



Gobierno
Bolivariano
de Venezuela

Ministerio del Poder Popular
para la **Agricultura y Tierras**

Instituto Nacional de **Investigaciones Agrícolas**

omía
Tropical

Agronomía
Tropical

Agronomía
Tropical

Agronomía
Tropical

Agronomía
Tropical

Agronomía Trop. / Vol. 61 / N°2 / Abril - Junio 2011/ISSN 0002-192X

AGRONOMÍA TROPICAL

Agronomía Trop

Revista trimestral del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA)
Maracay, Venezuela

www.inia.gob.ve

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS AGRONOMÍA TROPICAL

Tatiana Pugh Moreno
PRESIDENTE

Orlando Moreno
GERENTE GENERAL

Jonathan Coello
GERENTE DE PRODUCCIÓN SOCIAL

Margaret Gutiérrez
GERENTE DE INVESTIGACIÓN e INNOVACIÓN TECNOLÓGICA

FUNDADORES (AS)

Luis Medina (Dir.), Bruno Mazzani†, W. S. Iljin, Rafael Pontis Videla, Jesús Silva Calvo, Gino Malagutti, Guiseppe Ravello, Luis A. Salas F., S. Horovitz, P. Obregón y Dora M. de Zerpa.

COORDINACIÓN EDITORIAL

Tatiana Pugh
EDITORA JEFE

María Escalona
EDITORA ASISTENTE

Thamara Rojas
EDITOR TÉCNICO

Teófilo Guillén
SEGUIMIENTO

Carmen Solórzano
DIAGRAMADORA

EDITORES (AS) ASOCIADOS (AS)

Abarca, Oscar. ACAV
Acevedo, Marco. INIA
Brito, Julia. INIA
Cásares, Marjorie. UCV

Gutiérrez, Margaret. INIA
Ortiz, Aida. UCV
Pérez, Delis. INIA
Velásquez, Lorenzo. INIA

CONSEJO DE REDACCIÓN

Aparecido, Rodrigo. ESA. Brasil
Baldizán, Alfredo. UNERG
Boroto, Omelio. ICA. Cuba
Cadenas, Maryorie. FUNDACITE
Centeno, Ángel. UCV
Colmenares, Griselda. UCV
Comerma, Juan. INIA
Daiuto, Erika. UNESP. Brasil
De Freitas, Elías. EMBRAPA. Brasil
Díaz, Daniel. INTA. Argentina
Fuch, Morela. INIA
Garea, Bárbara. INSTEC. Cuba
Gil, Freddy. UCV
Hidalgo, Carlos. INIA
Kosky, Rafael. IBP. Cuba
Marín, Marilyn. INIA
Martínez, Siomara. CENSA. Cuba

Méndez, Jesús. UDO
Montilla, Joan. INIA
Núñez, Mauricio. ACAV
Ordosgoitti, Alfonso. INIA
Ormeño, Mariangélica. INIA
Perozo, José. INIA
Quijada, Osmar. INIA
Rengifo, Oscar. UNERG
Rodríguez, Iraida. INIA
Rojas, Thamara. INIA
Romero, Alfredo. INIA
Salazar, Margelys. INIA
Sánchez, Iris. INIA
Silva, Iris. INIA
Tablada, Lydia. CENSA. Cuba
Vergara, Juan. INIA
Vivas, Luis. INIA

TABLA DE CONTENIDO

Artículos:	Pág.
PORRAS Y., E. E. y M. GALLARDO. Caracterización agronómica de materiales genéticos de papa en la localidad Lomas de Cubiro, estado Lara, Venezuela..... Agronomic characterization of potato genetic material, at Lomas of Cubiro, State of Lara, Venezuela.	105
RODRÍGUEZ H., M. G., L. P. DÍAZ-VIRULICHE, D. HERNÁNDEZ O., J. HERNÁNDEZ, R. ENRIQUE R., L. GÓMEZ G., I. MIRANDA C., L. C. ROSALES y Z. SUÁREZ H. Impacto de la biofumigación y materiales orgánicos en la recuperación de viñedo infestado con nematodos agalleros..... Impact of biofumigation and organic materials on recovery of one vineyard infested whit root knot nematodes.	113
CHEN, P., E. SALAZAR, H. FERNÁNDEZ, L. CASTRO, A. RUSSO y S. VÁSQUEZ. Detección de polimorfismos RAPD en materiales de <i>Musa</i> sp. con respuesta diferencial al ataque de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>musacearum</i> Detection of RAPD polymorphisms in <i>Musa</i> sp. materials with differential response to the attack of <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>musacearum</i> .	125
GÁMEZ LÓPEZ, A. J., M. HERNÁNDEZ, R. DÍAZ y J. VARGAS. Caracterización de la flora arvense asociada a un cultivo de maíz bajo riego para producción de jojotos..... Characterization of weed flora related to maize crop under irrigation jojotos production.	133
BRICEÑO, G., J. GARCÍA, A. MASELLI y L. C. ROSALES. Efecto de extractos etanólicos de ruda y nim sobre el control de bacterias fitopatógenas del género <i>Erwinia</i> Effect of ethanolic extracts of rue and neem on the control of phytopathogenic bacteria of the genus <i>Erwinia</i> .	141
SÁNCHEZ, M. del C., R. FIGUEROA, A. CAMPOS y R. ROMERO. Evaluación del color y de la orientación de trampas adhesivas en la atracción de Trips en siembras comerciales de vainita..... Evaluation of color and location preference of trips within commercial a string beans culture.	149
Notas Técnicas:	
OSORIO DELGADO, M., A. VEGAS GARCÍA, A. MARQUES URDANETA y L. GONZÁLEZ PÉREZ. Condiciones para la amplificación de microsatélites en cultivares de papa..... Conditions for amplification microsatellites in potato cultivars.	159

CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA DE MATERIALES GENÉTICOS DE PAPA EN LA LOCALIDAD LOMAS DE CUBIRO, ESTADO LARA, VENEZUELA

AGRONOMIC CHARACTERIZATION OF POTATO GENETIC MATERIAL, AT LOMAS OF CUBIRO, STATE OF LARA, VENEZUELA

Ericka E. Porras Y.* y Mirian Gallardo**

*Técnico Asociado a la Investigación (TAI) e **Investigadora jubilada, respectivamente. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Lara). Barquisimeto, estado Lara. Venezuela.
Correo electrónico: erickaelena@yahoo.com

RESUMEN

En la búsqueda de materiales de papa, *Solanum tuberosum* L., adaptados a las diferentes áreas de Venezuela, se evaluaron las características agronómicas de cinco materiales genéticos: Tibisay, Granola, Andinita, el clon 392639-1 y Kennebec (variedad de control) en la localidad Lomas de Cubiro, estado Lara. El experimento fue instalado bajo un diseño de bloques al azar. Se determinó la emergencia, hábito de crecimiento, vigor, altura de la planta, el rendimiento y la madurez de la cosecha. Los datos fueron analizados con el programa SPSS versión de Windows 18 y mostraron diferencias significativas al 5%. El Tibisay variedades, Granola y Andinita, presentó el mayor porcentaje de emergencia, que fueron superiores al control Kennebec. El clon 392639-1, expresó poco menos vigor y altura de la planta. Las variedades más tempranas, granola y Kennebec, alcanzaron la madurez a los 90 días después de la plantación (DDP), el resto de los materiales se recogieron en 130 DDP hasta cumplir su ciclo fenológico. Los rendimientos de Andinita, Tibisay y Granola fueron 41,25; 37,18 y 31,04 t ha⁻¹, respectivamente, y estadísticamente superior a Kennebec, cuyo rendimiento fue de 12,27 t ha⁻¹, similar al promedio reportado (12,08 t ha⁻¹) en el estado de Lara en 2010 por el Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras (MPPAT). Las variedades Andinita y Tibisay expresaron el mayor potencial agronómico para el área, lo que resulta en la aceptación por los productores.

Palabras Clave: *Solanum tuberosum* L.; materiales genéticos; caracterización agronómica.

SUMMARY

In the search for materials of potato, *Solanum tuberosum* L., adapted to different areas of Venezuela, were evaluated for agronomic characteristics of five genetic materials: Tibisay, Granola, Andinita, the clone 392639-1 y Kennebec (control variety) at the locality Lomas de Cubiro, Lara State. The experiment was installed under a randomized block design. was determined Emergency, growth habit, vigor, plant height, yield and maturity of the crop. Data was analyzed using SPSS Windows version 18 and showed significant differences at 5%. The varieties Tibisay, Granola and Andinita, showed the highest percentage of emergence, which were higher than the Kennebec control. The clone 392639-1, expressed little less vigor and plant height. The earliest varieties, Granola and Kennebec, reached maturity at 90 days after planting (DDP), the rest of the materials were harvested at 130 DDP until fulfill its phenological cycle. Yields of Andinita, Tibisay and Granola were 41.25; 37.18 and 31.04 t ha⁻¹, respectively and statistically superior to Kennebec, whose yield was 12.27 t ha⁻¹, similar to the average reported for Lara state in 2010 by the MPPAT (12.08 t ha⁻¹). The varieties Andinita y Tibisay expressed the best agronomic potential for the area, resulting in acceptance by producers.

Key Word: *Solanum tuberosum* L.; genetic materials; agronomic characterization.

RECIBIDO: junio 28, 2011

APROBADO: mayo 17, 2012

INTRODUCCIÓN

La papa, *Solanum tuberosum* L., es uno de los cultivos alimenticios más importantes, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, cuya producción de proteínas y energía, por unidad de tiempo y superficie, es superior a todos los otros cultivos. Su proteína es particularmente valiosa debido a su contenido de aminoácidos esenciales, cualidad que no es común en otras plantas (García y Salas, 2005). En el renglón de raíces y tubérculos es uno de los rubros alimenticios de mayor consumo nacional (Gil *et al.*, 1998).

La producción de papa en Venezuela se destina tanto para consumo fresco como para la agroindustria. Según estadísticas de la FAO (2008), en el 2007 la producción de este rubro sobre un área cosechada de 24 552 ha, alcanzó 456 661 t, con un rendimiento promedio de 18,67 t ha⁻¹.

Por otra parte, el país forma parte del centro de masificación de las especies de papa. La obtención de variedades con altos rendimientos y mejores características para el consumo fresco en función de los diversos pisos climáticos, inició sus logros con el subproyecto nacional de mejoramiento genético de papa (1984-1987). De este modo, se contempló el desarrollo y aplicación de técnicas biotecnológicas para la mejora, multiplicación y conservación de la base genética de las diferentes accesiones enviadas por el Centro Internacional de la Papa (CIP) Lima - Perú (González *et al.*, 2005).

El estado Lara es el cuarto productor de papa a nivel nacional, su producción está concentrada sobre los 1 000 m.s.n.m. en condiciones de clima y suelo favorables al cultivo (Pérez *et al.*, 2005). Considerando fortalecer la soberanía alimentaria del país, para el presente trabajo se seleccionaron variedades con características agronómicas de cinco materiales genéticos: 'Tibisay', 'Granola', 'Andinita', el clon 392639-1 y 'Kennebec' (variedad testigo), adaptadas a las condiciones agroclimáticas de la zona en estudio, a la demanda de los agricultores y a la demanda del mercado, de manera que estos materiales expresen su potencial con calidad genética y sanitaria confiable.

A continuación se presenta una breve descripción sobre los diferentes materiales genéticos utilizados en el ensayo:

Kennebec, originario de Canadá, tiene gran adaptación a pisos bajos e intermedios (800 a 1 600 m.s.n.m.), es

susceptible a *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary e inmune al virus A de la papa (siglas en inglés, PVA). Esta variedad es sembrada comúnmente por los productores de las zonas altas del estado Lara, por su alta producción y patrón de preferencia en el mercado para consumo fresco (González *et al.*, 2005).

Granola, cuyo país de origen es Alemania, tiene gran adaptación a pisos altos de 1 800 a 2 800 m.s.n.m. (González *et al.*, 2005); es altamente susceptible a *P. infestans*, ocasionando grandes pérdidas en la cosecha y altos costos en el manejo ambiental y de salud humana (Quintero *et al.*, 2009). Los productores de los estados andinos del país siembran mayormente, por su precocidad y preferencia en el mercado para consumo fresco (García *et al.*, 2005).

Andinita, su país de origen es Venezuela (González *et al.*, 2005), pertenece al grupo denominado Población A con resistencia vertical a *P. infestans*, lo cual representa una ventaja agronómica para una agricultura sostenible y agroecológica. Esta población es producto de la primera selección de clones avanzados introducidos al país a principios de la década de 1980 por el Centro Internacional de la Papa (CIP; Rodríguez *et al.*, 2008). Es sembrada en los pisos intermedios del estado Lara (1 600 a 1 800 m.s.n.m.) con mayor rendimiento que Granola. Su uso se destina al consumo fresco (Quintero *et al.*, 2009).

Tibisay, fue liberada en Venezuela en el año 2006; tuvo gran aceptación por parte de los productores en un rango de altitud por encima de 1 600 m.s.n.m. Es una variedad tolerante a *P. infestans*, susceptible al virus X de la papa (con siglas en inglés PVX) o del mosaico rugoso y resistente a vientos fuertes. Su uso se destina al consumo fresco (González, 2006; González *et al.*, 2005).

El clon 392639-1, pertenece al lote de clones denominados Población B caracterizado por presentar resistencia horizontal a *P. infestans*; es producto de la segunda selección de clones avanzados introducidos al país en la década de 1990 por el CIP (Rodríguez *et al.*, 2008), se encuentra actualmente en proceso de estudio.

Evaluaciones realizadas por investigadores y fitomejoradores para este clon, en diferentes zonas andinas del país lo cataloga como material elegible por presentar mejores respuestas en pisos altitudinales entre los 1 600 a 1 800 m.s.n.m., con características de mercado aceptables para consumo fresco (Meza *et al.*, 2008, 2009; Quintero *et al.*, 2009).

La producción sostenible de este tubérculo en el país, se limita por diversos factores, entre ellos: escaso financiamiento para la siembra, dificultades en las cadenas de distribución y bajo nivel de organización, que conlleva a la dependencia de la importación de semilla de papa para consumo, desde países como: Alemania, Canadá, Holanda y Colombia (García y Salas, 2005); además, una baja disponibilidad de semilla de calidad genética y sanitaria confiable, desconocimiento de nuevos materiales promisorios por parte de los productores, escasez de variedades comerciales adaptadas a los diferentes ambientes agroecológicos y costos elevados, a los que los productores consiguen las variedades comerciales, donde las semillas importadas Kennebec y Granola son las más comunes (Pérez *et al.*, 2005).

Aunado a ello, en el campo se emplean prácticas agronómicas inadecuadas y existen escasas técnicas de manejo postcosecha de los tubérculos, acarreado grandes pérdidas (Meza *et al.*, 2008).

Los productores de papa del país, en su mayoría son pequeños agricultores dedicados a producir para el consumo fresco, satisfaciendo el mercado nacional. En la práctica, están ejerciendo la política de reproducción, distribución, almacenamiento y diversificación (o mono especificidad) varietal (Romero y Monasterio, 2005), lo cual conlleva a utilizar los mismos materiales en cultivos sucesivos para el establecimiento de nuevas plantaciones, derivando en bajos rendimientos y calidad deficiente (Pérez *et al.*, 2005).

En la actualidad, se ha dado énfasis a la participación del productor en los programas de fitomejoramiento como un método efectivo para dar a conocer cultivares liberados que se adapten a los diferentes ambientes agroecológicos donde se cultiva, para mayor aceptación y difusión entre todos los actores de esta cadena agroproductiva (desarrollo endógeno). En la búsqueda de alternativas, este trabajo se presenta con el objetivo de evaluar las características agronómicas de cinco materiales genéticos de papa, en la localidad Lomas de Cubiro, municipio Jiménez del estado Lara, Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en la localidad La Loma, ubicada a 6 km de la población de Cubiro, parroquia Diego de Lozada, municipio Jiménez, estado Lara, durante el ciclo de cultivo mayo - septiembre del 2009. El área se encuentra georeferenciada a 9° 49 latitud norte, 69° 32 longitud oeste y 1 658 m.s.n.m. de altitud.

Las condiciones climatológicas que prevalecieron en la localidad fueron las siguientes: temperatura promedio de 18,3 °C, precipitación anual de 721,56 mm y evaporación potencial de 118,5 mm (INIA, 2009).

Los materiales genéticos evaluados fueron: Tibisay, Granola, Andinita, el clon 392639-1 y la variedad comercial Kennebec que se consideró como testigo. El diseño utilizado fue de bloques al azar con cinco repeticiones. De cada material se plantaron tubérculos enteros con un peso variable entre 20 a 100 g, en cinco hileras de 3 m de largo cada una, separadas entre sí a 0,80 m y una distancia entre plantas de 0,30 m. El manejo agronómico utilizado fue el tradicional de la zona; realizándose la preparación del terreno, surcado, aporques y cosecha con pase de charruga con tracción animal. La fertilización estuvo acorde a los resultados del análisis de fertilidad y las aplicaciones de insecticidas y fungicidas fueron preventivas.

El desarrollo vegetal se evidenció a través de la emergencia, que fue considerada por el crecimiento de los brotes de los tubérculos semilla que emergieron sobre la superficie del suelo. Las plantas presentes en los tres hilos centrales de cada material se contaron por bloque a los 28 días después de la plantación (DDP), cuyos datos se relacionaron porcentualmente. El resto de las variables evaluadas son medidas de acuerdo a lo establecido por el CIP (Zósimo, 1994), siendo:

Hábito de la planta: a los 60 DDP se evaluó el porte de la planta de la siguiente manera: Erecto= 1, Semi-erecto= 2, Decumbente= 3, Postrado= 4, Semi-arrosetado= 5 y Rosetado= 6, considerando el bloque completo por cada material evaluado.

Vigor: esta variable se evaluó a los 66 DDP, observando de forma completa cada parcela experimental por tratamiento según la escala 1-10, donde Muy malo= 1; Malo= 3; Regular= 5; Bueno= 6; Muy bueno= 7-8 y Excelente= 9.

Altura de la planta: la evaluación de esta variable se realizó a los 66 DDP, midiendo la altura a 10 plantas, tomadas al azar en los tres hilos centrales de cada material por bloque.

Rendimiento: se realizó la cosecha de acuerdo al estado de madurez de las plantas, colectando por material los tubérculos producidos en cada parcela y por bloque. Los tubérculos cosechados de cada material, fueron pesados y la producción se expresó en tonelada por hectárea.

