

REVISTA COLOMBIANA DE ENTOMOLOGIA

PUBLICACION OFICIAL DE LA SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGIA

Remite: Socolen
A.A. 43672 Bogotá
Tarifa Postal
Reducida 239

Volumen 15

Número 2

Julio - Diciembre de 1989

SEÑORA (H)
QUIRONEZ MARTHA LUCIA
AFARTADO AEREO No. 4851
BOGOTA



REVISTA COLOMBIANA DE ENTOMOLOGIA

PUBLICACION OFICIAL DE LA SOCIEDAD
COLOMBIANA DE ENTOMOLOGIA

Volumen 15 Número 2 Julio-Diciembre 1989

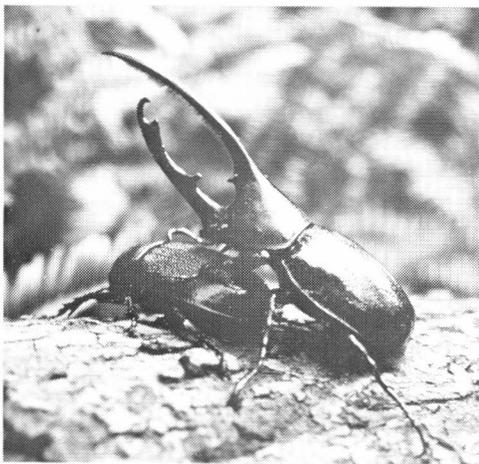
Licencia Mingobierno 002274/81

Permiso Adpostal 3208

Tarifa Postal Reducida para libros y revistas No. 239 de Adpostal

NOTA: SOCOLEN no se responsabiliza de las ideas emitidas por los autores.

Tiraje: 1.000 ejemplares



Portada:

Dynastes Hercules
pareja en precópula.

Foto: Luis Miguel Constantino.
CIAT - Palmira, Valle.
Tomada en el bajo Anchicaya.

Edición:

LUIS ARMANDO BERMUDEZ GARCIA

Comité de Publicaciones:

LIGIA NUÑEZ B.
GERMAN VALENZUELA V.
RAFAEL ESPINEL M.

JUNTA DIRECTIVA

Presidente:

JORGE HERNAN RAMIREZ ADARVE

Vicepresidente:

LIGIA NUÑEZ BUENO

Tesorero:

MARCO FIDEL SUAREZ AGUDELO

Secretaria:

RUBY LONDOÑO URIBE

Revisor Fiscal:

JORGE ENRIQUE GARCIA BECERRA

VOCALES

Principales:

GUILLERMO TORRADO PACHECO
ALEXANDER VILLANUEVA GUERRERO
LUIS FERNANDO NIETO MORALES

Suplentes:

ALFREDO ACOSTA GOMEZ
JESUS ALI ALARCON CARRERA
EDUARDO ESCALLON AVILA

SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGIA

Apartado Aéreo No. 43672 Bogotá - Colombia.

CONTENIDO

CARACTERIZACION DE UNA NUEVA PROTEINA COMO FACTOR RESPONSABLE DE LA RESISTENCIA DE *Phaseolus vulgaris* A *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae)

Carmen E. Posso
César Cardona
José F. Valor
Héctor Morales

3

EVALUACION DEL HONGO *Sporothrix insectorum* (Hoog, Evans) EN LA CHINCHE DE ENCAJE *Leptopharsa gibbicarina* (Froeschner) EN PALMA AFRICANA DE ACEITE (*Elaeis guinnensis* Jacq.)

Ana Isabel Ordóñez
Phillipe Genty

10

AISLAMIENTO, IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION DE UN VIRUS EN LARVAS DE *Euprosterina elaeasa* Dyar. (Lepidoptera: Limacodidae)

Jorge Pedraza V.
Emilio Luque Z.
Pedro Nel Franco B.

21

ESTUDIOS DEL NIVEL ECONOMICO DE DAÑO DE LA POLILLA DE LA PAPA, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae)

Jorge E. Jaramillo N.
Angela María Alvarez A.
Alfredo Saldarriaga V.

28

UNA METODOLOGIA PARA LA LECTURA DE TRAMPAS DE COLOR AMARILLO UTILIZADAS EN LA EVALUACION DE MOSCA BLANCA EN UN CULTIVO COMERCIAL DE TOMATE

Jeannette A. Español
Darío Corredor

36

CARACTERIZACION DE UNA NUEVA PROTEINA COMO FACTOR RESPONSABLE DE LA RESISTENCIA DE *Phaseolus vulgaris* A *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae)

Carmen E. Posso¹
César Cardona
José F. Valor
Héctor Morales

RESUMEN

La Arcelina es una proteína nueva, únicamente presente en frijoles silvestres resistentes a *Zabrotes subfasciatus* (Boheman), se evaluó como posible factor antibiótico de resistencia a esta plaga. Cuando se introdujo el gen de la proteína en frijoles cultivados susceptibles, mediante un sistema de retrocruzamientos, se comprobó que la expresión de la proteína está controlada por un gen mendeliano simple y que su presencia es dominante a su ausencia, pues las líneas homocigotas dominantes resultaron altamente resistentes al insecto. En semillas artificiales, con dosis crecientes de la proteína purificada, se comprobó el efecto antibiótico de la arcelina y se encontró que la concentración letal media fue 6.5%.

Como la presencia de la arcelina es un marcador de resistencia, se ha implementado una técnica serológica para detectarla en poblaciones segregantes de frijol. Las semillas positivas (Arc+) se multiplican, para evaluarlas con el insecto, a partir de F₃ y generaciones subsiguientes, con el fin de obtener frijoles comerciales resistentes a *Z. subfasciatus*.

SUMMARY

Arcelin, a new protein, present only in wild beans resistant to *Zabrotes subfasciatus*, was evaluated as a possible antibiotic factor of resistance to this pest. When arcelin was introduced in cultivated susceptible beans by means

of backcrosses, it was demonstrated that arcelin expression is controlled by a single mendelian gene and its presence is dominant to its absence.

Thus, dominant homozygous lines were highly resistant to the insect, while homozygous recessive lines were highly susceptible. Heterozygous lines were intermediate. The antibiotic effect of arcelin was demonstrated in artificial bean seeds containing increasing levels of the purified protein; the medium lethal concentration (LC₅₀) was 6.5%. The presence of arcelin can be used as a marker for resistance to the insect. A serological technique has been implemented to detect the protein in segregating populations of beans. Positive seeds are multiplied and evaluated for reaction to the insect in F₃ and following generations. This method is being utilized to obtain commercial beans resistant to *Z. subfasciatus*.

INTRODUCCION

El gorgojo pintado del frijol, *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae), es una plaga de almacenamiento, cuyo daño afecta tanto la cantidad como la calidad del frijol para consumo humano. En la búsqueda de materiales con resistencia genética a este insecto, el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) evaluó miles de variedades cultivadas de diferente procedencia y no encontró niveles satisfactorios de resistencia (Schoonhoven y Cardona, 1982). Por esta razón, se amplió la búsqueda a frijoles silvestres entre los cuales se identificaron materiales con altos niveles de resistencia debida al mecanismo

de antibiosis (Schoonhoven et al., 1983).

Simultáneamente, con los trabajos sobre caracterización de la antibiosis en la Universidad de Wisconsin, en el CIAT, se realizaron estudios bioquímicos sobre las proteínas de los frijoles silvestres que confirmaron la presencia de una nueva proteína (Osborn et al. 1986), la cual se postuló como posible factor de resistencia a bruchidos, por encontrarse únicamente en frijoles silvestres resistentes.

El presente trabajo tuvo como finalidad evaluar el efecto antibiótico de esta nueva proteína sobre la biología de *Z. subfasciatus* y desarrollar metodologías serológicas para su detección y utilizar su presencia como marcador en un proceso de mejoramiento dirigido a la obtención de variedades resistentes a esta plaga.

REVISION DE LITERATURA

En variedades silvestres de *P. vulgaris* se han detectado altos niveles de resistencia a *Z. subfasciatus* y *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Schoonhoven et al., 1983). Estas variedades silvestres son de origen mejicano y se caracterizan por presentar hábito de crecimiento voluble, semillas muy pequeñas y dehiscencia (Delgado-Salinas et al., 1988), pero pueden ser fácilmente cruzadas con variedades cultivadas.

Las investigaciones que se han efectuado sobre la resistencia a bruchidos en estas variedades silvestres revelaron que se debe al mecanismo de antibiosis (Schoonhoven et al., 1983), es decir, a un efecto deletéreo muy significativo

¹ Programa de Entomología de Frijol, CIAT. A.A. 6713, Cali.

sobre la biología del insecto y su supervivencia. En estudios posteriores, Cardona et al. (1989) encontraron que, como resultado de este efecto, la emergencia de adultos se reduce significativamente, el ciclo de vida de los insectos que logran sobrevivir se prolonga sustancialmente y la progenie resultante se caracteriza por tamaño y peso reducidos. La fecundidad de hembras emergidas de variedades resistentes, también, se reduce significativamente. Cuando se crían colonias del insecto en generaciones sucesivas y en materiales altamente resistentes, éstas no pueden desarrollarse. También, se encontró que el estado de desarrollo de *Z. subfasciatus* y *A. obtectus* más afectado por la antibiosis es el primer instar larval, en el cual se registró una mortalidad superior al 90%. El primer instar tardío y el segundo instar temprano son los más afectados, por lo cual Cardona et al. (1989) sugieren que las larvas que logran alcanzar el primer instar tardío mueren en el segundo instar temprano, posiblemente a consecuencia de la mala nutrición suministrada por la variedad resistente. La conclusión final de este trabajo fue que el o los factores responsables de la resistencia son de naturaleza química y están presentes en el cotiledón de la semilla.

Osborn et al. (1986) identificaron, por electroforesis, una proteína nueva que llamaron arcelina, en honor a la población de Arcelia en el Estado de Guerre-

ro en México, de donde son originarias algunas de las variedades silvestres, previamente reportadas por Schoonhoven et al. (1983) como resistentes a brúchidos.

Esta proteína, que no se encuentra en frijoles cultivados, se purificó y caracterizó bioquímicamente. También, se comparó con faseolina (principal proteína de la semilla de frijol común) y con fitohemaglutinina (principal lectina de la semilla de frijol) (Osborn et al., 1988). Arcelina y lectina tienen características comunes que son: glicoproteínas y están relacionadas antigénicamente. Arcelina, también, tiene alguna actividad hemoaglutinante, característica que está asociada a las lectinas, pero presenta, a su vez, propiedades que la diferencian de éstas, como son un punto isoeléctrico más básico, mayor número de residuos de aminoácidos básicos, residuos adicionales de cisteína y un residuo de metionina que no está presente en la fitohemaglutinina (Osborn et al., 1988).

Esta proteína presenta cuatro variantes electroforéticas con pesos moleculares de 35.000 a 42.000, los cuales consisten en grupos distintos de polipéptidos con movilidad similar en geles bidimensionales. Estas variantes fueron designadas por Osborn et al (1988) como arcelina 1, 2, 3 y 4 y su presencia fue confirmada en CIAT por medio de electroforesis (Figura 1).

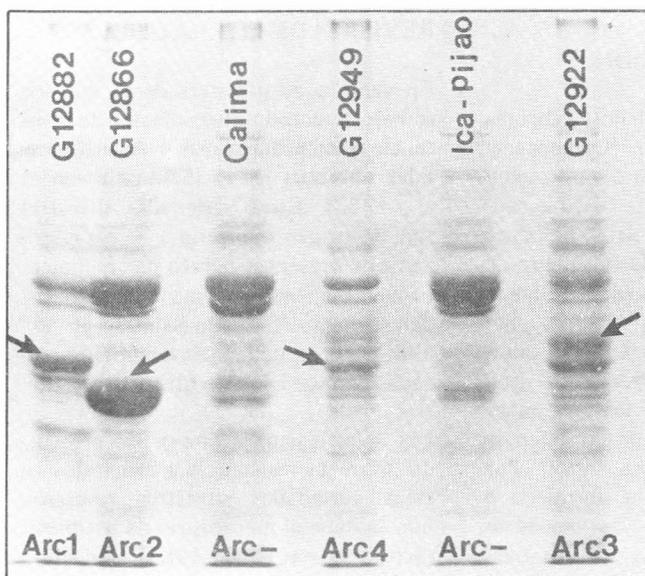


Figura 1. Patrón electrónico de cuatro variantes de la proteína arcelina presentes en algunas de las variedades silvestres resistentes a *Z. subfasciatus* (codificadas G). Calima e ICA-Pijao son variedades comerciales.

En estudios genéticos sobre la herencia de la proteína, se encontró que la expresión de arcelina está controlada por un gen mendeliano simple y que su presencia es dominante a su ausencia (Romero-Andreas et al., 1986). Aunque, por simple observación, se encontró una correlación entre la presencia de arcelina y la resistencia a *Z. subfasciatus*, podrían existir otros factores asociados con la resistencia a este insecto. Por esta razón, las investigaciones se encaminaron a caracterizar la proteína como el factor responsable de la resistencia al brúchido (CIAT, 1987).

MATERIALES Y METODOS

Para evaluar los niveles de resistencia en variedades silvestres y el efecto antibiótico de una proteína nueva sobre la biología de *Z. subfasciatus*, se utilizaron insectos mantenidos en colonias en el Laboratorio de Entomología del CIAT, bajo condiciones controladas de 28°C y 80% de humedad relativa, siguiendo las metodologías generales descritas por Schoonhoven y Cardona (1982).

EVALUACION DE VARIEDADES SILVESTRES CON Y SIN ARCELINA

Con el fin de acumular evidencia sobre el efecto de la arcelina en la biología de *Z. subfasciatus*, se escogieron seis variedades silvestres y dos cultivadas, las cuales fueron sometidas a electroforesis en geles de polyacrilamida SDS/PAGE, siguiendo la metodología de Laemmli (1970), modificada por Ma y Bliss (1978).

Una vez comprobada la presencia o ausencia de arcelina en las variedades en frascos plásticos provistos de tapa con areación, se infectaron plantas correspondientes a cinco repeticiones con siete parejas de *Z. subfasciatus* por repetición. Se realizaron conteos de huevos a los 15 días después de la infestación y, una vez iniciada la emergencia, conteos de adultos cada dos días. Se calculó el porcentaje de emergencia y el tiempo de emergencia de adultos. Los insectos se secaron en un horno a 45°C por 3-4 días, para obtener su peso seco.

Los datos de porcentaje de emergencia, el tiempo de emergencia de adul-

tos y el peso seco de los adultos se sometieron a análisis de varianza. En algunos casos, se hicieron transformaciones a $\log(X + 1)$ y arco seno. Cuando la prueba de F fue significativa, las medias se compararon por medio de la prueba de rangos múltiples de Duncan. Se calculó, también, el siguiente índice de susceptibilidad (I_s), el cual se utilizó para la comparación entre tratamientos y para la clasificación de las variedades como resistentes, intermedias o susceptibles.

$$I_s = \frac{\text{Logaritmo natural (progenie hembras + 1)}}{\text{días de emergencia por adultos}} \times 100$$

EVALUACION DE LINEAS CON EL GEN DE ARCELINA

Con base en el conocimiento de que la herencia de arcelina está controlada por un gen mendeliano simple de carácter dominante, se inició un programa de retrocruzas para introducir el gen de la proteína en variedades cultivadas y evaluar las progenies resultantes, con el fin de determinar la expresión de la herencia en términos de presencia de la proteína y los efectos correspondientes en la biología del insecto.

Se hicieron cruzas entre un padre susceptible cultivado (Sanilac) y un padre silvestre resistente (G. 12882). Las semillas F₁ fueron sometidas a análisis electroforético para confirmar la presencia de la proteína en el proceso de hibridación. Posteriormente, se obtuvieron dos generaciones de retrocruzamiento al padre Sanilac, seguidas por dos generaciones de autofecundación. La semilla F₂ de las segundas retrocruzadas se evaluó por resistencia al insecto así: dos líneas homocigotas dominantes Arc + /Arc +, cuatro líneas heterocigotas Arc +/arc - y tres líneas homocigotas recesivas arc-/arc-. Se infestaron una o dos repeticiones de 50 semillas, según la disponibilidad de éstas, con siete parejas de *Z. subfasciatus* por repetición. Como en el estudio anterior, se determinaron porcentajes de emergencia, tiempo de emergencia y peso seco de los adultos y se calcularon los correspondientes índices de susceptibilidad.

En otro estudio, se evaluaron seis líneas provenientes de segundas retrocruzas, entre dos variedades cultivadas (Pinto) y la variedad silvestre resistente G 12882. Tres de las líneas fueron purificadas por la presencia de arcelina y las otras tres por la ausencia de la proteína. Se infestaron cinco repeticiones de 50 semillas con 7 parejas de *Z. subfasciatus* por repetición. Como en los casos anteriores, se evaluaron y sometieron a análisis de varianza los siguientes parámetros: porcentaje de emergencia, tiempo de emergencia de adultos, peso de la progenie e índice de susceptibilidad.

EVALUACION DE ARCELINA PURA EN SEMILLA ARTIFICIAL

Para poder manipular los niveles de arcelina y evaluar su efecto en la biología del insecto, se adaptó a *Z. subfasciatus* la técnica de semilla artificial desarrollada para *Callosobruchus maculatus* (F) por Shade et al (1986).

Para preparar semillas artificiales, las naturales se remojan por 24 horas y la testa se remueve y el endospermo se deja secar a temperatura ambiente. Una vez seco, se muele para obtener harina de una finura tal que permita su paso por una criba de 0,25 mm. La harina se mezcla con agua destilada y se reconstituye en moldes de teflón. Las semillas moldeadas se congelan por 15 minutos en hielo seco y, posteriormente, en nitrógeno líquido y, luego, se someten a un período de liofilización por 24 horas, después de la cual, se hidratan a temperatura ambiente hasta alcanzar una humedad de 12 a 14%. Una vez hidratadas, se cubren con gelatina pura a una concentración del 10%, quedando listas para ser infestadas. Con este método de semilla artificial se uniformizan características, tales como color, tamaño y forma de las semillas y se pueden añadir, a voluntad, concentraciones de sustancias que se quieran evaluar.

Con esta técnica, se hicieron tres estudios. El primero consistió en comparar el desarrollo de *Z. subfasciatus* en semilla natural y artificial de tres genotipos susceptibles: Sanilac, L12-56 y Calima y uno resistente Sarc 1. Para ello, se infestaron semillas de fríjol de

cuatro repeticiones en cinco semillas por repetición y cada semilla infestada con cinco huevos del insecto por semilla. Los valores de porcentaje de emergencia, tiempo de emergencia de adultos y peso de las progenies se sometieron a análisis de varianza y, en algunos casos, con transformaciones a $\log(X + 1)$ ó arco seno. Los promedios se compararon mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan. Los datos presentados corresponden a los valores no transformados.

En el segundo estudio, se midió el efecto de genotipos resistentes en la biología de *Z. subfasciatus*. Se utilizaron dos variedades silvestres resistentes: G 12866 y G 12949 y una susceptible: Calima. Las semillas artificiales se prepararon con harina de Calima, en cada caso, a la cual, se añadió harina de cada una de las variedades resistentes en proporciones de 20, 40, 60 y 80%. Los correspondientes testigos se prepararon con el 100% de harina de cada variedad.

Para cada concentración y genotipo se evaluaron cuatro repeticiones de cinco semillas infestadas con 5 huevos de *Z. subfasciatus* por semilla. El efecto del porcentaje de la variedad resistente en la dieta se midió por regresión con el tiempo de emergencia de los adultos.

En el tercer estudio, se midió el efecto de tres concentraciones de arcelina pura sobre la biología de *Z. subfasciatus*. La proteína con un grado de pureza del 99% fue obtenida en la Universidad de Wisconsin, de acuerdo con los procedimientos descritos por Osborn et al. (1988). Se prepararon semillas artificiales con harina de la variedad susceptible Sanilac a la cual se agregó arcelina pura en concentraciones de 2,5, 5 y 10%. Semillas preparadas con 100% de harina de Sanilac constituyeron el testigo sin la proteína. Se hicieron cuatro repeticiones de cinco semillas por repetición para cada concentración. El análisis de los datos sobre porcentaje de emergencia y tiempo de emergencia de los adultos se realizó como en el estudio anteriormente descrito. Por análisis de Probit se calculó la concentración letal media (CL₅₀).

EVALUACION DE LINEAS MEJORADAS SELECCIONADAS POR LA PRESENCIA DE ARCELINA

Mediante la prueba serológica de Ouchterlony, también, se detecta la proteína "arcelina" (Garvey et al, 1977). Esta técnica, que consiste en una reacción antígeno-anticuerpo (Figura 2), presenta ventajas sobre la electroforesis, por ser una prueba de reacción rápida que permite la selección por la presencia de la proteína de una mayor cantidad de muestras diarias. El anticuerpo se obtiene a partir de la inoculación de la proteína pura en conejos. Las muestras de frijol, aproximadamente 15 mg de harina de cada semilla, se suspenden en 200 µl del buffer de extracción (NaCl 0,5 M;

ph 3.2) a temperatura ambiente durante 30 minutos. Para la prueba se utilizan 5 µl de cada muestra.

Con el fin de demostrar que la presencia del gen de arcelina imparte resistencia a *Z. subfasciatus* y que su detección por medio de serología se puede utilizar en un programa de mejoramiento, se usó el método de Ouchterlony para seleccionar semillas F3, provenientes de cuatro cruas simples (codificadas GG 125, 126, 127 y 129), las cuales se multiplicaron para la obtención de progenies F4. Estas progenies se evaluaron por su resistencia al insecto, siguiendo metodologías generales ya explicadas. La clasificación de la resistencia de los materiales se hizo con base en los índices de susceptibilidad.

RESULTADOS Y DISCUSION

EVALUACION DE VARIETADES SILVESTRES CON Y SIN ARCELINA

La evaluación de los niveles de resistencia entre variedades silvestres indicó que los materiales positivos para la presencia de arcelina mostraron altos niveles de resistencia a *Z. subfasciatus*, mientras que aquellos sin arcelina (silvestres y cultivados) resultaron muy susceptibles (Tabla 1).

EVALUACION DE LINEAS CON EL GEN DE ARCELINA

De acuerdo con los índices de susceptibilidad, las líneas homocigotas dominantes (Arc +/Arc +) fueron altamente resistentes en comparación con las homocigotas recesivas (arc-/arc-), que fueron totalmente susceptibles. Las líneas heterocigotas Arc +/arc- mostraron resistencia intermedia (Tabla 2). Este tipo de segregación es la esperada para un gen mendeliano simple, confirmando, así, por la reacción del insecto, los patrones de segregación para el gen arcelina, determinados por Romero-Andreas (1986). Los resultados sugieren, también, que las líneas para seleccionar en un proceso de mejoramiento deben ser homocigotas dominantes para arcelina, debido al alto nivel de resistencia impartido por la proteína.

Las líneas de frijol Pinto, homocigotas para la presencia de arcelina (Arc +), resultaron altamente resistentes al insecto, mientras que las negativas (arc-) fueron completamente susceptibles con diferencias estadísticas significati-

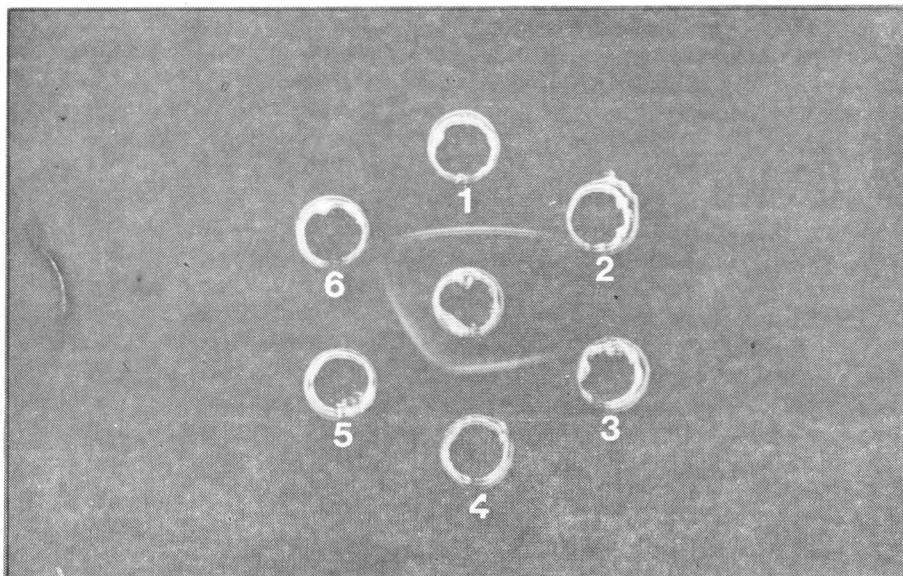


Figura 2. Prueba serológica de Ouchterlony que revela la presencia de arcelina. Reacción positiva en las muestras 1, 4 y 5.

TABLA 1. Niveles de resistencia a *Z. subfasciatus* en variedades silvestres de *P. vulgaris* con y sin arcelina.

Variiedad	Presencia de arcelina	Porcentaje de emergencia	Días a emergencia de adultos	Peso/adulto (g x 10 ⁻³)	Indice susceptibilidad	Clasificación
G 12947	ARC+	9.2 c*	69.6 a	0.8 cd	1.6	Resistente
G 12950	ARC+	4.8 c	70.2 a	0.0 bc	1.2	Resistente
G 12951	ARC+	9.2 c	70.3 a	0.7 d	1.7	Resistente
G 12924	ARC-	88.9 ab	44.9 c	1.0 b	7.3	Susceptible
G 12941	ARC-	85.3 b	45.6 c	1.0 b	7.6	Susceptible
G 12952	ARC+	15.2 c	57.9 b	0.9 b	2.5	Testigo Resistente
ICA-Pijao	ARC-	93.5 a	32.6 d	1.5 a	10.7	Susceptible
Calima	ARC-	93.1 a	31.9 d	1.4 a	11.2	Testigo Susceptible

* Promedios seguidos por la misma letra en la misma columna, no difieren significativamente el nivel del 5% (Duncan).

TABLA 2. Resistencia a *Z. subfasciatus* en semillas segregantes para el gen de arcelina.

