los semilleros (Todd, 1981). En Cuba causó pérdidas de 125 ha en semilleros y 899.4 ha en plantación (MINAGRI, 1983) y se ha incrementado su incidencia en los últimos años, de manera especial en las regiones tabacaleras más importantes del país como Pinar del Río y La Habana, provocando severas afectaciones al cultivo.

Para el control de esta enfermedad, se ha tenido que recurrir al empleo de fungicidas químicos, como una medida fundamental dentro de sistemas de lucha integrada que incluyen además medidas fitotécnicas, de manejo y rotaciones de cultivo, saneamiento, uso de variedades resistentes, medidas de cuarentena, etc.

Las fenilamidas, que conforman las acilalaninas (metalaxyl, furalaxyl y benalaxyl), los butirolactones (ofurace y ciprofuram) y los oxazolidinones (oxadixyl), introducidos a finales de la década del 70 muestran el rango de actividad mas completo contra los hongos Peronosporales (Lyr, 1995). Sin embargo, después de un período de tiempo de empleo relativamente corto de estos fungicidas en la práctica, a escala mundial, se detectaron numerosos casos de resistencia de los patógenos objeto de control (Staub and Sozzi, 1981; Wiglesworth et al, 1988).

El metalaxyl se introdujo en Cuba en 1980 para el control del moho azul del tabaco, así como contra la pata prieta (MINAGRI, 1983), lo cual permitió reducir drásticamente los altos niveles de infección que existían en todas las áreas tabacaleras, pero poco tiempo después se observaron fallas de su efectividad en el campo. Por tanto el objetivo del presente trabajo consiste en la determinación de las líneas base de sensibilidad de este patógeno al metalaxyl para estudiar el comportamiento epidemiológico de las poblaciones resistentes de campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para determinar la sensibilidad de *P. nicotianae* se utilizó el método del crecimiento radial de la colonia (FAO, 1982; Shew, 1984). Estos métodos se estandarizaron con el medio de cultivo de agar papa dextrosa corregido con diferentes concentraciones de metalaxyl desde 0.001 hasta 10 mg i.a./l. A partir de cuatro aislamientos sensibles obtenidos de áreas experimentales sin tratamientos con compuesto químicos, se realizaron las pruebas de sensibilidad y se evaluó el crecimiento exacto de la colonia en las concentraciones antes mencionadas. Se calcularon los valores de porciento de mortalidad por la fórmula de Abbott (BAYER, 1966). Estos valores fueron transformados a unidad de Probit (Bliss, 1934) y los datos de la concentración a logaritmo de la concentración. Se ajustó una ecuación de regresión, y a partir de la línea de regresión se determinó la DL_{50} y DL_{95} mediante un programa computarizado.

Se colectó una muestra de cada aparición de la enfermedad y se obtuvieron de 1 a 2 aislamientos por muestra para un total de 357 aislamientos del hongo, 242 de Pinar del Río, 59 de La Habana y 56 de Villa Clara, los cuales fueron analizados para comprobar su sensibilidad al metalaxyl mediante el método descrito anteriormente. Se estudió la incidencia y evolución de las poblaciones resistentes de *P. nicotianae* en las zonas de Pinar del Río, La Habana y Villa Clara donde se detectó la resistencia, respecto a la estrategia de control implantada para este microorganismo patógeno del suelo. Se agruparon los aislamientos mediante una escala de cuatro categorías donde: (S)- sensible- mg i.a./l, (MR)- medianamente resistente- 1-5 mg i.a./l, (R)- resistente- 10-20 mg i.a./l y (AR)- altamente resistente- 50-100 mg i.a./l. Se estudió la relación entre la incidencia de la enfermedad o afectaciones al cultivo e incidencia de la resistencia en la provincia de La Habana. También la frecuencia de aparición de poblaciones resistentes durante el ciclo del cultivo y su distribución por campañas en las zonas de Pinar del Río.

Algunos de los aislamientos con altos niveles de resistencia se mantuvieron en el laboratorio por períodos prolongados de más de 3 años, mediante pases sucesivos en medio papa dextrosa agar y se le realizaron pruebas periódicas de sensibilidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el aislado NS1 los valores de DL 50 y DL95 (tabla 1) son de 0.01 y 0.28; para NS 2 son de 0.03 y 0.74, para NS3 son de 0.04 y 0.67 y para NS4 son de 0.01 y 0.28 mgi.a./l. Los valores del coeficiente de determinación resultaron altamente significativos, entre 0.93 y 0.98, lo cual muestra la eficacia del método.

De acuerdo a Shew (1984), los valores de DL50 promedio de 317 aislados de *P. nicotianae* fueron de 0.4 mg i.a./l, similares a los determinados en el presente estudio.

Tabla 1. Valores de DL_{50} y DL_{95} del metalaxyl sobre *P. nicotianae*

Aislamiento	Ecuación de regresión	r	DL_{50} (mg i.a./l)	DL_{95} (mg i.a./l)
NS1	Y = 1.24 x + 7.33	0.89	0.01	0.28
NS2	Y = 1.21 x + 6.80	0.97	0.03	0.74
NS3	Y = 1.39 x + 6.89	0.90	0.04	0.67
NS4	Y = 1.20 x + 7.30	0.93	0.01	0.28

Respecto a la resistencia de *P. nicotianae*, ésta se comprobó por primera vez en el país a finales de 1983 en la provincia de Pinar del Río (figura 1). Desde la campaña 1983/84 hasta 1993/94 los porcentajes de aislamientos altamente resistentes permanecieron los más altos y muy estables. Valores de 55.5, 52.6, 93.3, 62.5, 34% por citar algunos ejemplos, respecto a los sensibles (11.1, 25, 27%, etc) y a las medianamente resistentes con porcentajes de 33.3, 10.5, 6.6% etc. En la medida que transcurrieron las diferentes campañas tabacaleras fueron apareciendo nuevas zonas afectadas y ya en el año 1985, prácticamente todas las áreas de tabaco de la provincia presentaban el problema y además todos los aislamientos evaluados resultaron altamente resistentes, no detectándose sensibilidad en ninguna zona. A partir de la campaña 1986/87 comenzaron a reaparecer poblaciones sensibles o medianamente sensibles del hongo debido a la reducción del número de aplicaciones con metalaxyl, la integración del fungicida propamocarb con alta efectividad sobre las poblaciones resistentes y la búsqueda de nuevos suelos para semilleros no contaminados con estas poblaciones, lo cuál contribuyó a disminuir los niveles de inóculo en el suelo y por consiguiente las afectaciones en el cultivo. Tal es así, que en la campaña 1994/95 el porcentaje de aislados sensibles fue