Madurez: se determinó acorde a la etapa de senescencia del cultivo, clasificada de la siguiente manera: muy precoz = menor a 90 DDP, precoz= entre 90 y 119 DDP, medio= entre 120 y 149 DDP, tardío= entre 150 y 180 DDP y muy tardío= mayor a 180 DDP.

Los resultados obtenidos fueron evaluados utilizando análisis de varianza y prueba de Duncan para las variables cuantitativas que resultaron con diferencias significativas. Los datos se analizaron con el programa estadístico SPSS 18 versión Windows, con un nivel de significación del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los porcentajes de emergencia se indica en el Cuadro 1, en donde las variedades Granola (95,33%), Andinita (90,67%) y Tibusay (82 %) presentan valores superiores al 80%, en comparación con la variedad testigo (58,67%) y el clon 392639-1 (67,33%), quienes estadísticamente resultaron similares.

CUADRO 1. Porcentaje de emergencia en los materiales genéticos evaluados.

Materiales Genéticos	Emergencia (%)
Granola	95,33 a
Andinita	90,67 a
Tibusay	82,00 a
392639-1	67,33 b
Testigo	58,67 b

Letras diferentes indican diferencias significativas (Duncan, $P < 0,05$).

El resultado de emergencia para este último material (clon 392639-1), contradice a los obtenidos por otros investigadores en trabajos relacionados, que lo evaluaron en un rango altitudinal entre los 1 450 y 2 667 m.s.n.m., y presenta un porcentaje de emergencia superior al 85%, muy similares al rango altitudinal (Meza *et al.*, 2008 y 2009). En consecuencia señalan que este clon es un material con una amplia gama de adaptabilidad a los patrones agroclimáticos donde se ha cultivado.

Otra variable a considerar fue el tiempo en el cual los brotes de los tubérculos rompen la superficie del suelo y emergen, tomando en cuenta los DDP de la semilla asexual; para el ensayo, la emergencia fue observada a los 28 DDP, mientras que la evaluación de emergencia realizada por Quintero *et al.* (2009) varió entre los 29 y 35 DDP a una altitud de 2 100 m.s.n.m., y entre los 40 y 50 DDP a una altitud de 2 827 m.s.n.m. A tal efecto, se podría decir que la emergencia de los materiales genéticos de papa, está influenciada directamente por la altitud del área donde se cultiva.

En el Cuadro 2 se muestra el hábito de crecimiento de las plantas. Para las variedades Tibusay, Andinita y el clon 392639-1 el porte fue decumbente, coincidiendo con los resultados de Quintero *et al.* (2009). Cabe señalar que las plantas con este porte permiten una mayor densidad poblacional y facilitan las labores culturales en campo.

CUADRO 2. Hábito de crecimiento de los materiales genéticos evaluados.

Materiales genéticos	Hábito de crecimiento
Tibusay	3
392639-1	3
Andinita	3
Granola	5
Testigo	5

Hábito de crecimiento (porte): 1= Erecto, 2= Semi-erecto, 3= Decumbente, 4= Postrado, 5= Semi-arrosetado y 6= Rosetado.

Por otro lado, Granola y Kennebec expresaron un porte semi-arrosetado. Por consiguiente, conocer el hábito de crecimiento de las plantas resulta ser de importancia al momento de planificar las labores agrícolas que serán realizadas al cultivo, como por ejemplo: densidad de siembra, altura del aporque, ubicación de los aspersores del sistema de riego, entre otras; estas labores deben estar acorde con la arquitectura de las plantas y el destino de la cosecha, bien sea para semilla o consumo (Molina *et al.*, 2004).

Respecto al vigor, se encontró que todos los materiales evaluados demostraron buen desarrollo vegetativo, a excepción del clon 392639-1, que posiblemente estuvo influenciado por las condiciones agroclimáticas imperantes en la zona. Sin embargo, este resultado contradice

con lo señalado por Quintero *et al.* (2009) y Meza *et al.* (2009), quienes evaluaron el mismo clon, en un rango altitudinal entre los 1 627 y 2 827 m.s.n.m., manifestando un buen vigor.

Es preciso destacar, así como lo establece Montero *et al.* (2005), que las variedades con mejor desarrollo vegetativo poseen mayor área foliar para la producción de fotosintatos, siendo estos indispensables como fuente de energía para el futuro crecimiento y desarrollo de las plantas.

Además, otra de las variables evaluadas fue la altura de las plantas, cuyo valor osciló entre 39,90 y 48,14 cm (ver Figura). En torno a Tibisay y Andinita, alcanzaron una altura significativamente superior al testigo (43,76 cm), con valores de 47,80 y 48,18 cm, respectivamente; variedades que sobresalen al resto de los materiales, porque poseen mayor área para la producción de carbohidratos y una alta capacidad de acumular energía, por consiguiente, cumple con los procesos fisiológicos en cada una de las fases fenológicas del cultivo.

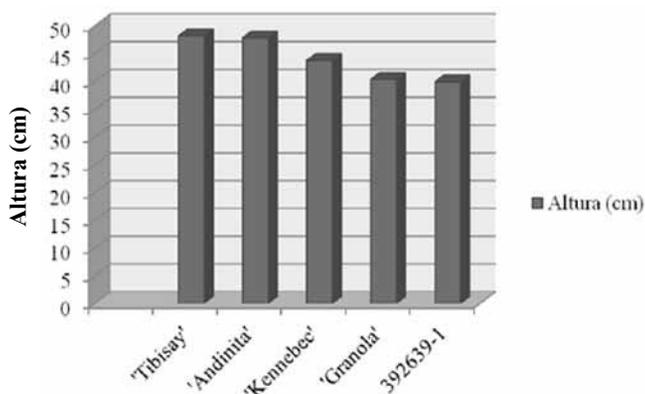


FIGURA. Altura de los materiales genéticos evaluados.

De acuerdo con lo establecido por Zósimo (1994), la altura alcanzada por los materiales evaluados fue baja. En efecto, esta condición es una característica deseable para la planta, lo cual permite realizar las labores agronómicas del cultivo. Asimismo, Quintero *et al.* (2009), señalan que las plantas con altura baja resultan deseables para aminorar los daños mecánicos ocasionados por los fuertes vientos que ocurren en las zonas andinas.

El rendimiento de las variedades Andinita, Tibisay y Granola fue estadísticamente superior al testigo, con valores de 41 t ha⁻¹, 37 t ha⁻¹ y 31 t ha⁻¹, respectivamente (Cuadro 3). De manera general, todos los materiales evaluados superaron a la variedad testigo (12,27 t ha⁻¹), cuyo rendimiento fue muy semejante al promedio del estado Lara en el 2010 (MPPAT, 2010), donde alcanzó las 12,08 t ha⁻¹, además es la variedad más usada por los productores en las plantaciones de papa de ese estado (Rodríguez *et al.*, 2008).

CUADRO 3. Rendimiento y ciclo de madurez de los materiales genéticos.

Materiales genéticos	Rendimiento (t ha ⁻¹)	Días hasta la maduración
Andinita	41,25 a	100-130
Tibisay	37,18 a	100-130
Granola	31,04 a	80-90
392639-1	12,71 c	100-130
Testigo	12,27 c	80-90

Letras diferentes indican diferencias significativas (Duncan, P<0,05).

En otros reportes de producción de materiales genéticos de papa, investigadores hallaron que el rendimiento estuvo influenciado por la adaptación de los materiales a los diferentes pisos climáticos en los cuales se cultiva. Según evaluaciones realizadas por Niño *et al.* (2004) en las variedades Tibisay, Andinita y Granola, a una altitud de 3 100 m.s.n.m., obtuvieron buenos rendimientos con valores de 49, 55 y 20 t ha⁻¹, respectivamente.

Al respecto, Quintero *et al.* (2009) evaluaron la variedad Andinita y el clon 392639-1 a una altitud de 2 100 y 2 827 m.s.n.m., demostrando diferencias en el rendimiento de las dos localidades, en el que Andinita presentó el mayor potencial productivo a 2 100 m.s.n.m., mientras que el clon 392639-1 se destacó a 2 827 m.s.n.m.

Meza *et al.* (2009) evaluaron la variedad Granola y el clon 392639-1 a una altitud de 1 627 m.s.n.m., encontrando valores de 23 y 34 t ha⁻¹, respectivamente. En contraste, Rodríguez *et al.* (2008) en Andinita, Kennebec y el clon 392639-1, obtienen rendimientos inferiores a una altura de 1 400 m.s.n.m. Por el contrario, este último material (392629-1) señalado por Meza *et al.*

(2008), a una altitud de 1 450 m.s.n.m., superó al logrado en este ensayo (37,98 t ha⁻¹) y produjo tubérculos de mejores características para el consumo fresco.

El tiempo que tardó la variedad Granola para llegar a la maduración (80-90 DDP) fue igual a la variedad testigo, resultando éstas más precoces (Cuadro 3) en comparación al resto de los materiales evaluados, que mostraron un ciclo fenológico que osciló entre los 100-130 DDP con una madurez media.

De manera similar, los resultados de esta investigación concuerdan con los obtenidos por Rodríguez *et al.* (2008) en su evaluación con las variedades Andinita, Kennebec y el clon 392629-1 en la localidad de Cubiro, estado Lara, indicando que el tiempo tomado en los materiales para llegar a la maduración fue de 100 DDP, 80 DDP y 100 DDP, respectivamente. Igualmente, Quintero *et al.* (2009) con la variedad Andinita y clones de la familia del 392639, evaluados en Marajabú y Cabimbu, estado Trujillo, cumplieron su etapa de maduración luego de los 100 DDP. Asimismo, Meza *et al.* (2009), evaluando la variedad Granola y el clon 392629-1 en la localidad de Cuencas, estado Trujillo, demostraron que la maduración de estos materiales fue a los 90 DDP y 120 DDP, respectivamente.

Las variedades que pertenecen a la subespecie *Tuberosum* tienen un período vegetativo más corto, de 4 a 5 meses (Montero *et al.*, 2005), utilizadas en las zonas bajas (Sarmiento y Bowen, 2002); mientras que para los materiales con características de la subespecie *Andigenum*, el período vegetativo puede durar de 5 a 7 meses (Montero *et al.*, 2005), es decir, presenta un ciclo de vida más largo y pueden significar una buena alternativa por su menor requerimiento de insumos (Sarmiento y Bowen, 2002).

CONCLUSIONES

- El mejor potencial agronómico (emergencia, características fenotípicas y rendimiento) lo manifestaron las variedades Andinita y Tibisay en comparación con la variedad comercial Kennebec (variedad testigo). Por esta razón, sería recomendable establecer una campaña de promoción de estas variedades, acompañada de un programa de producción de semilla sana, que garantice la disponibilidad de material de siembra de buena calidad a los agricultores de la zona interesados en plantarlas.
- La variedad Granola, a pesar de presentar buen porcentaje de emergencia y rendimiento superior al

testigo, fue afectada por *P. infestans* con desventajas agronómicas (elevados costos de producción). De igual manera, el clon 392639-1, no calificó como material promisorio para la zona.

AGRADECIMIENTO

Al M.V. Spiridione Puzzar de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA), por su apoyo en los análisis estadísticos.

BIBLIOGRAFÍA

- Food and Agriculture Organization (FAO). 2008. FAOSTAT. Disponible en: http://www.potato2008.org/es/mundo/america_latina.html. Consultado el 10 de julio de 2010.
- García, R., L. Niño y A. Vargas. 2005. Problemas sanitarios relacionados con la producción de tubérculos - semilla de papa. **In:** Producción de semilla de papa en Venezuela. 1^{ra} Ed. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Serie Manuales de Cultivo INIA. Mérida, Venezuela. 5:56 p.
- García, R. y J. Salas. 2005. Aspectos generales del cultivo de la papa. **In:** Producción de semilla de papa en Venezuela. 1^{ra} Ed. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Serie Manuales de Cultivo INIA. Mérida, Venezuela. 5:17- 29.
- Gil, R., G. Olmos, J. Zambrano e I. Quintero. 1998. Comparación de métodos para la determinación de algunos parámetros de calidad de los tubérculos de papa, variedades Granola y Lirio Rojo. Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort. 42:456-460.
- González, L., A. Vargas, L. Niño y J. Salas. 2005. Experiencias generales del fitomejoramiento de papa en Venezuela. **In:** Producción de semilla de papa en Venezuela. 1^{ra} Ed. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Serie Manuales de Cultivo INIA. Mérida, Venezuela. 5:117-140.
- González, L. 2006. Informe para solicitar elegibilidad de Tibisay. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Código de Registro de SENASEM 20032. Mérida, Venezuela. 1-17 pp.
- Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). 2009. Red Agro-meteorológica (en línea). Disponible

- en: <http://agrometeorologia.inia.gob.ve>. Consultado el 18 de septiembre de 2010.
- Meza, N., J. Herrera, S. Gudiño y S. Tejera. 2008. Evaluación de tres clones promisorios de papa (*Solanum tuberosum* L.) en dos localidades del estado Trujillo, Venezuela. Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort. 52:58-60.
- Meza, N., J. Herrera y S. Gudiño. 2009. Comportamiento de clones promisorios de papa (*Solanum tuberosum* L.) en la localidad de Cuencas, estado Trujillo, Venezuela. Bioagro. 21(2):149-151.
- Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierra (MPPAT). 2010. División de Economía Agrícola. Histórico/Año//Rubros Estratégicos del Estado Lara. Períodos 1997-2008. Rubro Papa Consumo. Consultado el 05 de abril de 2010. Oficina Regional.
- Molina, J., B. Santos y L. Aguilar. 2004. Guía manejo integrado de plagas en el cultivo de la papa. Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA). 1^{era} Ed. Managua. 3-55 pp.
- Montero, F., H. Coraspe y J. Salas. 2005. Botánica y fisiología de la papa. **In:** Producción de semilla de papa en Venezuela. 1^{era} Ed. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Serie Manuales de Cultivo INIA N° 5. Mérida, Venezuela. 31-51 pp.
- Niño, L., L. González, E. Villamizar, E. Acevedo y F. Becerra. 2004. Evaluación de variedades y clones de papa (*Solanum tuberosum* L.) con características agroindustriales en Mérida, Venezuela. Fitotecnia Colombiana. 4(1):1-8.
- Pérez de Camacaro, M., D. Rodríguez, M. Ojeda y M. Gallardo. 2005. Caracterización física y química de ocho materiales de papas (*Solanum tuberosum* L.) cultivados en la localidad de Chirgua, Carabobo, Venezuela. Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort. 48:60-64.
- Quintero, I., F. Montero, J. Zambrano, N. Meza, M. Maffei, A. Valera y R. Álvarez. 2009. Evaluación de once clones promisorios de papa (*Solanum tuberosum* L.) en el estado Trujillo. I. Crecimiento, desarrollo y rendimiento. Rev. Fac. Agron. 26:362-381.
- Rodríguez, D., D. Alcalá de Marcano y F. Escalona. 2008. Selección inicial de clones de papa por resistencia a la candelilla tardía y rendimiento. Bioagro. 20(1):29-35.
- Romero, L. y M. Monasterio. 2005. Semillas, actores e incertidumbre en la producción papera de los Andes de Mérida. Realidades y escenarios bajo el contexto político vigente. Cayapa. Rev. Ven. Econ. Soc. 5(9):35-58.
- Sarmiento, L. y W. Bowen. 2002. Desarrollo de una variedad de papa andígena en los Andes venezolanos y su simulación por el modelo SUBSTOR. Sociedad Venezolana de Ecología. Ecotropicos. 15(1):111-122.
- Zósimo, H. 1994. Potato descriptor for a minimum characterization of potato collection. Publicación del Centro Internacional de la papa (CIP). 40-48 pp.

IMPACTO DE LA BIOFUMIGACIÓN Y MATERIALES ORGÁNICOS EN LA RECUPERACION DE VIÑEDO INFESTADO CON NEMATODOS AGALLEROS

IMPACT OF BIOFUMIGATION AND ORGANIC MATERIALS ON RECOVERY OF ONE VINEYARD INFESTED WITH ROOT KNOT NEMATODES

Mayra G. Rodríguez H.*, Luisa P. Díaz-Viruliche**, Dainé Hernández O.**, Jorge Hernández***, Roberto Enrique R.*, Lucila Gómez G.*, Ileana Miranda C.*, Ligia Carolina Rosales**** y Zoraida Suárez H.*****

*Investigadores. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Dirección de Protección de Plantas. Mayabeque, Cuba.

**Profesora e Ingeniera. Universidad Agraria de La Habana (UNAH). Facultad de Agronomía.

Mayabeque, Cuba. ***Licenciado en Economía y Productor de uva de mesa. Finca Jorge. Artemisa. Cuba.

**** Investigadoras. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas - Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-CENIAP). Laboratorio de Nematología. Aragua, Venezuela.

Correo electrónico: mrguez@censa.edu.cu

RESUMEN

Con el objetivo de determinar la factibilidad de ejecutar el manejo de *Meloidogyne* en vid, *Vitis vinifera* L., con biofumigación y materiales orgánicos existentes en Cuba, se ejecutó este estudio durante 3 años (2006-2008). Se establecieron cuatro áreas en el campo, en tres se alternó biofumigación con mezcla de follaje fresco de *Cannavalia ensiformis* L. + *Azadirachta indica* (A. Juss.) + estiércol de cerdo y materiales orgánicos como cachaza curada y estiércol de gallina, así como un área testigo (donde el productor utilizó fertilización química con N-P-K). Se cuantificó el índice de agallamiento (ÍA), el número de juveniles infestivos (J_2) en suelo al inicio de cada ciclo de cosecha y luego de aplicar cada tratamiento. Se determinaron las características físico-químicas del suelo al inicio y al final del estudio y se cuantificaron los rendimientos ($t\ ha^{-1}$) en las tres cosechas. En las parcelas donde se utilizó la biofumigación y materiales orgánicos, los IÁ y el número de J_2 disminuyeron, en el primer caso, el IA de cinco a dos y los juveniles descendieron de 9-12 $J_2\ 5\ g\ de\ suelo^{-1}$ a 4-5 $J_2\ 5\ g\ de\ suelo^{-1}$. Los rendimientos aumentaron en las áreas tratadas y la testigo fue demolida al final del estudio por mermas en los rendimientos y las afectaciones por nematodos. Se logró mejorar las condiciones sanitarias, las características físico-químicas del suelo y la recuperación del viñedo en las áreas tratadas, como una demostración al productor de las posibilidades del uso de la biofumigación y los materiales orgánicos en este cultivo en Cuba.