Línea No.	Genotipo	Porcentaje de emergencia	Días a emergencia de adultos	Índice de susceptibilidad	Clasificación
1	Arc ¹ /Arc ¹	2.5	53.0	1.1	Resistente
2	Arc ¹ /Arc ¹	2.1	47.8	1.0	Resistente
3	Arc ¹ /arc	21.1	33.2	6.3	Intermedia
4	Arc ¹ /arc	38.7	37.2	7.0	Intermedia
5	Arc ¹ /arc	34.6	38.1	4.7	Intermedia
6	Arc ¹ /arc	30.2	35.4	6.8	Intermedia
7	arc/arc	89.5	34.2	10.5	Susceptible
8	arc/arc	76.3	34.7	9.3	Susceptible
9	arc/arc	93.8	34.4	10.0	Susceptible
G 12953	Arc/Arc	6.6	55.1	1.2	Testigo resistente
Calima	arc/arc	92.9	34.0	10.2	Testigo susceptible

vas en todas las variables evaluadas (Tabla 3). Se comprobó, entonces, un efecto deletéreo de la presencia de la proteína en la biología de *Z. subfasciatus*,

EVALUACION DE ARCELINA EN SEMILLA ARTIFICIAL

Evaluaciones previas en semilla artificial habían indicado que los resultados de resistencia y susceptibilidad eran consistentes y comparables con los resultados en semilla natural. Esto se confirmó cuando se comparó el desarrollo de *Z. subfasciatus* en tres genotipos susceptibles y uno resistente. La expresión de los parámetros evaluados, porcentaje de emergencia, tiempo de emergencia de adultos y peso de la prole, fue similar en las dos técnicas de cría (Tabla 4) y los niveles de

resistencia de la variedad SARC 1 fueron los menos consistentes, tanto en semilla natural como artificial.

Cuando se prepararon semillas artificiales con niveles crecientes de harina de semilla de las variedades resistentes G 12866 y G 12949, se registró una prolongación significativa en el tiempo de emergencia de adultos a medida que aumentó la concentración. Se registró un efecto mayor del genotipo G12949 que, a concentraciones superiores al 60%, no permitió emergencia de adultos (Figura 3).

Al estudiar el efecto de las concentraciones de arcelina pura en las semillas artificiales de Sanilac, se encontró que en la concentración más baja probada, 2.5%, arcelina no presentó un efecto antibiótico significativo en la biología de *Z. subfasciatus*; en el nivel interme-

dio, 5%, hubo un incremento significativo en el ciclo de vida y no significativo en el porcentaje de emergencia. A la dosis más alta, 10%, que representa la concentración aproximada de arcelina en semillas naturales resistentes, hubo un efecto marcado sobre la duración del ciclo (días a emergencia) y el porcentaje de emergencia de adultos (Figuras 4 y 5).

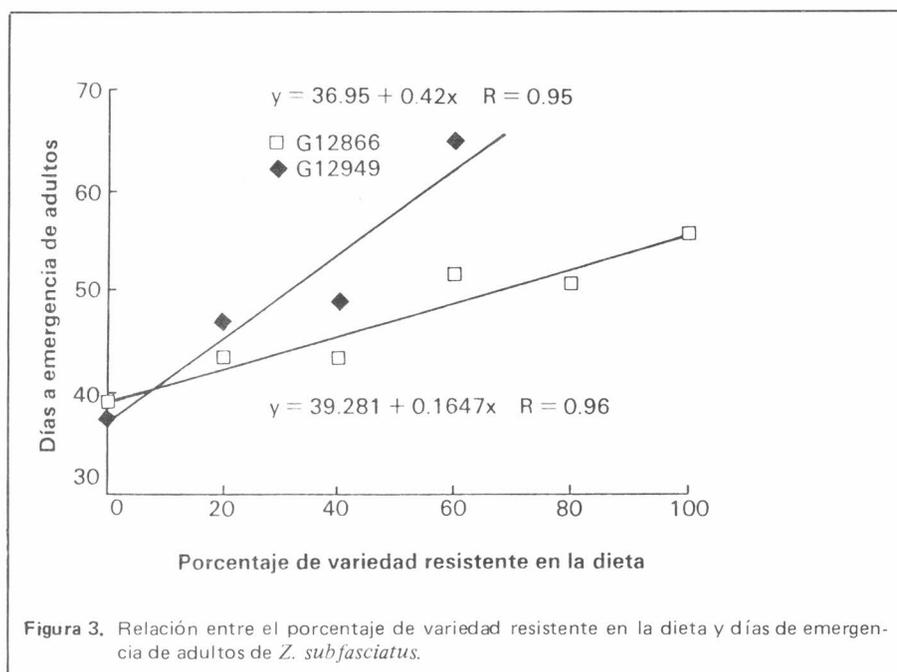
Se encontró que la concentración letal media (CL₅₀) fue 6.5% ± 1.5. En un segundo ensayo, la concentración letal media fue 6.8% ± 0.97.

EVALUACION DE LINEAS MEJORADAS SELECCIONADAS POR LA PRESENCIA DE ARCELINA

En la Tabla 5, se presentan los resultados de la evaluación entomológica de

TABLA 3. Niveles de resistencia a *Z. subfasciatus* en líneas de frijol Pinto seleccionadas por la presencia o ausencia de arcelina.

Línea	Presencia de arcelina	Porcentaje de emergencia	Días a emergencia de adultos	Peso 1 adulto (g x 10 ⁻³)	Índice de susceptibilidad	Clasificación
859446-67	+	7.8 c*	46.4 bc	0.8 c	3.0	Resistente
859446-59	-	95.4 a	32.8 d	1.3 b	11.1	Susceptible
859446-71	+	10.9 c	45.2 c	0.9 c	3.8	Resistente
859439-11	-	94.1 a	32.5 d	1.3 ab	11.6	Susceptible
859445-20	+	11.6 c	46.9 b	0.7 d	3.5	Resistente
R-148-15	-	95.4 a	32.2 d	1.3 ab	10.9	Susceptible
G 12952	+	3.0 d	50.0 a	0.7 d	0.7	Testigo Resistente
Calima	-	80.5 b	33.1 d	1.4 a	11.1	Testigo Susceptible



progenies F₄ seleccionadas por la presencia de arcelina según la prueba serológica de Ouchterlony. De acuerdo con el índice de susceptibilidad, estas progenies presentaron altos niveles de resistencia. Por estas razones, el proceso de selección, con base en presencia de la proteína arcelina, se siguió implementando con el fin de obtener a corto plazo frijoles comerciales con resistencia a esta plaga. En la actualidad, el proceso de mejoramiento consiste en seleccionar, por la presencia de arcelina, semillas F₁ de primeras retrocruzas y semillas F₁ y F₂ de segundas retrocruzas. En cada etapa de selección las semillas positivas ARC+ se seleccionan para la siembra y las semillas negativas ARC- se descartan. En semillas F₂ de segundas retrocruzas se siembran solamente las positivas (homocigotas dominantes) y se realizan selecciones por agronomía en el campo, para evaluar

Figura 3. Relación entre el porcentaje de variedad resistente en la dieta y días de emergencia de adultos de *Z. subfasciatus*.

TABLA 4. Comparación del desarrollo de *Z. subfasciatus* en semilla artificial y natural.

Técnica	Línea	Porcentaje de emergencia	Días de emergencia de adultos	Clasificación
Natural	Sanilac (susceptible)	95.9 ab*	31.3 b	Susceptible
	L12-56 (susceptible)	100.0 a	32.2 b	Susceptible
	SARC 1 (resistente)	7.4 d	50.3 a	Resistente
	Calima (susceptible)	93.0 abc	31.5 b	Susceptible
Artificial	Sanilac (susceptible)	86.1 bc	37.8 b	Susceptible
	L12-56 (susceptible)	74.7 c	38.4 b	Susceptible
	SARC 1 (resistente)	18.4 d	53.8 a	Resistente
	Calima (susceptible)	87.7 bc	37.9 b	Susceptible

* Promedios seguidos por la misma letra en la misma columna no difieren significativamente al nivel del 5% (Duncan).

TABLA 5. Evaluación de la resistencia a *Z. subfasciatus* de progenies F₄ provenientes de cruas simples, seleccionadas por la presencia de arcelina en F₃.

Código	Porcentaje de emergencia	Días de emergencia de adultos	Peso/adulto (g x 10 ⁻³)	Índice de susceptibilidad	Clasificación
GG 125-1-CM	15.7	41.5	1.0	4.2	Resistente
GG 125-4-CM	5.1	43.0	1.0	2.3	Resistente
GG 125-11-CM	29.3	40.9	1.0	5.3	Intermedia
GG 125-19-CM	11.5	41.9	1.0	3.8	Resistente
GG 126-1-CM	5.5	45.9	1.0	2.1	Resistente
GG 126-10-CM	16.3	42.3	0.9	4.5	Resistente
GG 127-3-CM	12.1	42.1	1.0	3.4	Resistente
GG 127-6-CM	8.5	42.7	1.1	3.3	Resistente
GG 127-8-CM	15.4	43.0	1.0	4.3	Resistente
GG 127-9-CM	7.8	43.0	1.0	2.8	Resistente
GG 129-3-CM	5.6	47.0	0.9	2.5	Resistente
G 129 52	5.7	61.8	0.7	1.3	Testigo Resistente
Calima	93.9	32.1	1.3	11.8	Testigo Susceptible

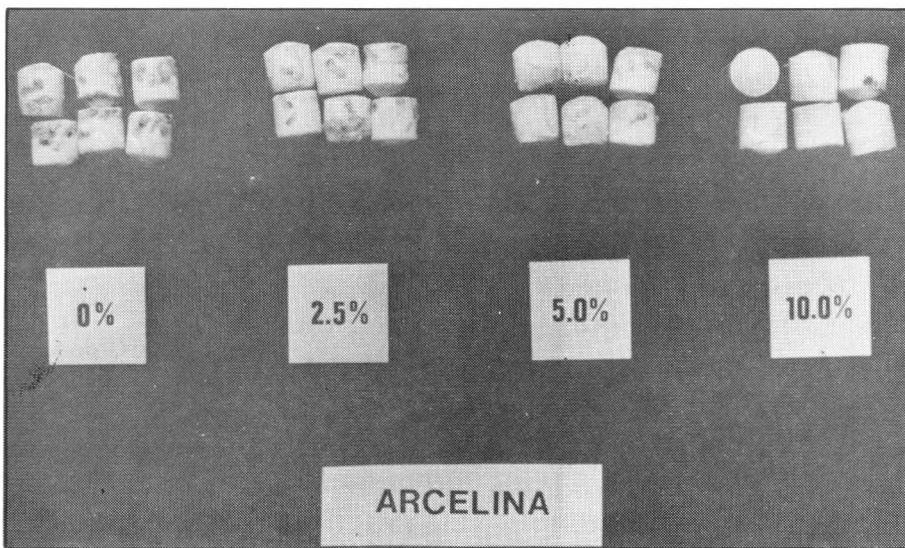


Figura 4. Semillas artificiales preparadas con harina de la variedad susceptible Sanilac a la cual se agregan dosis crecientes de arcelina pura. Al 10% el daño fue mínimo.

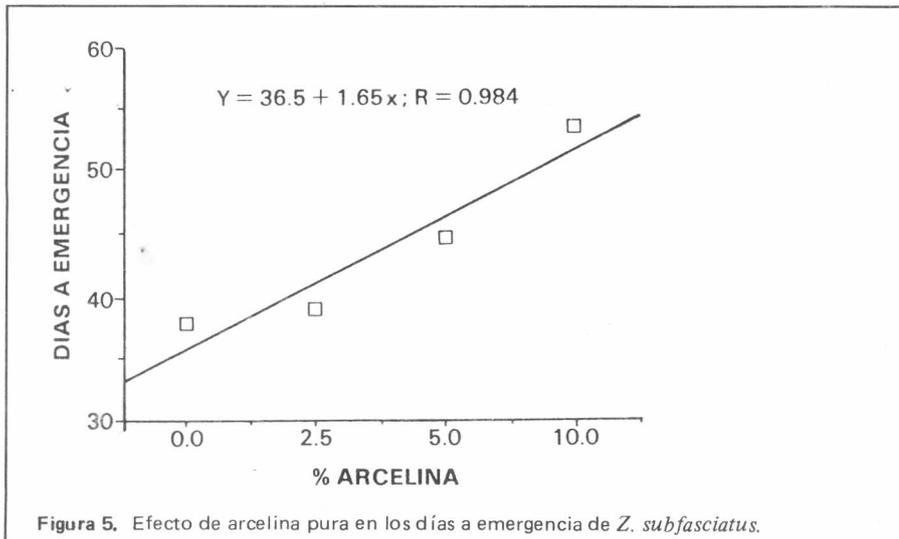


Figura 5. Efecto de arcelina pura en los días a emergencia de *Z. subfasciatus*.

la resistencia de estos materiales al insecto a partir de progenies F3 y generaciones subsiguientes.

CONCLUSIONES

- La Arcelina, una proteína nueva presente únicamente en los frijoles silvestres resistentes, es el factor responsable de antibiosis a *Z. subfasciatus*.
- Los resultados de resistencia y susceptibilidad a *Z. subfasciatus* en semilla artificial fueron consistentes con los resultados en semilla natural. Por medio de la prueba de semilla artificial se pudo comprobar que,

a una concentración del 10%, la arcelina imparte altos niveles de resistencia a *Z. subfasciatus*. La concentración letal media fue 6.5%.

- La arcelina se detecta por electroforesis y por medio de la prueba serológica de Ouchterlony. Como ésta última es más sencilla, se está usando en forma rutinaria para seleccionar semillas por la presencia de arcelina, utilizando la proteína como marcador de resistencia a *Z. subfasciatus*.
- El gen de arcelina puede transferirse y es mendeliano simple y se está in-

corporando en frijoles cultivados mediante un proceso de retrocruzamiento para obtener frijoles resistentes a esta plaga de almacenamiento.

BIBLIOGRAFIA

1. Cardona, C.; Posso, C.E.; Kornegay, J.; Valor, J.; y Serrano, M. 1989. Antibiosis effects of wild dry bean accessions on the Mexican bean weevil and the bean weevil (Coleoptera: Bruchidae). *J. Econ Entomol.* 82 (en imprenta; aceptado para publicación Septiembre 30, 1988).
2. CIAT. 1987. Annual Report 1986. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia, p. 96-117.
3. Delgado-Salinas, A.; Bonet, A.; Gepts, P. 1988. The wild relative of *Phaseolus vulgaris* in middle America. In: Gepts, P. (ed.). Genetic resources of *Phaseolus* beans. Kluwer Academic Publishers; Dordrecht, Holland, p. 163-184.
4. Garvey, J.S.; Cremer, N.E.; Sussdorf, D.H. 1977. Gel diffusion. Methods in immunology. Third edition. Addison Wesley Publishing Co.; New York. p. 313-327.
5. Laemmli, V.K. 1970. Cleavage of structural protein during assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* V. 22 p. 680-685.
6. Ma, L.; Bliss, F. 1978. Seed proteins of common bean. *Crop Science.* V. 18, p. 431-437.
7. Osborn, T.C.; Burow, M.; Bliss, F.A. 1988. Purification and characterization of arcelin seed protein from common bean. *Plant Physiol.* V. 86, p. 399-405.
8. Romero-Andreas, J.; Yandell, B.S.; Bliss, F.A. 1986. Bean arcelin. 1. Inheritance of a novel seed protein of *Phaseolus vulgaris* and its effect on seed composition. *Theor. Appl. Genet.* V. 72, p. 123-128.
9. Schoonhoven, A. Van.; Cardona, C. 1982. Low levels of resistance to the Mexican bean weevil in dry beans. *J. Econ. Entomol.* V. 75 p. 567-569.
10. Schoonhoven, A. Van.; Cardona, C. 1983. Resistance to the bean weevil and the Mexican bean weevil (Coleoptera: Bruchidae) in non cultivated common bean accessions. *J. Econ. Entomol.* V. 76 p. 1255-1259.
11. Shade, R.E.; Murdock, L.L.; Foard, D.E.; Pomeroy, M.A. 1986. Artificial seed system for bioassay of cowpea weevil (Coleoptera: Bruchidae) growth and development. *Environ. Entomol.* V. 15 p. 1286-1291.

EVALUACION DEL HONGO *Sporothrix insectorum* (Hoog, Evans) EN LA CHINCHE
DE ENCAJE *Leptopharsa gibbicarina* (Froeschner) EN PALMA AFRICANA DE ACEITE
(*Elaeis guineensis* Jacq.)

Ana Isabel Ordóñez*
Phillipe Genty**

RESUMEN

El complejo *Leptopharsa pestalotiopsis* es un problema endémico en las plantaciones de Palma Africana de Aceite las zonas Central y Norte de Colombia y es responsable, hasta del 60%, de la pérdida en el rendimiento del cultivo.

En las plantaciones de caucho del Brasil, se encontró que el hongo entomopatógeno *Sporothrix insectorum* controla, en un 98%, las poblaciones de *L. hevea* (Tingideae). Este hongo fue introducido a Colombia por Indupalma (San Alberto, Cesar), para probar su patogenicidad en *Leptopharsa gibbicarina*.

Se comparó el crecimiento del hongo en cuatro medios de cultivo (Sabourand - maltosa - agar más 1% de extracto de levadura (SMAE); papa - dextrosa - agar (PDA) más Panvit (sales minerales); medio semisintético enriquecido con sales y el medio comercial 5467, específico para hongos entomopatógenos). Se usó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones y arreglo factorial 2 (cepas de hongos) x 3 (temperaturas: 20, 37 y 32°C). *S. insectorum* crece bien en todos los medios probados a 27 y 30°C (65% HR) siendo la óptima a 27°C.

Para las pruebas de patogenicidad bajo condiciones de laboratorio, se usaron

5 concentraciones del hongo (10, 10⁵, 10⁶, 10⁷, 10⁸), tratando 100 adultos de *L. gibbicarina* por tratamiento, bajo un diseño completamente al azar. Se probó la alta acción patogénica del hongo en todas las concentraciones ensayadas y en comparación con el testigo (10 ml de agua). Los porcentajes de mortalidad fueron: 1,3; 73,5; 73,4 y 72,2%, los cuales no muestran diferencias significativas entre las distintas concentraciones del hongo que se utilizaron.

Bajo condiciones de campo, se probó la patogenicidad de 2 cepas del hongo (una en colección y otra recientemente importada), usando un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones a las mismas concentraciones del experimento anterior y se depositaron en una hoja de palma por planta dentro de jaulas de tul con cremalleras (1,20 m de largo x 40 cm de diámetro). Se usaron 20 palmas distribuidas en 20 líneas de la parcela. Las diferencias en porcentaje de mortalidad entre los tratamientos (concentraciones) y el testigo fueron altamente significativas para ambas cepas de hongo.

Para aplicaciones de campo, es conveniente usar concentraciones del hongo a 10⁷ y 10⁸ conidias/ml. Los resultados obtenidos muestran las amplias posibilidades del uso de *S. insectorum* para control de ninfas y de adultos de *L. gibbicarina* en palma africana de aceite. Sin embargo, se deberán hacer más investigación en otras áreas agroecológicas y el hongo, posiblemente, pueda utilizarse contra otros Tingidae de importancia económica en otros cultivos.

SUMMARY

EVALUATION OF THE FUNGUS
Sporothrix insectorum (Hoog and
Evans) ON THE LACE BUG
Leptopharsa gibbicarina (Froeschner)
IN AFRICAN PALM

Foliar mildew complex on African Oil Palm (association of *Leptinotarsa gibbicarina* (Froeschner) Hemiptera: Tingidae with the plant pathogen *Pestalotiopsis* spp.) is an endemic problem in the Central and Northern regions of Colombia. This abnormality is responsible for reductions up to 60% in yields. The entomopathogenic *S. insectorum* was found controlling up to 98% the lace wing bug *L. hevea* in rubber plantations of Brazilian Amazonas. This fungus was introduced into Colombia by Indupalma, San Alberto (Cesar), to test against *L. gibbicarina*; comparing the growth of this fungus in four media (Sabourand, maltosa, agar plus 1% yeast extract SDA; potato, dextrosa, agar PDA; agar plus panvit (mineral salts); semisynthetic salt enrich medium and the commercial medium 5467, specific for entomopathogens), under a completely randomized factorial design with four replicates in which two strains were subjected to 20, 27 and 30°C. It was found that *S. insectorum* grew well in all the tested media at 27 and 30°C (65% R.H.), being the optimal temperature 27°C.

Testing pathogenicity under laboratory conditions using five conidial concentrations (10, 10⁵, 10⁶, 10⁷, 10⁸) on 100 adults of *L. gibbicarina* per treatment, under a completely randomized design with four replications,

* Ing. Agrónoma Facultad de Ciencias Agropecuarias, Palmira, Valle.

** Ing. Agrónomo, Entomólogo, INDUPALMA (San Alberto, Cesar) A.A. 1535 Bucaramanga.

it was found a positive effect at all concentrations in controlling the insects, when they were compared to the control (10 ml of water) the percentages of mortality were: 1.3, 73.5, 73.4 and 72.2% showing not significant differences between different concentrations.

To test pathogenicity of the two strains of fungi under fields conducting a randomized design was used with the same concentrations and replication as before, but using 100 insects per treatment which were settled up in a palm leaf inside a screeny cage (1,2 m x 40 cm diameter). The differences in percentage of mortality between the treatments (concentrations) and the control were highly significant for both strains.

For practical purposes, it is advisable to use 10^7 to 10^8 conidia/ml of fungus. The results obtained showed the great possibility of using *S. insectorum* to reach a good control of *L. gibbicarina* in African Oil Palm. However, more research should be done in other agroecological areas and perhaps in Tingidae of other crops.

INTRODUCCION

La palma africana de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) es la especie oleagífera que mayor cantidad de aceite produce por unidad de superficie. Muchos insectos se han habituado a ella, convirtiéndose en un peligro potencial para la misma y uno de los de mayor cuidado es la chinche de encaje (*Leptopharsa gibbicarina*. (Froeschner), que, asociada con el complejo fitopatogénico, conocido como *Pestalotiopsis*, que causa el añublo foliar, enfermedad endémica en las zonas central y norte de Colombia.

En Manaus, Amazonas (Brasil), se encontró en caucho, un congénere de la chinche, parasitado en un 98% de su población de campo, por el hongo entomopatógeno *Sporothrix insectorum*, H y E. Dicho hongo se importó

a Colombia para probar su patogenicidad y adaptación sobre *L. gibbicarina*, estudiándose su comportamiento, tanto en condiciones de laboratorio como en el campo.

Los resultados de esta investigación ofrecen posibilidades para el manejo integrado de la chinche, problema que, hasta el momento, es prioritario en la palma africana de aceite y es considerado de mucha importancia en Colombia.

REVISION DE LITERATURA

La chinche de encaje *Leptopharsa gibbicarina* F. es el principal diseminador de *Pestalotiopsis* sp. en palma africana de aceite. Genty y López, en 1973, lo registraron, por primera vez, asociado con el ataque de defoliadores, principalmente limacocidos, causando el 70% de las heridas por las cuales penetran los hongos componentes del añublo foliar, que son considerados patógenos secundarios (Genty, 1975).

L. gibbicarina tiene como hospedante natural en la palma silvestre del Magdalena Medio, llamada *Bactris marajá*, que no presenta problemas de *Pestalotiopsis* sp., mientras que, en palma africana, la enfermedad, en tiempo seco, está asociada con la presencia del Tingidae, pues, en esta época, su población se eleva, especialmente a finales de este período y comienzos del tiempo lluvioso (Genty et al., 1975).

Cuando, por las lluvias, se disminuye la población de *L. gibbicarina* se activa el ataque de *Pestalotiopsis* sp., pues los hongos del complejo penetran a través de las heridas dejadas por la chinche sobre las hojas de palma africana en el período seco. Estas heridas son causadas por picaduras y deposición de los huevos. El incremento anormal de la población de *L. gibbicarina* en la plantación de INDUPALMA S.A., hace que este fenómeno se considere de importancia económica. (García, 1976). En 1986, Celestino Filho y Magalhães encontraron, en las plantaciones de caucho del Centro Nacional de Pesquisa Agropecuaria en Seringueira y Dende (CNPDS) EMBRAPA, Manaus (Brasil), el hongo *Sporothrix insectorum* parasitando *Leptopharsa*

heveae. Cuando el inóculo es abundante, se observan en las hojas de las plantas de caucho insectos muertos cubiertos por micelio y esporas de color blanco, característico del entomopatógeno (Junqueira et al., 1987).

S. insectorum se aisló de adultos de *L. heveae* parasitados en el campo y se cultivó masivamente en el laboratorio del EMBRAPA (Brasil) y se importó a Colombia, con el fin de probar su efecto patogénico sobre la chinche de encaje en palma africana de aceite.

El entomopatógeno *S. insectorum* es un hongo imperfecto que se reproduce asexualmente por esporas o conidias pequeñas, hialinas, insertas en los extremos de conidióforos libres y delgados, originados a partir de hifas septadas (Barnett y Hunter, 1972). El hongo pertenece al grupo de los Hyphomycetes, caracterizados por formar hifas vegetativas de reproducción asexual.

Este hongo, inicialmente, se registró en la literatura como *Beauveria* sp. y, posteriormente, Hoog y Evans lo reclasificaron como *S. insectorum* (Junqueira y otros, 1988). Este entomopatógeno ataca Hemípteros tígidos en Manaus (Brasil) y, en condiciones de laboratorio, se observa parasitando insectos benéficos¹.

Por exámenes microscópicos en adultos muertos de *L. gibbicarina* y *L. heveae*, parasitados por *S. insectorum*, se comprueba la fase inicial de salida del micelio del hongo, principalmente de las suturas del pronoto y la zona elítral a nivel de escutelo (Ordóñez, 1988).

Los hongos Hyphomycetes penetran la cutícula del insecto por actividad enzimática y llegan a la hemolinfa, donde se reproducen y causan la muerte del insecto e inician una fase de salida hacia el exterior del cuerpo, para comenzar la producción de conidióforos y la esporulación (Rodríguez, 1984).

MATERIALES Y METODOS

La investigación se llevó a cabo en la plantación de Industrial Agraria "LA PALMA" (INDUPALMA S.A.), locali-

1 MORAES, L. Comunicación Personal. EMBRAPA, Programa de Entomología. Manaus, Amazonas (Brasil), 1988.

zada en el Municipio de San Alberto, Departamento del Cesar (Colombia). La zona presenta una temperatura promedio de 28°C, una insolación anual de 2.041 horas sol y una pluviometría de 2.524 mm anuales y una humedad relativa del 75% y una estación seca de tres meses, como máximo y está situada a 150 m.s.n.m. Los suelos son areno-limosos con un pH de 4.5 - 6.5 y el material sembrado es IRHO, procedente de Costa de Marfil.