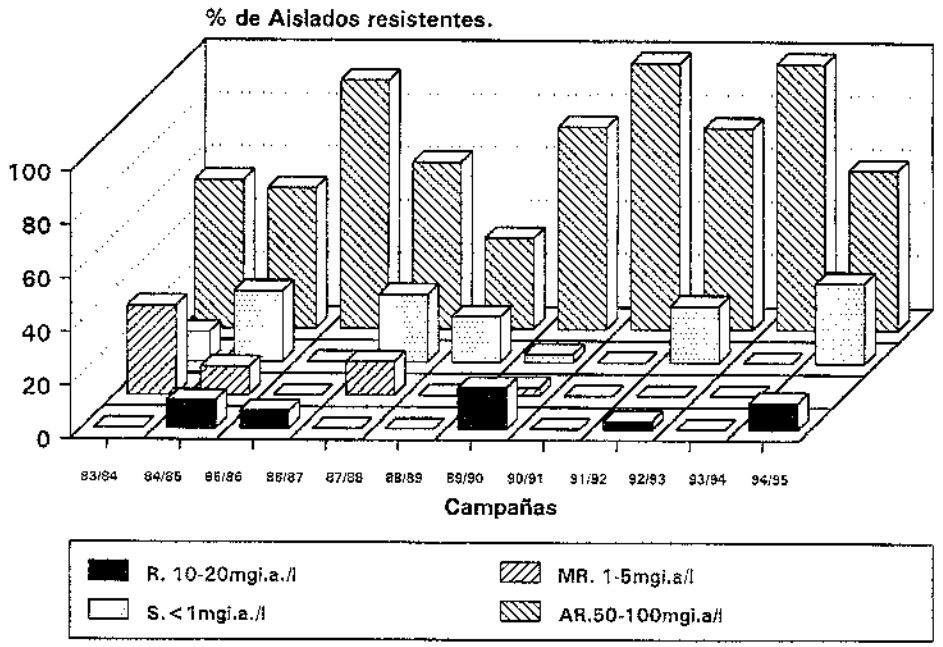


Figura 1. Frecuencia de aparición de aislados resistentes de P. nicotianae al metalaxyl. Pinar del Río

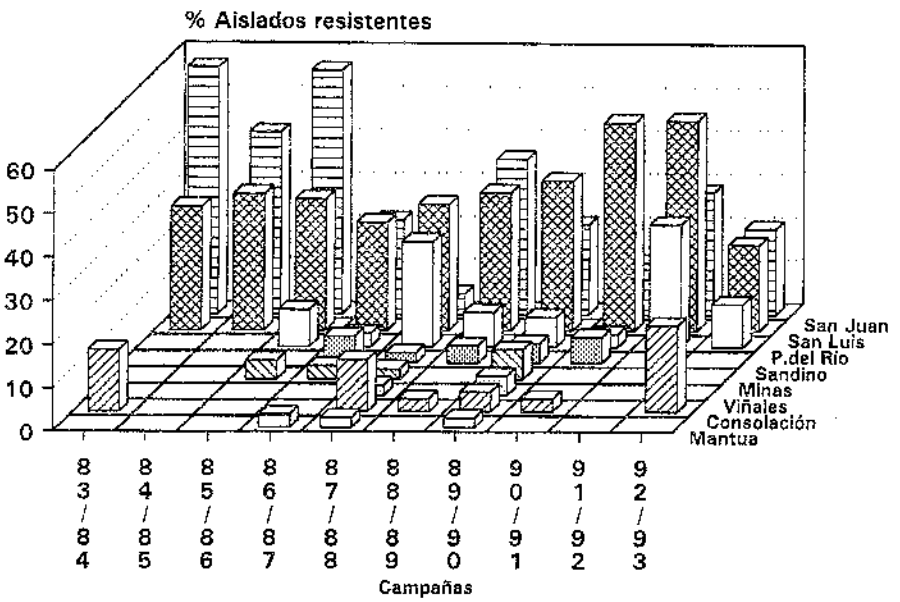


Figura 2. Distribución de las poblaciones resistentes de P. nicotianae en la zonas tabacaleras. Pinar del Río

más alto que los resistentes y por consiguiente no ocurrieron afectaciones importantes en el cultivo por pata prieta. En las zonas de San Juan y Martínez y San Luis (figura 2) ocurrieron las incidencias mas altas de aislados resistentes, seguido de Pinar del Río, puesto que son áreas extensas del cultivo, compactadas, y por tanto el establecimiento de las rotaciones del cultivo asi como el resto de las medidas fue más difícil. La incidencia más alta de aislamientos resistentes (figura 3) ocurrió en el mes de noviembre seguido del mes de diciembre y octubre. En esta etapa es cuando los semilleros se encuentran en su máxima explotación y fundamentalmente en el mes de noviembre ocurren condiciones favorables para la aparición y desarrollo de la enfermedad, como temperaturas cálidas entre 25-28°C. Se constató que en los suelos infectados con poblaciones resistentes del patógeno, se mantienen niveles poblacionales considerables por varios años, demostrado por los resultados del monitoreo de resistencia, lo cual indica que la resistencia es persistente, y las comprobaciones sistemáticas de aislamientos resistentes conservados en el laboratorio por 3 años como mínimo.

En la provincia La Habana (figura 4) se detectó por primera vez resistencia a finales de 1984 en 5 aislamientos, con un alto nivel de ésta. El desarrollo de este proceso aquí es similar al

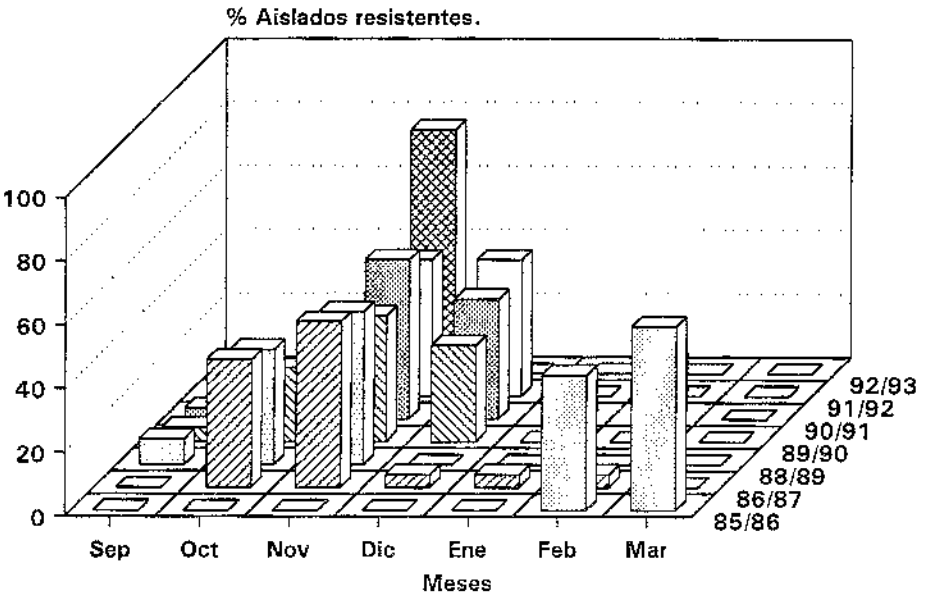


Figura 3. Frecuencia de aparición de las poblaciones resistentes de P. nicotianae durante las campañas. Pinar del Río