Palabras Clave: *Vitis vinifera*; *Meloidogyne* spp.; *Cannavalia ensiformis*; *Azadirachta indica*; biofumigación; Cuba.

SUMMARY

In order to determine the feasibility of implementing the management of *Meloidogyne* in grapevine, *Vitis vinifera* L., with biofumigation and organic materials existing from Cuba, this study was carried out for 3 years. Four areas were established in the field in three biofumigation alternated with fresh foliage mixture *Cannavalia ensiformis* L. + *Azadirachta indica* (A. Juss.) + Pig manure and organic materials such as rum and cured chicken manure as well as a control area (where the producer used chemical fertilizer NPK). After applying each treatment (2006-2008) was quantified galling index (GI) and the number of infestive juveniles (J_2) in soil at the beginning of each harvest cycle. Were determined physicochemical characteristics of the soil at the beginning and end of the study and quantified yields ($t\ ha^{-1}$) in the three crops. In plots where we used biofumigation and organic materials decreased the GI and the number of J_2 , in the first case the GI of five to two and fell to 9-12 juveniles $J_2\ 5\ g\ of\ soil^{-1}$ to 4-5 $J_2\ 5\ g\ of\ soil^{-1}$. Yields increased in the treated areas and the test plot was demolished at the end of the study by declines in the extent and the effects caused by nematodes. It was possible to improve health conditions, physical and chemical characteristics of the soil and vines recovery in the treated areas, as a demonstration to the producer of the possibilities of using Biofumigation and organic materials in this crop in Cuba.

Key Words: *Vitis vinifera*; *Meloidogyne* spp.; *Cannavalia ensiformis*; *Azadirachta indica*; biofumigation; Cuba.

RECIBIDO: marzo 11, 2010

APROBADO: mayo 05, 2012

INTRODUCCIÓN

La vid, *Vitis vinifera* L., es uno de los frutales afectados por nematodos formadores de agallas, *Meloidogyne* spp. (Brown *et al.*, 1993) y aunque se sabe que el efecto de estos parásitos en el crecimiento y productividad de la vid están influenciados por diversos factores (Nicol *et al.*, 1999), se ha informado que son capaces de producir deterioro de las raíces, mermas en la fotosíntesis y los rendimientos, así como el acortamiento de la vida útil de las plantaciones (Muñoz y González, 1999; Anwar y Van Gundy, 1989; Melakeberhan y Ferris, 1989).

En Cuba, este frutal constituye un rubro en desarrollo, principalmente por el sector campesino (Fé *et al.*, 2001), conociéndose poco acerca de las alternativas de manejo que podrían aplicarse para mitigar el impacto negativo de esta plaga, común en los suelos del país (Fernández *et al.*, 1998) y presente en la vid y otros frutales (Hernández *et al.*, 2006), pues, no había sido un cultivo priorizado en la política agraria del país. No obstante, a inicio del siglo XXI, en el Programa Nacional de Frutales, se estableció el desarrollo de este cultivo para la sustitución de importaciones de fruta fresca y jugos para su consumo directo o la producción de vinos (Fé *et al.*, 2001).

La biofumigación, constituye una alternativa muy efectiva para el manejo de poblaciones de nematodos en diversos cultivos (Matthiessen y Kirkegaard, 2006; Bello *et al.*, 2004; Díaz-Viruliche, 2000) y pudiera convertirse en una táctica de manejo a emplear por los viticultores cubanos. Sin embargo, su efectividad en las condiciones de Cuba y la posibilidad de emplear materiales disponibles en el país no ha sido evaluada.

Según Matthiessen y Kirkegaard (2006), el concepto de biofumigación lo establecieron a inicios del año 1990, conceptualizado como término para definir el efecto supresivo de las especies de *Brassica* sobre organismos dañinos, específicamente a través de la liberación de isotiocianatos a partir de la hidrólisis de los productos glucosinolados que caracterizan a esta familia botánica. Con posterioridad, el concepto fue adoptado para definir “la acción de sustancias volátiles producidas en la biodegradación de materiales orgánicos en el control de patógenos de plantas” (Bello *et al.*, 2001).

Se planteó que diversos materiales orgánicos pueden actuar como biofumigantes, dependiendo su eficacia, principalmente, del tipo a utilizar (relación C/N), la dosis empleada y el método de aplicación, entre otros (Piedra-Buena *et al.*, 2006; Blatta, 2002; Díaz-Viruliche,

2000; Bello, 1997), determinándose experimentalmente que numerosos restos vegetales y desechos industriales poseen potencial, entre ellos estiércoles de ovinos, de aves y materiales como: *Melia azederach* L., *Calotropis procera* (Ait) R. Br., *Ricinus communis* L., *Azadirachta indica* A. Juss, *Zea mays* L., *Brassica nigra* L., *Cannavalia ensiformis* (L.) P.D.C., residuos de olivo (*Olea europea* L.), *Tagetes* spp., *Brassica* spp.; *Brassica oleracea* var. *capitata* L. y vinazas (Castro-Lizazo *et al.*, 2011; Castro-Lizazo, 2010; Ploeg, 2008; Gómez, 2007; Bello *et al.*, 2003; Díaz-Viruliche, 2000), entre otros.

Las posibilidades para el desarrollo de la técnica de biofumigación son tan diversas como los tipos de materiales orgánicos o productos disponibles (Bello, 1997). En las condiciones de Cuba se conocen resultados positivos en la producción protegida de hortalizas (Gómez, 2007), siendo necesario evaluar productos o desechos para su uso efectivo en la vid, estudio que podría dotar a los viticultores de elementos para la incorporación de esta práctica en el manejo de este frutal no tradicional.

El objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de la biofumigación y diferentes materiales orgánicos disponibles en el manejo de *Meloidogyne* spp. y la recuperación - producción de la vid, como parte del programa de Transferencias de Tecnologías que ejecuta este colectivo de trabajo a través del proceso de investigación-innovación con productores.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación fue ejecutada en la finca “Jorge” propiedad de la familia Hernández-Ochandía, ubicada en el municipio Güira de Melena, Provincia Artemisa (Cuba), en el período 2006 - 2008. La misma limita por el norte, este y sur con la finca “Las Ninfas” y al oeste con la carretera “Buena Esperanza”, con un suelo ferralítico rojo (Hernández *et al.*, 1975).

Dentro de la finca, el área afectada de 2 ha plantada con 6 000 vides, variedad “Aramond” (marco de plantación 1 x 1,50 m) de unos 21 años, presentaba a inicio del 2006 un marcado deterioro; siendo evaluada la demolición por parte de su dueño.

El equipo de Nematología Agrícola compuesto por personal del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) y de la Universidad Agraria de La Habana (UNAH), desarrollaron un análisis inicial donde se determinó que las afectaciones se debían al parasitismo

de los nematodos formadores de agallas *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica* y *M. sp.* (Rodríguez *et al.*, 2011).

El viñedo bajo estudio fue dividido en cuatro bloques; en las áreas uno, dos y tres se alternaron los tratamientos con materiales orgánicos (Cuadro 1). En el área cuatro el productor utilizó como fuente de nutrientes fertilizante químico (N-P-K: 17-9-4), a razón de 2 t ha⁻¹, aplicadas antes de la floración (siguiendo su esquema tradicional de trabajo en la finca).

CUADRO 1. Representación esquemática del diseño experimental empleado en el viñedo Finca “Jorge”, Güira de Melena (Cuba), del estudio de biofumigación y materiales orgánicos para el manejo de *Meloidogyne spp.*

Áreas	Períodos en que se aplicaron los tratamientos					
	2006		2007		2008	
	enero	abril	enero	abril	enero	abril
1	A	C	C	A	C	C
2	B	A	A	B	A	A
3	C	B	B	C	B	B
4		D		D		-

Tratamientos: A) Cachaza curada; B) Biofumigación empleando mezcla de canavalia (*C. ensiformis*) + neem (*A. indica*) + estiércol de cerdo; C) Gallinaza curada; D) Testigo sin tratamiento, donde se empleó fertilización química ((N-P-K: 17-9-4) a razón de 2 t ha⁻¹, una vez antes de la floración y potasio (0,2 t ha⁻¹) en fructificación; (-) indica que este bloque no se trató en el 2008.

Los materiales orgánicos empleados provenían de diversas fuentes: la cachaza se obtuvo cada año del central Manuel Fajardo (municipio Quivicán, Provincia Mayabeque) la cual era colocada a la sombra para su descomposición parcial durante 2 meses (proceso que los campesinos llaman “curación”); la gallinaza fue suministrada por la granja “La Buena Esperanza”, igualmente, se colocaba en proceso de curación antes de aplicarse.

Para la biofumigación se empleó follaje de neem (*A. indica*), transportado desde plantaciones extensivas en los

municipios Güines y Alquizar, mientras que la Canavalia (*C. ensiformis*) provino de Güira de Melena; ambos materiales se utilizaron frescos y se mezclaron con estiércol de cerdo, colectado en la propia finca. El proceso de biofumigación no utilizó plástico para cobertura de la superficie del suelo.

La evaluación de la técnica de biofumigación siguió el protocolo general descrito en la Figura 1.

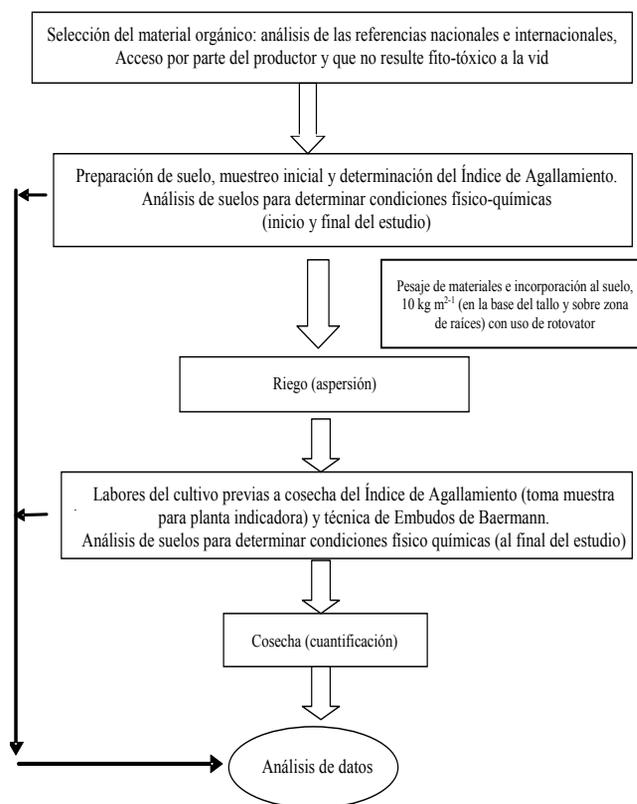


FIGURA 1. Protocolo general de aplicación y evaluación de biofumigación en la vid (adaptado de Díaz-Viruliche, 2000).

Las labores culturales fueron realizadas siguiendo el método tradicional de la familia, que incluye poda completa y limpieza del viñedo en el mes de diciembre de cada año, remoción del suelo con rotovator, aplicación de fertilizante en dos momentos: fórmula completa (N-P-K; 2 t ha⁻¹) al inicio de la floración y potasio (0,2 t ha⁻¹) cuando alrededor del 50% de las plantas ya poseían frutos bien formados.

Se efectuaron riegos frecuentes, tutorado o guía de los brotes sobre los parrales y espalderas. Posteriormente,

cuando las guías poseían 1,20-1,30 m, se despuntó y dejaron las guías vigorosas encargadas de producir. Se hicieron aplicaciones de productos fitosanitarios siguiendo lo indicado por Ríos (1991), para patógenos foliares y ácaros. Se cosechó cada año de forma manual, entre los meses de julio y agosto (aunque puede extenderse al mes de septiembre) y el traslado del producto se realizó en carretas hacia lugares con un clima adecuado para su conservación hasta la venta.

En el año 2006 se presentó un brote de chinches harinosas de la Familia Margarodidae (especie que no se determinó), plaga inusual en el cultivo, por lo cual se hicieron aplicaciones de nematodos entomopatógenos siguiendo las recomendaciones de Rodríguez *et al.* (1997) lográndose su control.

Con el objetivo de evaluar la efectividad de los tratamientos sobre las poblaciones de *Meloidogyne* spp., se tomaron muestras de suelo y raíces siguiendo un método estratificado al azar (Barker, 1985), donde de cada estrato o área se tomaron 10 muestras compuestas (cada muestra recogía raíces y suelo de cinco plantas) que se etiquetaron y trasladaron al Laboratorio de Nematología Agrícola del CENSA.

Las muestras se tomaron al inicio del estudio (enero 2006 en período posterior a la poda y antes de aplicar el primer material), consecutivamente, antes y después del tratamiento con materiales orgánicos, extrayendo en el mismo momento muestras del testigo. El procesamiento de las mismas se ejecutó a través de métodos indirectos (McSorley, 1987), determinando el índice de agallamiento (ÍA) a través de bioensayo con plantas indicadoras (Barker, 1985) de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y madama (*Impatiens balsamina* L.).

La evaluación del IÁ se llevó a cabo en las plantas indicadoras (10 réplicas por área) que fueron evaluadas a los 35 d de plantadas, utilizando para ello la escala cuantitativa de 0 a 5 grados de Taylor y Sasser (1978), donde: grado 0= 0 agallas u ootecas; 1=1-2 agallas o masas de huevos; 2=3 a 10; 3=11 a 30; 4=31 a 100 y 5= más de 100 agallas u ootecas.sistema radical¹.

Para estimar estadios juveniles infestivos (J_2) en el suelo, se procesaron las muestras a través del Método de Embudos de Baermann, 5 g de suelo embudo⁻¹ (Bezooijen, 2006), después del segundo tratamiento realizado en el mes de abril de cada año. Los recobrados fueron examinados con la ayuda de un microscopio estereoscópico.

Los datos del IÁ fueron transformados según la expresión de $\sqrt{x + 0,5}$. Los valores de ambos parámetros (IÁ transformados y número de J_2) fueron sometidos a un análisis de varianza simple (ANOVA) y la diferencia entre las medias se determinó a través de la dócima de Rango Múltiple de Duncan (SAS, Versión 9.0).

Para determinar el efecto de las aplicaciones de materiales orgánicos en el suelo y demostrar al productor las bondades de la práctica, se ejecutó la caracterización del suelo de las áreas 1, 2, y 3 en el año 2006, posteriormente en el 2009, utilizando los métodos analíticos recomendados por Paneque y Calaña (2000), determinándose:

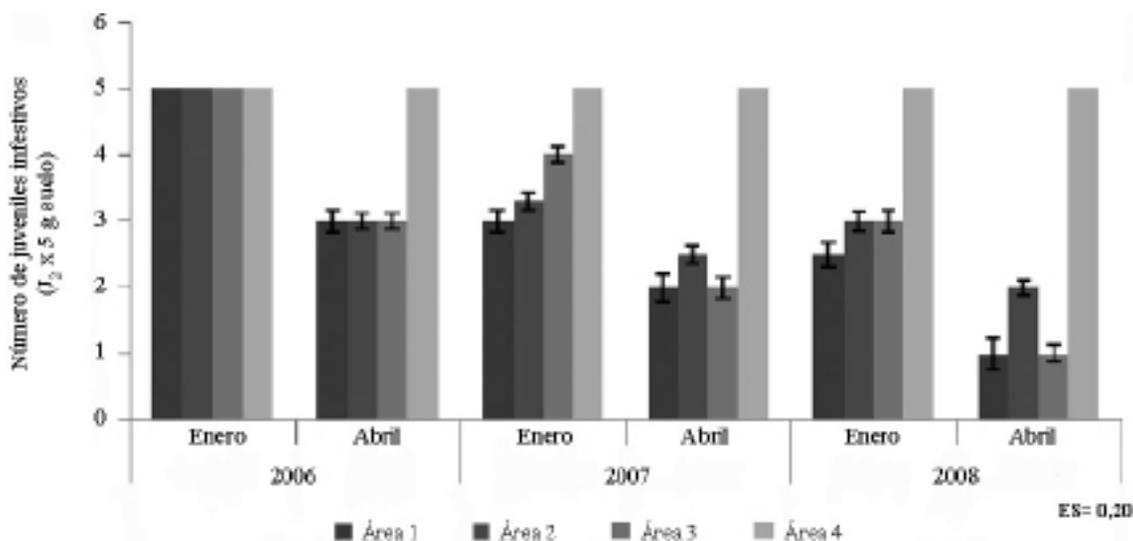
- pH en H₂O: Potenciometría. Relación suelo-solución 1:2,5.
- Materia orgánica: Walkley y Black (%).
- N asimilable (kg ha⁻¹).
- P₂O₅: Oniani (mg kg⁻¹).
- Cationes intercambiables: extracción con NH₄AC 1 mol l⁻¹ a pH=7 y determinación por compexometría, Mg y K (fotometría de llama; cmol kg⁻¹).

Al trabajar en un área productiva, la evaluación de los rendimientos se ejecutó como lo solicitó el productor, donde se valoraron las áreas 1, 2 y 3 como un dato único en cada año. Los datos se graficaron utilizando el programa EXCEL, Microsoft Office, 2007. En el caso de la cosecha del verano 2008, solo se pudo cuantificar el inicio o “despunte” (julio-agosto), pues, el país y la zona en particular recibió el impacto del huracán “Ike” categoría 5, cuyos vientos hicieron caer las frutas por completo.

Los rendimientos del área 4 solo fueron cuantificados por el productor en los años 2006 - 2007 y demolió el área antes de la cosecha 2008 por considerar no rentable su explotación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la biofumigación y materia orgánica (MO) sobre las poblaciones de *Meloidogyne* spp., en la vid: el IÁ provocado por *Meloidogyne* spp. disminuyó significativamente por la acción de los tratamientos, indicativo del efecto supresor provocado por los materiales orgánicos empleados sobre las poblaciones de suelo, llegando a disminuir en las plantas indicadoras el IÁ de grado 5 (en las áreas al inicio del estudio) a menos de 2 en 3 años de tratamiento (Figura 2), mientras que en el área testigo, fertilizado con fórmula completa (N-P-K) se mantuvo alta la población de *Meloidogyne* spp. (IÁ=5) durante todo el estudio.



ÍA: evaluado a través de escala cuantitativa de Taylor y Sasser (1978) donde: grado 0=0 agallas u ootecas; 1=1-2 agallas o masas de huevos; 2=3 a 10; 3=11 a 30; 4=31 a 100 y 5= más de 100 agallas u ootecas.sistema radical¹.