Se compararon dos aislamientos de *S. insectorum*; uno aislado a partir de la primera cepa importada por Genty en 1986 y el otro aislado de *L. heveae* parasitada por el hongo proveniente de plantaciones de caucho del EMBRAPA (Brasil). En este caso, la muestra se mantuvo en cámara húmeda, luego, se introdujo por dos minutos en alcohol etílico al 25% y por un minuto en agua destilada, antes de proceder al aislamiento del patógeno. Inicialmente, las dos cepas usadas se mantuvieron en medio 5467 (Merck)², en condiciones de oscuridad continua y a una temperatura de 25°C durante una semana, para estimular el desarrollo de las conidias. Después de este lapso, el hongo se aisló y se purificó.

Posteriormente, las dos cepas de *S. insectorum* se evaluaron a tres temperaturas constantes (20°C; 27°C y 32°C), en los medios de cultivo Sabouraud-maltosa-agar más extracto de levadura al 1% (smae); Sabouraud-dextrosa-agar (sda); papa-dextrosa-agar más panvit³ (este último elemento lo constituyen una mezcla de aminoácidos, minerales y vitaminas); medio semisintético enriquecido con sales (sales) y medio para hongos entomopatógenos 5467 Merck. Previo a la siembra en los diferentes medios, se prepararon colonias de cada cepa de *S. insectorum* bien esporuladas, a partir de las cuales se sacaron porciones de 2 a 3 mm de diámetro para evaluar crecimiento radial en mm. Para cada medio de cultivo, se realizó un diseño completamente al azar con un arreglo factorial 2 x 3 (dos cepas del hongo y tres temperaturas: 20°C; 27°C y 32°C).

El crecimiento se evaluó midiendo el radio de la colonia a las 24 horas y cinco evaluaciones más, realizadas cada dos días hasta el día doce después de la siembra.

Para seleccionar los mejores tratamientos de acuerdo con el crecimiento, se utilizó como criterio la relación gráfica entre la velocidad de crecimiento por día (y) (tomada como el coeficiente de regresión en los ajustados) y el crecimiento observado a los doce días de la siembra (x). Al finalizar el ensayo, los tratamientos considerados como los de mayor desarrollo radial con la tasa de crecimiento más alta se compararon usando la prueba "t" para homogeneidad de coeficientes de regresión (tasas de crecimiento diario) y se llevaron a la prueba de los cuadrantes. Aquellos tratamientos ubicados en el cuadrante I, cuyos coeficientes de regresión no eran homogéneos, se consideraban estadísticamente diferentes (Steell y Torrie, 1985).

En el laboratorio, se efectuaron pruebas de patogenicidad, utilizando bandejas esmaltadas con folíolos de palma en los cuales se depositaron veinticinco adultos de *L. gibbicarina* y las bandejas se asperjaron con 10 ml de la suspensión del hongo a concentraciones de 10⁶, 10⁷, 10⁸, conidias/ml y se usó un testigo tratado, sólo, con agua destilada esterilizada.

El inóculo se obtuvo de cultivos mantenidos, durante siete días a 25°C, en Erlemeyers en 5467 (Merck). A cada Erlemeyer con la colonia esporulada se le adicionaron 100 ml de agua destilada esterilizada con cinco gotas de Tween 20, para facilitar el desprendimiento de las conidias. Para efectuar el conteo de las diluciones, se usó un hemocitómetro tipo Neubauer.

Estas pruebas se desarrollaron utilizando un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. Las evaluaciones se hicieron a las 24, 48, 72 y 96 horas después del tratamiento. Las variables medidas fueron porcentaje de mortalidad y cantidad de insectos afectados por el hongo. Las condiciones ambientales promedias del laboratorio fueron 65% de H.R. y 27°C.

Para los ensayos de patogenicidad en campo, se utilizó un diseño completamente al azar con cinco repeticiones, distribuido en veinte líneas con un área de contenía 463 palmeras. En las palmeras de cada tratamiento, se escogieron las hojas del nivel diecisiete, en las cuales se colocaron jaulas de tull de 1.20 m de largo por 40 cm de diámetro sostenidas por una base de alambre galvanizado número diez y cerradas con cremallera, diseñado por Reyes y Jiménez (1975), para *Euprosterina eleasa*. Dyar (Lepidoptera: Limacodidae). Las hojas se contaminaron artificialmente con cien adultos de *L. gibbicarina* por jaula. Previo a los tratamientos se efectuaron conteos de la población y se completaron a cien. Las aspersiones se hicieron usando 30 ml de suspensión de *S. insectorum* en concentraciones de 10⁵, 10⁶, 10⁷ y 10⁸, conidias/ml y el testigo fue tratado con agua destilada y esterilizada. Los ensayos se efectuaron a comienzos de la época lluviosa, bajo condiciones ambientales de 28°C y 75% H.R. Las evaluaciones se hicieron a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas después de la aplicación y las variables medidas fueron las mismas que para las pruebas de patogenicidad en laboratorio. De los insectos muertos por micosis, se aisló el hongo.

La multiplicación masiva se hizo a partir de cultivos de *S. insectorum* mantenidos en el medio 5467 Merck en Erlemeyers de 250 ml. Cuando los cultivos se desarrollaban en la superficie del medio y cubrían el diámetro del Erlemeyer, se les añadían, 200 ml de agua destilada y esterilizada, agitando el contenido. Con esta solución micelial, se sembró el medio de multiplicación masiva, según el método usado por Junqueira (1987) en Manaus (Brasil) que se preparó con 1 Kg. de salvado de trigo, 15-20 Kg. de azúcar, 15 ml. de Panvit y 10 g. de cloranfenicol. Esta mezcla se secó en un horno a 27°C y, posteriormente, se repartió en frascos de vidrio de boca ancha previamente esterilizados durante 30 minutos a 121°C; luego, en cada frasco, con 1 kg de la mezcla, se depositaron 30 ml de la solución de conidias de *S. insectorum*. También, se utilizaron otros sustratos, como arroz de tercera y cascarilla de arroz, solos o mezclados con

2 Medio Merck para hongos entomopatógenos número 5467.

3 Manual DIFCO, 1977.

salvado de trigo humedecido en agua azucarada (10 gr/lit), para incrementar la producción de conidias.

La influencia de algunos productos químicos comerciales más usados en palma africana sobre el crecimiento radial de *S. insectorum*, también se evaluó, al incorporarlos al medio 5467 (Merck), en proporción de 1/10 de sus dosis comerciales (Propoxur: 0.25 gr/hg de I.A.; Mancozeb: 0.002 cc/lit de I.A.; Fosfamidón: 0.7 cc/lit de I.A.) y, posteriormente, sembrar el hongo. El conjunto del material se incubó a 25°C en oscuridad continua durante quince días. El ensayo se realizó bajo un diseño estadístico completamente al azar, con un arreglo factorial 2 x 4 (dos cepas del hongo, cuatro concentraciones, incluyendo el testigo). Los registros del radio de la colonia se llevaron durante los días 3, 8, 12 y 14 después de la siembra. Los modelos de crecimiento del hongo se ajustaron utilizando el método de mínimos cuadrados.

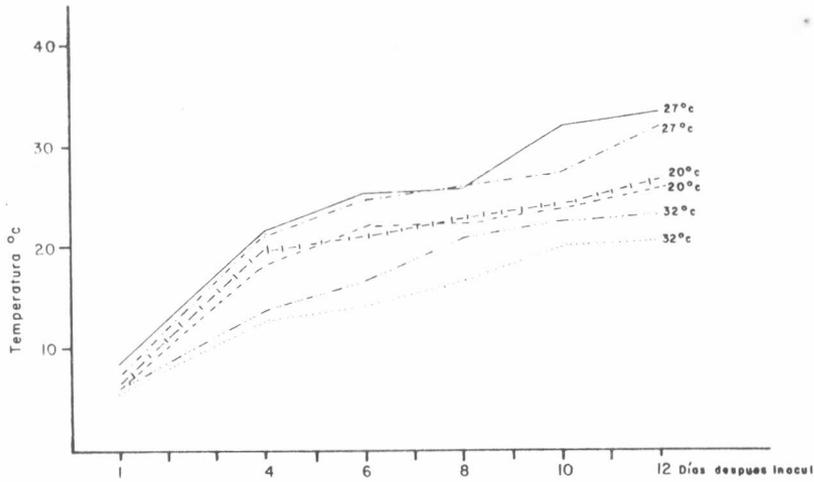
RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados del crecimiento radial de las colonias de *S. insectorum* a tres temperaturas se presentan en la tabla No. 1, tomados a 1, 4, 6, 8, 10 y 12 días después de la siembra, con su respectiva tendencia de crecimiento (Figura No. 1). Posteriormente, se tomó el crecimiento radial al décimo segundo día (x) con la velocidad de crecimiento por día (y), para obtener una relación gráfica que condujo a la prueba "t" (Tabla No. 2) y los coeficientes de regresión se homogenizaron, para establecer modelos de crecimiento a partir de los cuales se hicieron comparaciones biológicas (Tabla No. 3). La velocidad de crecimiento diario (bi), con el crecimiento al décimo segundo día, ubicó los tratamientos en la prueba de los cuadrantes (Figura No. 2A), la cual permitió concluir que el hongo presenta su mejor crecimiento radial a temperaturas entre 27°C y 20°C y que Panvit es el medio de cultivo menos favorable para el desarrollo radial de *S. insectorum*. El hongo disminuyó su velocidad de crecimiento a temperaturas de 32°C.

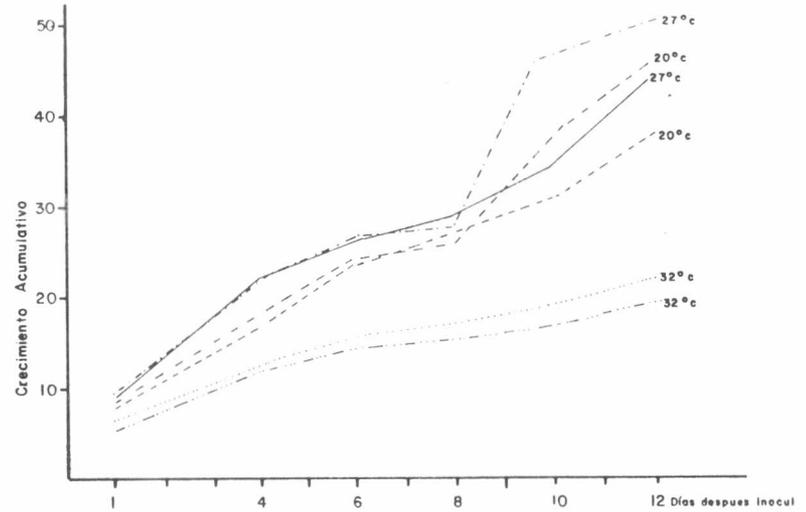
Las pruebas de patogenicidad en laboratorio indicaron que aplicaciones de

TABLA No. 1. Crecimiento acumulativo en mm. de dos cepas de *S. insectorum* a diferentes temperaturas en cinco medios de cultivo.

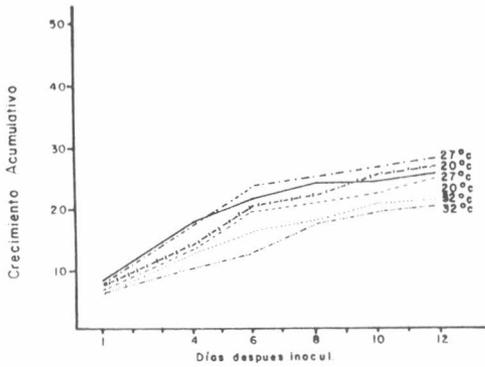
Temperatura °C	DIAS DESPUES DE LA INOCULACION					
	1	4	6	8	10	12
SMAE						
CEPA 1						
20°C	6.5	19.6	21.4	23.1	24.2	27.0
27°C	7.9	21.3	25.0	26.4	27.8	32.0
32°C	5.3	12.4	14.3	16.9	20.1	21.0
CEPA 2						
20°C	6.3	18.6	22.1	23.0	24.0	26.0
27°C	8.3	21.4	25.8	26.3	32.2	34.0
32°C	5.6	13.9	16.9	21.0	22.4	23.0
SDA						
CEPA 1						
20°C	7.2	16.8	22.0	23.4	34.0	42.0
27°C	8.5	18.9	24.1	25.0	45.0	51.3
32°C	5.1	11.3	13.8	15.9	17.4	20.0
CEPA 2						
20°C	6.9	15.9	21.1	24.2	28.0	34.0
27°C	7.9	19.4	23.4	26.0	31.0	40.0
32°C	4.3	10.5	12.9	13.5	15.2	18.0
PANVIT						
CEPA 1						
20°C	6.7	13.7	19.3	21.3	25.0	26.2
27°C	7.0	16.7	23.2	24.7	26.1	27.8
32°C	5.0	11.3	15.5	17.2	20.3	21.0
CEPA 2						
20°C	6.3	12.8	18.7	20.6	22.0	24.3
27°C	7.4	16.8	21.2	23.7	24.2	25.0
32°C	5.8	10.1	12.3	17.0	18.9	20.0
SALES						
CEPA 1						
20°C	6.9	19.6	22.1	25.0	26.1	27.0
27°C	7.5	24.2	26.0	34.0	35.5	40.1
32°C	5.3	12.9	18.7	20.3	21.0	21.9
CEPA 2						
20°C	6.5	18.7	21.3	24.6	27.0	27.8
27°C	7.9	23.3	24.8	32.1	36.4	40.0
32°C	5.0	11.8	18.6	19.4	21.0	21.0
5467						
CEPA 1						
20°C	7.8	18.6	20.0	22.4	23.9	24.2
27°C	8.9	19.6	29.6	33.6	44.0	45.8
32°C	6.2	12.1	16.3	19.8	20.1	21.3
CEPA 2						
20°C	6.9	17.8	21.0	23.0	24.3	25.1
27°C	8.7	19.3	23.8	24.6	26.0	27.8
32°C	5.2	8.3	13.4	16.5	17.1	20.1



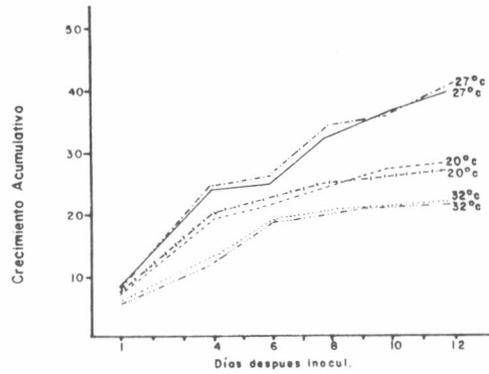
Dos cepas de S. insectorum en SMAE a 20°C-27°C-32°C.



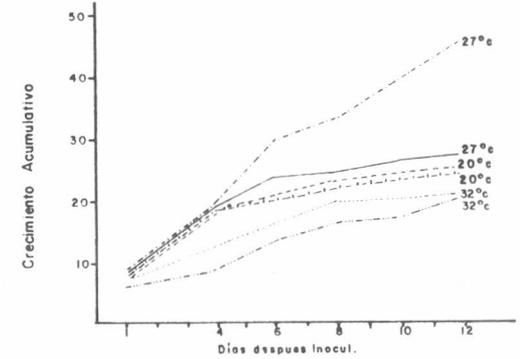
Dos cepas de S. insectorum en SDA a 20°C-27°C-32°C.



Dos cepas de S. insectorum en PANVIT a 20°C-27°C-32°C.



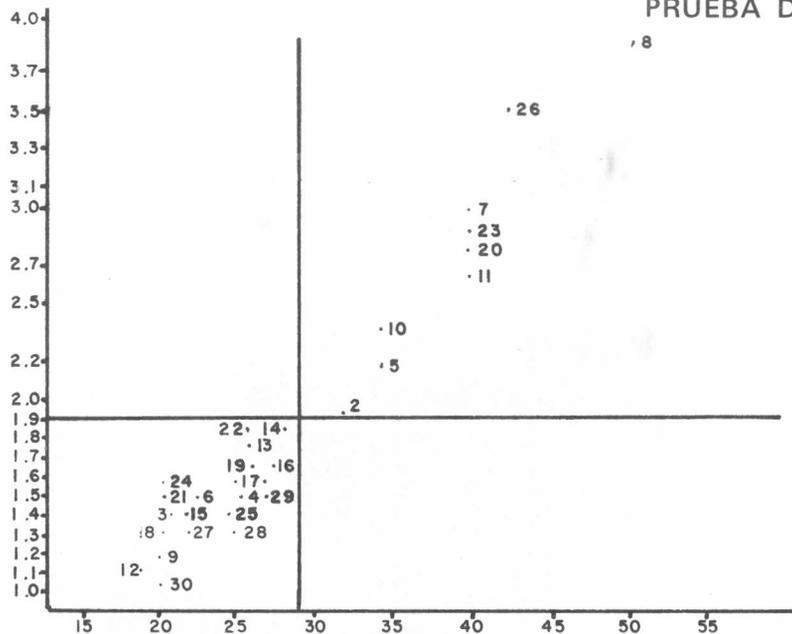
Dos cepas de S. insectorum en SALES a 20°C-27°C-32°C.



Dos cepas de S. insectorum en 5467 a 20°C-27°C-32°C.

Figura 1 Crecimiento radial promedio acumulativo (mm) de dos cepas de S. insectorum a tres temperaturas en cinco medios de cultivo.

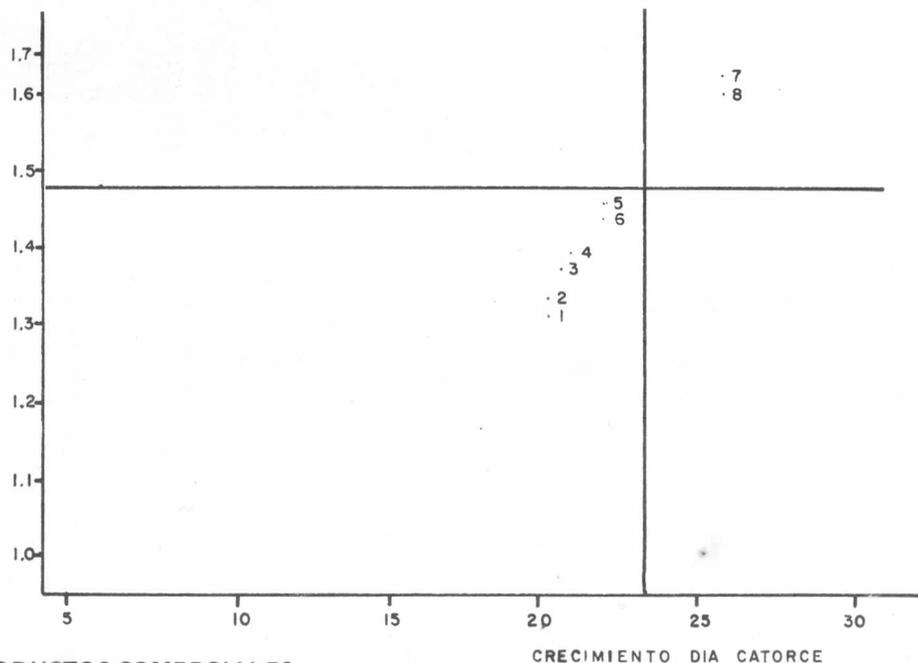
PRUEBA DE LOS CUADRANTES



CONVENCIONES: A

1 = SMAE	C ₁	20°C	11 = SDA	C ₂	27°C	21 = SALES	C ₁	32°C
2 = SMAE	C ₁	27°C	12 = SDA	C ₂	32°C	22 = SALES	C ₂	20°C
3 = SMAE	C ₁	32°C	13 = PANVIT	C ₁	20°C	23 = SALES	C ₂	27°C
4 = SMAE	C ₂	20°C	14 = PANVIT	C ₁	27°C	24 = SALES	C ₂	32°C
5 = SMAE	C ₂	27°C	15 = PANVIT	C ₁	32°C	25 = 5467	C ₁	20°C
6 = SMAE	C ₂	32°C	16 = PANVIT	C ₂	20°C	26 = 5467	C ₁	27°C
7 = SDA	C ₁	20°C	17 = PANVIT	C ₂	27°C	27 = 5467	C ₁	32°C
8 = SDA	C ₁	27°C	18 = PANVIT	C ₂	32°C	28 = 5467	C ₂	20°C
9 = SDA	C ₁	32°C	19 = SALES	C ₁	20°C	29 = 5467	C ₂	27°C
10 = SDA	C ₂	20°C	20 = SALES	C ₁	27°C	30 = 5467	C ₂	32°C

A- MEDIOS DE CULTIVO CRECIMIENTO DIA DOCE



CONVENCIONES: B

1 = C ₁	DITHANE	M-45
2 = C ₂	DITHANE	M-45
3 = C ₁	DIMECRON	
4 = C ₂	DIMECRON	
5 = C ₁	UNDEN	
6 = C ₂	UNDEN	
7 = C ₁	5467	
8 = C ₂	5467	

B- PRODUCTOS COMERCIALES

Figura 2. Distribución de los tratamientos de acuerdo al crecimiento doce días después de la Siembra y la tasa de crecimiento/día.

TABLA No. 2. Modelos de crecimiento para dos cepas de *S. insectorum* en cinco medios.

Medio	Cepa	T°C	Modelo de Crecimiento	Rc	Rt
M ₁ : SMAE	C ₁	20°C	Cre:18.93+1.63(D-6)	0.90*	Rt0.05=0811 Rt0.01=0917
		27°C	Cre:21.77+1.94(D-6)	0.93**	
		32°C	Cre:13.77+1.40(D-6)	0.98**	
	C ₂	20°C	Cre:18.60+1.59(D-6)	0.90*	
		27°C	Cre:27.77+2.19(D-6)	0.95**	
		32°C	Cre:15.78+1.58(D-6)	0.95**	
M ₂ : SDA	C ₁	20°C	Cre:21.72+3.02(D-6)	0.98**	
		27°C	Cre:20.78+3.02(D-6)	0.96**	
		32°C	Cre:12.82+1.28(D-6)	0.98**	
	C ₂	20°C	Cre:19.68+2.34(D-6)	0.99**	
		27°C	Cre:22.37+2.65(D-6)	0.98**	
		32°C	Cre:11.46+1.13(D-6)	0.97**	
M ₃ : PANVIT	C ₁	20°C	Cre:17.14+1.79(D-6)	0.97**	
		27°C	Cre:19.35+1.82(D-6)	0.94**	
		32°C	Cre:13.99+1.43(D-6)	0.97**	
	C ₂	20°C	Cre:16.06+1.61(D-6)	0.98**	
		27°C	Cre:18.45+1.55(D-6)	0.92**	
		32°C	Cre:12.85+1.36(D-6)	0.99**	
M ₄ : SALES	C ₁	20°C	Cre:19.64+1.67(D-6)	0.91**	
		27°C	Cre:25.57+2.79(D-6)	0.96**	
		32°C	Cre:15.45+1.49(D-6)	0.93**	
	C ₂	20°C	Cre:19.42+1.84(D-6)	0.94**	
		27°C	Cre:26.06+2.80(D-6)	0.97**	
		32°C	Cre:14.90+1.48(D-6)	0.92**	
M ₅ : 5467	C ₁	20°C	Cre:16.60+1.43(D-6)	0.88*	
		27°C	Cre:27.32+3.50(D-6)	0.99**	
		32°C	Cre:14.83+1.40(D-6)	0.96**	
	C ₂	20°C	Cre:18.33+1.54(D-6)	0.91**	
		27°C	Cre:20.40+1.60(D-6)	0.92**	
		32°C	Cre:12.28+1.39(D-6)	0.98**	

** : Altamente significativo

* : Significativo al 5%

10^6 , 10^7 y 10^8 conidias/ml de *S. insectorum* causaron mortalidades entre 71.1% y 73.5% respectivamente, en adultos de *L. gibbicarina* (Tabla No. 4). La respuesta favorable de *S. insectorum* sobre *L. gibbicarina*, en concentraciones de 10^6 , 10^7 y 10^8 conidias/ml de solución micelial, se debe a que los factores aleatorios fueron totalmente controlados en el laboratorio y en las bandejas y, por ello, no se observan diferencias significativas entre las mortalidades a estas concentraciones.

Las pruebas de patogenicidad en campo indicaron que aplicaciones de 10^8 y 10^7 conidias/ml de *S. insectorum* causaron mortalidades hasta del 73% en adultos de *L. gibbicarina* (Tabla No. 5), observándose diferencias significativas con respecto al testigo. Aplicaciones entre 10^6 y 10^5 conidias/ml de *S. insectorum* causan mortalidades casi cercanas al 50%.

A pesar de que el hongo no se evaluó sobre estados ninfales de *L. gibbicarina*, las observaciones de campo indican que, también, afecta este estado y que, usando concentraciones más altas del hongo, se podrían lograr porcentajes de mortalidad superiores al 73% (Figura No. 3).

De todos los sustratos evaluados para la multiplicación masiva, el salvado de trigo fue el que presentó menor costo y el que propició mayor producción de esporas. *S. insectorum* tardó doce días en invadir totalmente el salvado de trigo a temperaturas de 24°C y 27°C. Durante este período, el hongo creció en todo el sustrato, formando una masa micelial blanca. Para la obtención de esporas, en aplicaciones de campo, esta masa micelial fue retirada de los frascos y colocada en agua en proporción de 1 kg de sustrato, cubierto por la masa fungosa, para quince litros de agua. Esta mezcla se colocó, posteriormente, en un cedazo. La concentración final de la misma quedó por encima de 10^7 (diez millones) conidias/ml. cuando se detectó la presencia de la chinche, en días de escasa lluvia se hicieron aplicaciones de la mezcla, evitando utilizar aspersoras usadas en algún producto químico comercial en ocasión anterior.

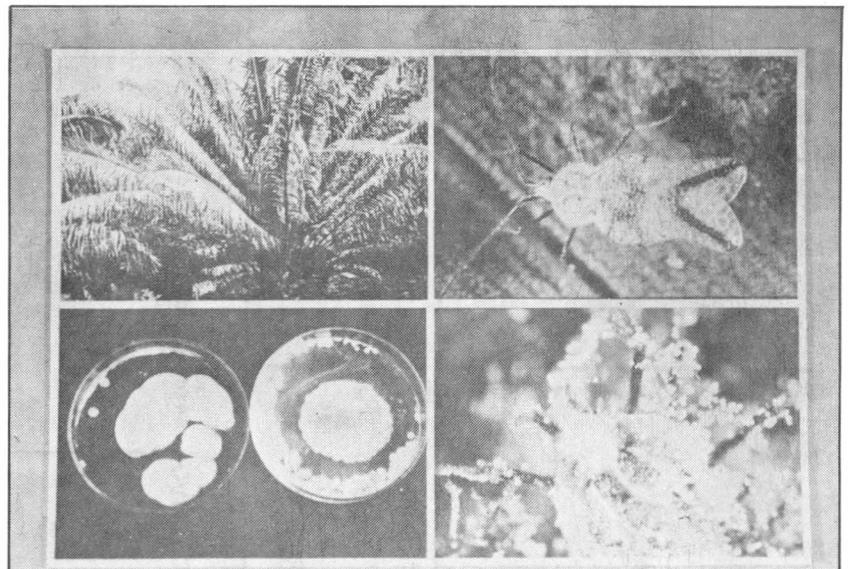


Figura 3. Secuencia del Complejo *Pestalotiopsis* sp.—*Leptopharsa gibbicarina* y parasitismo por *Sporothrix insectorum*. Sup. Izqda. *Elaeis guineensis*, j. atacado por *Pestalotiopsis* sp. Foto: Philippe Genty. Sup. Derch. Adulto de *Leptopharsa gibbicarina* vector indirecto del Añublo Foliar. Foto: Philippe Genty. Inf. Izqda. Hongo entomopatógeno *Sporothrix insectorum*. Foto: Manolin Avila. Inf. Derch. Adulto de *Leptopharsa gibbicarina* parasitado por *Sporothrix insectorum* Foto: Philippe Genty. Collage Foto: Luis Fdo. García A.