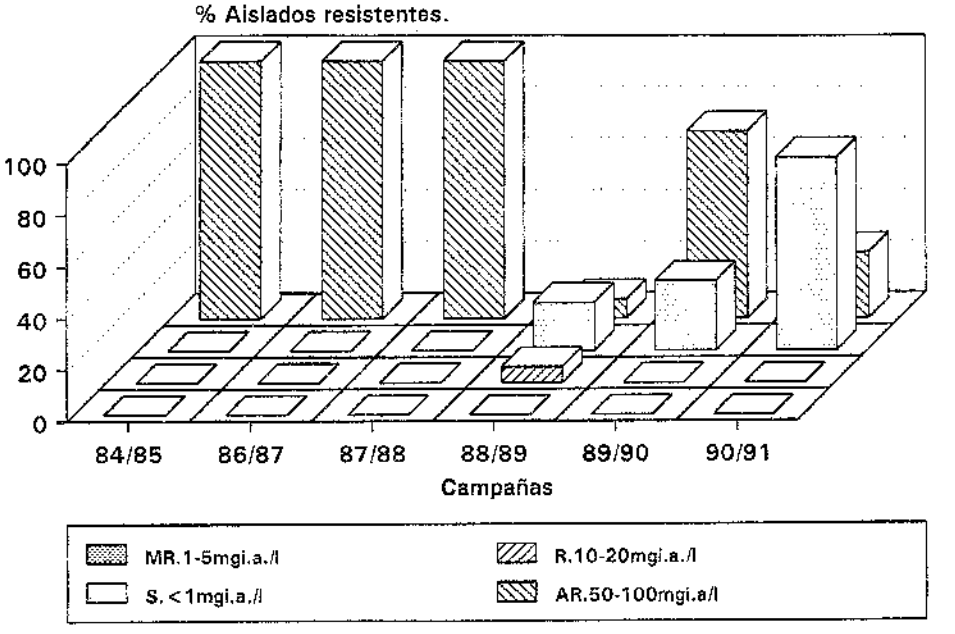


Figura 4.Frecuencia de aparición de aislados resistentes de P. nicotianae al metalaxyl. La Habana

anterior. La presencia de altos porcentajes de aislamientos resistentes provocó las afectaciones mas severas en los semilleros y viceversa (figura 5). Por tanto alta presión del inóculo bajo presión de selección del fungicida a través de tratamientos sistemáticos favorece la aparición de poblaciones resistentes en el campo, cuestión que coincide con lo planteado por Delp (1980).

En la provincia de Villa Clara (figura 6) se detectaron por primera vez poblaciones resistentes del hongo en el año 1987, se observó también un desarrollo ascendente del problema con respecto al tiempo, aunque en menor cuantía debido a que el patógeno incide mucho menos en esta zona del país. En el resto de las zonas tabacaleras no se han detectado problemas de resistencia.

La medida fundamental para reducir el inóculo fue la utilización de propamocarb, combinado con ditiocarbamatos, que permitió reducir la incidencia de la enfermedad y la incidencia de la resistencia. Posteriormente se introdujo la aplicación al suelo del agente biológico Trichoderma spp. (Stefanova et al, 1991), combinado en estrategias de control, con fungicidas sistémicos y de contacto,que facilitó aun más

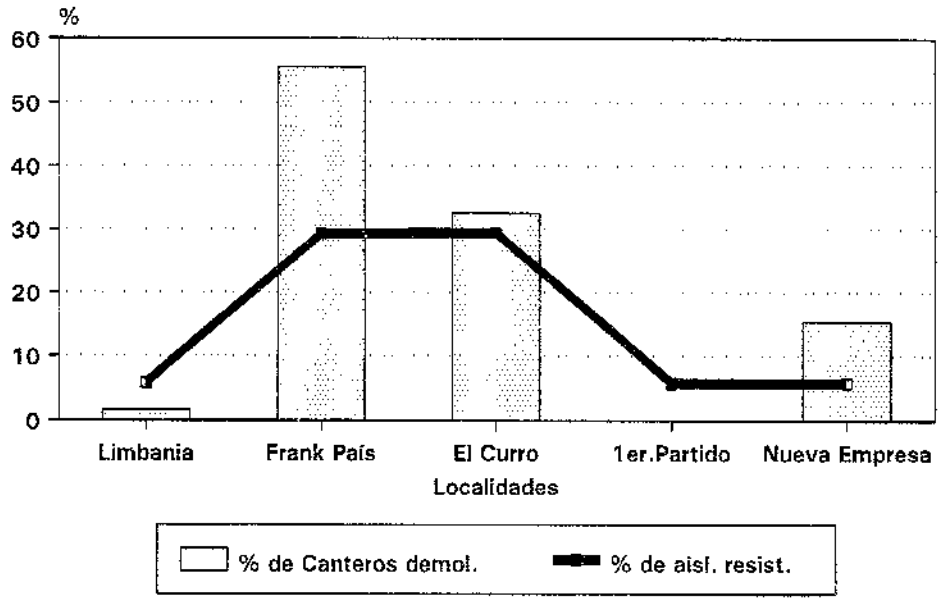


Figura 5. Relación entre la incidencia de la resitencia del P. nicotiananae y afectaciones en semilleros durante 1988-1989. La Habana

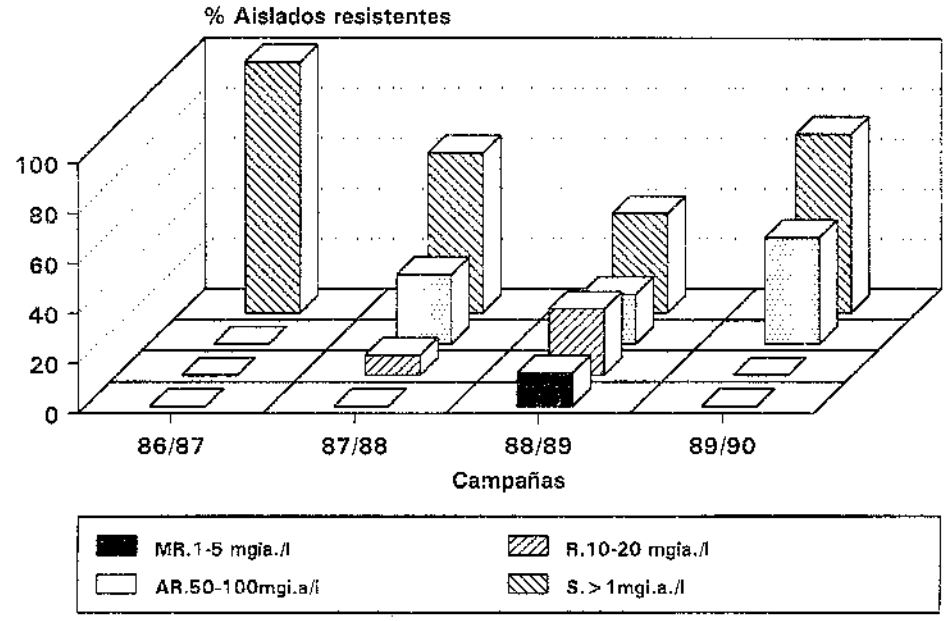


Figura 6. Frecuencia de aparición de aislados resistentes de P. nicotianae al metalaxyl. Villa Clara

la protección del cultivo y la reducción de los niveles de inóculo en suelo.