FIGURA 2. Niveles poblacionales de *Meloidogyne* spp. en suelo del viñedo de la Finca “Jorge” (Cuba), con plantas indicadoras de *Solanum lycopersicum* e *Impaties balsamina* determinados antes y después de aplicar materiales orgánicos y/o la táctica de biofumigación.

La disminución de la población de nematodos en las áreas tratadas con materiales orgánicos (en forma de biofumigantes o como enmiendas al suelo) se fue produciendo paulatinamente, pues ellas representan medidas de manejo que minimizan los daños en el cultivo, pero no los eliminan en un corto período de tiempo.

A pesar de los resultados obtenidos en el ÍA de las áreas tratadas con relación al testigo, entre ciclos de aplicaciones se producía un ligero incremento de estos valores, lo que evidenció la conveniencia de que el programa trazado de hacer aplicaciones anuales, contribuyó a mantener lo más bajo posible las poblaciones de la plaga.

Por otra parte, el número de J₂ de *Meloidogyne* spp. (estadios infestivos en el suelo), disminuyeron en el suelo de 9-12 J₂ 5 g de suelo⁻¹ (al inicio del estudio) a 4-5 J₂ 5 g de suelo⁻¹. Las diferencias exhibidas fueron significativas en cada uno de los años del estudio, con los menores valores finales en el área 2, donde la población inicial fue 9 J₂ 5 g de suelo⁻¹ (Figura 3).

En el área 1, donde el nivel inicial de J₂ fue el más alto, el uso de cachaza y gallinaza curadas provocaron también disminuciones importantes de *Meloidogyne* spp. No obstante, los resultados más significativos se produjeron en las áreas dos y tres, donde se alternaron

los tratamientos de biofumigación y el uso de materiales orgánicos curados (con niveles de descomposición), lo que sugiere que estas alternativas pueden ser empleadas por los productores, sin ser necesario el uso reiterado de biofumigación, que implica el uso de materiales frescos.

El efecto supresor de los materiales orgánicos sobre las poblaciones de nematodos fitoparásitos fue reportado por numerosos autores (Castro-Lizazo, 2011; Ploeg, 2008; Lazarovits *et al.*, 2001; Bridge, 1996; D’Addabbo, 1995). Estos materiales utilizados en la biofumigación o incorporados al suelo (para descomposición lenta), afectan a los nematodos por acción directa o por favorecer el incremento de organismos antagonistas contenidos en los suelos (Gómez *et al.*, 2006; Bello *et al.*, 2004; Hoitink y Boehm, 1999; D’Addabbo, 1995).

En el caso particular de los materiales empleados en este estudio (neem, canavalia y excretas de cerdo) se conoce que poseen efecto supresor sobre los nematodos, así por ejemplo, el neem y sus productos (comerciales) han sido evaluados y utilizados en condiciones semi-controladas y áreas de producción en diversos países (Silva y Pereira, 2008; Javed *et al.*, 2007; Gómez *et al.*, 2006; Berkelaar, 2002). Por su parte, similar efecto producen la gallinaza y otros estiércoles (Viaene *et al.*, 2006; Bello *et al.*, 2004;).

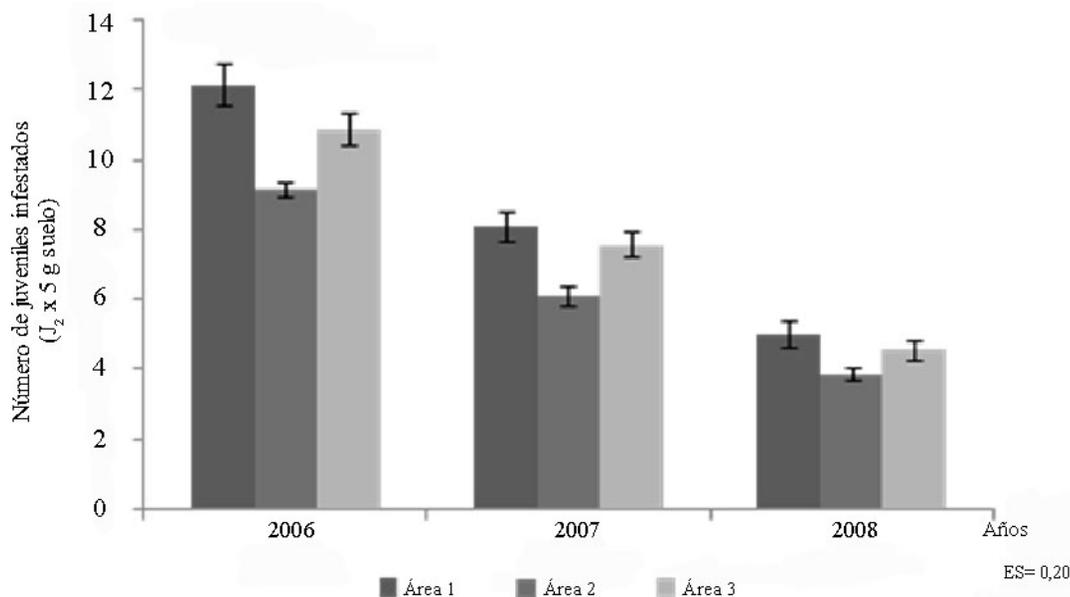


FIGURA 3. Disminución de poblaciones de juveniles de *Meloidogyne* spp. en el suelo de áreas tratadas con biofumigación y/o materiales orgánicos en el viñedo.

La cachaza o torta de filtro (uso directo o compostada) se empleó con éxito en el manejo de *Meloidogyne* spp. en instalaciones de producción protegida de hortalizas en Cuba (Pérez *et al.*, 2004); en Venezuela se comprobó su efecto benéfico sobre árboles de guayabo que crecían en suelos infestados con *M. incognita* (Marín *et al.*, 2004). Este co-producto es utilizado ampliamente en Cuba para mejorar la estructura de los suelos (Treto *et al.*, 2001), pero su uso en el mejoramiento de la sanidad de los mismos aún es bajo, en comparación con la disponibilidad de este material en un país productor de azúcar de caña y que genera miles de toneladas de cachaza al año.

El análisis de la literatura disponible evidenció que la biofumigación ha sido poco explotada a nivel de campo en el cultivo de la vid a escala internacional, y en el caso de Cuba resulta nula la experiencia al respecto. Arancon *et al.* (2003) determinaron que las poblaciones de nematodos fitoparásitos en suelos de vid tratados con vermicompost eran menores que donde se utilizó fertilizantes inorgánicos, mientras Bello (1997) y Bello *et al.* (2004) establecieron la efectividad de la biofumigación en viñedos de España en el manejo de *Xiphinema index* y *M. incognita*. Por su parte, se evaluó en Chile a nivel de invernaderos los materiales orgánicos para el manejo de *M. ethiopica* en la vid (Rivera y Aballay, 2008).

Los materiales orgánicos (con algún grado de descomposición o en la técnica de biofumigación, donde se emplean

frescos o con ligera-nula descomposición) poseen efecto negativo sobre las poblaciones de nematodos, pero se reconoce que es una práctica costosa, porque se requieren altos volúmenes por hectárea (Noling y Becker, 1994). En el caso de este estudio, los volúmenes manejados de materiales estuvieron alrededor de 100 t ha⁻¹, cuyo costo fue deducido de las ventas de fruta y el productor obtuvo un margen de ganancia importante (cifra no declarada por el dueño), lo que le conllevó a reconocer la importancia del uso de estos materiales en el manejo del viñedo.

Efecto de la biofumigación y materiales orgánicos sobre las características físico-químicas del suelo y los rendimientos de la vid

La caracterización del suelo del viñedo en diciembre 2005 y después de 3 años de tratamientos no químicos en las parcelas seleccionadas (abril 2008), evidenció que la incorporación de materia orgánica conllevó a un aumento de los niveles de nitrógeno (N), fósforo (P), Potasio (K), magnesio (mg) y al porcentaje de materiales orgánicos del suelo en el viñedo (Cuadro 2).

Dicho suelo es clasificado en Cuba como Ferralítico rojo típico, asís, Bennett y Allison (1961) informaron que a una profundidad de 0 a 15 cm, este tipo de suelo poseía 32 mg kg⁻¹ de MgO, 38 mg kg⁻¹ de K₂O, 34 mg kg⁻¹ de P₂O₅, 20 kg ha⁻¹ de N y 4,74% MO.

CUADRO 2. Incremento en valores de macro / micro elementos y materia orgánica en el suelo de las parcelas tratadas con biofumigación y/o materiales orgánicos, en el viñedo de la Finca “Jorge”, Güira de Melena (Cuba).

Profundidad de toma de muestra	Valores del análisis efectuado en el 2005				
	MgO (mg kg ⁻¹)	K ₂ O (mg kg ⁻¹)	P ₂ O ₅ (mg kg ⁻¹)	N (kg ha ⁻¹)	MO (%)
0-15cm	10	20	25	18	2,35
Profundidad de toma de muestra	Valores del análisis efectuado en el 2009				
	MgO (mg kg ⁻¹)	K ₂ O (mg kg ⁻¹)	P ₂ O ₅ (mg kg ⁻¹)	N (kg ha ⁻¹)	MO (%)
0-15cm	20	26	30	20	4,02

Cuando se produjo el primer análisis del suelo en el año 2005, se puso de manifiesto que había una disminución en los tenores de óxido de magnesio (MgO), K y P con relación a los expresados en la literatura cubana (Bennett y Allison, 1961). Sin embargo, dichos valores experimentaron un incremento entre los años 2006 y 2009, llegando en el caso del N, a igualarse al valor característico del tipo de suelo referido por dichos autores.

En el caso del contenido de MO, su disminución en el suelo pudo estar relacionada con el tipo de manejo al que fue sometido este viñedo, donde durante varios años el productor no realizó prácticas conservacionistas, como la aplicación de abonos orgánicos, restos de cosecha, entre otros; por lo cual el porcentaje de MO bajó a 2,35%.

El uso intensivo de fertilizantes sintéticos, la salida del mercado y del registro de plaguicidas autorizados en Cuba del Bromuro de Metilo, así como la nula disponibilidad de nematicidas por varios años, condujeron al estado crítico del viñedo de la finca “Jorge” (Güira de Melena), lo que resultó en la demolición del área tratada de forma tradicional, donde el productor hacía aplicaciones de fertilizantes sintéticos.

Al respecto, Hoitink y Boehm (1999) expresaron que los avances en la agricultura logrados a partir de inicios del siglo XX, que incluyeron la introducción de los fertilizantes sintéticos inorgánicos y fungicidas, las variedades resistentes, con prácticas culturales avanzadas, permitieron a los agricultores romper el vínculo entre las enmiendas orgánicas y la fertilidad del suelo, ocasionando que subproductos tipo abonos se vieran

como desechos y no como valiosos recursos. Asimismo, indicaron que en el suelo la MO se mineralizó con el tiempo, la estructura declinó y numerosas enfermedades causadas por patógenos habitantes, eventualmente se desarrollaron con proporciones epidémicas.

Con la aplicación de la biofumigación, se originó en esta investigación un incremento de la MO de 1,67%, lo que evidenció una evolución positiva en la recuperación del suelo por el manejo aplicado.

Un factor de primer orden a considerar para el adecuado mantenimiento de las condiciones de fertilidad de los suelos es la MO y su importancia radica en la acción que ejerce sobre las propiedades físicas, las condiciones de nutrición (Treto *et al.*, 2001) y en la actividad microbiana (Hoitink y Boehm, 1999), donde indudablemente está incluida la presencia de microorganismos antagonistas a los nematodos.

La importancia de la MO del suelo ha sido reconocida ampliamente por los agricultores; el proceso de incorporación de residuos de cultivos y abonos de origen animal, es tan antiguo como la propia agricultura. Se conoce que la adición de tales materiales induce a un mejoramiento invariable en el crecimiento de las plantas, al tener un efecto positivo en su nutrición (Stirling, 1991), lo que estará relacionado con los rendimientos del cultivo.

En este estudio se produjo una recuperación progresiva de la zona del viñedo tratada con biofumigación y materiales orgánicos (Figura 4) y un aumento paulatino de los rendimientos (t ha⁻¹).

Los rendimientos de las áreas tratadas mostraron un aumento en el verano de 2007 que representó más del doble con relación a los obtenidos en el primer año. En las tres cosechas los rendimientos de las parcelas tratadas fueron muy superiores a los exhibidos por el testigo (Figura 5), aún cuando en la cosecha 2008-2009 se produjo la afectación del Huracán Ike, el pronóstico era excelente, donde a inicios de la maduración se había obtenido más del 50% de la producción total obtenida el año anterior.

La mejora del rendimiento en presencia de los nematodos es posible por el incremento de los niveles de nutrientes y agua, lo que compensa parcialmente el daño que causan en las raíces, lo cual se logra entre otras alternativas, con aplicaciones de materiales orgánicos al suelo, como los abonos verdes, estiércoles de pollo, neem, desechos de la industria azucarera, entre otros (Bridge, 1987), lo que indudablemente se puso de manifiesto en este estudio.



2006

2007

2008

Año 2006: plantas de vid con defoliación marcada y floración casi nula; año 2007: la emisión de hojas abundantes en el período de floración/fructificación y en la base de los tallos restos de los materiales orgánicos aplicados; año 2008: abundante follaje y fructificación en los tratamientos donde se aplicaron biofumigación y/o materiales orgánicos.

FIGURA 4. Imágenes de la evolución que se produjo en las parcelas que recibieron tratamiento con materiales orgánicos y/o biofumigación en el viñedo de la Finca “Jorge”, Güira de Melena, Artemisa (Cuba).

No obstante, y aun cuando los rendimientos alcanzados en el viñedo están lejanos a los volúmenes alcanzados en el 2000 (23 t ha⁻¹ en uva en parral y 15 t ha⁻¹ en espaldera) demostrado por Fé *et al.* (2001), el productor valoró en extremo positivo la recuperación paulatina de

los volúmenes productivos, reconsiderando su decisión de demoler el mismo, aspecto que tendría un impacto, al ser el viñedo un patrimonio de la familia Hernández-Ochandía, plantado por su padre, más de 20 años atrás.

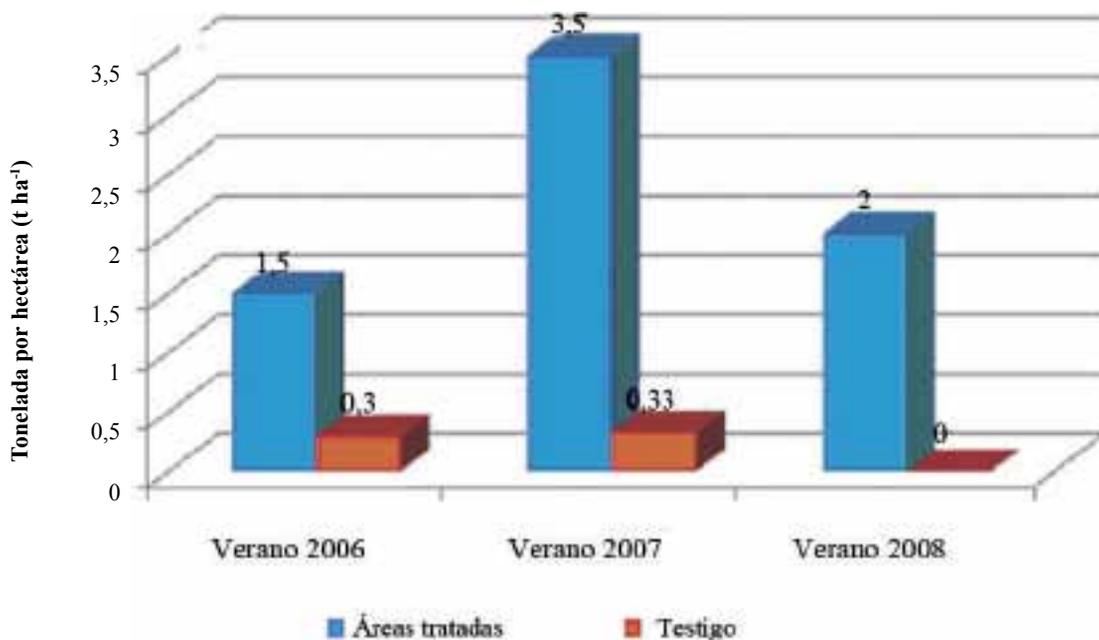


FIGURA 5. Comportamiento de los rendimientos de la vid (frutas frescas) en las áreas tratadas (biofumigación y materiales orgánicos) y el testigo (finca “Jorge”, Güira de Melena, Artemisa. Cuba).

A partir de los resultados positivos de este estudio, la valoración positiva del productor acerca del uso de materiales orgánicos y la rentabilidad del proceso, donde los gastos por concepto de adquisición, transporte y aplicación de los materiales fue compensado ampliamente con los altos rendimientos obtenidos y las ventas de la fruta en el mercado, se ha incluido la práctica en el programa de manejo del viñedo, la que representa área de referencia para este cultivo en Cuba (Fé *et al.*, 2001).

Se pretende promover la capacitación de productores de uva de mesa en la región occidental del país, teniendo como base la experiencia adquirida en el trabajo de investigación-innovación con el productor, el que propició una apropiación adecuada de la tecnología.

Como punto culminante de esta etapa de trabajo, el equipo cubano-venezolano evaluó los indicadores para determinar el impacto en estos 3 años de estudio.

Indicadores económicos:

- Se produjo un aumento los rendimientos de 1,5 t ha⁻¹ en la cosecha del 2006 a 3,5 t ha⁻¹ al año 2007.

Indicadores tecnológicos:

- El productor incorporó una nueva tecnología a su programa de manejo del viñedo e introdujo el uso de insumos de origen nacional.
- La finca experimentó un ascenso en las fases del desarrollo agroecológico de 1 (agricultura tipo revolución verde) a 2 (sustitución de insumos).

Indicadores ambientales:

- Se produjo la sustitución de productos de síntesis química por materiales orgánicos, lo que sin duda significa una disminución de la carga tóxica en la finca.
- Introducción de enmiendas y prácticas de conservación, que permitieron el incremento del porcentaje de MO del suelo y por ende el aumento de su fertilidad.

Indicadores sociales:

- El productor y su familia recibieron capacitación y elevaron su eficiencia en el manejo de la finca.

- Se elaboraron materiales divulgativos, que se han empleado en la capacitación de otros productores de La Habana, Cuba.

CONCLUSIÓN

- La biofumigación y el uso de materiales orgánicos disponibles para los productores de Güira de Melena (Cuba) resultó una práctica efectiva en el manejo de los nematodos formadores de agallas, contribuyendo a la recuperación de las características físico-químicas del suelo, la salud y los rendimientos de la vid (Aramond); por lo que puede constituirse en una alternativa en el programa de manejo de este cultivo en desarrollo del país.