TABLA No. 3. Modelos de crecimiento expresados en significado biológico para *S. insectorum*.

Comparaciones	V/r. de Tc (+)	Significados biológicos
SMAE C ₁ a 27°C vs.	0.50 n.s.	Las dos cepas se comportan de manera similar a 27°C en SMAE.
SMAE C ₁ a 27°C vs. SDA C ₁ a 27°C	2.93*	La cepa uno reduce su velocidad de crecimiento de manera significativa, cuando se cambia de SMAE a SDA.
SMAE C ₁ a 27°C vs. SDA C ₂ a 27°C	1.63 n.s.	A 27°C, las dos cepas se comportan de manera similar en su tasa de crecimiento, ya sea que se siembren en SMAE o SDA.
SMAE C ₁ a 27°C vs. SALES C ₁ a 27°C	1.59 n.s.	Las dos cepas de <i>S. insectorum</i> no presentan diferencias significativas en su tasa y velocidad de crecimiento, cuando se ven sometidas a temperatura de 27°C en SMAE y SALES.
SMAE C ₁ a 27°C vs. 5467 C ₁ a 27°C	3.53**	La cepa uno, cuando se cambia de SMAE a 5467, incrementa sustancialmente su desarrollo radial.
SMAE C ₂ a 27°C vs. SDA C ₁ a 27°C vs. SMAE C ₂ a 27°C vs. SALES C ₁ a 27°C SMAE C ₂ a 27°C vs. 5467 C ₁ a 27°C	2.65** 3.19*	Para una temperatura de 27°C, el crecimiento de las dos cepas de <i>Sporothrix insectorum</i> está asociado directamente con el medio en el cual se siembran. Esto nos indica que el hongo presenta requerimientos con respecto a la nutrición en el medio de cultivo.
SDA C ₁ a 20°C vs. SDA C ₁ a 27°C SDA C ₁ a 20°C vs. SDA C ₂ a 20°C	1.40 n.s.	Las dos cepas presentan un comportamiento similar en su velocidad de crecimiento al ser sembradas en SDA bajo temperaturas de 20°C y 27°C.
SDA C ₁ a 20°C vs. 5467 C ₁ a 27°C	4.28*	Un cambio de medio (SDA a 5467) y un aumento de la temperatura (20°C a 27°C) reduce significativamente la velocidad y la tasa de crecimiento de la cepa uno.
SDA C ₁ a 27°C vs. SDA C ₂ a 20°C	2.75*	Para un cambio de temperatura (20°C a 27°C), el crecimiento de las cepas uno y dos se hace significativo, sembrándolas en el medio de cultivo SDA.
SDA C ₁ a 27°C vs. SDA C ₂ a 27°C SALES C ₁ a 27°C vs. SALES C ₂ a 27°C	2.07 n.s. 1.08 n.s.	Las cepas uno y dos de <i>Sporothrix insectorum</i> , sembradas en los medios de cultivo SDA, SALES y 5467, se comportan de manera similar en su velocidad y tasa de crecimiento, cuando se las somete a temperaturas de 20°C y 27°C.
SDA C ₁ a 27°C vs. 5467 C ₁ a 27°C	0.63 n.s.	Expuestas a una temperatura de 27°C, las dos cepas de <i>Sporothrix insectorum</i> , sembradas en los medios de cultivo SALES y 5467, muestran velocidad y tasa de crecimiento muy similares. La ausencia de diferencias significativas en este punto de comparación, nos indica que el hongo se desarrolla normalmente a 27°C, si se siembra en medios de cultivo con la nutrición adecuada.
SDA C ₂ a 20°C vs. SDA C ₂ a 27°C	0.38 n.s.	
SDA C ₂ a 20°C vs. SALES C ₂ a 27°C	0.73 n.s.	
SALES C ₁ a 27°C vs. SALES C ₂ a 27°C	0.020 n.s.	
SALES C ₁ a 27°C vs. 5467 C ₁ a 27°C	1.55 n.s.	

(+) El valor de Tc se comparó con los valores de Tt (4 gl): a niveles de significancia del 5% (2.306)* y del 1% (3.355)**.

n.s. Diferencia no significativa entre las tasas de crecimiento del hongo bajo las tres temperaturas comparadas.

Una práctica favorable fue eliminar las plantas de *Bactris maraja* de las zonas cercanas a las parcelas tratadas, ya que es considerada huésped de la chinche.

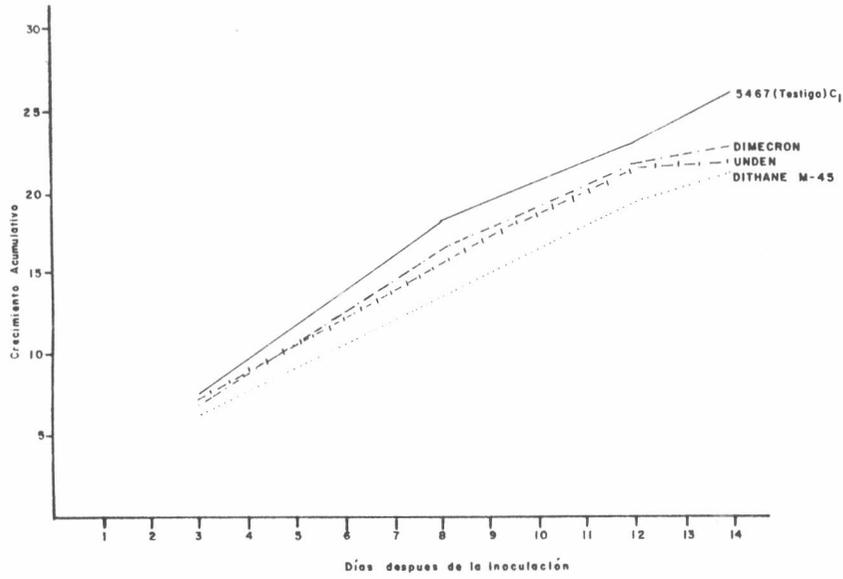
El efecto de *S. insectorum* sobre la chinche de encaje, se verificó hasta la segunda generación de los tñgidos (30 - 50 días después de la aspersión), pues se observó la presencia de ninfas y adultos muertos fijados en el envés de las hojas.

Los resultados de la influencia de los productos comerciales sobre el crecimiento radial de las colonias de *S. insectorum* a tres temperaturas se presentan en la Tabla No. 6, tomados a los 3, 8, 12 y 14 días después de la siembra, con su respectiva tendencia de crecimiento (Figura No. 4). Finalmente, se tomó el crecimiento radial al décimo cuarto día (x) con la velocidad de crecimiento por día (y); sin embargo, los coeficientes de regresión indicaron que las comparaciones biológicas no eran significativas. Aplicando sobre los tratamientos la prueba de los cuadrantes, se observó que, únicamente, los testigos se encontraron ubicados en el cuadrante I (Figura No. 2B), lo cual permitió concluir que, en condiciones de laboratorio, MANCOZEB, FOSFAMIDON y PROPOXOR inhiben el crecimiento radial de *S. insectorum* en condiciones de laboratorio.

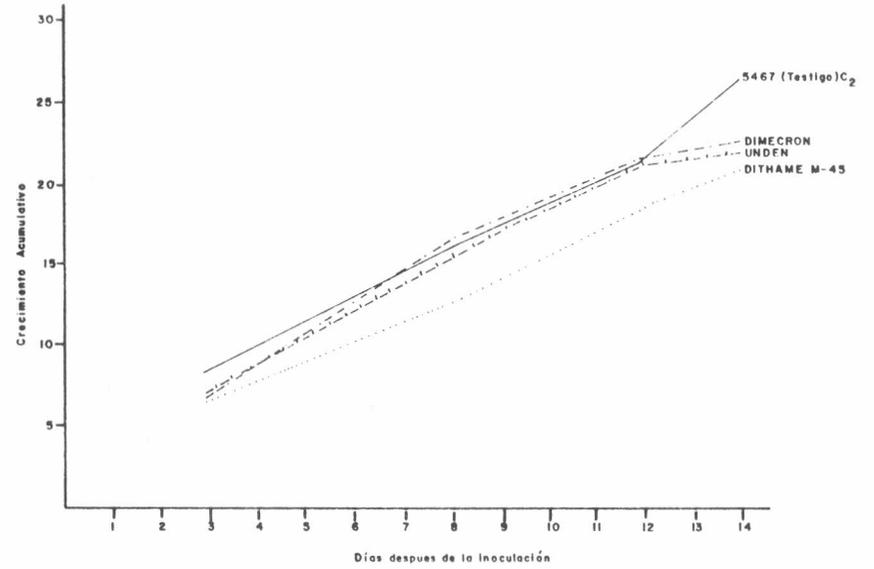
Debido a que este ensayo no se evaluó en el campo, se carece de punto de comparación que permita concluir si el comportamiento observado en laboratorio se mantiene en condiciones ambientales.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Las dos cepas de *S. insectorum* presentan buen crecimiento radial (entre 24.2 mm y 51.3 mm al décimo segundo día), a 27°C y 20°C en Sabouraud-dextrosa-agar, Sabouraud-maltosa-agar más 1% de extracto de lavadura; medio enriquecido con Sales y Medio para entomopatógenos 5467 Merck, exceptuando para Papa-dextrosa-agar más Panvit (entre 24.3 y 27.8 mm al décimo segundo día). En todos los medios, el hongo dismi-



Cepa uno a 20°C-27°C-32°C.



Cepa dos a 20°C-27°C-32°C.

Figura 4. Crecimiento acumulativo en m.m. de S. insectorum sembrado en 5467 con productos químicos a 1/10 de sus dosis comerciales.

TABLA No. 4. Mortalidad de *L. gibbicularina* en folíolos de palma africana con dos cepas de *S. insectorum* en laboratorio.

CONIDIAS/ml de <i>S. INSECTORUM</i>	% MORTALIDAD 14-19 Jun/88	% MORTALIDAD 20-25 Jun/88	No. de ADULTOS POR BANDEJA
CEPA 1			
10 ⁶	72.2 a ^{1/}	72.0 a ^{1/}	25
10 ⁷	73.4 a	72.9 a	25
10 ⁸	73.5 a	73.0 a	25
TESTIGO	1.1 b	1.3 b	25
CEPA 2			
10 ⁶	71.1 a	71.4 a	25
10 ⁷	72.0 a	72.0 a	25
10 ⁸	72.9 a	72.9 a	25
TESTIGO	1.3 b	1.2 b	25

1/ Los tratamientos de la misma letra no son significativamente diferentes (P: 0.05) de acuerdo con la nueva prueba de intervalos múltiples de DUNCAN.

TABLA No. 5. Mortalidad de *L. gibbicularina* en folíolos de palma africana con dos cepas de *S. insectorum* bajo campo.

CONIDIAS/ml de <i>S. INSECTORUM</i>	% MORTALIDAD 23-28 Mayo/88	% MORTALIDAD 7-12 Jun/88	No. de ADULTOS POR JAULA
CEPA 1			
10 ⁵	43.2 b ^{1/}	45.3 b ^{1/}	100
10 ⁶	48.5 b	49.1 b	100
10 ⁷	71.0 a	71.3 a	100
10 ⁸	72.0 a	72.9 a	100
TESTIGO	1.2 c	1.3 c	100
CEPA 2			
10 ⁵	42.3 b	42.4 b	100
10 ⁶	47.0 b	47.3 b	100
10 ⁷	70.0 a	70.1 a	100
10 ⁸	71.7 a	71.4 a	100
TESTIGO	2.1 c	2.5 c	100

1/ Los tratamientos seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P: 0.05) de acuerdo con la nueva prueba de intervalos múltiples de DUNCAN.

TABLA No. 6. Crecimiento acumulativo en mm. de *S. insectorum* con productos químicos a 1/10.

Producto Comercial	Días después de la inoculación			
	3	8	12	14
CEPA 1				
DITHANE M-45	6.7	13.8	19.40	21.30
DIMECRON	7.3	16.3	22.00	23.00
UNDEN	7.1	15.9	21.80	22.00
5467 TESTIGO	7.9	18.4	23.60	26.40
CEPA 2				
DITHANE M-45	6.3	12.9	18.6	21.00
DIMECRON	6.9	16.8	21.9	22.80
UNDEN	7.0	15.8	21.6	22.10
5467 TESTIGO	8.3	16.4	21.76	26.60

nuye significativamente su tasa de crecimiento a temperaturas superiores a 27°C.

- La velocidad y tasa de crecimiento del hongo, para las dos cepas, está en relación directa con los nutrientes del medio.
- La cepa de *S. insectorum* proveniente de *L. heveae* mostró mejor desarrollo y acción patogénica que la cepa existente en la colección de INDUPALMA S.A. (9 meses), aislada del mismo insecto en Brasil, por lo cual se asume que, en el medio, perdió virulencia.
- El desarrollo uniforme del hongo en un medio de cultivo permite disponer del material del inóculo y programar adecuadamente los tratamientos en el campo.
- La presencia de algunos productos comerciales (MACOZEB, PHOSPHAMIDON, UNDEN) inhibe la velocidad y tasa de crecimiento del hongo en relación con el testigo.
- El mejor medio de multiplicación masiva es el salvado de trigo, el cual es el más económico y más fácil de preparar.
- Bajo condiciones de laboratorio, a las 96 horas del tratamiento, *S. insectorum* en *L. gibbicularina* causa mortalidades por micosis del 73,5 y 73,4 y 72,2% a concentraciones de 10⁸, 10⁷ y 10⁶ conidias/ml del hongo, respectivamente, en comparación con el testigo que es de 1,3%. En pruebas de campo, la mortalidad por micosis es de 72,9; 71,3; 49,1 y 45,3% con dosis de 10⁸ y 10⁷, 10⁶, 10⁵, esporas/ml a las 120 horas, respectivamente, en el testigo, se obtuvo 25%.
- En condiciones de campo y de laboratorio, el hongo afecta tanto los estados adultos como los ninfales de *L. gibbicularina*.
- Teniendo en cuenta el porcentaje de mortalidad obtenido en el campo con dosis de 10⁸ y 10⁷, se con-

sidera que *S. insectorum* es un agente microbial con gran potencial de uso para la palma africana de aceite en Colombia, pues éstos resultados constituyen el primer registro y justifican incrementar los estudios en este campo.

10. A dosis de 10^6 se obtiene un 49.1% de control, lo cual se considera de utilidad, si se tiene en cuenta que en el control integrado de la chinche debe intervenir otros auxiliares.

BIBLIOGRAFIA

1. BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. 1972. *Illustrated genera of imperfect fungi*. Burgess, Public. Co., Minneapolis, 214p.
2. CELESTINO FILHO, P.; MAGALHAES, F.E.L. 1986. Ocurrencia de fungo *Sporothrix insectorum* (HOOG y EVANS) parasitando a mosca-de-renda (*Leptopharsa heveae*, DRAKE y POOR) en seringal de cultivo. EMBRAPA - CNPSD., Pesquisa en andamento, 42. Manaus, A.M., Brasil.
3. DIFCO. 1977. *Difco manual of dehydrated culture media and reagents for microbiological and clinical laboratory procedures*. 9a. ed., Difco Laboratories Inc., Detroit, Michigan, 350p.
4. GARCIA, R. 1976. Nueva plaga de la palma africana *Elaeis guineensis* Jacq. en Colombia, un Hemíptero Tingidae *Gargaphia* sp. y asociación con *Pestalotiopsis* sp. y otros hongos foliares. 1-34p.
5. GENTY, P. 1975. Problemas entomológicos de *Elaeis guineensis* Jacq. en América Latina. 12p. (Mimeografiado).
6. -----, et al. 1975. Daños y control del complejo *Leptopharsa-Pestalotiopsis* en palma africana. *Oléagineux*, Francia. Vol. 30 No. 3. 199-204p.
7. -----, et. al. 1975. Daños de *Pestalotiopsis* consecutivos a unos ataques de *Gargaphia* sp. en Colombia. *Oléagineux*, Francia Vol. 30 No. 5, 119-204p.
8. JUNQUERIA, N. et al. 1987. Isolamento e cultivo do fungo *Sporothrix insectorum* (HOOG y EVANS) a ser utilizado para o controle da mosca-de-renda da seringueira. Comunicado Técnico, EMBRAPA- CNPSD. Número 56. Manaus, A.M., Brasil, 1-4p.
9. JUNQUERIA, N., et al. 1988. Controle biológico da mosca-de-renda (*Leptopharsa heveae*) en seringal de cultivo no estado do Amazonas. En: *Memories Primer Simposio Nacional de Controle Biológico de Pragas e Vetores*. SICONBIOL, Rio de Janeiro., R.J. Noviembre 1988, 159 p.
10. ORDOÑEZ, A.I. 1988. Evaluación de la patogenicidad del hongo *Sporothrix insectorum* (HOOG y EVANS) sobre la chinche de encaje *Leptopharsa gibbicarina* (FROESCHNER) en palma africana. Tesis de Grado, Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Palmira, Septiembre 1988. 85p.
11. RODRIGUEZ, D.A. 1984. Hongos entomopatógenos. En: *Seminario sobre Patología de insectos*. Sociedad Colombiana de Entomología. SOCOLEN. Seccional Medellín. Myo 1984. 157p.
12. STEEL, R.G.D.; J.A. TORRES, 1985. *Bioestadística. Principios y procedimientos*. Segunda Edición. Mc. Graw-Hill. Inc. 250-251p.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus más sinceros agradecimientos al Dr. Nilton Junqueira de EMBRAPA (Brazil), por facilitar la cepa y la información sobre *S. Insectorum*.

A las doctoras Alba Rodríguez, del ICA (Tibaitatá) y Marina Sánchez de Prager, de la Universidad Nacional, Facultad de Agronomía (Palmira), por su trabajo de codirección, colaboración y constante apoyo.

Al Dr. Germán Valenzuela, de BAYER S.A. (Colombia) por sus valiosas sugerencias en la realización de este estudio.

Al Dr. Edgar Restrepo y todo el personal de Palmas Oleaginosas BUCARELIA S.A. (Colombia).

Al Dr. Hernando Pabón y todo el personal de PALMERAS DE LA COSTA S.A. (Colombia), por su colaboración en la transcripción de los resultados.

A mi amigo Hernando Patiño Cruz (q.e.p.d.) por haberme introducido al maravilloso mundo de los Artrópodos.

A SOCOLEN por su constante interés en los resultados de la investigación.

Al Sr. Luis Fernando García, por su trabajo de fotografía y a la señorita Esperanza Sánchez, por su colaboración en el trabajo de mecanografía.

AISLAMIENTO, IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION DE UN VIRUS EN LARVAS

DE *Euprosterina elaeasa* Dyar. (Lepidoptera: Limacodidae)

Jorge Pedraza V.¹
Emilio Luque Z.²
Pedro Nel Franco B.³

RESUMEN

De larvas *Euprosterina elaeasa* Dyar, con síntomas de una infección bacteriana y/o viral, recolectadas en la plantación de Palmas Oleaginosas Bucarelia S.A." (Puerto Wilches, Colombia), se efectuó un estudio bacteriológico y virológico de los agentes causantes de dichos síntomas.

En el caso de infección bacteriana, se aislaron los gérmenes *Serratia marcescens* Bizio y *Bacillus subtilis* Cohn, los cuales se caracterizaron e identificaron mediante observaciones macroscópicas y la realización de pruebas bioquímicas.

Por primera vez en Colombia, se aisló un Virus de la Poliedrosis Nuclear de tipo Múltiple (M V P N) en *E. elaeasa*, mediante ultracentrifugación en gradientes de sacarosa y se identificó por microscopía electrónica y electroforesis. Así mismo, se realizó una secuencia general de la infección a nivel histopatológico.

Para probar la patogenicidad del virus aislado, se realizó un bioensayo con larvas de III, IV y V instar de *E. elaeasa*, las cuales se inocularon con 6 concentraciones del virus. Con los porcentajes de mortalidad obtenidos, se realizó un análisis de regresión por el méto-

do "probit" y se calculó la dosis letal media (DL50), obteniéndose un valor de 1,24 pol/mm² y 13,49 pol/mm², para larvas de IV y V instar, respectivamente.

Se confirmó la patogenicidad del virus y se concluye que, a medida que aumenta el instar larval, se requiere de un DL 50 mayor.

SUMMARY

The present study was carried out in *Euprosterina elaeasa* Dyar larvae with symptoms of a bacterial and/or virus infection, collected at the plantation of "Palmas Oleaginosas Bucarelia S.A." located in Puerto Wilches, Colombia. The bacteria and virus responsible of the symptoms were identified.

In the case of a bacterial infection, *Serratia marcescens* Bizio and *Bacillus subtilis* Cohn, were isolated and characterized by macroscopic and microscopic observations and biochemical tests.

For the first time in Colombia, a Multiple Nucleopolyhedrosis Virus (M N P V) were isolated of *E. elaeasa* by ultracentrifugation in saccharose gradients and identified by electronic microscopy and electrophoresis. A general sequence of the infection at a histologic level was performed.

To test the pathogenicity of the isolated virus a bioassay was carried out with larvae of the III, IV and V instar inoculated with 6 different concentrations of the M N P V. The Lethal Dose (DL50) was calculated by the "Probit analysis" obtaining 1,24

pol/mm² and 13,49 pol/mm² DL 50 for the larvae in the IV and V instar, respectively.

The pathogenicity of the virus is confirmed. It is concluded that as the instar larvae increases a higher LD 50 is required.

INTRODUCCION

En Colombia, el cultivo de Palma Africana de Aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) ha sido el principal motor de desarrollo económico y social de la agricultura en amplias regiones del país que, antes se consideraban como fronteras agrícolas.

Entre las plagas más importantes que afectan este cultivo, se encuentra *Euprosterina elaeasa* (Lepidoptera: Limacodidae), defoliador que ha causado grandes pérdidas económicas en varias plantaciones colombianas, particularmente en la región del Magdalena Medio. En esta área, influida por el cultivo de Palma Africana de Aceite, se han detectado, en larvas de *E. elaeasa*, síntomas de infecciones de tipo bacteriana y/o viral, que hacen parte del control biológico natural de este insecto.

Con el fin de determinar estas causas y orientarlas hacia el manejo y regulación de las poblaciones de esta plaga, se realizó un estudio, cuyos objetivos principales fueron aislar e identificar los agentes causantes de dichos síntomas, seleccionar el ó los patógenos que presentaran la posibilidad de incorporarlos a programas de control biológico, realizando una evaluación preliminar de su efectividad en larvas de *E. elaeasa* en condiciones de laboratorio.

¹ Anteriormente, estudiante de la Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

² Profesor Asistente. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, A.A. 14490.

³ Ingeniero Agrónomo, División de Sanidad Vegetal, Palmas Oleaginosas. Bucarelia, A.A. 050364.

REVISION DE LITERATURA

El control microbiológico es, actualmente, uno de los métodos de control de plagas más promisorio, debido a los adelantos alcanzados en la producción masiva de patógenos de insectos, entre los cuales, los virus ocupan un lugar prominente y, entre estos, los del género Baculovirus han sido la causa predominante de enfermedades en lepidópteros, razón por la cual son considerados componentes ideales para programas de manejo y regulación de las poblaciones de plagas.

Entre las características que ofrece el control de plagas por medio de estos virus, está su protección al ambiente, la especificidad que los hace inócuos para insectos benéficos y vertebrados, incluyendo al hombre.

Otras consideraciones importantes son que los virus presentan una alternativa para disminuir el uso de insecticidas químicos, son muy efectivos, selectivos y seguros y tienen una relativa facilidad de producción y alta capacidad de distribución y son almacenables por largos períodos de tiempo y los insectos no crean resistencia. Actualmente, muchas organizaciones relacionadas con agricultura han aceptado estos agentes de control como una de las mejores soluciones a los problemas de insectos plagas y un componente importante de las estrategias de manejo de las mismas (World Health Organization, 1973).

Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN)

— Morfología del Poliedro

Las especies de virus que pertenecen al género Baculovirus, aislados de los insectos y causales de la poliedrosis nuclear, se caracterizan por la formación de una estructura proteínica cristalina, llamada poliedro o cuerpo de inclusión y se localizan dentro del núcleo de las células infectadas. Estos cuerpos y su característica localización dentro de las células dan a este grupo su nombre. (Harrap, 1972a, 1972b).

Los cuerpos de inclusión difieren en forma y tamaño (aproximadamente

0,5 a 10 μm de diámetro) y, generalmente, dentro de un mismo insecto hospedante tiene una forma característica, sin embargo, se pueden ver, entre los poliedros de un insecto enfermo, varias formas (Harrap, 1972a; Tinsley y Harrap, 1978).

— Morfología del Virion

El Virion o partícula viral es baciliforme y de tamaño variable, pudiendo medir 200 a 400 nm de largo por 40 a 110 nm de ancho y contiene una membrana o envoltura. Morfológicamente, se pueden distinguir dos tipos de virus, según la cantidad de viriones envueltos y contenidos dentro del poliedro a saber: SNPV (simple), que posee un solo virion por envoltura y MNPV (Múltiple), que puede contener varias partículas virales por envoltura (Matthews, 1982).

— Composición Química

El poliedro está conformado por una proteína cristalina, con peso molecular de $25 \times 33 \times 10^3$ daltons y esta proteína única se la denomina poliedrina. (Matthews, 1982). Los viriones son estructuralmente complejos y están constituidos, por lo menos, de 10 a 25 proteínas con peso molecular de $10 \times 160 \times 10^3$ daltons, aproximadamente (Harrap et al., 1977; Summers y Smith, 1978; Matthews, 1982).