Anteriormente Shew (1985) y Csinos and Bertrand (1994) realizaron pruebas de sensibilidad al metalaxyl en numerosos aislamientos de *P. nicotianae*, sin embargo no confirmaron resistencia en condiciones de campo.

CONCLUSIONES

- Los valores promedio de DL_{50} y DL_{95} del metalaxyl para *P. nicotianae* por el método del crecimiento radial de la colonia son de 0.02 y 0.49 mg i.a./l.
- La resistencia al metalaxyl es persistente en las poblaciones de *P. nicotianae* y se manifiesta asociada a diferentes niveles de adaptabilidad o capacidad competitiva en los individuos.
- El desarrollo de la resistencia depende de la cantidad del inóculo presente y de la intensidad de la selección. El período en que ocurre la mayor frecuencia de poblaciones resistentes para *P. nicotianae* es noviembre, diciembre y octubre.

REFERENCIAS

BAYER. Las bases para ensayos fitosanitarios. BAYER 16 (3),1966.

Bliss, C.I. The calculation of dosage mortality curva. Ann of Spp. Biol. 135-167,1934.

Csinos, A. S. and P. F. Bertrand. Distribution of *Phytophthora parasitica* var. *Nicotianae* races and their sensitivity to metalaxyl in Georgia. Plant Disease 75(5): 470-474. 1994.

MINAGRI. Instructivo ttécnico del cultivo del tabaco La Habana: MINAGRI, 1983.-- t. I , 199 p.

Delp, C.J. Coping with resistance to plant disease. Plant Disease. 64 (7): 652-657, 1980.

FAO. Detección y medición de la resistencia a los fungicidas. Principios generales. Método FAO No. 24-30. Plant Prot. Bull. 30(2): 47-71, 1982.

Lyr, H. Modern Selective Fungicide.-- 2. ed., 1995 595 p.

Shew, H.D. In vitro growth response of *Phytophthora parasitica var nicotianae* isolates to metalaxyl. Plant Disease 68(9): 764-766, 1984.

Shew, H.D. Respons of *Phytophthora parasítica* var. *nicotianae* to metalaxyl exposure. Plant Disease 69: 559-562, 1985.

Staub, T. H. and D. Sozzi. Résistance au métalaxyl en practique et les conséquences pour son utilisation. Phytiatrie-Phytopharmacie, 30: 283-291, 1981.

Stefanova M...[et.al]. Uso de *Trichoderma* spp. como biocontrol de patógenos del suelo en el cultivo del tabaco y hortalizas, 1994.p.131-138. (PCPC monograph; 60).

Todd, A.F. The blue mold story. Tobacco International 26, 1980. p 24-31

Tood, F.A. Flue-cured tobacco producing a healthy crop. Parker Graphics, North Carolina, USA, 1981. p. 350.

Wiglesworth M. D...[et.al]. Resistance of *Peronospora tabacina* to metalaxyl in Texas and Mexico. Plant Disease 72 (11): 964-7. 1988.

MÉTODO DE DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE INGREDIENTE ACTIVO DE DIURON Y FLUOMETURON EN FORMULADOS DE PLAGUICIDAS

K. Martínez, C. Linares y J. L. González

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

RESUMEN

En el trabajo se describe el montaje de un procedimiento para la determinación de diuron y fluometuron en formulados de plaguicidas, utilizando la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). El sistema consta de una columna Spherisorb 5%m Si, 250 x 4,6 mm y una mezcla de isopropanol: n-hexano (80:20) como fase móvil, con flujo de 1.0 ml/min. La detección se realizó con detector UV-Vis a 254 nm. Se utilizó como método cuantitativo el del patrón interno. El método se aplicó a 2 tipos de formulados: polvo humedecible (diuron) y suspensión concentrada (fluometuron). Se analizaron 10 réplicas de cada uno de los formulados obteniéndose un coeficiente de variación inferior a 1.5 %, lo que satisface los requerimientos de la FAO para este tipo de formulados de plaguicidas. Se obtuvieron cromatogramas con picos simétricos y bien definidos, lo que demuestra que las condiciones cromatográficas son adecuadas para los compuestos analizados. Asimismo se probó este método en otras formulaciones de diuron y de otros plaguicidas de la misma familia: linuron y tebuthiuron, con resultados satisfactorios.

Palabras clave: diuron, fluometuron, linuron, tebuthiuron, cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), ingrediente activo

ABSTRACT

It is described a procedure to determine the content of diuron and fluometuron in pesticide formulations by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The chromatographic system consisted of a Spherisorb 5 %m, Si, 250 x 4.6 mm column and a mix of n-hexane:isopropylalcohol (80:20) as a mobile phase; the flow rate was set at 1.0 ml/min and the detection was done by an UV-Vis detector at 254 nm. The internal standard method was used to quantitate the samples. The method was applied to 2 types of formulations: wettable powder (WP) and concentrated suspension (CS), diuron and fluometuron respectively. 10 replicates were analysed and the variation coefficient was lower than 1.5 % according to the FAO guidelines for those kinds of formulations. The symmetrical and well-defined peaks showed that the chromatographic conditions were appropriated for the analysis of those compounds. On the other hand, this method was also tested in the analysis of other formulations of diuron, linuron and tebuthiuron, obtaining good results.

Key words: diuron, fluometuron, dinuron, tebuthiuron (HPLC), active ingredient

INTRODUCCIÓN

La agricultura moderna emplea un gran número de plaguicidas para eliminar las malezas. En la actualidad los herbicidas representan el 50 % o más de la cantidad total de plaguicidas en el mundo y su tendencia actual es creciente. (FAO, 1994)

Entre los herbicidas que más se usan en Cuba se encuentra el *diuron*, así como el *fluometuron* y el *tebuthiuron* aunque en menor grado. Su uso está autorizado en caña de azúcar, plátano, café, cítricos, piña y palmáceas (CNSV, 1996). Resulta entonces evidente la necesidad de controlar las formulaciones comerciales, de estos agroquímicos, que se aplican y las que se van a registrar en Cuba. Por otra parte el dinuron se encuentra en proceso de registro.

En los últimos años la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se ha convertido en una técnica muy útil en el análisis de plaguicidas en general y particularmente del contenido de ingrediente activo de formulaciones debido a la posibilidad que ofrece de separar y cuantificar plaguicidas poco volátiles o termolábiles (Linares et al., 1995)

Por lo anterior, nos hemos propuesto la sustitución del método de Lowen y Baker (1980) utilizado en nuestro laboratorio, el cual resulta extenso y laborioso, para el análisis de formulados y material técnico a base de derivados de urea, por un procedimiento analítico basado en la técnica de HPLC de fase normal.