AGRADECIMIENTO

A la familia Hernández-Ochandía, por las facilidades ofrecidas durante los 3 años de ejecución de la investigación, así como a la técnico Lidia López Perdomo por su apoyo en el procesamiento de muestras. Al Departamento de Suelos y Agroquímica de la UNAH por la colaboración en los análisis de suelo y al Profesor José Luis Durán por su invaluable ayuda en la interpretación de los resultados. Igualmente, a los especialistas y editores de la revista *Agronomía Tropical* por la minuciosa revisión del artículo y sus valiosas sugerencias.

BIBLIOGRAFÍA

- Anwar, S. A. and S. D. Van Gundy. 1989. Influence of four nematodes on root and shoot growth parameters in grape. *Jour. Nematol.* 21:276-283.
- Arancon, N. Q., P. Galvis, C. Edwards and E. Yardim. 2003. The trophic diversity of nematode communities in soils treated with vermicompost. *Pedobiología* 47(5-6):736-740.
- Barker, K. R. 1985. Nematode extraction and bioassays. **In:** *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Methodology. K. R. Barker; C.C. Carter; J. N. Sasser (Eds.) Dept. Plant Pathology and United State Agency for International Development. North Carolina State University 2:19-35.
- Bello A., M. Arias, J. A. López-Pérez, A. García-Álvarez, J. Fresno, M. Escuer, S. C. Arcos, A. Lacasa, R.

- Sanz, P. Gómez, M. A. Díez-Rojo, A. Piedra Buena, C. Goitia, J. L. de la Horra and C. Martínez. 2004. Biofumigation, fallow, and nematode management in vineyard replant. *NEMATROPICA* 34(1):53-64.
- Bello A., A. García, J. A. López-Pérez y L. Díaz-Viruliche. 2001. Fundamentos científicos de la biofumigación. *NEMATROPICA* 31(2):120-121.
- Bello, A. 1997. Biofumigation and integrated crop management. **In:** Alternatives to methyl bromide for the southern European Countries. Bello, A.; J. A. González; María Arias; R. Rodríguez-Kabana (Eds.). Gráficas Papallona S. C. V., Spain 99-126 pp.
- Bello, A., L. Díaz-Viruliche, J. A. López-Pérez y A. García Álvarez. 2003. Evaluación de nuevos biofumigantes. **In:** Biofumigación en agricultura extensiva de regadío. Bello, A., J. A. López-Pérez, A. García Álvarez (Eds.) Coedición de Fundación Ruralcaja Alicante y Ediciones Multiprensa, España 371-466 pp.
- Bennette, H. y J. Allison. 1961. Suelos de Cuba. Editora Pueblo y Educación, La Habana. Cuba 45-65 pp.
- Berkelaar, E. 2002. Métodos de manejo de nemátodos. *Rev Edn. Sesión Echo Notas de Desarrollo*. M. Price and D. Berkelaar (Eds.) (75):1-6.
- Bezooijen, J. van. 2006. Methods and techniques for nematology. Wageningen University 112 pp.
- Blatta, L. 2002. Organic material. Disponible en: <http://www.terralia.com/revista8/pagina16.htm>. [Consultado el 18/11/2007].
- Bridge, J. 1987. Control strategies in subsistence agriculture. **In:** Principles and practice of nematode control in crops. R. H. Brown and B. Kerry (Eds.) Academic Press 389-420 pp.
- Bridge, J. 1996. Nematode management in sustainable and subsistence agriculture. *Ann. Rev. Phytopathol* 34:201-225.
- Brown, D. J. F., A. Dalmasso and D. L. Trudgill. 1993. Nematode pest of soft fruits and vines. En: Plant parasitic nematodes in temperate agriculture. K. Evans, D. L. Trudgill, J. M. Webster (Eds.). CAB International 427-462 pp.
- Castro-Lizazo, I. 2010. Biodesinfección de suelos en relación con la diversidad en hortalizas y platanera. Tesis para optar al grado de Doctor Ingeniero Agrónomo. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad de Almería, España 282 p.
- Castro-Lizazo, I., M. A. Díez-Rojo, J. A. López-Pérez, L. Díaz-Viruliche y A. Bello. 2011. Biodesinfección de suelos en la producción ecológica. Dossier Sociedad Española de Agricultura Ecológica. 1ª Edición 56 p.
- D'Addabbo, T. 1995. The nematicidal effect of organic amendments: a review of literature, 1982 - 1994. *Nematol. Mediterranea* 23:299-305.
- Díaz-Viruliche, L. P. 2000. Interés fitotécnico de la biofumigación en los suelos cultivados. Tesis para optar al grado de Doctor Ingeniero Agrónomo. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Madrid, España 500 p.
- Fé, C. de la, O. Hernández, J. Palacios y E. González. 2001. Desarrollo del cultivo de la vid en el sector campesino-cooperativo del occidente de Cuba. *Rev. Cultivos Tropicales* 22(4):43-49.
- Fernández, E., M. Pérez, H. Gandarilla, R. Vázquez, M. Fernández, M. Paneque, O. Acosta, M. Basterrechea y R. Cuadra. 1998. Guía para disminuir infestaciones de *Meloidogyne* spp., mediante el empleo de cultivos no susceptibles. *Boletín Técnico, Sanidad Vegetal* 4(4):1-18.
- Gómez, L. 2007. Diagnóstico de nematodos agalleros y prácticas agronómicas para el manejo de *Meloidogyne incognita* en la producción protegida de hortalizas. Tesis en opción al grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Agraria de La Habana. Cuba 100 p.
- Gómez, L., M. G. Rodríguez, L. Díaz-Viruliche, E. González y F. Wagner. 2006. Evaluación de materiales orgánicos para la biofumigación en instalaciones de cultivos protegidos para el manejo de *Meloidogyne incognita*. *Rev. Protección Veg.* 21(3):178-185.
- Hernández, A., J. M. Pérez y W. Ascanio. 1975. II Clasificación genética de los suelos de Cuba. *Agricultura*, enero-junio 47-63.
- Hernández, R., G. del Vallín y D. Hernández. 2006. Diagnóstico de fitonematodos en suelos de cultivos frutales. *Fitosanidad* 10(4):261-264.

- Hoitink, H. A. J. and M. J. Boehm. 1999. Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. *Annu. Rev. Phytopathol* 37:427-446.
- Javed, N., S. R. Gowen, M. Inam-ul-Haq, K. Abdullah and F. Shahina. 2007. Systemic and persistent effect of neem (*Azadirachta indica*) formulations against root-knot nematodes, *Meloidogyne javanica* and their storage life. *Crop Protection* 26:911-916.
- Lazarovits, G., M. Tenuta and K. L. Conn. 2001. Organic amendments as a disease control strategy for soil borne diseases of high-values agricultural crops. *Australasian Plant Pathol* 30:111-117.
- Marín, M., A. Casassa-Padrón, E. Pérez-Pérez, C. González-Palmar, D. Chirinos, C. González y L. Sandoval. 2004. Enmiendas orgánicas para la recuperación de árboles de guayabo (*Psidium guajava* L.) infestados con *Meloidogyne incognita*. I. Variación de características fenológicas. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 21 Supl. 1:129-136.
- Matthiessen, J. and J. Kirkegaard. 2006. Biofumigation and enhanced biodegradation: opportunity and challenge in soilborne pest and disease management. *Critical Revie. Plant Scien* 25(3):235-265.
- McSorley, R. 1987. Extraction of nematodes and sampling methods. **In:** Principles and practice of nematode control in crops. R. H. Brown and B. Kerry (Eds.) Academic Press 13-47 pp.
- Melakeberhan, H. and H. Ferris. 1989. Impact of *Meloidogyne incognita* on physiological efficiency of *Vitis vinifera*. *Jour. Nematology* 21:74-80.
- Muñoz, I. y H. González. 1999. Uso de portainjertos en vides para vino: aspectos generales. *Informativo La Platina* N° 6. 4 p.
- Nicol, J. M., G. R. Stirling, B. J. Rose, P. May and R. Van Heeswijck. 1999. Impact of nematodes on grapevine growth and productivity: current knowledge and future directions, with special reference to Australian viticulture. *Australian Jour. Grape and Wine Res.* 5:109-127.
- Noling, J. W. and J. O. Becker. 1994. The challenge of research and extension to define and implement alternatives to methyl-bromide. *J. Nematol* 26:573-586.
- Paneque, V. M. y J. M. Calaña. 2000. Manual de técnicas analíticas para suelo, foliar y fertilizantes químicos. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana. 72 p.
- Pérez, A. L., J. Gutiérrez y Y. Delgado. 2004. Manejo integrado para el control de nematodos en cultivos protegidos. Ponencia presentada al Fórum de Ciencia y Técnica. Grupo Empresarial Agropecuario del Ministerio del Interior de la República de Cuba. (Informe técnico inédito) 8 p.
- Piedra-Buena, A., A. García-Álvarez, M. A. Díez-Rojo and A. Bello. 2006. Use of crop residues for the control of *Meloidogyne incognita* under laboratory conditions. *Pest Manag. Sci.* 62:919-926.
- Ploeg, A. 2008. Biofumigation to manage plant-parasitic nematodes. **In:** Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes. A. Ciancio y K. G. Mukerji (Eds.). Springer. The Netherlands 239-248 pp.
- Ríos, F. 1991. Manual para la protección de la vid. Bayer México S. A. 105 p.
- Rivera, L. and E. Aballay. 2008. Nematicide effect of various organic soil amendments on *Meloidogyne ethiopica* Whitehead, 1968, on potted vine plants. *Chilean Jour. Agricultural Res.* 68(3):290-296.
- Rodríguez I., M. G. Rodríguez, L. Sánchez y M. A. Martínez. 1997. Efectividad de *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditidae: Heteroderidae) sobre chinches harinosas del cafeto (Homoptera: Pseudococcidae). *Rev. Protección Veg.* 12 (2):119-122.
- Rodríguez, M. G., D. Hernández, R. Enrique, L. Gómez, L. Díaz-Viruliche y B. Peteira. 2011. Sintomatología y especies de *Meloidogyne* asociadas a vid (*Vitis vinifera* L. cv. Aramond) en Güira de Melena, Artemisa. *Rev. Protección Veg.* 26(2):111-117.
- SAS Institute Inc. 2002. *Statistic Analysis Software. Version 9.0.* Cary, NC. USA.
- Silva, G. S. e A. L. Pereira. 2008. Efeito da incorporação de folhas de nim ao solo sobre o complexo *Fusarium* x *Meloidogyne* em Quiabeiro. *Summa Phytopathol, Botucatu* 34(4):368-370.
- Stirling, G. R. 1991. Conservation and enhancement of naturally occurring antagonists and the role of

- organic matter. **In:** Biological control of plant parasitic nematodes: Progress, problems and prospects. C.A.B. International. Printed by redwood press Ltd, Melksham UK. 166-185 pp.
- Taylor, A. L. and J. N. Sasser. 1978. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Raleigh. North Carolina State Univ. Graphics 111 p.
- Treto, E., M. García, R. Martínez-Viera y J. M. Febles. 2001. Avances en el manejo de los suelos y la nutrición orgánica. **In:** Transformando el campo cubano. Avances de la agricultura sostenible. F. Funes; L. García; M. Bouque; N. Pérez; P. Rosset (Eds.). Asociación Cubana de Técnicos Agrícolas y Forestales Cuba, 167-190 pp.
- Viaene, N., D. Coyne and B. Ferry. 2006. Biological and cultural management. **In:** Plant Nematology. Perry, R. and Moens, M. (Eds.). CABI, UK. 346-369 pp.

**DETECCIÓN DE POLIMORFISMOS RAPD EN MATERIALES DE *Musa* sp.
CON RESPUESTA DIFERENCIAL AL ATAQUE
DE *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum***

**DETECTION OF RAPD POLYMORPHISMS IN *Musa* sp.
MATERIALS WITH DIFFERENTIAL RESPONSE TO THE ATTACK
OF *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum***

Pi-Hsia Chen*, Efraín Salazar**, Hilda Fernández**, Luis Castro***, Antonio Russo**** y Sundry Vásquez**

*Ingeniero Agrónomo (Tesis UCV), **Investigadores, ***TSU Auxiliar de Laboratorio e ****Investigador contratado. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-CENIAP). Unidad de Biotecnología Vegetal. Zona Universitaria, vía El Limón. Maracay, estado Aragua. Venezuela. Correo electrónico: efra63@gmail.com

RESUMEN

Para detectar la existencia de polimorfismos RAPD en materiales de *Musa* sp. con respuesta diferencial a *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum*, se evaluaron seis genotipos susceptibles (Pisang Awak, Cavendish Enano, Giant Cavendish, FHIA 17 proveniente del campo, FHIA 17 cultivado *in vitro*, FHIA 25) y dos tolerantes (BB y BBB). Se establecieron las condiciones de aislamiento y amplificación al azar del ADN polimórfico (RAPD). El ADN se aisló, la concentración se midió espectrofotométricamente y la pureza mediante las relaciones A260/A280 y A260/A230. Se utilizaron 27 iniciadores de Operon Technologies (20 secuencias de la serie OPA, 5 de la OPJ y 2 de la serie OPM). Se realizó un análisis de conglomerado jerárquico usando InfoStat Profesional, el método de agrupamiento de Ward y la distancia de Jaccard. Se obtuvieron patrones de bandas diferenciales para cada genotipo, identificándose seis bandas que distinguen los genotipos tolerantes (981 pb con el primer OPA-03, 630 pb con OPA-07, 630 pb con OPA10, 1725 pb con OPJ01, 580 pb con OPM20 y 630 pb con OPJ05). La serie OPA permitió observar mayores niveles de polimorfismo, con PICs entre 0,22 y 0,68. El análisis de conglomerado separó dos grupos principales, uno incluyó los genotipos con genoma A exclusivamente, y el otro, los genotipos con genoma B, a excepción del FHIA 17 *in vitro*. Hubo diferencias genéticas entre el FHIA 17 proveniente de campo y el cultivado *in vitro*.

Palabras Clave: Resistencia; *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum*; RAPD; polimorfismos.

SUMMARY

To detect RAPD polymorphisms in *Musa* sp. with differential response to *Xanthomonas campestris* pv. *Musacearum* six susceptible genotypes (Pisang Awak, Dwarf Cavendish, Giant Cavendish, FHIA 17, FHIA17 *in vitro*, FHIA25) and two tolerant (BB and BBB) were evaluated. Conditions for DNA isolation and random amplification of polymorphic DNA (RAPD) were established. DNA was isolated according to Dellaporta *et al.* (1983), as amended by CIAT (2002), DNA concentration was measured spectrophotometrically. Additionally A260/A280 and A260/A230 ratios indicated the purity of the molecule. 27 Operon Technology primers (20 sequences in the series OPA, 5 from OPJ and 2 from OPM) were used. The statistical analysis was performed with a hierarchical cluster analysis using Infostat Professional version 2.0, Ward clustering method and the Jaccard distance. Specific band patterns were obtained for each genotype. Six bands were identified as unique for the tolerant genotypes (981 bp with OPA-03, 630 bp with OPA-07, 630 bp with OPA10, 1725 bp with OPJ01, 580 bp with OPM20 y 630 bp with OPJ05). OPA series allowed observation of higher levels of polymorphisms, having PIC values ranging 0.22 y 0.68. Hierarchical conglomerate analysis separated genotypes in 2 main groups, one including genotypes with the A genome exclusively, and the other with the B genome, except for FHIA 17 *in vitro*. There were genetic differences between FHIA 17 growing under field conditions and the one regenerated *in vitro*.

Key Words: Resistance; *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum*; RAPD; polymorphisms.

RECIBIDO: octubre 15, 2011

APROBADO: septiembre 26, 2012

INTRODUCCIÓN

Los plátanos y bananos ocupan el cuarto lugar como el cultivo más importante del mundo, después del arroz, el trigo y el maíz, siendo las frutas de exportación de mayor importancia del planeta. Además de constituir el alimento básico para 500 millones de personas, representan una importante fuente de empleo e ingresos en numerosos países en desarrollo. Se cultivan tanto en zonas tropicales como subtropicales, bajo diferentes sistemas, en 10 millones de hectáreas y en 120 países, con rendimientos entre 7 y 70 t ha⁻¹. Los países latinoamericanos y del Caribe producen el 90% del total de los plátanos y bananos que entran en el comercio internacional (FAO, 2004).

Pérez (2009) expresa que las musáceas son atacadas por un importante número de patógenos que limitan su desarrollo y productividad. Estos pueden moverse en virtud de sus mecanismos naturales de dispersión, pero es el movimiento de germoplasma y el comercio, la principal vía de transmisión. Se han identificado enfermedades exóticas que afectan a las musáceas y que son riesgos potenciales para Latinoamérica y El Caribe, entre las que se destacan:

- 1) *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 4 tropical (VCG 01213-01216), es un hongo fitopatógeno que causa la enfermedad de panamá, el cual se reportó en el 1989 en Australia, Asia y el Pacífico, donde ocasionó daños millonarios.
- 2) Cogollo racimoso del banano (siglas en inglés BBTv) y mosaico de las bracteadas del banano (siglas en inglés BBrMV). El BBTv es un nanovirus que está considerado entre las 10 especies invasoras de mayor importancia y el más nocivo en musáceas, así mismo, el BBrMV es un potyvirus que ha causado daños severos en Asia. Ambos se pueden distribuir aún en el intercambio de vitroplantas y se encontraron presentes en colecciones internacionales de germoplasma de musáceas.
- 3) Marchitez bacteriana por *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum*, descrito en *Musa* en el 2001 en África. Todos los clones de bananos son afectados. La transmisión por insectos y contacto con animales y trabajadores permite una rápida diseminación de la enfermedad.
- 4) Mancha rojiza del seudotallo del banano ocasionada por *Pseudomonas* spp., inicialmente informada en 1921 como *P. celebensis*, permaneció confinada a

Sulawesi (Bali, Indonesia) y las islas vecinas hasta finales de la década de 1980.