— Propiedades Físicas y Químicas

Los cuerpos poliédricos, asociados con estos virus, son notablemente resistentes al ataque de varios productos químicos, son insolubles en agua, alcohol, éter, cloroformo o acetona, pero solubles en NaOH, NH_3 , H_2SO_4 , Na_2CO_3 . Esta última sustancia, en diferentes concentraciones, se usa para remover las partículas virales del poliedro. Soluciones ácidas o bases fuertes disuelven la proteína del poliedro; y, además, son resistentes a tinciones biológicas, a menos que se traten previamente con un ácido débil. (Burges y Hussey, 1981).

— Propiedades Biológicas

Los Virus de la Poliedrosis Nuclear han

sido aislados de insectos que pertenecen a los órdenes Lepidoptera, Hymenoptera, Diptera, Orthoptera, Neuroptera, Coleoptera y Trichoptera, además, de ácaros y crustáceos. (Martignoni e Iwai, 1981).

Smith, 1976, reportado por Jiménez, 1980, anota, acerca de la poliedrosis nuclear, que el período de incubación puede durar de una a tres semanas y, en gran parte de este período, las larvas pueden no mostrar síntomas. Como regla general, en los estados tempranos de la infección, las larvas "vomitan" y rehusan comer. El primer síntoma externo definido puede notarse en la coloración del tegumento, el cual se torna excesivamente frágil hasta romperse, liberando millones de poliedros. Este rompimiento y la subsiguiente liberación del contenido del cuerpo son características de la poliedrosis nuclear y la granulosis y estas enfermedades se diferencian de la poliedrosis citoplasmática, porque en ésta no se presenta ruptura del tegumento.

Burges y Hussey (1981) anotan que en larvas infectadas con VPN y VG, el tegumento, generalmente, cambia de color y el insecto comienza a ponerse flácido y frágil y la larva, en estado avanzado de enfermedad, puede colgarse en una posición invertida. A la muerte de la larva, frecuentemente su tegumento se rompe y libera la masa de cuerpos de inclusión.

— Propagación a Nivel Histológico

Varios estudios han demostrado que, en insectos del orden Lepidoptera, un ciclo inicial de replicación del virus ocurre en el epitelio del intestino medio. Los viriones producidos en estos núcleos pasan a través de la base de la membrana del estómago e infectan la mayoría de los tejidos y los principales sitios son la matriz traqueal, el cuerpo graso y la epidermis. (Harrap y Robertson, 1968; Cunningham, 1971; Kawanishi y et al. 1972).

Un ciclo definitivo de replicación y ensamblaje ocurre en estos tejidos, luego de lo cual, los viriones son envueltos en una membrana y, posteriormente,

ocluidos dentro de una proteína cristalina, conocida como poliedro. Las inclusiones o poliedros son fácilmente detectables en el núcleo de las células infectadas y presentan una citopatología que es característica de las infecciones iniciadas por virus de este género. (Harrap. 1972b; Knudson y Harrap, 1976).

El poliedro representa la forma natural por medio de la cual la infección del virus es transmitida a los insectos. Cuando las larvas ingieren alimento contaminado con poliedros, el medio alcalino y la actividad enzimática asociada con el intestino de la larva, solubiliza la proteína del poliedro, liberando los viriones, iniciándose la infección (Harrap. 1972b; Knudson y Harrap, 1976).

La secuencia de los eventos comienza con la hipertrofia del núcleo y la condensación de la cromatina (Virogenic Stroma). Posteriormente, se presenta, en el núcleo, un aumento en las estructuras granulosas y se inicia la formación de viriones, simultáneamente con la incorporación de éstos a los poliedros, y se incrementa la cantidad y tamaño de éstos. (Knudson y Harrap, 1976).

MATERIALES Y METODOS

La investigación se realizó en los laboratorios de Biología de la Universidad Javeriana de Bogotá y de Bioquímica de la Facultad de Medicina, del Centro de Equipos Interfacultades "CEIF" de la Universidad Nacional de Colombia y en el Laboratorio de Entomología de la Empresa "Palmas Oleaginosas "Bucarelia, S.A.", Puerto Wilches (Santander, Colombia).

Aislamiento e Identificación de Bacterias

Los aislamientos se realizaron a partir de larvas con síntomas de bacteriosis (larvas de color café oscuro), procedentes de diferentes sitios de la región en estudio (Plantación de Bucarelia).

Los procedimientos y medios empleados para la identificación fueron los que, comúnmente, se utilizan en esta clase de investigación. La identifica-

ción se realizó de acuerdo con las características culturales y morfológicas a nivel microscópico, y, además, las pruebas bioquímicas.

Aislamiento e Identificación del Virus

Purificación de Poliedros.

Se recolectaron larvas con síntomas de virosis y, posteriormente, se maceraron durante cinco minutos, utilizando una solución buffer de fosfato 0,1 M, pH, 7,0. La suspensión resultante se filtró a través de cuatro capas de gasa y se le adicionó Na₃N, en concentración de 0,1%.

Posteriormente, se realizaron centrifugaciones diferenciales, para obtener los poliedros semipurificados. Estos poliedros fueron colocados en un gradiente de sacarosa (40-80% P/V) y centrifugados a 100000 x g, durante 45 minutos, utilizando un rotor SW-41 Ti.

La banda de poliedros, ubicada en la concentración del 55 al 65% del gradiente, fue recuperada y lavada con buffer. Los poliedros así purificados fueron congelados a -70°C y, posteriormente liofilizados. La técnica se basó en procedimientos descritos por Harrap y Longworth (1974), Beaton et al. (1975), Summer y Smith (1978), con algunas modificaciones en el pH, soluciones Buffer, gradientes, gravedades y tiempo de centrifugación.

Inclusión y Corte de Tejidos

Las larvas sanas de V y VI instar se alimentaron con folíolos de Palma asperjados con una suspensión, la cual contenía poliedros del virus a una concentración de 10⁹ Pol/ml y, después de cinco días, las larvas se disectaron y secciones de intestino, tegumento, tejido graso y tubos de Malpighi fueron procesados e incluidos para corte y observación al microscopio óptico y al electrónico.

Purificación de los componentes del Poliedro.

La proteína del poliedro, viriones y envolturas virales fueron removidas de los poliedros purificados, utilizando el método de Summers y Smith (1978), con algunas modificaciones.

ELECTROFORESIS DE PROTEINAS VIRALES

La electroforesis se realizó utilizando el método de Laemmli (1970), analizando la proteína del poliedro, los viriones y las envolturas virales. Los pesos moleculares se calcularon de acuerdo con el método descrito por Weber y Osborn (1969) y el gel se tiñó con nitrato de plata, utilizando el procedimiento descrito por Blum y et al. (1987).

Recuento de Poliedros

De la muestra de poliedros liofilizados se tomaron 25 mg que se suspendieron en agua destilada, para realizar el recuento en cámara de Neubauer de 0,1 mm de profundidad.

Prueba de Patogenicidad

Las larvas de *E. elaeasa* de III, IV y V instar fueron inoculadas con 6 concentraciones de Poliedros. Las dosis evaluadas fueron: 3000; 1000; 100; 10; 1; 0,1 y 0,0 (Testigo) pol/mm² de superficie de folíolo. Estos tratamientos fueron arreglados en un D.C.A. con un factorial de 3x7 (3 instares, 7 dosis). Las unidades experimentales constaron de 18 larvas y se realizaron 5 repeticiones por tratamiento.

A partir de la fecha de infección, se realizaron, cada 24 horas, lecturas de mortalidad por virus. Además, se tuvo en cuenta la sintomatología que las larvas inoculadas presentaban con relación a los tejidos.

Análisis Estadístico

Con los datos de mortalidad obtenidos en la prueba de patogenicidad, se realizó un análisis de regresión por el método "Probit", utilizando el paquete estadístico SAS.

RESULTADOS Y DISCUSION

Aislamiento e Identificación de Bacterias.

Las larvas con síntomas bacteriales se caracterizaron por la presencia de las bacterias *Serratia marcescens* Bizio (Eubacteriales: Enterobacteriaceae) y

Bacillus subtilis Cohn. (Eubacteriales: Bacillaceae), que son patógenas registradas como causantes de septicemias en humanos (Black y et al 1967; Dason, 1968), infecciones intestinales (Mc Cormack y Kuyrin, 1966), citados por Burges y Hussey (1971). Estas aseveraciones y el hecho de que afectan a algunos insectos benéficos (Godwin y Shields, 1982), constituyen inconvenientes para ser tenidas en cuenta como alternativa en el control de plagas.

Aislamiento e Identificación del virus.

La centrifugación en gradientes de sacarosa facilitó la separación de los poliedros de otros materiales contaminantes, como grasa, bacterias, residuos celulares y limos. (Figura 1). Estos poliedros, observados al microscopio óptico, presentaron forma irregular redondeada con diámetro entre 0,855 y 1,955 μm (Figura 2).

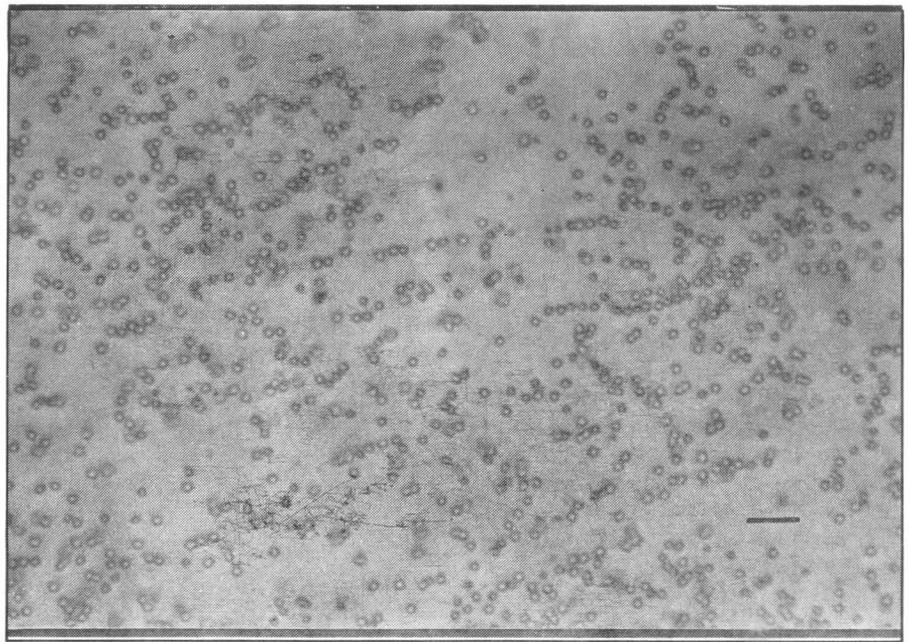


Figura 2. Microfotografía óptica de un frotis de Poliedros del VPN de *Euprosterina elaeasa*. Dyar. (3.250 X; Barra= 3.0 μm). Foto: CEIF).

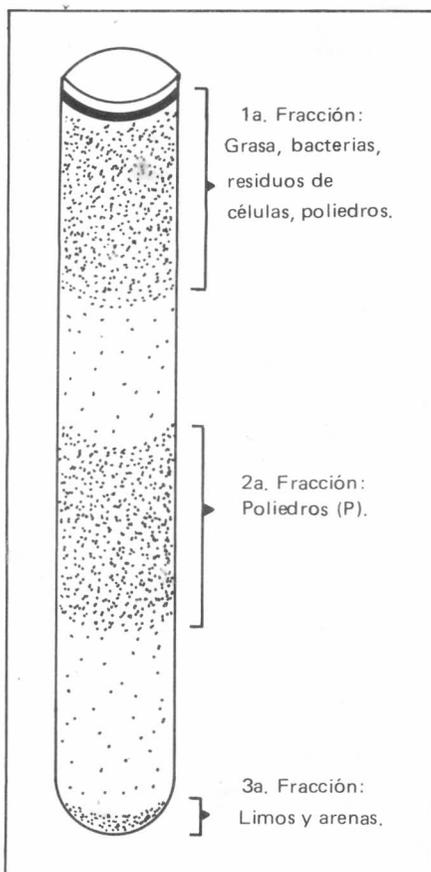


Figura 1. Esquema de las fracciones del gradiente de densidad de sacarosa (40-80% P/V). Centrifugado a 100.000 x g. por 45 min. en un rotor SW.-41 Ti.

Las observaciones de los cortes de tejido infectado mostraron en células del intestino, tejido graso, epidermis y tubos de Malpighi, hipertrofia del núcleo e inclusiones nucleares irregulares en forma y tamaño. Estas inclusiones son iguales a los poliedros purificados. La cantidad de poliedros encontrados por núcleo varió de 5 a 22. También, se observaron, dentro del núcleo, grandes espacios o vacuolas (1 o 2) sin ninguna estructura interna; este fenómeno es registrado por Hudson et al. (1979), quienes realizaron un estudio en larvas de *Anticarsia gemmatilis* (Hubner) y confirman la presencia de vacuolas dentro del núcleo de células infectadas con VPN y afirman que no fue posible encontrar registros previos de estas estructuras y su función es desconocida.

En las células que presentaron núcleos hipertrofiados, éstas alcanzaron tamaños hasta de 6 veces mayor que el núcleo de células normales. No todos estos núcleos contenían poliedros y algunos mostraron manchas oscuras en diferentes zonas del núcleo, debido, posiblemente, a la concentración de la cromatina (Virogenic Stroma). Este fenómeno, que prevee que la infección por los virus se ha desarrollado en insectos, es reportado, también, por Cunningham (1971).

Los cortes de los tubos de Malpighi observados al microscopio óptico presentan células con diferente grado de infección y células normales. Levington y Yearian (1972) encontraron resultados similares en infecciones virales en *Pseudoplusia includens* y afirman que el sitio de replicación del VPN fue restringido al núcleo y que las gonadas y tubos de Malpighi fueron moderadamente infectados. El presente estudio presenta una secuencia general de infección por el VPN de *E. elaeasa*, que es similar a otros Baculovirus estudiados (Figuras 3, 4 y 5).

Las partículas virales presentaron morfología homogénea, pero tamaño variable y presencia de envolturas que contienen de 1 a 11 partículas virales y se observaron, además, envolturas en proceso de desprendimiento y envolturas vacías. (Figuras 6 y 7). La longitud de la partícula viral es de 307,50 nm y el ancho de 68,12 nm y es de forma baciliforme o de varilla. El tamaño y forma concuerda con el observado usualmente en Baculovirus (200 a 400 nm x 40 a 110 nm) (Matthews, 1982).

La electroforesis de los componentes del poliedro produjo patrones de bandas de proteínas diferentes para cada una de las muestras analizadas. La par-

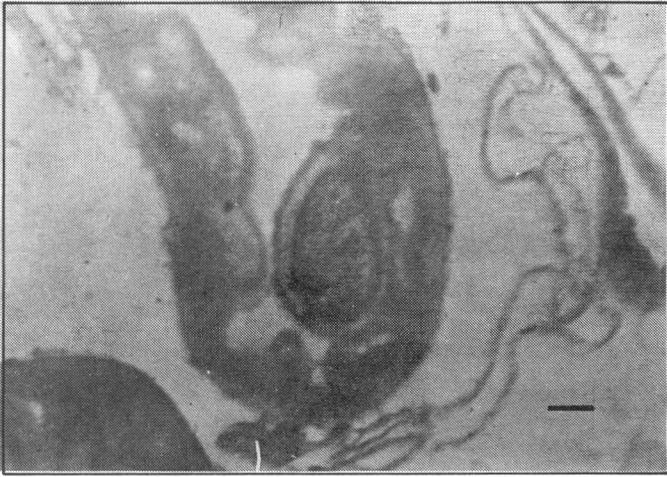


Figura 3. Microfotografía óptica del corte transversal en un tubo de Malpighi de larvas de *Euprosterina elaeasa* Dyar, donde se observa una célula con hipertrofia del núcleo y estructuras granulares internas correspondientes a los poliedros en formación, en un estado inicial de infección causado por el VPN. (3.250 X; Barra = μ m). Foto: CEIF.

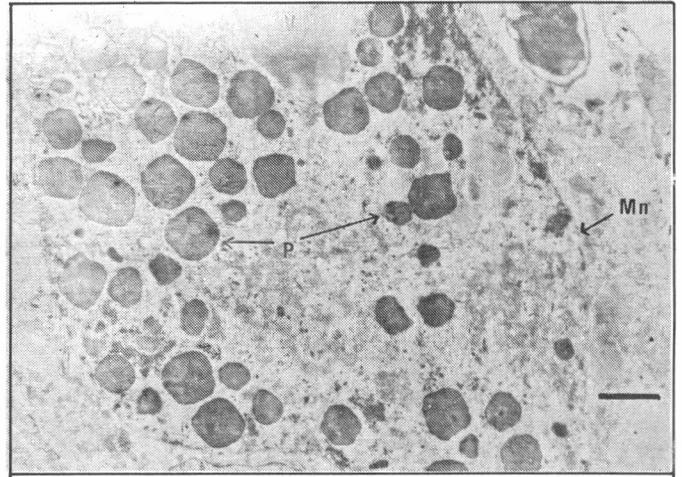


Figura 5. Microfotografía electrónica de un corte transversal de una célula del intestino medio de *Euprosterina elaeasa* Dyar, infectada con poliedros del VPN, en un estado final de infección. P: poliedros, Mn: membrana nuclear, V: vacuolas. Las manchas internas de los poliedros corresponden a los viriones individuales o en grupo, incluidos dentro de éstos. (7.850 X; Barra = 2,0 μ m). (Foto: CEIF).

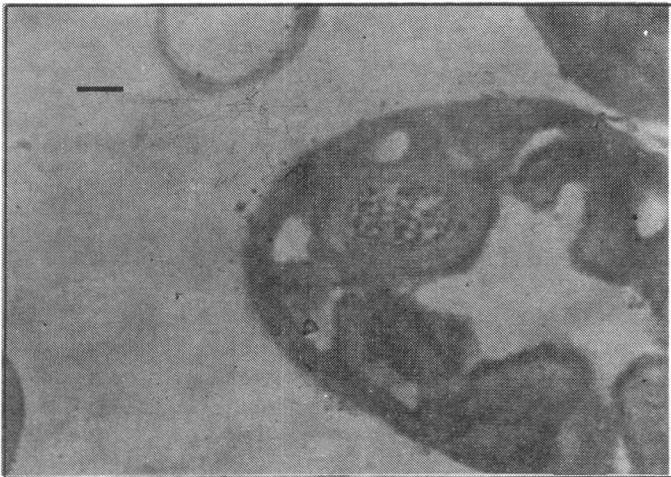


Figura 4. Microfotografía óptica del corte transversal de un tubo de Malpighi de larvas de *Euprosterina elaeasa* Dyar, donde se observa una célula con hipertrofia del núcleo y estructuras granulares internas correspondientes a los poliedros en formación, en un estado intermedio de infección causado por el VPN. (3250 X; Barra = 3 μ m). (Foto: CEIF).

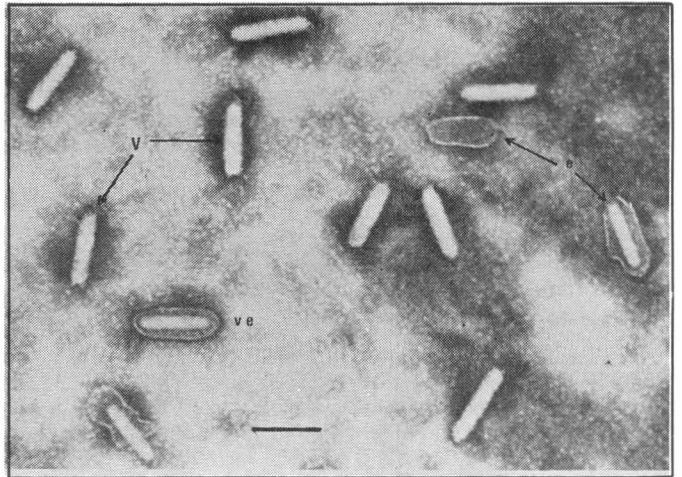
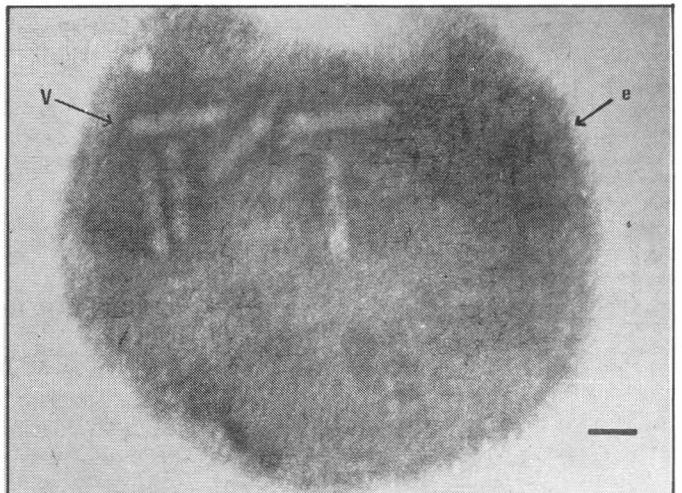


Figura 6. Microfotografía electrónica de partículas virales sin envoltura (v), partícula viral con envoltura (ve), envoltura en proceso de desprendimiento y envoltura vacía (e); del VPN de *Euprosterina elaeasa* Dyar. (62.500 X; Barra = 300 nm). (Foto: CEIF).

tícula viral presentó un total de 14 proteínas, con un rango de 20.000 a 150.000 daltons; las envolturas virales presentaron un total de 11 bandas con un peso entre 14.000 a 68.000 daltons; la proteína del poliedro se presentó en mayor proporción y con un peso aproximado a 28.500 daltons (Figura.8).

Esto confirma que los Baculovirus y, en particular los VPN, son estructuralmente complejos y poseen por lo menos 12 a 25 proteínas con pesos moleculares de 10 a 160 x 10³ daltons (Matthews, 1982).

Figura 7. Microfotografía electrónica de una envoltura viral en proceso de degradación (e), conteniendo varias partículas virales (v), del VPN de *Euprosterina elaeasa* Dyar. (56.000 X; Barra = 150 μ m). (Foto: CEIF).



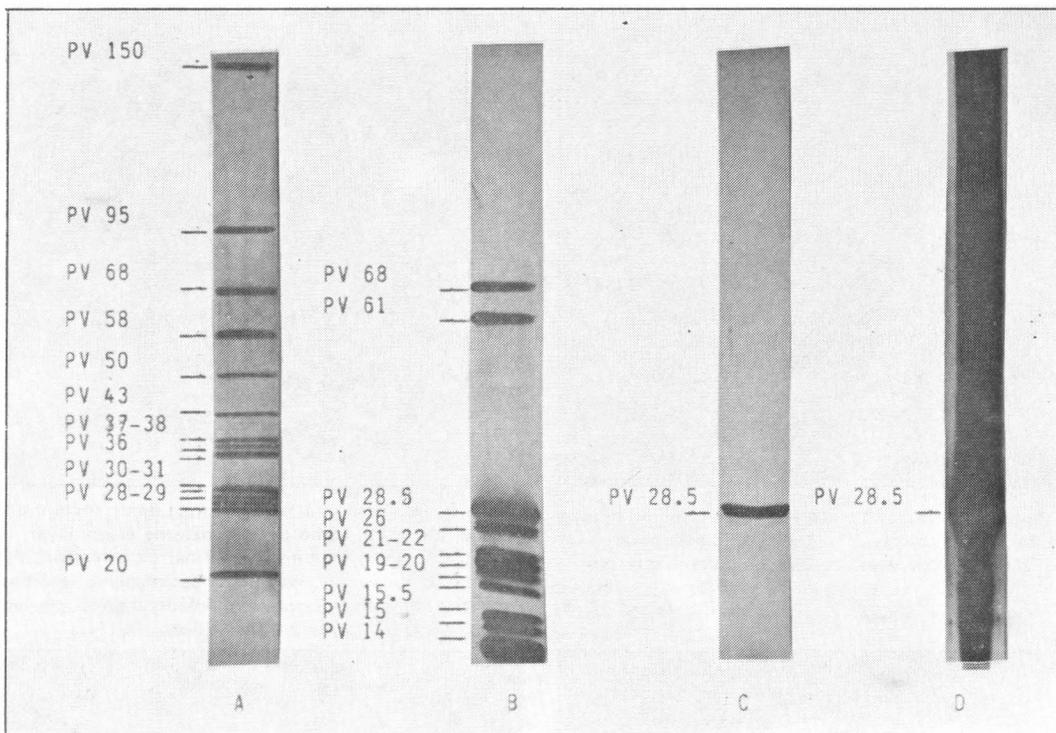


Figura 8. Electroforesis de las proteínas virales (PV) y pesos moleculares ($\times 10^3$ daltons) del VPN de *E. elaeasa*. Carril A: Proteínas de la partícula viral: 35 μ g. Carril B: Proteínas de la envoltura viral: 35 μ g. Carril C: Proteína del Poliedro: 5 μ g. Carril D: Proteína del Poliedro: 25 μ g.

Prueba de Patogenicidad

Con los datos de mortalidad obtenidos en laboratorio y mediante el análisis "Probit", se calculó la DL 50, el cual presentó un valor de 1,24 pol/mm² y 13,49 pol/mm² para larvas de IV y V instar, respectivamente.

Estos valores de DL50 obtenidos son similares a otros, entre los cuales están la DL50 de *H. gemmatalis* y del VPN de *Heliothis* Spp, los cuales presentaron actividad entre 0,7 y 12,7 pol/mm² de superficie de dieta (Shapiro e Ignoffo, 1970; Richter y Fuxa, 1984). Así, el VPN de *E. elaeasa* muestra un buen potencial para el control microbiológico de esta plaga.

CONCLUSIONES

1. Se aislaron e identificaron dos especies de bacterias las cuales fueron: *Serratia marcescens* Bizio y *Bacillus subtilis* Cohn.
2. Se aisló e identificó el virus, el cual se clasifica como Virus de la Poliedrosis Nuclear de tipo Múltiple de

Euprosterina elaeasa Dyar (*E. e. MVPN*). (Baculoviridae: Baculovirus).

3. Se comprobó la patogenesis viral y se calculó la DL50 del VPN para larvas de IV y V instar de *E. elaeasa* (1,24 y 13,49 Pol/mm², respectivamente).
4. La identificación del virus se basó en una combinación de características morfológicas y bioquímicas, complementadas con información biológica del hospedante a nivel histológico, así como de su sintomatología.
5. La alta mortalidad causada por el VPN de *E. elaeasa*, en condiciones de laboratorio, muestra un buen potencial como un insecticida biológico para el control integrado de este insecto.

RECOMENDACIONES

1. Para conocer su comportamiento en condiciones naturales, se deben realizar evaluaciones del VPN en campo, teniendo en cuenta las DL50 obtenidas en laboratorio.