MATERIALES Y MÉTODOS

- **Reactivos químicos**
  - *Isopropanol grado HPLC*
  - *n-Hexano grado HPLC*
  - *Patrón analítico de diuron 98.5 %*
  - *Patrón analítico de tebuthiuron 98.5 %*
  - *Patrón analítico de fluometuron 98.5 %*

- *Patrón analítico de linuron 98.5%*
- *Patrón analítico de acetofenona 97.5%*

- **Sistema cromatográfico**
  - *Detector UV-Vis a 254 nm*
  - *Bomba analítica*
  - *Inyector provisto de un lazo de 20 l*
  - *Registrador potenciométrico*
  - *Columna Spherisorb 5m Si (250 x 4.6 mm)*
  - *Sistema de desgasificación por vacío y baño termostatado*
  - *Fase móvil: n-hexano: isopropanol (80:20)*
  - *Flujo: 1.00 ml/min*

- **Procedimiento analítico**

Principio del método

20l de las muestras disueltas en isopropanol son inyectadas en el sistema cromatográfico. Los cromatogramas se obtuvieron midiendo la absorbancia a 254 nm con un detector UV-Vis. Como método cuantitativo se utilizó el patrón interno.

Preparación de la soluciones

La solución patrón de diuron se preparó pesando una cantidad del patrón analítico suficiente para obtener 0.1 g de ingrediente activo, en un volumétrico de 100 ml, disolviendo con isopropanol y completando hasta el volumen indicado anteriormente. De esta forma se prepararon también los patrones de fluometuron, dinuron y tebuthiuron.

La solución patrón de acetofenona se preparó utilizando el patrón analítico de acetofenona y procediendo de forma similar al diuron.

La solución de trabajo de diuron se obtuvo 5 ml de la solución patrón de diuron con 4 ml de la solución patrón de acetofenona en un volumétrico de 50 ml, se completo el volumen indicado con isopropanol. De forma similar se procedió con el fluometuron.

Los cálculos se realizaron mediante la siguiente relación:

$$\% \text{ ingr. activo} = \frac{W_p \cdot \% P_p \cdot Cr_m}{W_m \cdot Cr_p}$$

donde:

W_p: peso del patrón en g
W_m: Peso de la muestra en g
Cr_p: Cociente respuesta del patrón (altura del pico de diuron / altura del pico del patrón interno en la solución patrón)
Cr_m: Cociente respuesta de la muestra (altura del pico de diuron / altura del pico de patrón interno en la solución muestra)
% P_p: Porcentaje de pureza del patrón analítico

Para determinar la repetibilidad del método se analizaron 10 réplicas de las muestras y se determinó el coeficiente de variación del método.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se registraron cromatogramas con picos bien definidos y simétricos, además de completamente resueltos. Esto indica que las condiciones cromatográficas son adecuadas.

Tabla 1. Resultados del estudio de repetibilidad del método

Réplicas	Resultados	
	Tempra 80 WP	Cottonex 50 CS
1	80.53	49.47
2	81.32	49.35
3	81.89	48.87
4	79.43	50.77
5	79.76	49.86
6	80.80	50.88
7	78.97	49.74
8	79.62	51.01
9	80.05	50.24
10	81.90	50.07
promedio	80.55	49.95
Coeficiente de variación	1.2381	1.4414

Para ambas formulaciones se obtuvieron coeficientes de variación inferiores a 1.5 % lo que satisface los requerimientos de la FAO para este tipo de formulados de plaguicidas.

En la tabla 2 se muestran los resultados de la aplicación de este método a otras formulaciones de otros derivados de urea (dinuron y tebuthiuron) así como a otras formulaciones de diuron y fluometuron. Como se puede apreciar los resultados están dentro del rango permisible para cada formulación, en concordancia con los obtenidos por el método de la dimetilamina. Por otra parte el sistema cromatográfico pudo separar adecuadamente los componentes de los diferentes formulados.

Tabla 2. Aplicación del método a otras formulaciones a base de derivados de urea

Formulado	Ingrediente activo	Especificaciones	Resultado (%)
Diuron CS 80	diuron	80 ± 2.5 %	81.35
Diuron PH 80	diuron	80 2.5 %	77.81
Hierbatox CS 80	diuron	80 ± 2.5 %	81.92 I* 81.12 E*
Diurex 80 FL	diuron	80 ± 2.5 %	81.73 I 79.65 E
Diuron 80 FL	diuron	80 ± 2.5 %	81.84 82.00 R
Linurex 50 WP	linuron	50 ± 5 %	50.59 I 50.59 E
Linurex 50 CS	linuron	50 ± 5 %	51.02 I 48.46 E
Tebuthiuron 50 CS	tebuthiuron	50 ± 5 %	49.18 I 48.34 E

CONCLUSIONES

- El sistema cromatográfico aquí empleado es satisfactorio para el análisis de diuron y fluometuron en productos formulados puesto que presenta un coeficiente de variación inferior a 1.5 % en ambos casos.

REFERENCIAS

FAO. Anuario Estadístico. Roma, 1994.

CNSV. Lista oficial de plaguicidas autorizados en Cuba. 1996

Linares C., Sisinno A. y Dierksmeier G. Aplicación de la cromatografía líquida en análisis de formulados de plaguicidas en el rango UV-Vis. Resúmenes del X Forum INISAV. 1995

Lowen y Baker. Handbook, 1A , 1251, 1980.

Comunicaciones cortas

DETECCIÓN DE UN GEMINIVIRUS AFECTANDO EL CULTIVO DE LA HABICHUELA (*Vigna sesquipedalis*) EN CUBA

Dania E. Pereira y Surey Valdés

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

La habichuela (***Vigna sesquipedalis***) es uno de los cultivos que ha cobrado más importancia en los organopónicos, debido a la gran demanda como fuente de proteínas para la alimentación humana. Una de las dificultades que presenta es que constituye un hospedante de la mosca blanca (Vázquez, 1995), vector de los geminivirus, que inducen enfermedades virales que causan grandes pérdidas en cultivos como el frijol (Blanco y Bencomo, 1981) y el tomate (González, 1995).

En varios muestreos realizados en los organopónicos de la Ciudad de la Habana, se colectaron hojas que presentaban síntomas similares a los producidos por virus y que consistían en un mosaico amarillo intenso con encrespamiento de diverso grado según la variedad, asociados a la presencia de poblaciones de mosca blanca. Con el objetivo de determinar la etiología de la enfermedad se utilizaron técnicas de microscopía óptica y moleculares, a partir de hojas de habichuela (***Vigna sesquipedalis***). El diagnóstico se realizó utilizando la técnica de abrasión (Christie y col, 1986), para la microscopía óptica. Los cebadores empleados en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (P.C.R.) son específicos para la zona del gen que codifica para la proteína de la cápsida (UV2) del Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV), la cual es conservada en todos los geminivirus transmitidos por mosca blanca: 5' ATGCCGACAGCTTCAAGTC 3' homólogo a las posiciones 340-358 y el 5' CGCAACAACAACATATACCG 3' complementario a las posiciones 981-1001, que flanquean una posición de 650 pares de bases.