En *Musa*, los RAPD se utilizaron con diferentes objetivos (Williams *et al.*, 1990, 1993; Welsh y McClelland, 1990) siendo útiles para la identificación de genotipos AAB y ABB (Pillay *et al.*, 2000, 2001; Visser, 2001; Uma *et al.*, 2006). Asimismo, se pudo reconocer genomas AA, AAA, AAB, ABB y BB (Howell *et al.*, 1994; Thu *et al.*, 2002). Estos marcadores permitieron la identificación de variantes somaclonales (García y Giménez, 1999; Martin *et al.*, 2006; Ray *et al.*, 2006; Lakshmanan *et al.*, 2007), así como de enanismo en bananos del grupo Cavendish (Damasco *et al.*, 1996; Gubbuk *et al.*, 2004; Ramaje *et al.*, 2004).

De igual manera, Kaemmer *et al.* (1992) detectaron mutantes obtenidos mediante el uso de irradiación. En el caso de estudios de reacción a enfermedades en *Musa*, o establecimiento de polimorfismos entre genotipos con respuesta diferencial a patógenos, los RAPD han permitido la identificación de genotipos resistentes y susceptibles a la Sigatoka amarilla (Vidal y García, 2000), así como resistentes/tolerantes y susceptibles a *Fusarium oxysporum* (Javed *et al.*, 2004; Javed y Othman, 2005). Todo lo anterior confirma la utilidad de las técnicas de biología molecular en la identificación y caracterización de germoplasma de *Musa*, con énfasis en la selección de materiales tolerantes a patógenos.

El presente trabajo tuvo como objetivo general la identificación de polimorfismos entre patrones RAPD en materiales de *Musa* sp. con respuesta diferencial al ataque de *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum* con miras al establecimiento de un método efectivo de selección de materiales tolerantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en el Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Unidad de Biotecnología ubicada en el Campo Experimental, estado Aragua, Venezuela.

Se utilizó tejido foliar de plantas del género *Musa* pertenecientes a la colección de germoplasma del INIA-CENIAP. Para los fines del presente estudio la selección de los materiales se basó en los trabajos de Tripathi *et al.* (2004) y Tripathi y Tripathi (2009), donde se identificaron como materiales susceptibles los clones 'Pisang Awak'

(*Musa* ABB), Cavendish Giant (*Musa* AAA), Cavendish enano (*Musa* AAA), FHIA 17 (AAAA) y FHIA 25 (AABB). El material de FHIA 17 se obtuvo tanto de plantas creciendo en condiciones de campo, como regeneradas *in vitro* y el ADN de FHIA 25 se logró exclusivamente de plantas regeneradas *in vitro*. Como materiales tolerantes se seleccionaron un genotipo de *Musa balbisiana* (*Musa* BB) y un triploide con genoma balbisiana (*Musa* BBB).

El aislamiento del ADN se realizó según la metodología de Dellaporta *et al.* (1983) modificada por CIAT (1999), la cual tomaron 0,2 g de tejido foliar sin nervadura central y se le agregó 700 μL de Buffer de extracción CTAB 2% precalentado a 65 °C.

Las muestras se prepararon por 45 min a 65 °C en un termomixer Eppendorf a 1000 rpm para la agitación. Se agregaron 400 μL de acetato de potasio 5M y se colocaron en hielo por 30 min, previa agitación por inversión de los tubos. Las muestras se centrifugaron durante 5 min a 12000 rpm a una temperatura de 4 °C. El sobrenadante se traspasó a un tubo nuevo y se agregaron nuevamente 400 μL de acetato de potasio 5M. Se centrifugaron las muestras nuevamente 5 min a 12000 rpm a una temperatura de 4 °C.

Posteriormente, se separaron en dos porciones iguales colocadas en tubos nuevos y se agregó un volumen igual de isopropanol (aproximadamente 400 μL) y 1/10 volumen de acetato de sodio 3 M pH 5,2. Las muestras se incubaron 45 min a -20 °C para la precipitación del ADN y se centrifugaron durante 10 min a 12000 rpm a una temperatura de 4 °C. Los pellets se lavaron con 500 μL de Etanol al 70% y luego se centrifugaron por 5 min a 12000 rpm. Se descartó el sobrenadante y se dejaron secar al aire libre los sedimentos. El ADN genómico se resuspendió en 100 μL de Buffer TE (Tris-EDTA) y se almacenaron a una temperatura de 4 °C.

Los ADNs aislados se separaron electroforéticamente en geles de agarosa al 0,8% para determinar su calidad y observar la integridad de la molécula. Como patrón de concentración se utilizó una solución 100 ng/ μL de ADN del bacteriófago Lambda; los geles fueron teñidos con una solución 0,05% de bromuro de etidio durante 10 min y visualizados bajo luz ultravioleta para su análisis. La concentración y pureza del ADN se analizaron electrofotométricamente utilizando el Nanodrop 1000 de Thermo, en el cual se obtuvo directamente la concentración del ADN en ng/ μL y las relaciones A260/A280 y A260/A230, quienes indicaron la pureza de la molécula aislada.

Las reacciones RAPD se realizaron en tubos de 0,2 ml de paredes delgadas, conteniendo 10 ng de ADN genómico, 1 unidad de Go Taq Polimerasa Flexi, 0,3 mM del iniciador, 3,0 μL de buffer de reacción (5X), MgCl_2 (1,33 mM), BSA (0,2 mg ml^{-1}), dNTPs (0,11 mM) en un volumen final de 15 μL . Se utilizaron 20 iniciadores de la serie OPA (Operon technologies).

Las amplificaciones se realizaron en un termociclador PT-200 MJ research, con un paso inicial de 94 °C por 5 min, seguido de 45 ciclos con 93 °C por 1 min, 36 °C por 30 seg y 72 °C por min y una extensión final a 72 °C por 7 min. Las reacciones se mantuvieron a 4 °C hasta el momento de la separación de estos productos de amplificación, realizadas en geles de agarosa 1,5% durante 90 min a 85-90 V con buffer TBE 0,5 X. Los productos de amplificación se visualizaron previa tinción con una solución de bromuro de etidio 0,000002% con el equipo Chemi-Doc de Biorad, mediante el Software Quantity One Versión 4.2.

Para cada iniciador se calculó el porcentaje de bandas polimórficas (%BP) y el contenido de información polimórfica (siglas en inglés PIC) según la metodología de Roldán-Ruiz *et al.* (2000). Se obtuvieron los patrones de bandas característicos para cada genotipo estudiado y se hizo un análisis descriptivo de los patrones encontrados, con el propósito de establecer semejanzas o diferencias entre los genotipos A (susceptibles) y los genotipos B (resistentes). Adicionalmente, se hizo un análisis de conglomerado jerárquico utilizando el programa Infostat Profesional versión 2.0, con el método de agrupamiento de Ward y la distancia de Jaccard.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La metodología de extracción del ADN utilizada fue efectiva, rápida y sencilla, para el aislamiento de moléculas con concentración y pureza suficientes para la realización de las pruebas RAPD (Cuadro 1). Los valores menores de la concentración de ADN aislado se obtuvieron en las muestras provenientes de condiciones de crecimiento *in vitro*. Sin embargo, la calidad, pureza y concentración de las moléculas es apta para la amplificación al azar.

Casi la totalidad de las muestras presentaron valores de la relación A260/A280 entre 1,8 y 2,0 lo cual sugiere que el ADN aislado está libre de proteínas y puede considerarse puro. Los dos valores fuera del rango, indican la presencia de proteínas en la muestra con el

valor menor, y probablemente existan problemas con la concentración de carbohidratos, que puedan explicar los valores superiores de 2,21.

CUADRO 1. Concentración en ng/μl y pureza del ADN aislado a partir de tejido foliar de ocho clones de *Musa*.

Clones	Concentración (ng/μl)	Pureza (Relación 260/280)
Pisang Awak (AAB)	201,90	1,84
FHIA 17C (AAAA)	130,05	1,88
Cavendish Giant (AAA)	164,76	2,00
Cavendish Enano (AAA)	128,07	2,21
BB	272,19	1,99
BBB	184,65	1,95
FHIA 17IV (AAAA)	38,07	1,80
FHIA 25 (AABB)	99,84	1,60

De los 27 iniciadores analizados, se obtuvo amplificación en 25 de ellos. Solo los iniciadores OPA 17 y OPM05 no produjeron ningún producto de amplificación. Se logró amplificar un total de 337 bandas RAPD, de las cuales un 75,93% en promedio resultaron ser polimórficas, con una reproducibilidad del 100%.

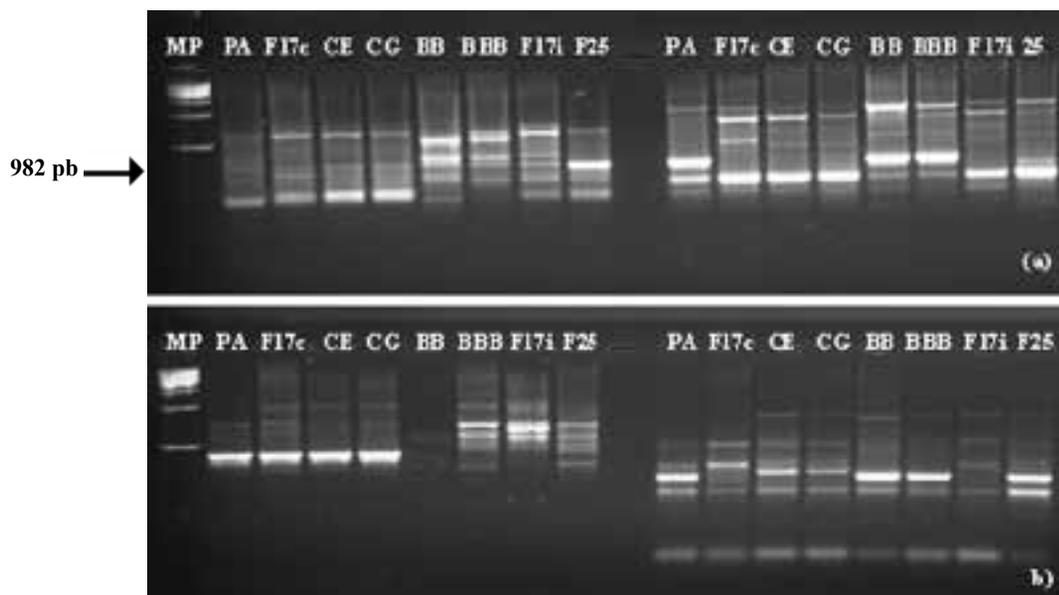
En el Cuadro 2 se presentan los porcentajes de bandas polimórficas obtenidos y el PIC para cada uno de los iniciadores analizados. Los resultados arrojan un alto poder discriminatorio entre los iniciadores utilizados.

Se evidencia un alto grado de polimorfismo entre los ocho genotipos estudiados (Figura 1a y 1b). Todos los iniciadores utilizados fueron capaces de establecer polimorfismos entre los materiales de *Musa* estudiados. El primer OPA03 permitió la formación de un producto de amplificación de 982 bp (Figura 1a), presente exclusivamente en los materiales tolerantes a *X. campestris* pv. *musacearum*.

CUADRO 2. Porcentaje de bandas polimórficas y contenido de información polimórfica asociados a los 27 iniciadores utilizados para la caracterización molecular de ocho genotipos de *Musa* con respuesta diferencial al ataque de *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum*

	# bandas	NBP	%BP	PIC
OPA-01	10	10	100,00	0,41
OPA-02	9	8	88,89	0,39
OPA-03	12	12	100,00	0,43
OPA-04	12	11	91,67	0,32
OPA-05	7	7	100,00	0,34
OPA-06	5	5	100,00	0,38
OPA-07	9	9	100,00	0,39
OPA-08	11	11	100,00	0,45
OPA-09	7	3	42,86	0,17
OPA-10	19	19	100,00	0,37
OPA-11	16	16	100,00	0,33
OPA-12	11	11	100,00	0,27
OPA-13	11	9	81,82	0,24
OPA-14	12	12	100,00	0,38
OPA-15	5	5	100,00	0,39
OPA-16	5	4	80,00	0,68
OPA-17	0	0	0,00	0,00
OPA-18	7	7	100,00	0,41
OPA-19	10	10	100,00	0,33
OPA-20	7	7	100,00	0,22
OPJ-01	15	2	13,33	0,37
OPJ-02	25	9	36,00	0,07
OPJ-03	25	1	4,00	0,22
OPJ-04	17	7	41,18	0,13
OPJ-05	46	44	95,65	0,33
OPM-05	0	0	0,00	0,00
OPM-20	24	14	58,33	0,16

NBP= Número de bandas Polimórficas, %BP= porcentaje de bandas polimórficas, PIC= Contenido de Información Polimórfica.



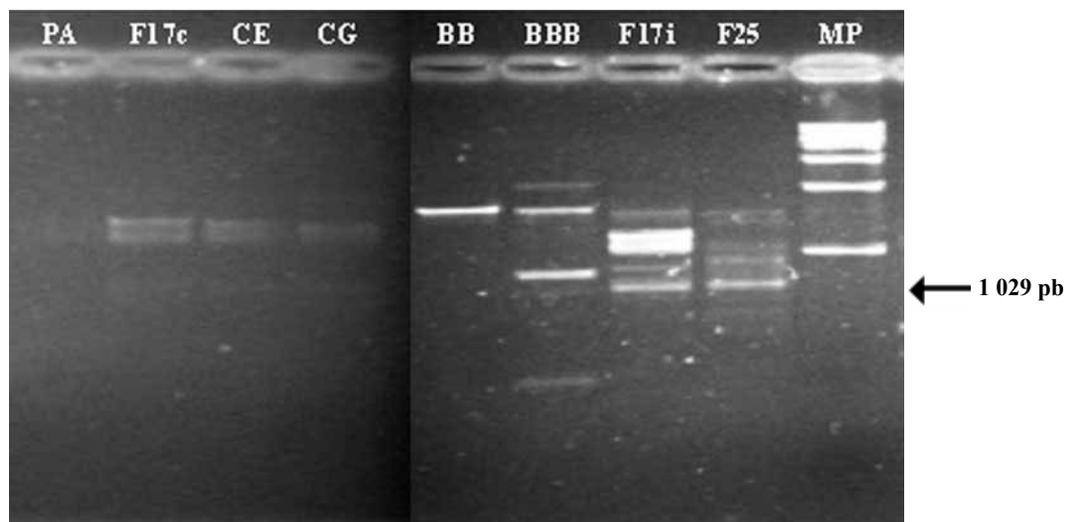
MP= Marcador de peso molecular 1kb ladder; PA= Pisang Awak; F17c= FHIA 17 campo; CE= Cavendish Enano; CG= Cavendish Gigante; BB= Musabalisiana; BBB= Triploide Balbisiana; F17i= FHIA 17 *in vitro*; F25= FHIA 25 *in vitro*.

FIGURA 1. (a) Fragmentos de amplificación obtenidos con los iniciadores OPA03 Y OPA04, respectivamente. (b) Fragmentos de amplificación obtenidos con los iniciadores OPA01 Y OPA02, respectivamente.

En el mismo orden de ideas, Jhaved *et al.* (2004) reportaron un producto de amplificación del primer OPA03 de aproximadamente 400 bp como relacionado a la susceptibilidad a *Fusarium oxysporum*. De lo anterior, se deduce que el primer OPA03 aparece como una

herramienta potencial para la selección de materiales de *Musa* tolerantes a enfermedades.

De igual modo, el primer OPA07 permite la amplificación de un fragmento de 1029 bp (Figura 2) presente exclusivamente en los materiales susceptibles a *X. campestris* pv. *musacearum*.



MP= Marcador de peso molecular 1kb ladder; PA= Pisang Awak; F17c= FHIA 17 campo, CE= Cavendish Enano; CG= Cavendish Gigante; BB= Musabalisiana; BBB= Triploide Balbisiana; F17i= FHIA 17 *in vitro*; F25= FHIA 25 *in vitro*.

FIGURA 2. Fragmentos de amplificación obtenidos con el primer OPA07.

Adicionalmente, se identificó en los genotipos tolerantes una banda de 630 bp con el iniciador OPA10, una banda de 1725 bp con el iniciador OPJ01, otra de 580 bp con el primer OPM20 y la siguiente de 630 bp con el primer OPJ05. Las bandas identificadas se presentan como elementos potenciales para la selección de individuos con tolerancia a *X. campestris* pv. *musacearum* y se recomienda afinar los estudios con estos dos posibles marcadores, a fin de establecer la verdadera correlación de estos productos de amplificación RAPD con la tolerancia al patógeno.

En general se observó que los iniciadores de la serie OPA tienen mayor poder de discriminación que los de las otras series analizadas, evidenciado por un mayor número de bandas polimórficas producidas y un mayor PIC. De los iniciadores que permitieron amplificar bandas específicas para los genotipos tolerantes, todos excepto OPJ01 y OPM 20 pueden considerarse como generadores de un alto grado de polimorfismo debido a que presentan porcentajes de bandas polimórficas superiores al 90%. Los primers evaluados a excepción de OPM20 presentaron rangos de PIC entre 0,33 y 0,43. Valores similares

de PIC fueron mencionados por Salazar *et al.* (2006) con los primers OPA01, OPA02 y OPA 19 analizando germoplasma de ajonjolí.

En el caso de RAPD en *Musa*, los valores PIC coinciden con los señalados por Zambrano *et al.* (2007) para los primers 10 mer utilizados. Sin embargo, el número de bandas polimórficas generadas fue mucho menor que los encontrados en el presente trabajo utilizando primers de la serie OPA. Del mismo modo, Nadal-Medina *et al.* (2009) encontraron niveles de polimorfismo superiores al 90% analizando genomas de bananos con los primers de la serie OPA, lo cual concuerda con los resultados del presente estudio.

El análisis de conglomerado jerárquico permitió la separación de los materiales en dos grandes grupos (Figura 3), uno de los cuales estuvo formado exclusivamente por genotipos con el genoma A. Los materiales con el genoma B estuvieron siempre ubicados en el mismo subgrupo, cercanos al clon Pisang Awak con genoma (ABB).