2. Es conveniente que estas evaluaciones se realicen con poliedros puros y liofilizados, como un procedimiento para conservar la virulencia del virus y obtener un mejor control de la plaga.
3. Se recomienda aplicar el VPN en los primeros instares de *E. elaeasa*, ya que éstos requieren una DL50 menor.
4. La identificación, caracterización y liofilización del virus son un aporte básico para futuros trabajos prácticos y de nuevas investigaciones y constituyen un punto de partida para llegar a una producción semi-industrial o industrial de cepas comerciales con virus patógenos de insectos, en especial con los pertenecientes al género Baculovirus, sobre la base de la necesidad de aprovechar el potencial de acción de entomopatógenos en el manejo adecuado de plagas.

BIBLIOGRAFIA

BEATON, C.D. y B.K. FILSHIE. 1976. Comparative ultrastructural studies of

- insects Granulosis and Nuclear Polyhedrosis Viruses. *J. Gen. Virol.* V. 31 p. 151-16.
- BLUM, H., H. BEIER, and H.J. GROSS. 1987. Improved Silver Staining of Plant Proteins, RNA and DNA in Polyacrylamide Gels. *Electrophoresis*. 8, 93-99.
- BURGES, H.D., and N.W. HUSSEY. 1981. Microbial control of pests and plant diseases 1970 - 1980 Academic Press, U.S.A. Ed. H.D.
- CUNNINGHAM, J. 1971. An Ultrastructural study of the development of a nuclear polyhedrosis virus of the eastern hemlock looper, *Lambdina fiscelloria*. *Canad. J. Microbiol.* V. 17, p. 69-72.
- GODWIN, P.A. and K.S. SHIELDS. 1982. Some interactions of *Serratia marcescens* nucleopolyhedrosis virus and *Blepharipa pratensis* (Diptera: Tachinidae) in *Lymantria dispar* (Lepidoptera Lymantriidae). *Entomophaga*. V. 27, p. 189-196.
- HARRAP, K.A. 1972 a. The structure of nuclear polyhedrosis viruses. I. The Inclusion Body. *Virology*. V. 50, p. 114-123.
- HARRAP, K.A. 1972 b. The structure of nuclear polyhedrosis viruses. III. Virus assembly. *Virology* V. 50, 133-139.
- HARRAP, K.A., C.C. PAYNE, and J.S. ROBERTSON. 1977. The properties of three Baculoviruses from closely related host. *Virology*. V. 79, p. 14-31.
- HARRAP, K.A., and J.S. ROBERTSON. 1968. A possible infection pathway in the development of a nuclear polyhedrosis virus. *J. Gen. Virol.* V. 3, p. 221-225.
- HUDSON, J.S., G.R. CORNIR, and O.W. BARNETT, 1979. Ultrastructure of fat body cells of the velvetbean caterpillar infected with nuclear polyhedrosis virus. *J. Invertebr. pathol.* V. 33, p. 31-39.
- JIMENEZ, J. 1980. Estudios preliminares tendientes al control microbial de *Spodoptera frugiperda*. Programa Estudios para Graduados ICA—Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. (Tesis) p. 165.
- KAWANISHI, C.Y., M.D. SUMMERS, D.B. STOLTA, and H.J. ARNOTT. 1972. Entry of an insect virus in vivo by fusion of viral envelope and microvillus membrane. *J. Invertebr. Pathol.* V. 20, p. 104-108.
- KNUDSON, D.E., and K.A. HARRAP. 1976. Replication of a nuclear Polyhedrosis virus in a continuous cell culture of *Spodoptera frugiperda*: Microscopy study of the sequence of events of the virus infection. *J. Virol.* V. 17, p. 254-268.
- LAEMMLI, U.K. 1970. Cleavage of Structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T 4. *Nature* (London), V. 227, p. 680-685.
- LEVINGTON, J.H., and W.C. YEARLIAN. 1972. A Nuclear Polyhedrosis virus of *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Invertebrate pathol.* V. 19, p. 107-112.
- LOWRY, O.H., A. ROSEBROUGH, A.L. FARRA, and R. J. RANDALL. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* V. 193, p. 265-275.
- MARTIGNONI, M.E., and P.J. IWAI. 1981. A catalogue of viral diseases of insects, mites and ticks. In "Microbial control of pest and plant diseases 1970-1980" (D. H.D. Burges, ed.) pp. 897-911, London/New York. Academic Press.
- MARTIGNONI, M.E., and P.J. IWAI. 1981. A Catalog of viral diseases of Insects and mites. USDA Forest Service General Technical Report PNW-40 2 nd ed., U.S. Dept. of Agric., Washington, D.C.
- MATTHEWS, R.E.F. 1982. Classification and nomenclature of viruses. IUMS. University of Auckland. New Zealand. Dept. of Cell Biology.
- RICHTER, A.R. y J.R. FUXA. 1984. Timing, Formulation, and persistence of a nuclear polyhedrosis virus and microsporidium for control of the velvetbean caterpillar (Lep. Noctuidae) in soybeans. *J. Econ. Entomol.* V. 77: p. 1299-1306.
- SHAPIRO, M. y C.M. IGNOFFO. 1970. Nucleopolyhedrosis of *Heliothis*: Activity of Isolates from *Heliothis zea*. *J. Invertebr. Pathol.* Vol. 16, p. 107-111.
- SUMMERS, M.D. and G.E. SMITH, 1978. Baculovirus Structural Polypeptides. *Virology* V. 84, p. 390-402.
- TINSLEY, T.W., and K.A. HARRAP. 1978. Viruses of invertebrates. *comp. Virol.* V. 12, p. 1-101.
- WEBER, K. and M. OSBORNE. 1969. The reability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* V. 244, p. 4606-4412.
- W.H.O. 1973. The use of viruses for the control of insect pest and disease vectors. Report of a joint FAO/WHO Meeting on insect viruses. World Health Organization Technical Report series No. 531. GENEVA.

ESTUDIOS DEL NIVEL ECONOMICO DE DAÑO DE LA POLILLA DE LA PAPA, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae)

Jorge E. Jaramillo N.¹
Angela María Álvarez A.¹
Alfredo Saldarriaga V.²

RESUMEN

En el Centro Regional de Investigación "La Selva" del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), en el Municipio de Rionegro (Antioquia) y durante dos semestres, 1986B y 1987A, se estudiaron los factores que permitieron establecer los parámetros relacionados con el nivel económico de daño de la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller).

El daño del área foliar por larva en el campo fue de $6.29 \pm 1.32 \text{ cm}^2$, porcentajes de defoliación simulada de 0, 25, 50 y 75% por una sola vez y cuando las plantas tenían 35, 55 y 75 días de edad, indicaron que defoliaciones superiores al 25% afectaron los rendimientos y calidad de los tubérculos.

Los análisis de regresión para medir la relación entre el daño foliar y su efecto en la producción para la época de estos estudios, para cada edad del cultivo estudiada y asumiendo una o tres aplicaciones de insecticidas, mostraron los siguientes niveles de daño económico:

Para el cultivo de 35 días, con una o tres aplicaciones de insecticidas, los niveles de daño fueron 3.19 y 9.6 larvas/planta, respectivamente. A los 55 días de edad del cultivo, con una o tres aplicaciones, los niveles de daño fue-

ron 2.44 y 7.35 larvas/planta, respectivamente y en el cultivo de 75 días de edad, con una y tres aplicaciones de insecticidas, los niveles de daño fueron 4.48 y 6.65 larvas/planta, respectivamente.

SUMMARY

A study was carried out at "La Selva" Experiment Station, located at Rionegro (Antioquia, Colombia), during the second semester of 1986 and the first of 1987. The objective was to determine the parameters related with the economic level of damage caused by *Phthorimaea operculella* (Zeller).

The leaf are damaged by the insect at the field was $6.29 \pm 1.32 \text{ cm}^2$ simulated percentages of 0, 25, 50 and 75% of defoliation at once and when the plant was 35, 55 and 75 days old, indicated that, the levels above 25% affected the yield and the tuber quality.

A regression analysis to measure the relationship between foliar damage and yield for each one of the crop ages studied and one to three insecticide applications showed the following results: For the 35 days old crop with one and three insecticide applications, the damage levels were 3.19 and 9.6 worms by plant. For the 55 days old crop with one and three insecticide applications the damage levels were 2.44 and 7.35 worms by plant. An for the 75 days old crop the damage levels were 4.48 and 6.65 worms by plants, respectively.

INTRODUCCION

Phthorimaea operculella (Zeller) es un insecto que ataca el follaje de las plantas de papa y sus tubérculos, tanto en el campo como en el almacenamiento. En Colombia, en los últimos años, se han registrado frecuentes ataques en los departamentos de Boyacá, Cundinamarca y más recientemente en Antioquia.

En Colombia, poco se conoce en relación con el nivel económico de daño de *P. operculella*. Este desconocimiento obliga a los agricultores al uso indiscriminado de insecticidas que, muchas veces, ha resultado contraproducente económica y ecológicamente.

El objetivo principal del presente estudio fue cuantificar el efecto de defoliaciones simuladas en la producción del cultivo de la papa y relacionarlo con el daño causado por la polilla de la papa, para establecer un nivel económico de daño.

REVISION DE LITERATURA

Al *P. operculella* se le conoce con los nombres comunes de: "gorgojo de la papa" (H. Berton en 1954), "el gusano del tubérculo de la papa" (Zeller, según su descripción hecha en 1873) y, en Colombia, como "palomilla del tubérculo de la papa" y "palomilla de la papa" (Benavides, 1981; CIP, 1980; López et al., 1981, Piedrahita et al., 1983, Posada et al., 1986, Valencia, 1985).

Según Povolny (16), las sinonimias del insecto son: *Phthorimaea terrella* Walker 1873. El nombre *terrella* no fue

¹ Ing. Agr. Universidad Nacional de Colombia, Seccional Medellín. Tesis de Grado. A.A. 66420.

² Entomólogo, Profesor Asesor, Univ. Nal., Medellín. A.A. 1779.

usado. *Gnorimoschema epicentra* Meyrick 1909. *Phthorimaea operculella* (Zeller) 1873.

Aunque el insecto es de origen sudamericano, su distribución es cosmopolita, localizándose principalmente en las regiones cálidas tropicales y subtropicales. Aparentemente, no prospera en climas muy fríos con temperatura anual promedio por debajo de los 10°C (Benavides, 1981; Haines, 1971; 1977; Povolny, 1967).

En Colombia, Gallego (1946) registró su ocurrencia en tabaco en zonas de Santander y Valle del Cauca y advirtió en 1946 (b) sobre los daños causados en papa por un minador llamado *Gnorimoschema operculella* (Zeller) en el Oriente Antioqueño.

El daño es causado por las larvas, al atacar principalmente al follaje y a los tubérculos, además, puede actuar como barrenador del tallo (Bustillo, 1985; López et al., 1981). En el follaje, penetran y minan los folíolos de las hojas o hacen galerías en el pecíolo y en el tallo (Raman et al., 1986). El área promedio de hoja minada oscila entre 7.8 y 9.8 cm² (Reed, 1971). El daño como barrenador causa debilitamiento y ruptura de los tallos. En los tubérculos la larva construye galerías irregulares y túneles profundos o exactamente por debajo de la epidermis del tubérculo (Maines, 1977; Raman y Booth, 1986; Shields y Wyman, 1984; Vergara, 1981).

En México, el insecto ha afectado la producción hasta un 40% (Delcid-Reyes, 1980). En el Perú, las pérdidas han llegado hasta un 50% en el campo y a un 90% en almacenamiento (CIP, 1980).

En Colombia, en el departamento de Boyacá y durante 1983, la polilla infestó hasta el 100% de los tubérculos en todas las variedades de papa en almacenamiento (Vergara y Varela, 1983). Durante el mismo año, en la zona papera del Oriente Antioqueño se presentaron ataques de importancia económica en siete municipios (Piedrahita et al., 1983).

La recuperación de las plantas de los daños en el follaje y sus efectos en la

producción están, principalmente, influidos por el estado de crecimiento y el grado de defoliación en el momento del daño (Cranshaw et al., 1980; Midmore, 1986). La ruptura de los tallos, conjuntamente con el estropeo de las hojas, tienen un mayor efecto en la producción que la sola remoción de las hojas (Cranshaw et al., 1980). El daño a las plantas antes de que inicien la formación de tubérculos puede conducir a un incremento en la producción. Los daños ocurridos después de la iniciación de la tuberización anulan la dominancia apical y se produce la emisión de nuevas ramas a expensas del desarrollo de los tubérculos (Midmore, 1986). La pérdida de área foliar es más crítica para las plantas durante el período de formación de tubérculos o en plena floración (Cranshaw et al., 1980; Midmore, 1986; Shields et al., 1984).

En Colombia, para iniciar el control químico, el umbral económico ha sido establecido en tres larvas por planta (Benavides, 1981) y, en Perú, cuando se encuentran más de dos larvas por planta (Raman et al. 1986).

MATERIALES Y METODOS

Las investigaciones se llevaron a cabo durante los semestres 1986B y 1987A, en el Centro Regional de Investigación "La Selva", del Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, ubicada en el municipio de Rionegro, departamento de Antioquia, a 2.100 m.s.n.m., con una temperatura promedio de 17°C, una humedad relativa promedio anual de 78% y una precipitación pluvial de 1800 mm. anuales.

El área foliar promedio de una planta de papa, con las edades de 35, 55 y 75 días se calculó con base en la cantidad de hojas en 10 plantas, cogidas al azar en cultivos comerciales y esta cantidad se multiplicó por el valor del área foliar calculada por el método de Alvin. (Alvin, 1959).

Para establecer el área foliar realmente dañada por larva del insecto se realizaron dos trabajos: 1) Prueba de Laboratorio, que consistió en sembrar 20 tubérculos, uno por matero. Cuando las plantas tenían una edad de 35-50 días,

se colocaron en el ápice de las hojas más desarrolladas 20 a 30 larvas/planta, criadas en laboratorio y recién eclosionadas. Después de cumplido el ciclo larvario, se tomaron las hojas y se dibujaron las minaduras, para evaluar su área según el método de Alvin (Alvin, 1959). 2) Infestación en el campo, tomando, de cultivos de papa infestados naturalmente por la polilla, 100 hojas minadas, donde, presumiblemente, la larva se había desarrollado totalmente y, como en el caso anterior, se evaluó el área foliar dañada.

La incidencia en la producción y calidad de los tubérculos se evaluó teniendo en cuenta cuatro porcentajes de daño simulado: 0, 25, 50 y 75% y cada uno de ellos se realizó por una sola vez y cuando las plantas tenían los 35, 55 y 75 días de edad. Para efectuar el daño simulado de cada uno de los folíolos, se cortó, con tijeras, de la hoja el área representativa del porcentaje de daño preestablecida. Para evitar que la planta sufriera la totalidad del daño, el porcentaje de defoliación de cada tratamiento se hizo en dos etapas y con un intervalo de ocho días entre cada uno.

Para evaluar el daño económico se tomaron, en la cosecha, los siguientes datos:

- 1) Peso de los tubérculos producidos por las cinco plantas centrales de cada surco.
- 2) Cantidad de tubérculos y calidad de tubérculos, en cuanto a su tamaño, clasificados en cuatro categorías, según el diámetro en mm: Primera (65-90 mm), Segunda (45-64 mm), Tercera (30-44 mm) y Cuarta (30 mm).

La cantidad de larvas necesaria, para realizar el porcentaje de defoliación simulada preestablecido, se hizo de acuerdo con la fórmula de Shields et al (Shields et al., 1985): Número de larvas/planta =

$$\frac{\% \text{ defoliación} \times \text{total área foliar}}{\text{Área consumo larva} \times 100}$$

Para conocer el nivel económico de daño, se emplearon los datos y análisis siguientes:

- 1) Area foliar consumida por una larva.
- 2) Area foliar promedio por planta de papa a la edad en la cual se efectuó la defoliación.
- 3) Interacciones entre el porcentaje de defoliación y el rendimiento en la cosecha, según un análisis de regresión que permitió conocer el grado de dependencia de esta relación y la exactitud con la cual la producción esperada puede ser determinada a partir del número de larvas/planta. El modelo de regresión apropiado para la relación producción/ *P. operculella* fue:

$$Y = a - bx, \text{ donde}$$

Y = Producción esperada,

a = Intercepto de Y, o sea, una representación constante del promedio de plantas de papa no defoliadas (testigo).

b = Pendiente de la línea de regresión;

y

x = Número de larvas de *P. operculella* presentes por planta.

- 4) La reducción en la cosecha por el insecto.
- 5) El costo para el control (insecticidas) del insecto; y
- 6) El precio de la cosecha en el mercado.

La cantidad de pérdidas en la producción, que constituye el mínimo de daño económico para una, dos o más aplicaciones, calculada según la fórmula de Stone y Pedigo, citada por Ongulana y Pedigo (Ongulana y Pedigo, 1974):

Pérdida mínima en cosecha =

$$\frac{\text{Costo control plaga (\$/ha)}}{\text{Precio cosecha mercado (\$/carga)}}$$

Esto representaría la cantidad de cargas de papa que cubrirían los costos de aplicación de insecticidas, o sea, el mínimo de daño permisible.

El diseño experimental utilizado fue un factorial 3 x 4, completamente randomizado, 12 tratamientos (cuatro niveles de defoliación y tres épocas del período vegetativo), con cinco repeticiones cada uno. Cada unidad experimental estuvo constituida por un surco de 3 m de longitud con 7 plantas por

surco, distancia entre plantas 40 cm y entre surcos 1.20 m. Las cinco plantas centrales de cada surco se utilizaron para el daño simulado. Se sembró la variedad de papa Diacol-Capiro.

Las plantas se protegieron, desde la germinación hasta la cosecha, con plaguicidas y fungicidas, para evitar al máximo el daño causado por insectos y enfermedades y, también, recibieron las prácticas de fertilización y labores culturales recomendadas para el desarrollo normal del cultivo.

RESULTADOS Y DISCUSION

EVALUACION DEL AREA Y DAÑO FOLIAR:

La tabla 1 presenta la cantidad y área promedio de hojas por planta de papa a los 35, 55 y 75 días de edad.

La tabla 2 presenta el área foliar promedio consumida por larva de *P. operculella* (Zeller), bajo condiciones de:

- 1) Invernadero: $4.73 \pm 0.01 \text{ cm}^2$; y
- 2) Campo: $6.29 \text{ cm}^2 \pm 1.32 \text{ cm}^2$, que indicaron coeficientes de variación de 9.74% y 14.4%, respectivamente, valores estadísticamente comprendidos dentro del rango aceptable para estas pruebas.

El valor del área minada del follaje colectado en el campo fue inferior al ob-

tenido por Reed (1971), quien reportó valores entre 7.8 y 9.8 cm^2 , lo cual se pudo deber a condiciones climáticas diferentes.

EVALUACION DEL DAÑO ECONOMICO: Una defoliación durante el período vegetativo.

En la tabla 3, se presentan los datos relacionados con el efecto de la defoliación simulada en la producción de tubérculos, dado en g/planta.

En el semestre B de 1986, para ninguna de las edades del desarrollo del cultivo, no se presentaron diferencias significativas en los rendimientos entre los diferentes porcentajes de defoliación, sin embargo, en relación con el testigo, se observaron diferencias absolutas mayores en cada uno de los porcentajes de defoliación.

En el semestre A de 1987 y cuando las plantas tenían 35 días de edad, se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre el testigo y los tres porcentajes de defoliación. A los 55 y 75 días de edad, se presentaron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) entre el testigo y los tres porcentajes de defoliación.

Los resultados no significativos en el semestre 1986B, posiblemente, se debieron a que, durante el período de

TABLA 1. Promedio por planta de: número de hojas, área en cm^2 de una hoja y área total en cm^2 de una planta de papa, variedad Capiro, en tres edades del cultivo.

Edad de la planta (días)	Número Hojas/planta	Area (cm^2) Hojas/planta	Area Total (cm^2)
35	80.5	98.2	7907
55	81.3	112.4	9141
75	112.8	144.4	16293

TABLA 2. Area foliar promedio consumida (minada) por larva de *P. operculella*.

Hojas minadas colectadas en	Area promedio (cm^2)	Desviación Estándar D.E	Coficiente de Variación C.V	Límite de Confianza
Campo	6.29	4.99	14.4%	± 1.32
Laboratorio	4.73	0.003	9.74%	± 0.01

TABLA 3. Efecto en la producción de tubérculos (grs/planta) de diferentes porcentajes de defoliación simulada, realizadas por una sola vez a 35, 55 y 75 días de edad del cultivo, en los semestres 1986B y 1987A.

Defoliación Simulada (%)	Semestre 1986B Edad (días)				Semestre 1987A Edad (días)			
	35	55	75	X	35	55	75	X
25	1.128	1.374	1.196	1.233 ab*	1.222 b*	955**	1.086 b*	1.087**
50	1.014	973	964	984 bc*	1.417 b*	855 b*	900 b*	1.057*
75	1.186	1.138	1.140	1.155 abc*	1.119 b*	952**	965 b**	1.012 b**
Testigo	1.419	1.419	1.419	1.419 a	1.716 a	1.716 z	1.716 a	1.716 a

* Las cifras seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes al nivel 5% (Duncan).

** Las cifras seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes al nivel 1% (Duncan).

desarrollo del cultivo, predominó tiempo lluvioso en los primeros 70 días, factor que incidió favorablemente en la recuperación del daño simulado hecho a las plantas. En cambio, en el semestre 1987A, predominó tiempo seco con altas temperaturas y, posiblemente, la recuperación por efecto de la defoliación pudo ser más lenta.

Los mayores rendimientos en el testigo en comparación con los de parcelas defoliadas indicaron que cualquier daño mayor del 25% tiene incidencia en la producción y calidad de los tubérculos y que se acentúan a medida que aumentaron el porcentaje y la cantidad de defoliaciones.

La defoliación del 75% dio un rendimiento ligeramente más alto que la del 50%, estos resultados concuerdan con la explicación dada por Harris, citado por Cranshaw y Radcliff (Cranshaw et al, 1980), cuando dice que un mayor desarrollo de brotes auxiliares se logra después de una mayor defolia-

ción temprana y que un daño más leve no tiene la severidad suficiente para quebrar la dominancia apical de las plantas y recuperarse, tal como ocurre con la defoliación por daños mayores.

La tabla 4 contiene los datos del peso promedio, en gramos por planta, cuando las plantas fueron sometidas a una sola defoliación simulada, según una edad de desarrollo en dos semestres de siembra. En el semestre 1986B, no hubo diferencias significativas entre las épocas de defoliación, aunque se observaron diferencias absolutas en el rendimiento entre cada época de defoliación. En el semestre 1987A, se encontraron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) entre las épocas de defoliación. El menor rendimiento se obtuvo con el daño simulado a los 55 días y el mayor a los 35 días de edad.

La defoliación a los 35 días, en la cual aparentemente las plantas de papa podrían haber sido mayormente afectadas, presentó los mayores rendimien-

TABLA 4. Efecto de la defoliación, según edad de la planta. Peso promedio en gramos de tubérculos por planta de papa. Semestre 1986B y 1987A.

Edad desarrollo del cultivo	Semestre 1986B g/planta	Semestre 1987A g/planta
35 días	1.189	1.368 a
55 días	1.226	1.119 b**
75 días	1.180	1.167 b**

** Las cifras seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes al nivel 1% (Duncan).

tos en la mayoría de los porcentajes de defoliación. Esto concuerda con las explicaciones dadas por Midmore (1986), cuando dice que a medida que las plantas emergen y los insectos dañan los puntos de crecimiento o el tejido foliar, a menudo, se presenta estimulación del brotamiento de yemas axilares bajas (efecto de ramificación) y generación de nuevo follaje, como consecuencia de la inhibición de la dominancia apical.

Las defoliaciones producidas antes de la iniciación de formación de los tubérculos, tal como la ocurrida a los 35 días, pueden conducir a un incremento en la producción de éstos, mientras que los daños producidos durante su formación o la floración de las plantas pueden reducir la producción, pues el rebrotamiento compite con el proceso de tuberización (Cranshaw et al., 1980; Midmore, 1986).

La defoliación entre 55 y 75 días, edad de la plena floración y de la formación de tubérculos en la variedad Diacol-Capiro y bajo las condiciones de Rionegro, tuvo los más bajos rendimientos.

Las plantas que van alcanzando el período de transición entre el crecimiento y la fase productiva, cuando la mayoría de los nutrientes se están translocando hacia la producción de flores y el crecimiento del tubérculo, hacen más difícil la recuperación de las plantas a la defoliación, con pérdidas significativas en la producción total.

Diferentes estudios (Midmore, 1986; Shields et al. 1985) concuerdan con el hecho de que la pérdida de área foliar es más crítica para las plantas durante el período de floración y la formación de tubérculos.

A medida que el follaje envejece, fenómeno que se observa en la variedad Diacol-Capiro y bajo las condiciones del CRI "La Selva" a los 85 días de edad de la planta, el desarrollo de los tubérculos se mantiene a través de los hidratos de carbono producidos por el tejido todavía activo. Por lo tanto, si la defoliación se hace cuando el tubérculo ha completado su crecimiento,

ésta, posiblemente, no tendría efecto en la producción, según lo indicado por Midmore (1986).

En la tabla 5, se presentan los resultados relacionados con el efecto de cada porcentaje de defoliación simulada en la calidad y cantidad de tubérculos.

En el semestre 1986B no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la cantidad de tubérculos de primera y tercera categoría, pero sí diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) en la cantidad de tubérculos de segunda y cuarta categoría de los tres porcentajes de defoliación, en comparación con el testigo, pero no se presentaron diferencias estadísticas entre los tres porcentajes de defoliación.

En el semestre 1987A, se encontraron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) en la cantidad de tubérculos de primera, segunda y tercera categoría entre los diferentes porcentajes de defoliación. El tratamiento testigo presentó la mayor cantidad de tubérculos dentro de la categoría segunda, que es el tipo de papa más comercial.

NIVEL ECONOMICO DE DAÑO:

En la tabla 6, se presenta el porcentaje de pérdida en cada una de las edades del cultivo sometido a tres niveles de defoliación en los dos semestres de siembra y la cantidad de larvas por planta necesarias para producir dicha pérdida, calculadas según fórmula de Shields et al (1985), donde se emplean

los datos de área foliar consumida, área foliar total por planta de la variedad Diacol-Capiro en cada edad y las interacciones entre el porcentaje de defoliación y el rendimiento en la cosecha.