La extracción se realizó por Dellaporta (1983) y mini extracción (Wang, 1993 citado por Medina et al, 1997). Los muestreos se realizaron en las siguientes variedades: Habichuela Escambray, Habichuela Bondadosa, Habichuela arbustiva Lina, Habichuela Pinera, Habichuela Extra-larga y Habichuela V-P-7, siendo la Habichuela arbustiva Lina que mostró un mayor grado de encrespamiento y un mosaico amarillo más intenso en sus hojas. Como control positivo se utilizó una muestra de tomate (***Lycopersicum esculentum*** var. Campbell-28) infectada con el virus del encrespamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV) previamente analizada.

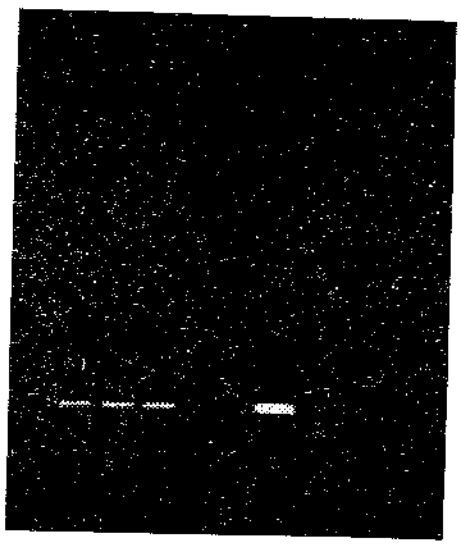


Figura 1. De izquierda a derecha

1. Habichuela Escambray 2. Habichuela bondadosa
3. Habichuela Arbustiva Lima 4. Control positivo

En la observación al microscopio óptico se hallaron inclusiones nucleares en las zonas del floema, que debido a su ubicación y morfología, son típicas de geminivirus (Christie et al, 1986).

Al realizar la P.C.R. se comprobó la presencia de una banda a la altura indicada para este grupo de virus (figura 1), que coincide con la altura del control positivo empleado como patrón, (Medina et al, 1997) lo que confirma su presencia en este cultivo por primera vez en Cuba. Continuamos los estudios para determinar la etiología de la enfermedad viral presente en ***Vigna sesquipedalis*** en Cuba.

REFERENCIAS

Blanco, N; Bencomo, I. Presencia del virus del mosaico dorado del frijol (BGMV) en Cuba. Ciencia de la Agricultura. 9, 118. 1981.

Christie, R. G; Ko, N. J; Falk, B. W; Hiebert, E; Lastra, R; Bird, J. y Kim, K. S. Ligth microscopy of geminivirus - induced nuclear inclusion bodies. Phytopathology. 76: 124-126.1986.

Dellaporta, S. L; Wood. J; Hichs, J. B. A plant molecular DNA minipreparation, version II. Plant Mol. Biol. Rep. 1:19-21. 1983.

Gonzáles, G. A. Virus del encrespamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV) en Cuba. Caracterización, incidencia y elementos para el programa de manejo integrado en el cultivo del tomate. Tesis de grado para optar por el título de Doctor en Ciencias. 1995.

Medina, A; Peralta, E. L.; Martínez, Y. Evaluación de formas simples de procesamiento de muestras para el estudio de geminivirus. Tesis de Diploma. 1997.

Vázquez, L. Sistema de diagnóstico, inventario y plantas hospederas de moscas blancas en Cuba. Tesis de grado para optar por el título de Doctor en Ciencias. 1995.

HOSPEDANTES SILVESTRES DEL VIRUS DEL ENCRESPAMIENTO AMARILLO DE LA HOJA DEL TOMATE (TYLCV) EN CUBA

Gloria González y Surey Valdés

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

Durante muestreos realizados a diferentes variedades de tomate, para conocer la incidencia del TYLCV, se tomaron muestras de algunas malezas asociadas al cultivo, las que fueron analizadas para conocer la presencia ó no de este virus.

Muestras de *Datura stramonium* var. stramonium, *Amaranthus dubius* Mart, *Amaranthus spinosus* L., *Commelina elegans* H. B. K., *Solanum nigrum L. Parthenium hysterophorus* L., *Physalis turbinata* Medic, *Physalis angulata* L., *Boerhavia erecta* L., *Cleome viscoso* L., *Cynodon dactylon*, L (Pers), *Chamaesyce erecta* (L) Mill, *Chamaesyce hyssopifolia* (L) Small, *Portulacea oleracea* (L), *Emilia sonchifolia* L. and *Euphorbia heterophylla* L. se analizaron mediante microscopía óptica (Christie and Edwardson, 1977), trasmisión por moscas blancas, injertos e hibridación de ácidos nucleicos (Czosnek and Navor, 1988)

El porcentaje de malezas infectadas por TYLCV es alto, lo que reafirma la importancia de las mismas, ya que constituyen hospedantes alternativos del virus, sin mostrar síntomas aparentes. Este aspecto puede contribuir al conocimiento de la epidemiología de la enfermedad y a la implementación de un Programa de Manejo Integrado.

Los resultados se reflejan en la tabla que se presenta.

Maleza	Síntomas	Inclusión nuclear	Transmisión (vectores)	Hibridización
A. dubius	-	+	+	+
A. spinosus	-	+	+	+
B. erecta	+	-	-	+
C. hyssopifolia	-	-	-	*
C. hirta	-	-	-	*
C. elegans	-	-	-	*
C. viscoso	-	+	+	+
C. dactylon	-	-	-	*
D. stramonium	+	+	+	+
E. sonchifoli	-	+	*	+
E. heterophylla	-	+	*	+
P. hysterophorus	-	-	*	-
P. angulata	-	+	*	+
P. turbinata	+	+	*	+
P. oleracea	-	+	*	+
S. nigrum	-	+	*	+

** No realizado*

REFERENCIAS

Christie, R.G. and Edwardson, J. R.Light and electron microscopy of plant virus inclusion. Fla Agric. Exp. Stn. Monogr. Ser., 9. 1977.

Czosnek, H nad Navot, N. Virus detection in squash-blot of plant and insect: Application in Diagnostic Epidemiologyand Breeding Biotechnology in Agriculture. p. 83-96. 1988.

POTENCIALIDAD DE LA CROMATOGRAFÍA GASEOSA EN LA DETERMINACIÓN DE ESPECIES DE MOSCAS BLANCAS

B. Suárez, L. Vázquez y Dinorah López

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

Durante más de 20 años los ácidos grasos se han utilizado como criterio de identificación y clasificación es estudios quimiotaxonómicos en microbiología (Wayne, 1984).