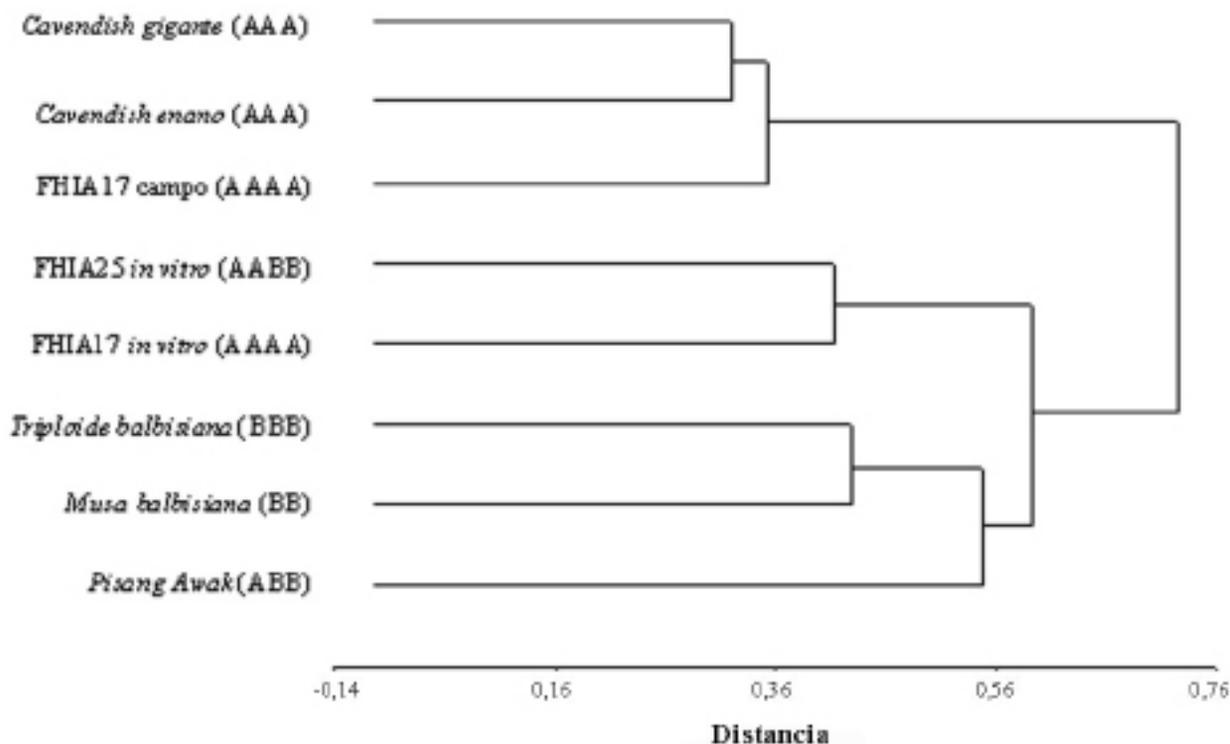


FIGURA 3. Dendrograma del análisis conglomerado jerárquico de ocho materiales de *Musa* caracterizados mediante patrones RAPD

Los dos materiales analizados del clon FHIA 17 tienen huellas genéticas completamente diferentes, estando ubicados en grupos distintos. Esta diferencia puede deberse a mutaciones producidas durante la reproducción *in vitro*, variación somaclonal. Sin embargo, dada la ubicación del material FHIA 17 en grupos donde hay presencia del genoma B, y la semejanza genética con el material FHIA 25, es factible que la muestra seleccionada *in vitro* esté mal etiquetada y no corresponda al genotipo señalado. En cualquier caso, hace falta realizar una exploración más detallada con materiales FHIA 17 procedentes de campo y de propagación *in vitro*, a fin de dilucidar el origen de la variabilidad genética encontrada.

CONCLUSIONES

- Los patrones de bandas RAPD permitieron generar una huella genética para cada genotipo estudiado y posibilitaron el establecimiento de polimorfismos entre los genotipos con respuesta diferencial al ataque de *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum*. Los primers de la serie OPA determinaron un mayor grado de polimorfismos que los primers de las series OPJ y OPM estudiados.
 - Se identificaron seis bandas presentes en los genotipos con genoma B, los cuales se señalan como tolerantes a la bacteria, convirtiéndose en candidatas a ser utilizadas como herramientas moleculares para asistir la selección de genotipos tolerantes, una vez se compruebe la correlación entre las bandas y la tolerancia al patógeno.
 - Los genotipos estudiados se dividen en dos grandes grupos, uno de los cuales se formó con los individuos que portaban exclusivamente el genoma A. El segundo grupo, comprendió los genotipos que portaban el genoma B y un genotipo tetraploide para el genoma A producido *in vitro*. Este último presentó diferencias genéticas con un genotipo similar provenientes de condiciones de campo. Las diferencias pueden deberse a variación somaclonal o a errores en la identificación del material *in vitro*, por lo que se recomienda un trabajo más detallado, caracterizando los dos tipos de materiales.
- miento y biología molecular para el desarrollo de resistencia al añublo del arroz. Octubre 14-18, Cali, Colombia.

BIBLIOGRAFÍA

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 1999. Taller integración de fitopatología, mejora-

Damasco, O. P., G. C. Graham, R. J. Henry, S. W. Adkins, M. K. Smith and I. D. Godwin. 1996. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) detection of dwarf off-types in micropropagated cavendish (*Musa sp.* AAA) bananas. *Plant Cell Reports*. 16:118-123.

Dellaporta, S. J., J. Wood and J. B. Hicks. 1983. A plant DNA minipreparation: version II. *Plant Mol. Rep.* 1:19-21.

García, E. y C. Giménez. 1999. El uso de marcadores moleculares en la detección de variantes somaclonales en *Musa ssp.* *Mem. Inst. Biol. Exp.* 2:115-118.

Gubbuk, H., M. Pekmezci, A. N. Omus and M. Erkan. 2004. Identification and selection of superior banana phenotypes in the cultivar Dwarf Cavendish using characteristics and RAPD markers. *Pakist. J. Bot.* 36:331-342.

Howell, E. C., J. H. Newbury, R. Swennen, L. A. Wilhers and B. V. Ford-Lloyd. 1994. The use of RAPD for identifying and classifying *Musa* germplasm. *Genome* 37:328-332.

Javed, M. A. and R. Y. Othman. 2005. Characterization of Fusarium wilt-resistant and Fusarium wilt-susceptible somaclones of banana cultivar Rastali (*Musa AAB*) by Random Amplified Polymorphic DNA and Retrotransposon markers. *Plant Molec. Biol. Rep.* 23:241-249.

Javed, M. A., M. Chai and R. Y. Othman. 2004. Study of resistance to *Fusarium oxysporum* using RAPD markers. *Biol. Plant.* 48:93-99.

Kaemmer, D., R. Afza, K. Weising, G. Kahl and F. J. Novak. 1992. Oligonucleotide and amplification fingerprinting of wild species and cultivars of banana (*Musa spp.*) *Biotechnology* 10:1 030-1 035.

Lakshmanan, V., S. R. Venkataramareddy and B. Neelwarne. 2007. Molecular analysis of genetic stability in long-term micropropagated shorts of banana using RAPD and ISSR markers. *E. J. Biotechnol.* 10(1). Disponible en: <http://www.ejbio technology.info/content/vol10issue1/full/12/>.

- Martin, K. P., S. K. Pachathundikandi, C. L. Zhang, A. Slater and J. Madassery. 2006. RAPD analysis of a variant of banana (*Musa* sp.) cv. Grande naine and its propagation via shoot tip culture. *In vitro* Cell. Dev. Biol. Plant. 42:188-192.
- Nadal-Medina, R., G. Manzo-Sánchez, J. Orozco-Romero, M. Orozco-Santos y S. Guzmán-González. 2009. Diversidad genética de bananos y plátanos (*Musa* spp.) Determinada mediante marcadores RAPD. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32(1):1-7.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2004. FAOSTAT Agricultura. Superficie, producción y rendimiento. Disponible en <http://www.fao.org>.
- Pérez Vicente, L. 2009. Enfermedades exóticas que constituyen una amenaza para la estabilidad de la producción de bananos y plátanos en América Latina y el Caribe. *Fitosanidad* 13(1):34-35.
- Pillay, N., D. C. Nwakanma and A. Tenkouano. 2000. Identification of RAPD markers to A and B genome sequences in *Musa* L. *Genome* 43:763-767.
- Pillay, M., E. Ougundidiwin, D. C. Nwakanma, G. Ude and A. Tenkouano. 2001. Analysis of genetic diversity and relationships in East African banana germoplasm. *Theor Appl Genet.* 102:965-970.
- Ramaje, C. M., A. M. Borda, S. D. Hamill and M. K. Smith. 2004. A simplified PCR test for early detection of dwarf off-types in micropropagated Cavendish bananas (*Musa* spp. AAA). *Sci. Hort.* 103:45-151.
- Ray, T., I. Dutta, P. Saha, S. Das and S. C. Roy. 2006. Genetic stability of three economically important micropropagated banana (*Musa* spp.) cultivars of lower Indo-Gangetic plains, as assessed by RAPD and ISSR markers. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 85:11-21.
- Roldán-Ruiz, I., J. Dendauw, E. Van Bockstaele, A. Depicker and M. De Loose. 2000. AFLP Markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Mol. Breed* 6:125-134.
- Salazar, B., H. Laurentín, M. Dávila and M. Castillo. 2006. Reliability of the RAPD technique for germplasm analysis of sesame (*Sesamum indicum* L.) from Venezuela. *Interciencia* 31(6):456-460.
- Thu, N. X., L. T. L. Oanh y H. H. Nhi. 2002. Utilización de la técnica RAPD para la identificación y clasificación de algunos cultivares de banano en Vietnam. *INFOMUSA* 11(1):48-49.
- Tripathi, L., J. N. Tripathi y W. K. Tushemereirwe. 2004. Estrategias para la resistencia a la enfermedad de la marchitez bacteriana de los plátanos a través de la ingeniería genética. *African Journal of Biotechnology* 3(12):688-692.
- Tripathi, L. and J. N. Tripathi. 2009. Relative susceptibility of banana cultivars to *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum*. *African Journal of Biotechnology* 8(20):5.343-5.350.
- Uma, S., S. A. Siva, M. S. Saraswathi, M. Manickavasagam, P. Durai, R. Selvarajan and S. Sathiamoorthy. 2006. Variation and intraspecific relationships in India wild *Musabalbisiana* (BB) population as evidenced by Random Amplified Polymorphic DNA. *Gen. Resour. Crop Evol.* 53:349-355.
- Vidal, M. C. and E. García. 2000. Analysis of *Musa* spp. somaclonal variant resistant to yellow sigatoca. *Plant Molec. Biol. Rep.* 18:23-31.
- Visser, A. H. 2001. Characterization of banana and plantain using random amplified polymorphic DNA markers. *Horticult. Abstr.* 72(2):1 154.
- Welsh, J. and M. McClelland. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 18:7 213-7 218.
- Williams, J., A. Kubelik, K. Livak, J. Rafalski and S. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nuc. Ac. Res.* 18:6 531-6 535.
- Williams, J. G. K., M. K. Hanafey, J. A. Rafalski and S. V. Tingey. 1993. Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. *Meth. Enzymol* 218:704-740.
- Zambrano, A. Y., G. Martínez, Z. Gutiérrez, E. Manzanilla, J. L. Vicente-Villardón y J. Demey. 2007. Marcador RAPD asociado a la resistencia a *Fusarium oxysporum* en *Musa*. *Interciencia* 32(11):775-779.

CARACTERIZACIÓN DE LA FLORA ARVENSE ASOCIADA A UN CULTIVO DE MAÍZ BAJO RIEGO PARA PRODUCCIÓN DE JOJOTOS

CHARACTERIZATION OF WEED FLORA RELATED TO MAIZE CROP UNDER IRRIGATION JOJOTOS PRODUCTION

Arnaldo J. Gámez López*, Manuel Hernández**, Rómulo Díaz** y José Vargas**

*Investigador. INIA Guárico. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. **Ingenieros Agrónomos. Convenio Asociación Venezolana Peritos y Técnicos Agropecuarios (AVPTA). Correo electrónico: agamez@inia.gob.ve

RESUMEN

Con la finalidad de conocer las malezas asociadas a un cultivo de maíz, *Zea mays* L., bajo riego para la producción de jojotos, se realizó un inventario en la finca "Mamonal" ubicada en la parroquia Valle de la Pascua, municipio Leonardo Infante, estado Guárico, Venezuela. Se determinó el área mínima de muestreo (AMM) utilizando cuadrícula de 0,25 m². Se calculó densidad, frecuencia, dominancia y el índice de valor de importancia (IVI) para las especies muestreadas. Durante la ejecución del inventario se contabilizó un total de 29 especies pertenecientes a 17 familias, de las cuales en lo que respecta a su ciclo de vida el 86,21% está representado por plantas anuales y 13,79% por plantas perennes. Las familias de la clase monocotiledónea (Liliopsida) fueron Poaceae y Cyperaceae. La clase dicotiledónea (Magnoliopsida), se encontró representada por las familias: Euphorbiaceae, Amaranthaceae, Scrophulariaceae, Capparidaceae, Asteraceae, Cucurbitaceae, Molluginaceae, Sterculiaceae, Fabaceae, Boraginaceae, Portulacaceae, Convolvulaceae, Malvaceae, Solanaceae y Asclepiadaceae. Las especies *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. y *Cyperus rotundus* L. predominaron de acuerdo a los parámetros poblacionales calculados. El inventario de malezas puede servir de base y herramienta a los productores de maíz para jojoto en la región, con la finalidad de definir planes de manejo de las mismas y así optimizar los rendimientos en este cultivo.

Palabras Clave: *Zea mays* L.; frecuencia; dominancia; densidad; monocotiledónea; dicotiledónea.

SUMMARY

In order to know the weeds associated with a maize crop under irrigation for the production of maize, *Zea mays* L., an inventory was conducted in the farm "Mamonal" located Valle de la Pascua parish, municipality Leonardo Infante, State of Guarico, Venezuela. Minimum sampling area (WMA) was determined using squared pattern of 0,25 m². Density, frequency, dominance and importance value index (IVI) for species sampled were determined. A total of 29 species belonging to 17 families were identified during inventory, which in relation to the life cycle is represented by 86.21% annual plants and 13.79% perennials plants. The monocot class families (Liliopsida) were: Poaceae and Cyperaceae. Dicot class (Magnoliopsida), was represented by the families: Euphorbiaceae, Amaranthaceae, Scrophulariaceae, Capparidaceae, Asteraceae, Cucurbitaceae, Molluginaceae, Sterculiaceae, Fabaceae, Boraginaceae, Portulacaceae, Convolvulaceae, Malvaceae, Solanaceae, Asclepiadaceae. Species *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. and *Cyperus rotundus* L. were predominant according to population parameters calculated. Inventory of weeds can be the basis and tools for producers of corn in order to draw up plans for their management and optimize the yields of this crop.

Key Words: *Zea mays* L.; frequency; dominance; density; monocot; dicot.

RECIBIDO: octubre 05, 2011

APROBADO: mayo 10, 2012

INTRODUCCIÓN

El maíz, *Zea mays* L., constituye uno de los cultivos más importantes del mundo en la alimentación humana y animal. En Venezuela siempre ha sido calificado como rubro estratégico desde el punto de vista económico y social, debido al aporte que tiene en la producción agrícola nacional; es la base de la alimentación energética de los animales de producción avícola, porcina y bovina, así como de la mayoría de la población. Además, constituye una de las principales actividades agrícolas de las familias rurales, por ser una de las principales fuentes de sus ingresos (Anzalone *et al.*, 2006).

En la actualidad, más del 85% de la producción nacional corresponde a maíz de grano blanco semi-duro, utilizado en un 80% por la industria de molienda seca en la elaboración de harinas precocidas; el restante se emplea en las empresas procesadoras de maíz pilado y para el consumo fresco. El maíz amarillo solo representa entre el 10 y 15% de la producción, se destina a la industria de alimentos balanceados para animales, al consumo fresco como jojotos y para la elaboración de cachapas (Segovia y Alfaro, 2008).

Una de las principales limitantes bióticas que afecta la producción de maíz en Venezuela es la presencia de malezas, ya que reducen los rendimientos por efecto de la alelospolía y alelopatía, además de ser hospederas de ciertos insectos-plaga y enfermedades. De este modo, aumentan los costos de producción por la utilización de diferentes medidas para el control de las poblaciones (Anzalone *et al.*, 2006). Estos efectos de interferencia sobre el rendimiento del maíz dependen de la densidad y de las especies predominantes, sobre todo durante el período del ciclo del cultivo, en el cual exista mayor interferencia de las malezas, y puede ocurrir entre las primeras etapas de crecimiento, específicamente entre la tercera y quinta semana (Domínguez, 2009; Rodríguez, 2000).

El estudio de la flora arvense es una herramienta básica para el efectivo manejo en beneficio del cultivo, por ello debe constituir el primer paso en el diseño de planes de siembra (Anzalone y Casanova, 2004; Labrada *et al.*, 1996). Muchas son las metodologías de análisis que se han utilizado para su evaluación.

Chávez y Guevara-Fefér (2003) al realizar un inventario florístico de las malezas asociadas al maíz de temporal en el valle de Morelia, Michoacán, México,

identificaron 189 especies: 41 monocotiledóneas y 148 dicotiledóneas, pertenecientes a 34 familias. Las familias con más especies fueron Asteraceae, Poaceae Fabaceae, Euphorbiaceae y Solanaceae. Por su parte, Delgado (2009) encontró 89 especies de malezas asociadas al cultivo de maíz de riego en la zona del bajo de Guanajuato, México, las cuales estuvieron representadas en 23 diferentes familias. De ellas las más frecuentes fueron: *Amaranthus hybridus* L. (Amaranthaceae), *Anoda cristata* (L.) Schltl (Malvaceae), *Aldama dentata* Llave y Lex. (Asteraceae) e *Ipomoea purpurea* (L.) Roth (Convolvulaceae).

El objetivo de este trabajo fue reconocer las principales malezas monocotiledóneas y dicotiledóneas asociadas a un cultivo de maíz bajo riego para la producción de jojotos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Características del área bajo estudio

El estudio se realizó en terrenos de la finca "Mamonal", sector Mamonal (coordenadas UTM 4315427 N y 1257908 E), parroquia Valle de la Pascua, municipio Leonardo Infante, estado Guárico, perteneciente al paisaje colinoso; altura 172 m.s.n.m., con una precipitación promedio entre 800 y 900 mm, temperatura promedio anual de 26,3 °C, vegetación predominante bosques deciduos; con suelos ultisoles. La unidad de producción tiene un área bajo cultivo de maíz de 2 ha; se aplica riego por aspersión a baja presión y se considera representativa de las unidades de producción de maíz-jojoto bajo riego en la zona.

Metodología para la caracterización de la población de malezas en la unidad de producción

Inicialmente, se realizó un inventario general de las especies de malezas presentes en la unidad de producción.

Para el reconocimiento e identificación de las especies se utilizaron los manuales de reconocimiento de plantas de Cárdenas *et al.* (1987); Pacheco y Pérez (1989); Pitty y Muñoz (1991). Asimismo, se consultaron las siguientes páginas web: <http://weedid.aces.uiuc.edu/> y http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/weeds_intro.html. Así como, el catálogo de Díaz y Delascio-Chitty (2007), la clave de Lares (2007) y los conocimientos adquiridos en la identificación de las especies de malezas.