Para calcular el nivel económico de daño se requiere conocer: La reducción en la cosecha por el insecto, el costo del control del insecto y el precio de la cosecha en el mercado. En relación con los costos, al tiempo de presentación de este estudio, se estaban recomendando, entre otros, el insecticida Methomyl, en dosis de 0.2-0.25 kgr de i.a/ha para el control de la polilla. En el semestre 1986B, el valor insecticida por aplicación fue de \$2.635/ha. y el costo de la aplicación \$1.120/ha., para un costo total de \$3.755/ha para una aplicación y \$11.265/ha para tres aplicaciones. Para el semestre 1987A, el valor del insecticida por aplicación fue de \$2.974/ha y el costo de aplicación de \$1.368/ha, suponiendo una o tres aplicaciones, el costo total del control sería de \$4.342/ha y \$13.062/ha para una y tres aplicaciones, respectivamente.

El precio en el mercado de una carga de papa (125 kgrs), en el semestre 1986B, fue de \$4.500 y, de \$4.900 para el semestre 1987A y las pérdidas mínimas en cosecha (carga/ha) calculadas para una aplicación fueron de 0.83 y 0.89 y, para tres aplicaciones, fueron de 2.50 y 2.66, en el semestre 1986B y 1987A, respectivamente. El nivel de daño económico para un estado de desarrollo dado es la cantidad de larvas/planta que podría reducir la producción en 0.83, 0.89, o sea, 2.50 y 2.66 cargas/ha.

Según la fórmula $y = a + bx$, despejando $bx = y - a$; $bx = - (a - y)$, pero $(a - y)$ es la reducción (intercepto menos la producción esperada). Entonces bx , para cada uno de los umbrales determinados, sería:

$$bx = - 0.83, bx = -2.50, bx = -0.89, bx = -2.66$$

Analizando, para el estado de los 35 días en el semestre 1986B, con una sola aplicación de insecticida:

TABLA 5. Efecto de cuatro porcentajes de defoliación en calidad (tamaño) de los tubérculos: número promedio de tubérculos/planta en cada categoría, en dos semestres.

Porcentaje de defoliación	SEMESTRE B86 Categorías				SEMESTRE A87 Categorías			
	Primera	Segunda	Tercera	Cuarta	Primera	Segunda	Tercera	Cuarta
25	0.81	4.45 b*	8.90	10.4*	0.43 b*	17.68**	5.1 b*	7.18
50	0.57	4.02 b**	7.12	8.6 b**	0.38 b**	15.96**	5.38 b*	7.15
75	0.60	4.4 b**	8.48	10.2 b**	0.27 b**	14.4 b**	5.23 b**	7.7
Sin defoliación Testigo	1.15	6.3 a	7.15	7.3 a	1.45 a	35.25 a	7.9 a	6.2

* ¿Cuál es el significado?

** Las cifras seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes al nivel 1% (Duncan).

TABLA 6. Area foliar/planta (cm²) en tres edades de la planta, porcentaje de defoliación simulada, rendimiento y porcentaje de pérdidas en cada defoliación y número de larvas de *P. operculella* necesarias para causar el porcentaje de daño simulado.

Edad de la planta (días)	Area foliar/planta (cm ²)	Defoliación Simulada (%)	Rendimiento		% pérdida en relación con el testigo		Número larvas/planta (*)
			1986B	1987A	1986B	1987A	
35	7.907	25	1.128	1.221	20.51	28.79	314.3
35	7.907	50	1.014	1.417	28.54	17.42	628.5
35	7.907	75	1.186	1.119	16.42	34.79	942.8
55	9.141	25	1.374	954	3.17	44.35	363.3
55	9.141	50	973	855	31.43	50.17	726.7
55	9.141	75	1.138	952	19.80	44.52	1.089.9
75	16.293	25	1.196	1.086	15.71	36.71	647.6
75	16.293	50	964	900	32.06	47.55	1.295.1
75	16.293	75	1.140	965	19.66	43.76	1.942.7
Testigo			1.419	1.716			

* Número de larvas/planta calculadas según fórmula de Shields et al

$bx = -0.26 \times 0.83$ entonces $X = \frac{-0.83}{-0.26} = 3.18$ larvas/planta, y, así sucesivamente, para las otras épocas.

La tabla 7 resume la pendiente de la curva (b), las pérdidas mínimas en la cosecha y los niveles económicos de daño, que se traducen en la cantidad de larvas por planta necesarias para causar las pérdidas mínimas de cosecha en tres edades del cultivo y en los dos semestres de siembra.

La figura 1 presenta las líneas de regresión para las épocas de desarrollo, evaluadas en los dos semestres de siembra. Durante los dos semestres evaluados, la producción de las plantas de papa sometidas a una defoliación mostró una consistente tendencia a la disminución del rendimiento a medida que se incrementaba la cantidad de larvas de *P. operculella*.

Las líneas de regresión presentan una mayor pendiente en la época de defoliación de 55 días en ambos semestres, indicando una mayor tolerancia de las plantas a la defoliación en este período de desarrollo vegetativo, lo cual se manifestó en las mayores reducciones en la producción con la menor cantidad de larvas, en comparación con las otras épocas de defoliación.

De igual forma, en los resultados del nivel económico de daño, se observa cómo la época de los 55 días permite la menor cantidad de larvas/planta en ambos semestres, no importando la

cantidad de aplicaciones en el control que se evalúen, lo cual indica que, en esta edad, la planta presenta la menor tolerancia a la defoliación.

El nivel económico de daño para la época de esta investigación, con las mínimas pérdidas en la cosecha, fue de 0.83 cargas/ha, cuando se hizo el control con una aplicación de insecticida y de 2.50 cargas/ha, para tres aplicaciones y se estableció que deben presentarse 3.19 y 9.6 larvas por planta, para una y tres aplicaciones, respectivamente, para el semestre 1986B.

Los parámetros anteriores sirven para calcular la cantidad de larvas/planta que pueden reducir los rendimientos, en igual proporción a los que se requieren para su control (insecticidas).

Hay que anotar que los niveles económicos de daño establecidos en este trabajo son parámetros variables y dinámicos y que ellos cambian de acuerdo con ciertos factores, entre otros, el precio de la cosecha en el mercado, el costo de las medidas de control, las condiciones ambientales, los cambios bruscos que pueden ocurrir en la tolerancia de la planta al daño de la polilla o en el comportamiento alimenticio y control del insecto, etc.

CONCLUSIONES

De los resultados del presente trabajo, se pueden obtener las siguientes conclusiones:

- Que defoliaciones a los 35 días de edad del cultivo de la papa, mostraron la mayor capacidad de recuperación de las plantas y, comparativamente, el mayor rendimiento. Las mayores pérdidas en la producción se presentaron en plantas defoliadas a los 55 y 75 días de edad.
- Que, el menor rendimiento se obtuvo con defoliación a los 55 días, cuando la pérdida de follaje fue crítica para la tuberización.
- Que en relación con el efecto de la defoliación en la calidad de los tubérculos, puede decirse que tiene un efecto adverso en el desarrollo de éstos.
- Que la población del insecto puede estar influida por las épocas climáticas, siendo la lluvia favorable para reducir el ataque a la planta; este factor se debe tener en cuenta para tomar la decisión de aplicar medidas de control.
- Que, cuando se presentan poblaciones del insecto después de los 75 días de edad del cultivo y al iniciar la fase de maduración, el daño del insecto es mínimo, pero deben tenerse en cuenta los cultivos vecinos jóvenes, ya que la población puede incrementarse y causar daños económicos.

BIBLIOGRAFIA

1. ALVIN, P. 1959. Métodos prácticos para medir el área foliar. In: Curso Internacional de Bases Fisiológicas de la Producción Agrícola, Lima (Perú), Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. V. 2, 51p.
2. BENAVIDES, R., MIGUEL. 1981. Reconocimiento y evaluación de la palomilla de la papa. *Phthoromaea operculella*, (Zeller). In: Seminario de la palomilla de la papa. Ponencias Bogotá, Sociedad Colombiana de Entomología, p. 1-3.
3. BUSTILLO, A.E., y MUÑOZ, B.E. 1985. Palomilla del tubérculo de la papa. Medellín. Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Secretaría de Agricultura de Antioquia. 22p.
4. CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA. 1980. La polilla de la papa. Informe Anual CIP. Lima (Perú), p. 45-48.

TABLA 7. Pendiente de la curva; pérdidas mínimas en la cosecha y número de larvas/planta o niveles económicos de daño (NED) para tres edades del cultivo, en dos semestres de siembra.

	Edad cultivo (días)	Pendiente (b)	UNA APLICACION		TRES APLICACIONES	
			Pérdidas mínima de cosecha (carga/ha)	Larvas planta (NED)	Pérdidas mínima cosecha (carga/ha)	No. larvas/planta (NED)
Semestre B86	35	-0.26	0.83	3.19	2.50	9.6
	55	-0.34	0.83	2.44	2.50	7.35
	75	-0.17	0.83	4.88	2.50	14.7
Semestre A87	35	-0.5	0.89	1.78	2.66	5.32
	55	-0.7	0.89	1.27	2.66	3.8
	75	-0.4	0.89	2.23	2.66	6.65

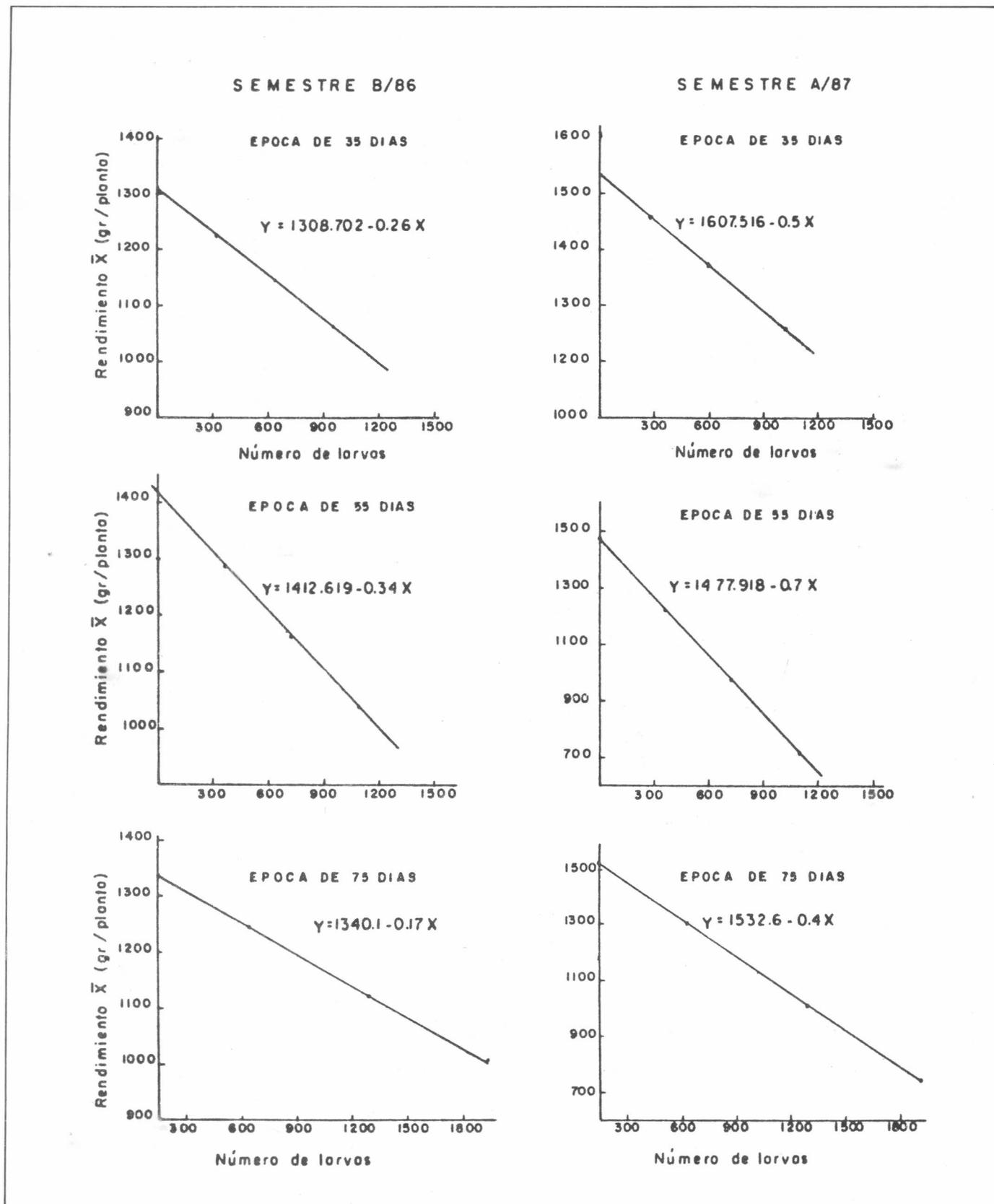


Figura 1. Regresión de rendimiento por planta de papa sobre el número de larvas de *P. operculella* por planta. Semestre 1986A y 1987A.

5. CRANSHAW, W.S. and RADCLIFFE, E.B. 1980. Effect of defoliation on yield of potatoes. *J. Econ. Entomol.* (Bombay), V. 17, No. 1, p. 131-134.
6. DEL CID REYES, Mardoqueo. 1980. Evaluación de doce insecticidas en el control de la palomilla de la papa (*Onorimoschema operculella* Zeller) bajo condiciones de almacenamiento. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. 41p.
7. GALLEGO, F.L. 1946. Catálogo de Insectos II. Nocturnas, Heteroceras o Chalinoptera. *Revista Fac. Nal. de Agronomía, Medellín (Antioquia)* V. 6, No. 24, p. 415-473.
8. -----, 1946. Minador de las hojas del tabaco. *Fac. Nal. de Agronomía. Estudio Fundamental Medellín (Antioquia)*, V. 15, No. 1.
9. HAINES, C.P. 1971. The potato tuber-moth *Phthorimaea operculella* (Zeller). (Lep: Gelechiidae). *J. Econ. Ent.*, Bombay (India), V. 64, No. 2 p. 358-361.
10. -----, 1977. The potato tuber-moth, *P. operculella* (Zeller); a bibliography of recent literature and control on potatoes in the field and store. *Tropical Products Institute (London)*, V. 112, p. 1-15.
11. LOPEZ, ARISTOBULO y PERRI M., MARIA CONSUELO. 1981. La palomilla de la papa, plaga que causa grandes daños. *ICA Informa. Bogotá (Colombia)*, V. 15, No. 15, p. 7-11.
12. MIDMORE, D.J. 1986. Respuesta de la planta de papa (*Solanum* spp.) al daño de insectos. Algunos efectos de compensación. En: *Memorias del curso sobre Control Integrado de plagas de papa*. Bogotá, Centro Internacional de la Papa, Instituto Colombiano Agropecuario, ICA. Junio 29-Julio 19, 1986. Bogotá (Colombia). p. 176-200.
13. OGUNLANA, M.O. and PEDIGO, L.P. 1974. Economic-Injury Levels of hopper on soybeans in Iowa. *J. Econ. Entomol. Bombay (India)*, p. 29-32.
14. PIEDRAHITA, V., ESTELLA y MUÑOZ B., BEATRIZ. 1983. Inventario sobre *P. operculella*, palomilla de la papa en el Departamento de Antioquia. *Publicación Técnica. Medellín (Antioquia)* V. 6, p. 1-48.
15. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. 1983. Se agrava la situación. *Notas y Noticias Entomológicas. Bogotá (Colombia)*. Marzo-abril, 1983. p. 33.
16. -----, 1986. Vuelve la Palomilla. *Notas y Noticias Entomológicas. Bogotá (Colombia)* Marzo-abril, 1986. p. 25.
16. POVOLNY, D. 1967. Gentalia of some nearctic and neotropic members of the tribe gnorimoschemini (Lepidoptera, Gelechiidae). *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae. (Praga)*, V. 37. p. 52-127.
17. RAMAN K.V. y BOOTH, R.H. 1986. Evaluación de tecnología para el control integrado de la palomilla de la papa. *Serie de Evaluación de Tecnología. Lima (Perú)*. V. 12, pa. *Serie de Evaluación de Tecnología. Lima (Perú)*. V. 12, p. 1-21.
18. REED, E.M. 1971. Factors affecting the status of a virus as control agent for the potato moth *Phthorimaea operculella* (Zeller). (Lepidoptera: Gelechiidae). *Bull. Ent. Res. (London)*. V. 61. No. 2. p. 207-222.
19. SHIELDS, E.J. ROUSE, D.I. and WYMAN, J.A. 1985. Variegated Cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) leaf-area consumption, feeding site preference, and economic injury level calculation for potatoes. *J. Econ. Entom. (Bombay)*, V. 78, No. 5, p. 1095.
20. SHIELDS, E.J. and WYMAN, J.A. 1984. Effect of defoliation at specific growth stages on potato yields. *J. Econ. Entomol. (Bombay)* V. 77, No. 5, p. 1194-1199.
21. VALENCIA, L. 1985. Insectos que afectan a plantas de papa provenientes de semilla botánica. *Lima (Perú), Centro Internacional de la Papa, CIP*. p. 5-12.
22. VERGARA, R., RODRIGO. 1981. Importancia económica de la palomilla del tubérculo de la papa, *Phthorimaea operculella*, En: *Seminario de la palomilla de la papa. Bogotá, Sociedad Colombiana de Etnomología*. p. 23-33.

UNA METODOLOGIA PARA LA LECTURA DE TRAMPAS DE COLOR AMARILLO UTILIZADAS EN LA EVALUACION DE MOSCA BLANCA EN UN CULTIVO COMERCIAL DE TOMATE

Jeannette A. Español¹
Darío Corredor²

RESUMEN

El trabajo fue realizado en los invernaderos ubicados en la Facultad de Agronomía - Bogotá y tuvo, como propósito, determinar la dinámica poblacional y la forma de leer la captura de "mosca blanca" *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homóptera: Aleyrodidae) en un cultivo comercial (mezcla de variedades) de tomate de mesa. Como trampas, se utilizaron tubos de P.V.C. de 0,1 m de diámetro y 1,50 m de largo, pintados con color amarillo oro y provistos de una capa de pegante.

Con los resultados expresados como captura por cm² y con base en el análisis del ciclo de vida, del comportamiento, de la dinámica poblacional y la altura de plantas, se determinó la cantidad de franjas de 0,05 m de ancho que se deben muestrear sobre los estratos inferior, medio y superior de cada trampa a lo largo del ciclo del cultivo.

Se concluye, que, de las nueve franjas de cada tercio vertical de la trampa, resulta confiable leer sólo cuatro de ellas, así: durante los días 1 al 30 de edad del cultivo se debe leer el tercio inferior de la trampa, del día 30 al 50, se debe leer el tercio medio y de 50 hasta los 112 días, el tercio superior de las trampas.

SUMMARY

Population dynamics of the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) was studied in a tomato crop by using sticky yellow traps. The plastic pipe used as trap was 0.1 m in diameter and 1.5 m high. The number of adult whiteflies were counted by square centimeter and the traps were divided in higher, medium and lower vertical sections of 0.45 m each. These sections were subdivided in nine horizontal strips of 0.05 m wide each.

A good estimate of the population was obtained by counting the whiteflies on four of the nine horizontal strips for a vertical section. According to the age of the tomato crop, the lower vertical section of the trap has to be sampled from day 1 to 30, the medium section from day 31 to 50, and the higher section of the trap from day 51 to 112.

INTRODUCCION

La mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), (Homoptera: Aleyrodidae) es una de las principales plagas de importancia económica en los cultivos de hortalizas, flores y ornamentales, bajo condiciones del invernadero.

Al igual que sucede con la mayoría de plagas, existe un desconocimiento generalizado, no sólo de la biología y comportamiento de la mosca blanca, (*Trialeurodes vaporarium*) sino, también, de su dinámica poblacional. A estos factores se suma la falta de una metodología clara de muestreo, que permita evaluar fácilmente la población de adultos y de estados inmaduros y, por consiguiente, determinar los

niveles de daño económico, para implantar en forma racional el empleo de medidas químicas, biológicas o de otra índole, en forma oportuna.

En Holanda, Inglaterra y otros países europeos, se utilizan, con excelentes resultados, diferentes tipos de trampas de color amarillo para el monitoreo de la mosca blanca, dentro del esquema de control integrado. Muchos autores han registrado el éxito de las trampas, no sólo para determinar los niveles de daño de la mosca blanca, sino, también, como medida de control dentro del programa de manejo integrado de plagas.

Russey (1985) cita la importancia de utilizar trampas amarillas para determinar los niveles de la mosca blanca y, así, realizar con éxito una liberación de su parasitoide específico *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae). Las trampas amarillas se han utilizado experimentalmente y en campo como medida de control, colocadas cuando los cultivos están recién sembrados.

Helyer (1985) registra la utilización de trampas amarillas a razón 1 por cada 4,5 m² de cama y el uso de oxamil, como métodos experimentales exitosos en el control de la mosca blanca. Hyssey (1985) comprueba, experimentalmente, la protección ejercida contra la invasión de la mosca blanca al cultivo, por medio de trampas amarillas adhesivas, suspendidas 25 cm por encima de las plantas y en una densidad de 1 trampa por cada 4,5 m² de la cama de propagación. El mismo autor cita trabajos de investigación realizados en Bélgica, Sicilia y el Mediterráneo, en

¹ Estudiante de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

² Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490 Bogotá.

los cuales se confirma el valor de las trampas amarillas colocadas a razón de 1 por cada 5 m², en intervalos de 3 m con hileras alternadas, para el control de la mosca blanca en diferentes cultivos.

El presente trabajo tuvo como objetivo general buscar una metodología de muestreo, para la lectura de una trampa de color amarillo, utilizada para la evaluación de la mosca blanca en un cultivo comercial de tomate.

Entre los objetivos específicos se estableció el tamaño óptimo de la muestra y se determinó el estrato de la trampa en que se debe tomar la muestra, a través de la totalidad del ciclo productivo del cultivo de tomate.

MATERIALES Y METODOS

El trabajo se llevó a cabo en los invernaderos de la Facultad de Agronomía, sede Bogotá, en un cultivo comercial de tomate de mesa, durante todo su ciclo productivo, sembrado en un área de 600 m²

Se utilizaron tres tubos de P.V.C. de 10 cm de diámetro y 1,50 m de altura, pintados de color amarillo oro y las trampas fueron colocadas en el lote, dos semanas después de que las plantas de tomate fueron transplantadas al sitio definitivo y se utilizó, como pegante, aceite de motor SAE40.

La trampa No. 1 se colocó en la calle del cultivo de una variedad de porte bajo, mientras que las Nos. 2 y 3, entre los surcos de una variedad de crecimiento indeterminado (Figuras 1 y 2).

Como la cantidad de insectos capturados por trampa fue alta, se decidió dividir la trampa en tres estratos de 45 cm cada uno. Cada estrato, a la vez, se subdividió en 9 secciones de 5 cm cada una, para un total de 27 franjas por tubo (Figura 3). En cada lectura, se realizó un conteo de la captura de la mosca blanca obtenida en cada franja.

Para determinar el tamaño óptimo de muestra que permitiera estimar la captura total en el tubo, sin necesidad de realizar un conteo en todas las franjas, se utilizó la fórmula de Stein para



Figura 1. Trampa número 1, ubicada en la calle de una variedad de tomate de porte bajo para evaluar la captura de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood).

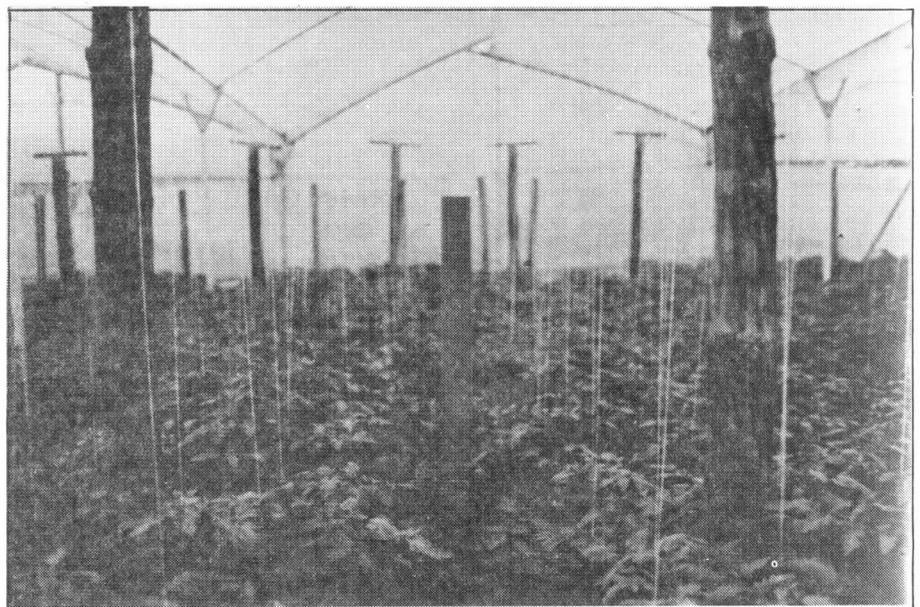


Figura 2. Trampa número 2 ubicada entre los surcos de una variedad de tomate de crecimiento indeterminado, para la captura de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood).

pruebas bietápicas, con la cual se dedujo la cantidad de franjas que se deben evaluar, escogidas al azar:

$$n = \frac{t^2 \times s^2}{d^2}$$

Donde:

n = Número de franjas en el muestreo.

t² = Valor de t en tablas, elevada al cuadrado, obtenida con 8 grados de libertad y alfa de 0,05.

s² = Varianza de la captura por franja, obtenida en la evaluación preliminar para cada estrato.

d² = Diferencia de promedio de captura por franja al cuadrado, seleccio-

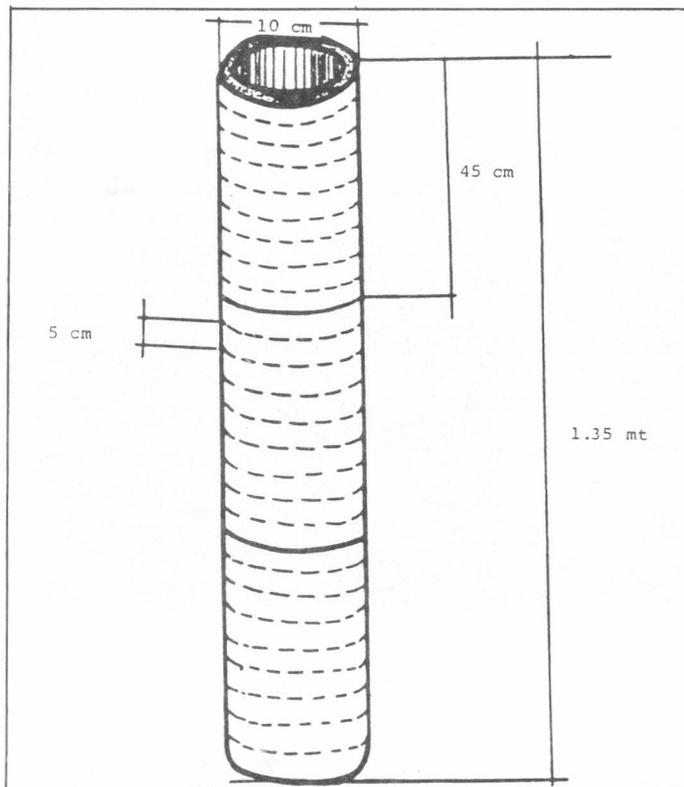


Figura No. 3. Estratificación de la trampa amarilla para realizar la lectura de captura/estrato.

nada para ser significativa. Por conveniencia, se estimó en 1,5 veces la desviación estándar.