En condiciones normales los ácidos grasos son estables y reproducibles, suelen ser sumamente diagnósticos para determinadas especies, independientemente de la fuente geográfica, aunque para algunos grupos de patógenos existen subgrupos relacionados con la gama de hospedantes. Hasta ahora, los grupos basados en los ácidos grasos coinciden con la homología del DNA y existen datos sobre la misma (Roy, 1980).

Aunque no es frecuente en la literatura el uso de ácidos grasos en la identificación de los insectos, estos compuestos están contenidos en los órganos de los mismos. Así Grapes et al (1989) determinaron los siguientes ácidos grasos en *Acherea domestica* L. (Gryllidae): palmitato (C16:0), esterato (C18:0), oleato (C18:1) y lineolato (C18:2) y los niveles de ácidos grasos esterificados variaron considerablemente entre los órganos del insecto.

En particular sobre las moscas blancas no hemos encontrado información sobre el empleo de los ácidos grasos con fines taxonómicos y es por eso que se desea evaluar las potencialidades de la cromatografía en el diagnóstico de estos insectos.

Debido a que la cromatografía gaseosa es una técnica con un alto nivel de desarrollo en el país y considerando que el procedimiento es muy sencillo y rápido, decidimos evaluar sus potencialidades en el diagnóstico de estos insectos.

Se colectaron pupas de dos especies de las moscas blancas ***Bemisia tabaci*** en plantas de tabaco y de ***Aleurotrachelus trachoides*** en plantas de ají. En cada caso se tomaron 40 pupas, las que inmediatamente se introducían en frascos que contenían una solución de hidróxido de sodio metanólico. Se procesaron según el procedimiento de Miller y Berger (1985), Se utilizó un cromatografo de gases CARLO ERBA Modelo FRACTOVAP 2450, con doble columna empaquetada de 2m x 4 mm d.i. rellena con SP-2100 al 3% sobre Chromosorb W HP AW DMCS 100-120 mesh, doble detector FID y programador de temperatura.

Los resultados se registraron gráficamente en un registrador SPEEDOMAX. Se calculó el porcentaje de participación de cada uno de los ácidos grasos sobre la base del área de estos en los perfiles hallados.

En los resultados obtenidos se observa que ***A. trachoides*** se muestra diferente en la composición de los ácidos grasos a ***B. tabaci***, debido a que en la primera no presentó los de 10 a 15 átomos de carbono; mientras que la segunda presenta el 14:0; 15:0; 16:1; 18:1 y el 12:0 2OH, siendo la mayor participación para la primera especie el 16:1 con un 80% y para la segunda presentan tres ácidos el 15:0; 16:1 y el 18:1 con un 20, 32 y 19% respectivamente. Estos resultados indican que el método puede tener una gran utilidad taxonómica, en coincidencia con Grapes et al (1989).

En sentido general, las diferencias en la composición de los ácidos grasos que se aprecian constituyen un indicador de las potencialidades de estos compuestos en la taxonomía de las moscas blancas y por tanto abre perspectivas para su uso en el diagnóstico.

REFERENCIAS

Cohen, S., J.E. Duffus and H.Y. Lir. A new ***Bemisia tabaci*** biotype in the southwestern United States and its rote in silverleaf of squash and transmisision of lettiuce infections yellow virus. Phytopathology 82: 86-90, 1992.

Grapes, M., P. Whiting and L. Diman. Fatty and lipid analysis of the house cricket ***Acheta domestica***. Insect biochemistry 19 (8): 767-771, 1898.

Gulrao, P., F. Beitia y J.L. Cenis. Aplicación de la técnica RAPD-PCR a la taxonomía de moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae). Boletin de Sanidad Vegetal, Plagas (España) 20: 737-764, 1994.

Hewlett-Packard. Microbial Identification Systems. Aerobic Library Vertion Hewlett-Packard information Sheet AP. 5898. Sept: 1986.

Miller, L.T. and T. Berger. Bacterial Identification by GC of Whole cell fatty acids. Hewlett-Packard Aplication 228-24, 1985.

Roy, Margaret. Used of fatty acid for the identification of phytopathogenic bacteria. Plant Disease 72(5): 460, 1980.

INCIDENCIA DE PLAGAS DE ALMACÉN EN SEMILLAS DE QUINUA (*Chenopodium quinua* WILLD)

L. Vázquez y Dinorah López

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

La quinua (*Chenopodium quinua* Willd), al igual que otros granos de la región Andina, constituye un componente importante de la alimentación, porque ofrece mayor cantidad de aminoácidos esenciales que cualquiera de los cuatro cereales más importantes (Sarmiento, 1990).

Durante su desarrollo, la planta es atacada por diversos insectos, que pueden ocasionar pérdidas de hasta el 40% (Ortiz y Zanabria, 1989) y en la fase de post cosecha, el grano es afectado por polillas de la familia Pyralidae, entre otras plagas de almacén (Nieto y Vimos, 1992).

En Cuba esta planta es de reciente introducción y se encuentra en fase de estudio, por ello nos propusimos determinar los insectos que la atacan durante la fase de almacenamiento de la semilla, como elemento básico para proponer estudios futuros de conservación.

En la Estación Experimental del INISAV (Alquízar, La Habana), se cultivó un área de 20m^2 de *Chenopodium quinua* (Chenopodiaceae). Entre otros estudios se determinó la posible ocurrencia de gorgojos (Coleoptera: Curculionidae) o polillas (Lepidoptera: Pyralidae) en las espigas, para lo que se realizaron cuatro muestreos en 30 plantas al azar, de los que se evaluaron los granos de sus espigas. Posterior a la cosecha, se separaron dos sacos de yute que contenían 40 kg de semilla cada uno, los que se almacenaron bajo condiciones naturales (almacén rústico de mampostería). En cada saco se realizaron tres evaluaciones: antes de almacenarlos, a los 30 y a los 90 días posteriores a la cosecha. En cada evaluación se tomó una muestra representativa (a partir de submuestras de diferentes partes de cada saco) de 1 kg, la que se revisó minuciosamente para evaluar el grado de ataque de cada especie de plaga de almacén presente, según la escala de Hall (1971), que clasifica el ataque en cinco grados (O : libre; 1: 1-2 insectos/muestra; 2: tres o más insectos/muestra; 3: insectos que se encuentran con facilidad y en grupos; 4: cantidades excepcionales de insectos).

En ninguna de las evaluaciones realizadas a las espigas en el campo se observó la presencia de gorgojos o polillas catalogadas como plagas de almacén, tampoco en la revisión efectuada antes del almacenamiento.

Sin embargo, a los 30 días de almacenada se detectaron ataques de cinco especies de plagas de almacén (tabla 1), todas comunes en Cuba en cereales y otros productos almacenados (Bruner et al. 1975). Estos fueron ligeramente superiores a los 90 días de almacenadas y en ambas evaluaciones predominó la polilla *Corcyra cephalonica* Stainton, considerada por La Rosa y Vázquez (1991) entre las especies más comunes e importantes en nuestros almacenes.