El tamaño de muestra se calculó para cada estrato, cada trampa y en cada lectura, para lo cual los datos fueron transformados con raíz cuadrada + 0,5. Steel & Torrie (1980). Los datos antes de transformarse se llevaron a captura por cm^2 .

Para determinar el estrato de la trampa donde se tomaría la muestra a través de todo el ciclo productivo del cultivo, cada uno de los estratos (superior, medio e inferior) se analizó por separado, en tres ciclos de tiempo establecidos teniendo en cuenta el ciclo de vida de la mosca blanca, realizado bajo condiciones de invernadero, el cual tuvo una duración de 49 días.

Por lo tanto, el ciclo número uno, comprendió un período de 20 - 62 días después del transplante del tomate, el ciclo número dos, de 62 a 112 días después del mismo y el ciclo número tres, de 112 a 149 días después del mismo. También, se llevó a cabo un registro de la altura de plantas, para

relacionarlo con la captura en los estratos.

RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo con la fórmula de Stein, se obtuvo un tamaño de muestra de 4 franjas de 5 cm por trampa, para lograr un nivel de precisión adecuado.

A continuación se presenta un ejemplo del desarrollo de la fórmula, considerando el estrato superior de la trampa como número uno y la lectura a los 128 días después del tomate fue transplantedo:

$$\begin{aligned} \text{Promedio captura/cm}^2 &= 3,36 \text{ moscas} \\ \text{Area del estrato} &= 1413 \text{ cm}^2 \\ \text{Captura real por} & \\ \text{estrato} &= 4747 \text{ moscas} \\ s^2 &= 0,0116 \\ d^2 &= 0,0260 \\ t^2 &= 8,2859 \end{aligned}$$

$$n = \frac{8,2859 \times 0,0116}{0,026}$$

$$n = 3,7 = 4 \text{ franjas}$$

De esta manera, se determinó el tamaño de muestra para todos los casos

(Cuadro 1). Con los datos originales de este ejemplo, se obtuvo un coeficiente de variación de 3,5. Al considerar las 4 franjas para muestrear, se espera que el coeficiente de variación aumente a 8,2, lo cual continúa siendo un buen nivel de precisión.

En la práctica, se evaluarán 4 franjas por estrato, escogidas al azar, con lo cual se obtendrá un promedio de captura que se multiplicará por 9, que es la cantidad total de franjas por estrato, para obtener la captura total del estrato.

En cuanto al estrato de la trampa para muestrear a través de todo el ciclo productivo del cultivo, se observó que, durante el ciclo número uno (Figura 4), en el estrato inferior se capturó la mayor cantidad de adultos de la mosca blanca/ cm^2 en las tres trampas muestreadas durante 30 días después del transplante, con relación a los otros estratos. Posteriormente, en el estrato medio, se capturó la mayor cantidad de moscas hasta, aproximadamente los 50 días después del transplante y, por último, en el estrato superior, se logró una mayor captura hasta finalizar el primer ciclo.

Este comportamiento de captura observado sobre las trampas se puede explicar al considerar la altura del cultivo y la actividad de la mosca blanca. Generalmente, las oviposiciones de los adultos de la mosca blanca se realizan en las partes más tiernas de la planta, como son los cogollos y los brotes, originando que la mayor cantidad de adultos de la mosca blanca, durante todo el cultivo, se localice en la parte superior de la planta. Este hecho puede explicar porque, a medida que las plantas del cultivo crecían, el ataque de la mosca blanca reflejado en la captura sobre la trampa, iba cambiando del estrato inferior al estrato superior.

Durante los primeros 30 días después del transplante, las plantas de tomate alcanzaron una altura promedio de 30 cm y la actividad de la mosca blanca se reflejó claramente sobre el estrato inferior de la trampa, el cual presentaba una longitud de 45 cm, a partir del suelo. Al sobrepasar las plantas los 30 cm de altura, la mayor captura se ob-

CUADRO 1. Tamaño de muestra en tubos trampa según la fórmula de Stein.

TUBO = 1							
ESTRATO	LEC	PROMEDIO	DESVSTD	COEFVAR	DIF	PRECIS	MUESTRA
S	66	1.75933	0.084903	4.8259	0.127354	7.2388	3.7
S	73	1.38097	0.046963	3.4007	0.070444	5.1010	3.7
S	87	1.20915	0.062660	5.1822	0.093990	7.7732	3.7
S	94	1.37488	0.066286	4.8212	0.099429	7.2319	3.7
S	104	2.10838	0.215758	10.2334	0.323637	15.3500	3.7
S	111	3.03720	0.230711	7.5962	0.346066	11.3942	3.7
S	121	2.28551	0.080941	3.5415	0.121411	5.3122	3.7
S	128	1.96510	0.10753	5.4833	0.161629	8.2249	3.7
S	135	1.85097	0.076429	4.1291	0.114643	6.1937	3.7
S	142	1.93286	0.165172	8.5455	0.247757	12.8182	3.7
S	149	2.02257	0.124925	6.1765	0.187388	9.2648	3.7
S	156	2.43157	0.123563	5.0816	0.185344	7.6224	3.7
S	163	3.07001	0.137052	4.4642	0.205578	6.6963	3.7
M	66	1.61699	0.196381	12.1448	0.294571	18.2172	3.7
M	73	1.32497	0.119700	9.0342	0.179551	13.5513	3.7
M	87	1.12148	0.115654	10.3127	0.173481	15.4690	3.7
M	94	1.14287	0.102989	9.0115	0.154484	13.5172	3.7
M	104	1.61567	0.275665	17.0620	0.413498	25.5929	3.7
M	111	2.49918	0.418299	16.7374	0.627448	25.1061	3.7
M	121	2.15375	0.174157	8.0862	0.261235	12.1293	3.7
M	128	1.98008	0.126315	3.3793	0.189473	9.5690	3.7
M	135	1.90387	0.114694	3.0242	0.172041	9.0364	3.7
M	142	2.09384	0.112445	5.3703	0.168667	8.0554	3.7
M	149	2.40667	0.103717	4.3096	0.155576	6.4644	3.7
M	156	2.68174	0.025321	0.9442	0.037982	1.4163	3.7
M	163	3.17352	0.039336	1.2395	0.059004	1.8593	3.7
I	94	0.85685	0.096314	11.2406	0.144472	16.8609	3.7
I	104	0.91039	0.147020	16.1492	0.220530	24.2237	3.7
I	111	1.14502	0.202188	17.6581	0.303282	26.4871	3.7
I	121	1.66656	0.145005	8.7009	0.217508	13.0514	3.7
I	128	1.47504	0.100962	6.8443	0.151443	10.2671	3.7
I	135	1.31883	0.205934	15.6149	0.308901	23.4223	3.7
I	142	1.35620	0.214579	15.8221	0.321868	23.7332	3.7
I	149	1.22280	0.383074	31.3277	0.574611	46.9916	3.7
I	156	1.92477	0.320085	16.6714	0.481328	25.0070	3.7
I	163	2.20174	0.438610	19.9210	0.7914	29.8815	3.72757

Cuadro 1. (Continuación)

TUBO = 2							
ESTRATO	LEC	PROMEDIO	DESVSTD	COEFVAR	DIF	PRECIS	MUESTRA
S	69	1.29518	0.211809	16.3537	0.317714	24.5306	3.7
S	121	1.17380	0.317939	27.0863	0.476909	40.6295	3.7
S	128	1.04117	0.219137	21.0472	0.328705	31.5708	3.7
S	135	1.14906	0.247956	21.5789	0.371934	32.3684	3.7
S	142	1.26989	0.211219	16.6329	0.316829	24.9493	3.7
S	149	1.41557	0.093611	6.6130	0.140416	9.9195	3.7
S	156	1.47740	0.314263	21.2713	0.471395	31.9070	3.7
S	163	2.56427	0.182744	7.1265	0.274116	10.6898	3.7
M	121	0.85963	0.030638	3.5641	0.045957	5.3462	3.7
M	128	1.05267	0.127089	12.0731	0.190634	18.1096	3.7
M	135	1.28402	0.129445	10.0813	0.194168	15.1219	3.7
M	142	1.21074	0.158339	13.0779	0.237509	19.6169	3.7
M	149	1.25583	0.014872	1.1842	0.022308	1.7763	3.7
M	156	1.27400	0.123833	9.7200	0.185750	14.5800	3.7
M	163	2.78825	0.135672	4.8658	0.203508	7.2988	3.7
I	121	0.89294	0.036269	4.0617	0.054403	6.0926	3.7
I	128	1.33825	0.255485	19.0910	0.383227	28.6365	3.7
I	135	1.45304	0.291841	20.0849	0.437762	30.1273	3.7
I	142	1.35485	0.227066	16.7594	0.340599	25.1391	3.7
I	149	1.13946	0.174660	15.3283	0.261990	22.9925	3.7
I	156	1.15643	0.042390	3.6656	0.063585	5.4984	3.7
I	163	2.60025	0.401188	15.4288	0.601782	23.1432	3.7

Cuadro 1. (Continuación)

TUBO = 3							
ESTRATO	LEC	PROMEDIO	DESVSTD	COEFVAR	DIF	PRECIS	MUESTRA
S	69	1.47134	0.241074	16.3847	0.361611	24.5770	3.7
S	107	1.64471	0.418061	25.4185	0.627091	38.1277	3.7
S	114	1.70360	0.210891	12.3791	0.316336	18.5687	3.7
S	121	1.40192	0.328199	23.4107	0.492299	35.1160	3.7
S	128	1.63808	0.081929	5.0015	0.122894	7.5023	3.7
S	135	1.34589	0.169270	12.5768	0.253905	18.8652	3.7
S	142	1.38758	0.079272	5.7129	0.118908	8.5694	3.7
S	149	1.28545	0.228925	17.8089	0.343387	26.7134	3.7
S	156	1.58081	0.129426	8.1874	0.194139	12.2810	3.7
S	163	2.70337	0.120026	4.4399	0.180039	6.6598	3.7
M	114	1.76509	0.172397	9.7670	0.258595	14.6505	3.7
M	121	1.53989	0.228439	14.8348	0.342659	22.2522	3.7
M	128	1.72681	0.165225	9.5682	0.247838	14.3523	3.7
M	135	1.83188	0.122062	6.6632	0.183093	9.9948	3.7
M	142	1.44270	0.051636	3.5791	0.077454	5.3686	3.7
M	149	1.44168	0.328425	22.7808	0.492638	34.1712	3.7
M	156	1.67050	0.054965	3.2903	0.082447	4.9355	3.7
M	163	2.78205	0.156986	5.6428	0.235479	8.4642	3.7
I	114	1.30980	0.262366	20.0310	0.393549	30.0464	3.7
I	121	1.43771	0.306016	21.2849	0.459024	31.9274	3.7
I	128	1.65286	0.281601	17.0372	0.422401	25.5558	3.7
I	135	1.54039	0.423521	27.4945	0.635281	41.2417	3.7
I	142	0.95039	0.105309	11.0806	0.157963	16.6209	3.7
I	149	1.27630	0.216697	16.9786	0.325046	25.4679	3.7
I	156	1.43593	0.263013	18.3166	0.394520	27.4749	3.7
I	163	2.55608	0.618836	24.2103	0.928253	36.3155	3.7

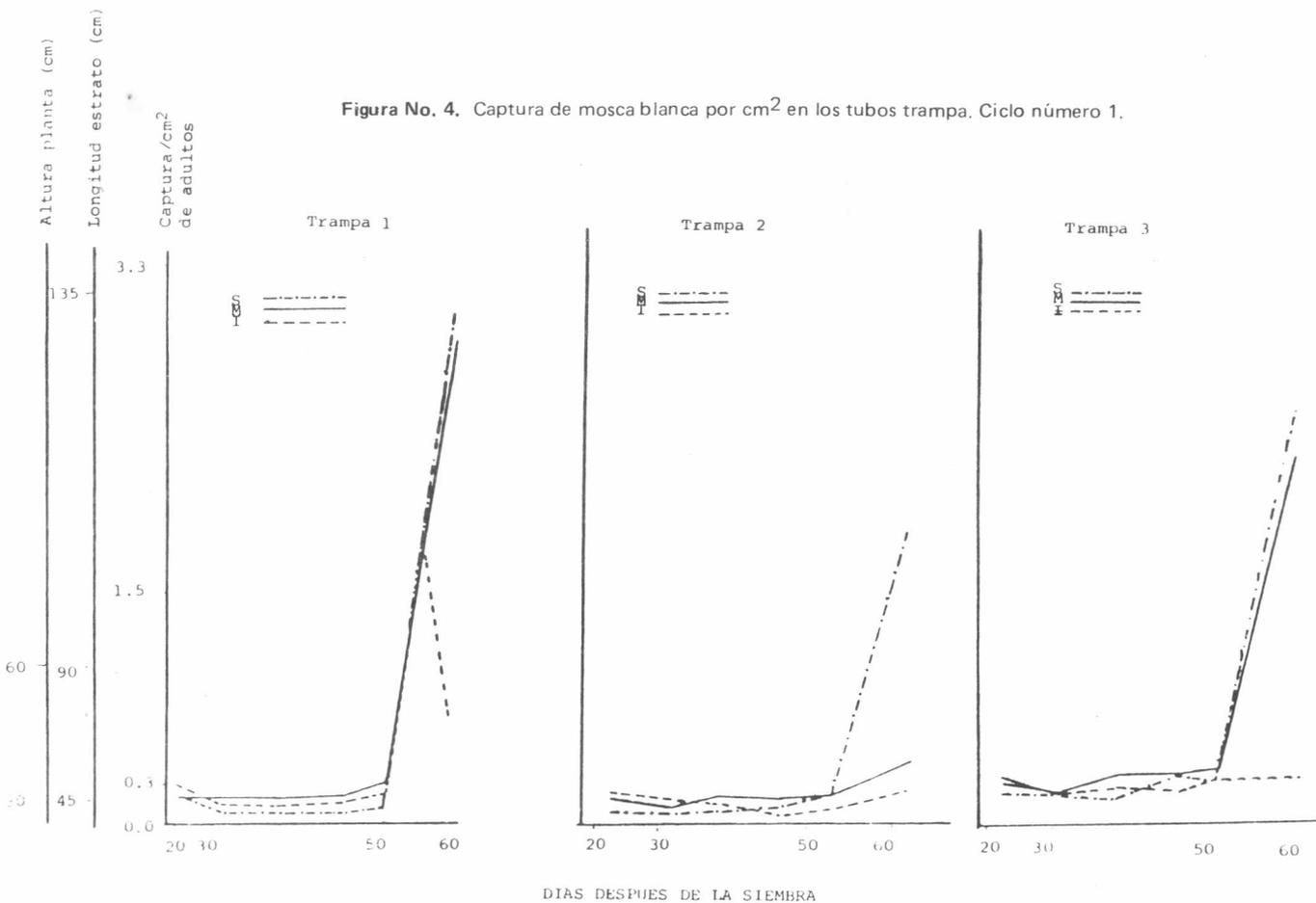


Figura No. 5. Captura de mosca blanca por cm². En los tubos trampa. Ciclo número 2.

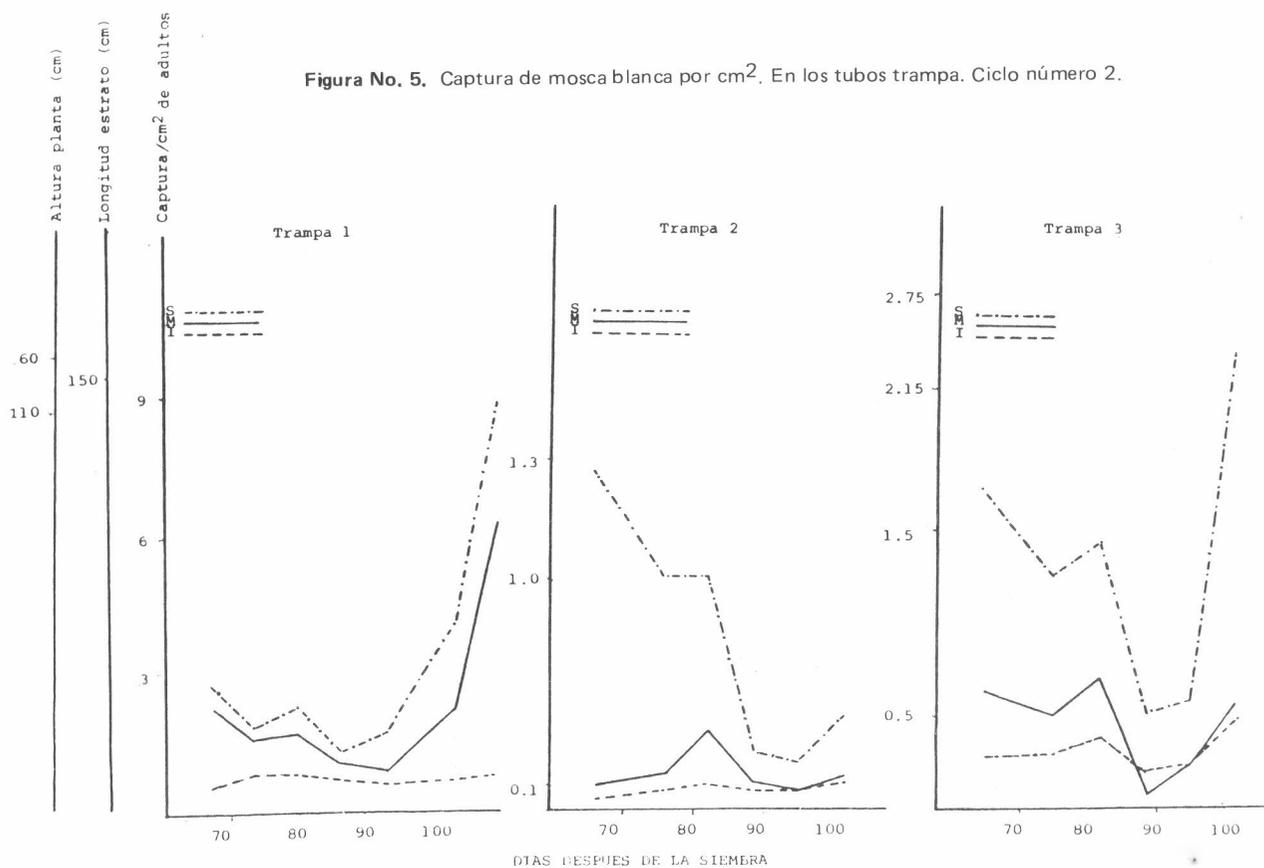
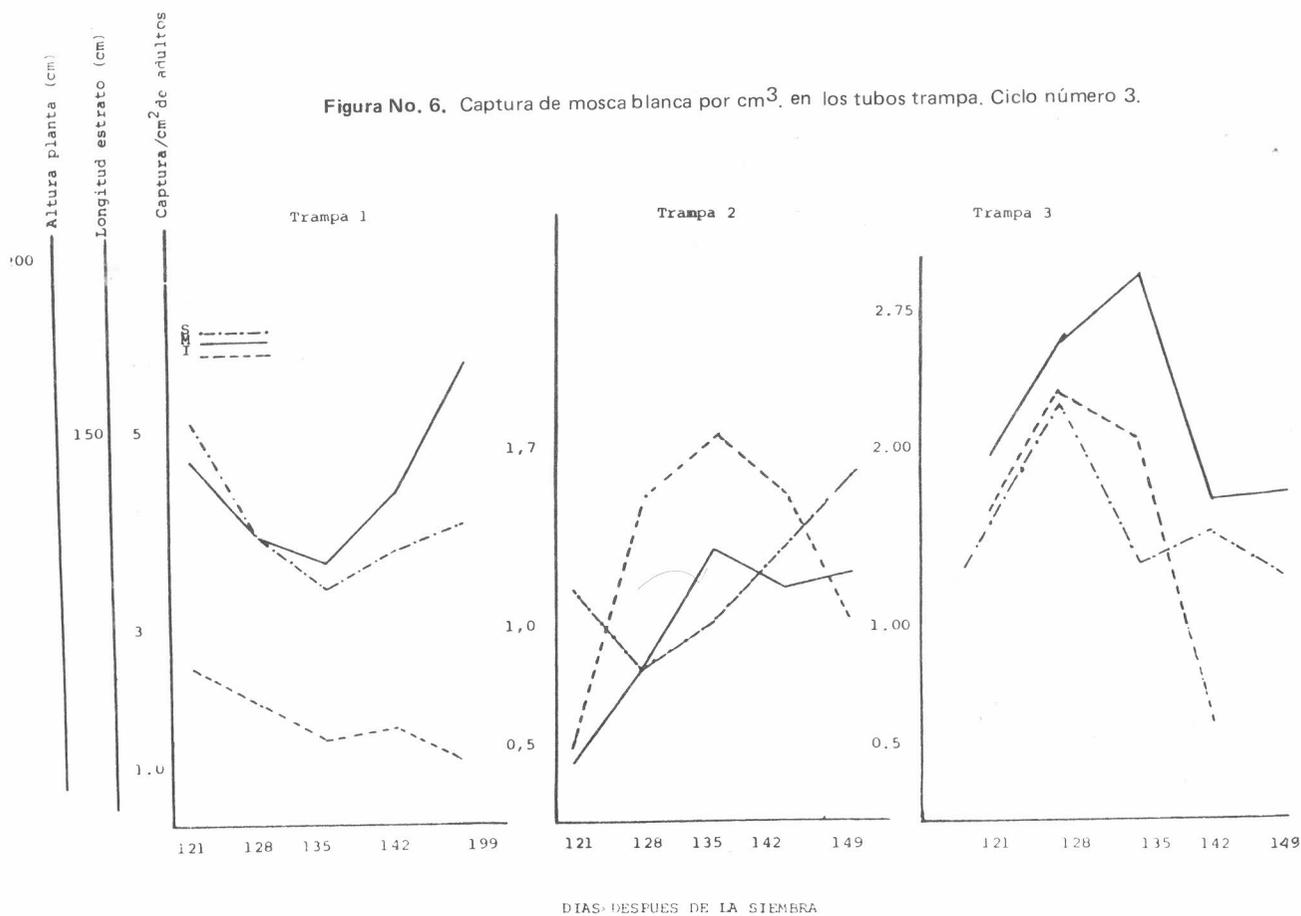


Figura No. 6. Captura de mosca blanca por cm³, en los tubos trampa. Ciclo número 3.



tuvo en el estrato medio, hasta cuando las plantas alcanzaron una altura promedio de 60 cm, aproximadamente, a los 50 días después del trasplante. El estrato medio de la trampa alcanzaba los 90 cm de altura.

Después de los 50 días de trasplantado el tomate, la mayor captura se registró en el estrato superior, cuando las plantas presentaban una altura superior a los 60 cm, mientras que el estrato abarcaba entre los 90 y 135 cm de altura en la trampa.

Durante el ciclo número dos (Figura 5), el estrato superior siguió presentando la mayor captura de adultos de la mosca blanca/cm². Al finalizar el ciclo, las plantas de tomate, en donde se ubicó la trampa No. 1, presentaban una altura promedio de 110 cm, mientras que las plantas, en donde se ubicaron las trampas 2 y 3, presentaban una altura promedio de 160 cm.

Por último, en el ciclo número tres (Figura 6), predominó la captura en el estrato medio, para las trampas 1 y 2. Este resultado indica, posiblemente, que la mosca blanca no busca colonizar los terminales de plantas que midan aproximadamente 2 m de altura. En la trampa 2, predominó el estrato inferior, debido, posiblemente, a que las plantas circundantes a la trampa la cubrían totalmente e impedían la visibilidad de los estratos superior y medio.

Como podemos observar, estos resultados nos permiten seleccionar el estrato

sobre el cual debemos tomar las 4 franjas de captura, teniendo en cuenta la altura de plantas y la fecha de evaluación a través de todo el ciclo productivo del cultivo. De esta forma, el muestreo se realizaría en el estrato inferior durante los primeros 30 días después del trasplante, en el estrato medio, de los 30 a 50 y de los 50 a los 112 días y la etapa final, en el estrato medio.

De acuerdo con lo observado, el estrato predominante en un momento dado contiene alrededor del 50% de la captura total de la trampa. Esto significa que el umbral por estrato será de 100 a 200 moscas blancas.

En un trabajo anterior realizado con la misma metodología de trampas para evaluar la captura de la mosca blanca (presentado por los mismos autores en el Congreso de Entomología en 1986), se determinó un umbral de aviso de 200 a 400 moscas por trampa. Sin embargo, este umbral puede adecuarse a la evaluación por estratos que, en este trabajo, se analizó.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Se determinó un tamaño de muestra de cuatro franjas de 5 cm cada una por trampa, seleccionadas al azar y evaluadas en el estrato inferior durante los primeros 30 días después del trasplante de las plantas y, en el estrato medio, de los 30 a los 50 días después del mismo y,

en el estrato superior, de los 50 a los 112 días después del mismo.

2. Al analizar el comportamiento de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) sobre las trampas de captura, se determinó que el ataque de la mosca blanca de los invernaderos va cambiando, del estrato inferior al estrato superior, a medida que las plantas del cultivo crecen.
3. Se determinó un umbral de aviso de 100 adultos de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) por trampa, el cual se aplicará al estrato de mayor captura.
4. La utilización de trampas amarillas dentro de un esquema de control integrado, se debe considerar, como una herramienta práctica, para determinar la aplicación de cualquier medida de control.

BIBLIOGRAFIA

1. HELYER, N.L. 1985. The ecological selectivity of pesticides. En Hussey y Scopes (eds.) 1985, integrated pest management. Biological Pest control the glasshouse experience. p. 162-165.
2. HUSSEY, N.W. 1985. Whitefly control by parasites biological. Citado por Hussey & Scopes. 1985. p. 104-115.
3. STEEL, R.G. & J.H. TORRIE. 1980. Bioestadística: Principios y procedimientos. Primera edición en español. p. 116.