Tabla 1. Plagas de almacén detectadas en semillas de quinua (*Chenopodium quinua*) almacenadas en la Estación Experimental del INISAV, Alquízar, La Habana. 1993-1994.

Especies y clasificación	Grado de ataque medio		
	Antes del almacenamiento	Posterior al almacenamiento	
		30 días	90 días
Corcyra cephalonica Stainton (Lepidoptera: Pyralidae)	0	2.1	3.7
Tribolium castaneum Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae)	0	1.2	2.0
Rhizopertha dominica F. (Coleoptera: Bostrichidae)	0	1.0	1.3
Cryptolestes pusillus Klug. (Coleoptera: Cucujidae)	0	1.1	1.5
Carpophilus sp. (Coleoptera: Nitidulidae)	0	0	1.0

Las larvas de *C. cephalonica* consumen todo el contenido de las semillas, dejando solamente algunas partículas y otros residuos de su alimentación, con todo lo cual forman los conocidos grumos, típicos del ataque de esta especie.

Los otros insectos detectados se manifestaban en menor grado, siendo potencialmente dañinos *Tribolium castaneum* Herbst y *Rhizopertha dominica* F., referidos también por La Rosa y Vázquez (1991) como plagas de almacén de importancia.

Como resultado de las infestaciones observadas, se recomienda prestar atención a la posible afectación de las semillas de esta planta durante el almacenamiento en condiciones naturales, por la potencialidad de los ataques de *C. cephalonica* y otras plagas de almacén.

REFERENCIAS

Bruner, S.C., L.C. Scaramuza y A.R. Otero. Catálogo de los insectos que atacan a las plantas económicas de Cuba. 2da. Ed. Inst. Zool. ACC (La Habana), 1975.

Hall, D.W. Manipulación y almacenamiento de granos alimenticios en las zonas tropicales y subtropicales. FAO. Cuadernos de fomento agropecuario No. 90 (Roma). 400 p., 1971.

La Rosa, J. y L.L. Vázquez. Distribución, daños y lucha contra los principales insectos de los productos vegetales almacenados en Cuba. Ed. CID-INISAV (Ciudad Habana). 29 p. 1991.

Nieto, C. y C. Vimos. La quinúa, cosecha y postcosecha. Algunas experiencias en el Ecuador. Boletín Divulgativo No. 224. Est. Exp. Santa Catalina. INIAP. 42 p. Marzo 1992.

Ortiz, R. y E. Zanabria. Plagas. En: "Quinúa y kañiwa". Cultivos Andinos. Cap. 6 pp. 121-135. 1989.

Sarmiento, J. Guía para el manejo de plagas en cultivos andinos subexplotados. FAO-OIRSA (Santiago, Chile). pp. 11-28. 1990.

Resúmenes de Tesis

MANEJO DE LA RESISTENCIA A LAS FENILAMIDAS EN ESPECIES DE *Oomycetes* EN CUBA

Berta Lina Muiño

Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Ciudad de La Habana, 1997

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

A nivel mundial, y reconocido en Cuba, las enfermedades causadas por Oomycetes tales como el moho azul (*Peronospora hyoscyami* de Bary f.sp.*tabacina*), la pata prieta (*Phytophthora nicotianae* Breda de Haan) en el cultivo del tabaco y el tizón tardío (*Phytophthora infestans* de Bary) en el cultivo de la papa ocasionan serios daños y pérdidas en los rendimientos agrícolas, si las medidas utilizadas para su control no son las más eficaces.

En 1980, la introducción del fungicida sistémico metalaxyl, de alto riesgo de resitencia, para combatir, motivó los estudios relativos a la determinación de las líneas base de sensibilidad DL_{50} y DL_{95} como parámetros comparativos para el diagnóstico de la resistencia en el campo, su comportamiento epidemiológico y factores que influyen en éste, las características de aislados resistentes y sensibles respecto a la capacidad esporulativa, infectiva y frecuencia de infección, efectividad de nuevos fungicidas en laboratorio, campo y producción, así como la elaboración del esquema de manejo de la resistencia y su implantación en todo el país.

Los valores de DL_{50} y DL_{95} determinados para cepas sensibles de *P. hyoscyami* f. sp. *tabacina* son de 0.01 y 0.018 mg i.a./l para el método de los cotiledones y de 0.01 y 0.24 mg i.a./l para el de hojas sueltas. Respecto a *P. nicotianae* para el método del crecimiento radial de la colonia éstos son de 0.02 y 0.49 mg i.a./l. Para *P. infestans* mediante el método de discos de hojas la DL_{50} es de 0.02 , la DL_{95} de 0.14, y para el de hojas de 0.05 y 0.47 mg i.a./l respectivamente, todos comparables con los valores informados internacionalmente.

La resistencia a las fenilamidas es persistente en las poblaciones de los tres patógenos estudiados. En Cuba, en condiciones de campo ocurren mezclas de poblaciones con diferentes niveles de sensibilidad por movimiento pandémico para el caso de *P.hyoscyami* f.sp. *tabacina* y por movimiento del inóculo en semilla de papa de diferentes procedencias para *P. infestans*. Se manifiesta asociada a diferentes niveles de sensibilidad o capacidad competitiva en los individuos.

Los períodos en que ocurre la mayor frecuencia de poblaciones resistentes para los tres patógenos, coincide con las condiciones climáticas favorables, mayor cantidad de inóculo sometido a selección y mayor cantidad de tratamientos. Para *P. hyoscyami* f. sp. *tabacina* es de enero a marzo, para *P. nicotianae* en orden de importancia noviembre, diciembre y octubre y para *P. infestans* en febrero y marzo.

Las poblaciones resistentes de *P. nicotianae* emergen y se establecen en las condiciones naturales de los suelos de Cuba, lo cual se informa por primera vez a nivel mundial. Se demostró que mediante las semillas de papa importadas se introducen aislamientos de *P. infestans* resistentes a las fenilamidas que pueden provocar los primeros focos resistentes en el ciclo del cultivo.

El dimetomorf en mezcla y alternancia con fungicidas de contacto como ditiocarbamatos controla las poblaciones sensibles y resistentes al metalaxyl de *P. hyoscyami* f. sp. *tabacina* y *P. nicotianae*. En las condiciones de Cuba, el metalaxyl y otras fenilamidas siempre en mezcla y alternancia con fungicidas de contacto, principalmente el mancozeb, son efectivos contra las diferentes especies de Oomycetes estudiadas, así como las mezclas doble y triple de fenilamidas con cymoxanil y mancozeb. El propamocarb combinado con ditiocarbamatos tiene una alta efectividad contra las poblaciones sensibles y resistentes de *P. nicotianae*.

El sistema de manejo de la resistencia a las fenilamidas permite adoptar una estrategia de control eficiente en cada momento y lugar y puede servir de referencia a otros cultivos en los cuales se emplean fungicidas sistémicos.