Método de muestreo

Se determinó el área mínima de muestreo (AMM); parámetro que indicó el tamaño más apropiado que se utilizó para realizar las mediciones correspondientes, basado en la metodología descrita por Fuentes (1986) que relaciona el número de especies aparecidas en la muestra con el aumento del área bajo muestreo.

Aleatoriamente se lanzó un marco metálico de 0,25 m² (0,5m x 0,5m) en el área de siembra de la unidad de producción, determinando el número de especies que aparecían. Posteriormente, el área de muestreo se fue duplicando sucesivamente, fijando en cada paso el número de nuevas especies encontradas en un espacio anexo a la zona bajo muestreo, las cuales se acumularon a las especies halladas con anterioridad. Este procedimiento se realizó hasta que no aparecieron nuevas especies en tres aumentos sucesivos del perímetro.

Análisis de los datos

Con los datos obtenidos se efectuaron los cálculos de los siguientes parámetros poblacionales a través del programa informático Microsoft® Office Excel 2007:

1. Densidad (De): N° de plantas por especie / unidad de área (m²).

2. Densidad Relativa (Dr): Densidad por especie / Densidad total.
3. Frecuencia (F): N° de muestras en la que aparece la especie x 100/ N° total de muestras.
4. Frecuencia Relativa (Fr): Frecuencia por especie / Frecuencia total.
5. Dominancia (Do): N° de individuos de una especie x 100 / N° total de individuos de todas las especies.
6. Dominancia Relativa (dr): Dominancia por especie / Dominancia total.
7. Índice de valor de importancia (IVI): Dr + Fr+ dr.

El IVI es un formato numérico que permite asignarle a cada especie su categoría de importancia con base en su condición fitosociológica o su relación con las otras especies presentes en un área determinada (Páez, 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el inventario general, se determinó un total de 29 especies pertenecientes a 17 familias (Cuadro 1), de las cuales, en lo que respecta a su ciclo de vida, el 86,21% estuvo representado por plantas anuales y 13,79% por plantas perennes.

CUADRO 1. Clase, familia, nombre común y ciclo de vida de las 29 especies de malezas inventariadas en la unidad de producción.

Clase	Familia	Especie	Nombre vulgar	Ciclo de vida
Liliopsida (Monocotiledónea)	Poaceae	<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop	Falsa pata de gallina	Anual
		<i>Cenchrus brownii</i> Roem y Schult	Cadillo Bobo	Anual
		<i>Panicum máximum</i> Jacq.	Guinea colonial	Anual
		<i>Sorghum halepense</i> (L.) Pers.	Pasto johnson	Perenne
	Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i> L.	Corocillo	Perenne
		<i>Eleusine indica</i> (L.) Gaernt.	Guaratara	Anual
		<i>Rottboellia cochinchinesis</i> (Lour) W.D Clayton	Paja rolito	Anual
Magnoliopsida (Dicotiledónea)	Euphorbiaceae	<i>Sorghum verticilliflorum</i> (Steud.) Stapf.	Falso jhonson	Anual
		<i>Chamaescyce hypericifolia</i> (L.) Millsp.	Lecherito	Anual
		<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	Hierba de boca	Anual
	Amaranthaceae	<i>Sida</i> Sp.(ASDI)	Escobón	Anual
		<i>Amaranthus dubius</i> Mart. Ex. Thell	Pira	Anual

... continúa

./... continuación CUADRO 1.

Clase	Familia	Especie	Nombre vulgar	Ciclo de vida
Magnoliopsida (Dicotiledónea)	Scrophulariaceae	<i>Scoparia dulcil</i> L.	Escobilla	Anual
	Capparidaceae	<i>Cleome spinosa</i> Jacq.	Barba de tigre	Anual
	Asteraceae	<i>Bidens pilosa</i> L.	Amor seco	Anual
	Cucurbitaceae	<i>Momordica charantia</i> L.	Cundiamor	Anual
	Molluginaceae	<i>Mollugo verticillum</i> L.	Hierba de arena	Anual
	Sterculiaceae	<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.	Guácimo	Perenne
	Fabaceae	<i>Neptunia plena</i> (L.) Benth	Arestín	Anual
		<i>Senna obtusifolia</i> (L.) Irwing y Barneby	Brusca	Anual
		<i>Senna occidentalis</i> (L.) Link	Brusca negra	Anual
	Boraginaceae	<i>Heliotropium indicum</i> L.	Borrajón	Anual
	Portulacaceae	<i>Portulaca oleracea</i> L.	Verdolaga	Anual
	Malvaceae	<i>Sidastrum micranthum</i> (St.Hil.) Fryxel.	Babosa	Anual
		<i>Sida rhombifolia</i> L.	Escoba amarilla	Anual
		<i>Sida acuta</i> Burn. f	Escoba	Anual
	Convolvulaceae	<i>Ipomoea</i> sp.	Bejuquillo	Anual
	Solanaceae	<i>Solanum nigrum</i> L.	Yerba mora	Anual
Asclepiadaceae	<i>Calotropis procera</i> (Aiton) W.T.Aiton	Algodón de España	Perenne	

A este respecto, en la clase monocotiledoneae (Liliopsida) las familias presentes fueron: Poaceae y Cyperaceae. La clase dicotiledonea (Magnoliopsida) estuvo representada por las familias: Euphorbiaceae, Amaranthaceae, Scrophulariaceae, Capparidaceae, Asteraceae, Cucurbitaceae, Molluginaceae, Sterculiaceae, Fabaceae, Boraginaceae, Portulacaceae, Convolvulaceae, Malvaceae, Solanaceae y Asclepiadaceae.

La familia con más especies fue Poaceae con siete, seguida de las familias Malvaceae con cuatro, Fabaceae con tres y Euphorbiaceae dos. El resto de familias con una especie, respectivamente. El valor de aparición de las Poaceae en este estudio corrobora las referencias existentes sobre esta familia botánica considerada como una de las más numerosas (consta de casi 700 géneros y unas 12 000 especies). Se calcula que las gramíneas ocupan un 20% de la superficie vegetal del mundo, y también es considerada como la cuarta familia en importancia por el número de especies, y sin duda la primera por su interés económico (Medrano *et al.*, 2007; Pacheco *et al.*, 2006).

Es de resaltar que muchas malezas de importancia económica en el cultivo de maíz y otros cultivos, pertenecen a la familia Poaceae; en estudios similares de siembras de maíz en seis localidades del estado Aragua, se encontró que la mayoría de las especies correspondían a esa

familia, seguidas de Euphorbiaceae y Malvaceae (Rodríguez, 1988).

De acuerdo con el total de las especies encontradas en el inventario, 11 poseían baja densidad y frecuencia, no se presentaron en el área muestreada o se encontraban en los alrededores de la zona bajo estudio; las mismas fueron: *S. rhombifolia*, *S. occidentalis*, *Ipomoea* sp., *C. brownii*, *P. maximum*, *S. acuta*, *S. nigrum*, *S. halepense*, *S. verticilliflorum*, *E. heterophylla* y *C. procera*.

Se puede observar en la Figura, que a medida que se fue extendiendo el área de muestreo, aparecían más especies de malezas hasta llegar a un punto donde se incrementó tres veces más el área y no aparecieron más especies. Se determinó un AMM de 2,75 m², encontrándose un total de 18 especies.

En el Cuadro 2 se resumen los parámetros poblacionales: densidad (m²), frecuencia (%), dominancia (%) e IVI de las 18 malezas presentes en el muestreo. La especie *D. sanguinalis* fue la de mayor índice de dominancia con 41,62%, seguida de *C. rotundus* con 41,01% y *C. hypericifolia* con 3,84%. En cuanto a la frecuencia de aparición la especie *C. rotundus* obtuvo el 100%; seguida de *D. sanguinalis* con 90,91% y *C. hypericifolia* con 45,45%.

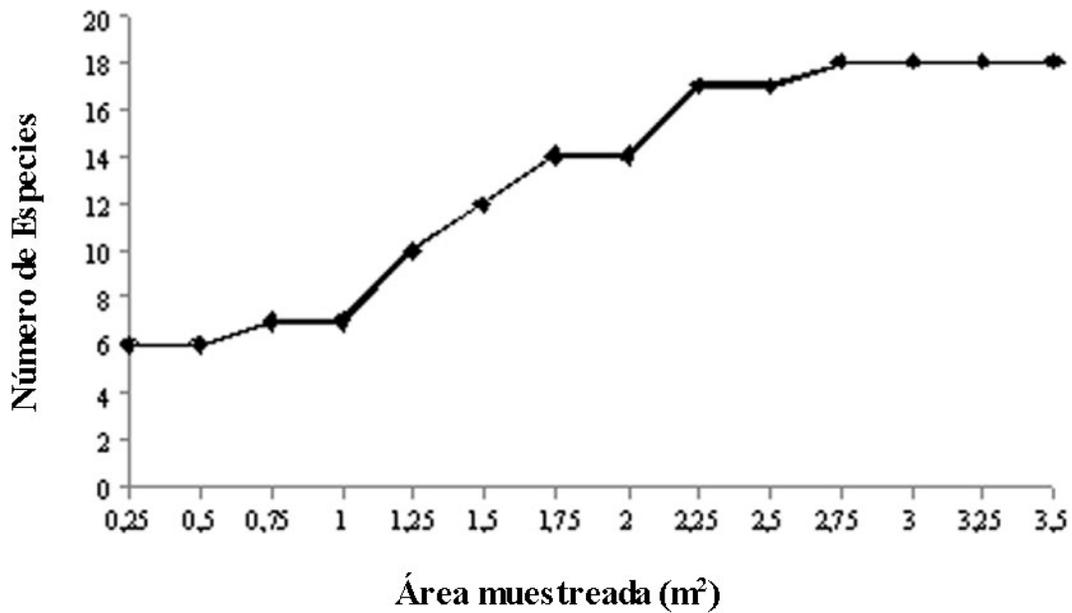


FIGURA. Determinación del área mínima de muestreo en la zona bajo estudio.

CUADRO 2. Principales malezas encontradas en este estudio.

Nombre Científico	De	F	Do	IVI
<i>Digitaria sanguinalis</i>	247,20	90,91	41,62	0,89
<i>Cyperus rotundus</i>	221,45	100,00	41,01	0,87
<i>Chamaescyce hypericifolia</i>	45,60	45,45	3,84	0,18
<i>Eleusine indica</i>	44,00	18,18	1,48	0,10
<i>Sida sp.</i>	40,00	29,41	2,02	0,13
<i>Bidens pilosa</i>	38,00	18,18	1,28	0,09
<i>Amaranthus dubius</i>	33,33	27,27	1,68	0,11
<i>Scoparia dulci</i>	26,00	36,36	1,75	0,12
<i>Portulaca oleracea</i>	24,00	9,09	0,40	0,05
<i>Senna obtusifolia</i>	16,00	9,09	0,27	0,04
<i>Mollugo verticillium</i>	16,00	9,09	0,27	0,04
<i>Rottboellia cochinchinensis</i>	16,00	18,18	0,54	0,06
<i>Heliotropium indicum</i>	12,00	11,76	0,40	0,04
<i>Sidastrum micranthum</i>	11,45	9,09	1,75	0,05
<i>Guazuma ulmifolia</i>	10,00	18,18	0,34	0,05
<i>Neptunia plena</i>	8,00	18,18	0,27	0,05
<i>Momordica charantia</i>	6,67	27,27	0,34	0,06
<i>Cleome spinosa</i>	4,85	27,27	0,74	0,07

De: densidad; F: frecuencia; Do: dominancia; IVI: índice de valor de importancia.

De acuerdo al IVI y de forma general en el área bajo estudio las 10 especies asociadas al cultivo más importantes son: *D. sanguinalis*, *C. rotundus*, *C. hypericifolia*, *Sida* sp., *S. dulcil*, *A. dubius*, *C. spinosa*, *E. indica*, *B. pilosa* y *M. charantia*.

D. sanguinalis y *C. rotundus* destacan ampliamente entre las demás especies, se consiguen diseminadas en toda el área bajo cultivo. Las especies con índices menores asociadas al cultivo son: *M. verticillum*, *R. cochinchinensis*, *G. ulmifolia*, *N. plena*, *H. indicum*, *P. oleracea*, *S. obtusifolia* y *S. micranthum*.

El predominio de las plantas anuales sobre las perennes puede estar condicionado por el frecuente control químico a base de paraquat (1:1' dimetil-4,4' bupiridilo dicloruro). Estas especies se han mantenido en el tiempo por un proceso de adaptación y persistencia debido a la integración de factores ecológicos, climáticos y edáficos, así como también al manejo intensivo para la producción de maíz, a la combinación de la producción de alto número de semillas por planta, la latencia y prolongada viabilidad de las mismas; estas semillas una vez establecidas en el suelo es prácticamente imposible controlarlas de manera eficiente (Martínez y Alfonso, 2003).

Muchas de las especies inventariadas en este estudio fueron mencionadas como problemáticas en el cultivo de maíz en el país. Rodríguez *et al.* (2007) señalan las más importantes en las regiones maiceras venezolanas, de acuerdo a las áreas invadidas, frecuencia, densidad, agresividad, daños causados y dificultad de control o manejo a: *C. rotundus*, *Ipomoea* sp., *S. halapense*, *S. verticilliflorum*, *Digitaria* sp., *E. heterophylla* y *R. cochinchinensis*. Según Ortiz (2005) otras malezas de importancia en el cultivo de maíz son: *E. indica* y *C. hirta*.

CONCLUSIONES

- Se constató la presencia de 29 especies agrupadas en 17 Familias.
- La familia con mayor número de especies fue la Poaceae con predominio de la especie *D. sanguinalis*. Sin embargo, la de mayor frecuencia fue *C. rotundus*, perteneciente a la familia Cyperaceae, seguidas en orden de importancia de acuerdo a los parámetros poblacionales calculados por las especies *C. hypericifolia* de la familia Euphorbiaceae, *Sida* spp. de Malvaceae, *S. dulcil* de Scrophulariaceae, *A. dubius* de Amaranthaceae y *C. spinosa* de Capparidaceae.

BIBLIOGRAFÍA

- Anzalone, A. y M. Casanova. 2004. Estudio de la flora arvense asociada al cultivo de la vid (*Vitis vinifera* L.) en El Tocuyo, Edo. Lara, Venezuela. An. Bot. Agr. 11: 47-60.
- Anzalone, A., A. Gámez y L. Meléndez. 2006. Evaluación de la interferencia de *Rottboellia cochinchinensis* sobre el maíz (*Zea mays* L.) a través de un método aditivo. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 23:373-383.
- Cárdenas, J., I. Reyes y J. Doll. 1987. Malezas Tropicales. Instituto Colombiano Agropecuario. Bogotá, 114 p.
- Chávez, A y F. Guevara-Fenfér. 2003. Flora arvense asociada al cultivo de maíz de temporal en el valle de Morelia, Michoacán, México. Fascículo complementario XIX. (Documento en línea). In: <http://www1.inecol.edu.mx/publicaciones/resumeness/FLOBA/ComplementarioXIX.pdf>
- Delgado, J. 2009. Especies de malezas asociadas a cultivos de bajos de Guanajuato, México. (Documento en línea). In: <http://www.agricolaunam.org.mx/coleccioness%20virtuales/Malezas%20del%20Bajio%20JUAN%20CARLOS%20DELGADO.pdf>
- Díaz, W. y F. Delascio. 2007. Catálogo de plantas vasculares de ciudad Bolívar y sus alrededores, estado Bolívar, Venezuela. Acta Bot. Venez. 30(1):99-161.
- Domínguez, J. 2009. Control de malezas en maíz. Extensión al campo. Universidad Autónoma Chapingo. Año II, 2:10-11.
- Fuentes, C. 1986. Metodologías y técnicas para evaluar las poblaciones de malezas y su efecto en los cultivos. Revista COMALFI 13:29-50.
- Labrada, R., J. Caseley y C. Parker. 1996. Manejo de malezas para países en desarrollo. Estudio FAO. Producción y Protección Vegetal-120. ISSN 1014-1227. Roma 15-16 pp.
- Larez, A. 2007. Claves para identificar malezas asociadas con diversos cultivos en el estado Monagas, Venezuela II. Dicotiledoneas. Revista Científica UDO agrícola 7(1):91-121.
- Martínez, M. y P. Alfonso. 2003. Especies de malezas más importantes en siembras hortícolas del valle de Quíbor, Estado Lara, Venezuela. Bioagro 15(2):91-96.

- Medrano, C., W. Gutiérrez, B. Medina y Y. Villalobos. 2007. Composición florística de malezas más importantes en suelos de playas marinas. Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas. Universidad del Zulia. Venezuela 41(3):363-375.
- Ortiz, A. 2005. Malezas de Importancia en el cultivo de maíz en Venezuela. El Malezólogo, Volumen 1. Órgano Informativo de la Sociedad Venezolana Para el Combate de Malezas 16 p.
- Pacheco, D., J. Zambrano y G. Sthormes. 2006. Las gramíneas (Poaceae) del estado Zulia, Venezuela. Lista de los géneros presentes. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 23(2):225-233.
- Pacheco, G. y L. Pérez. 1989. Malezas de Venezuela. Aspectos botánicos, ecológicos y formas de combate. 1era Edición. Tipografía y Litografía Central, San Cristóbal- Venezuela 344 p.
- Páez, C. 2001. Algunos aspectos fitosociológicos y anatómicos de las principales gramíneas malezas en campos de arroz en el sistema de riego Río Guárico. Tesis de grado para optar al título de Magister Scientiarum en Botánica Agrícola. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Maracay, Venezuela.
- Pitty, A. y R. Muñoz. 1991. Guía práctica para el manejo de malezas. Editorial: El Zamorano, Escuela Agrícola Panamericana, Tegucigalpa 223 p.
- Rodríguez, E. 1988. Inventario de malezas y su problemática en siembras de maíz (*Zea maíz* L.) en seis localidades del estado Aragua. Trabajo de ascenso. Maracay. Ven. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía 101 p.
- Rodríguez, T., J. Mejía y J. Caripe. 2007. Manejo Integrado de las especies de maleza en maíz. XIII Curso sobre producción de maíz. Portuguesa- Venezuela.
- Rodríguez, T. 2000. Protección y Sanidad Vegetal: Combate y control de malezas. **In:** El maíz en Venezuela. Compilado por: Fontana, H. y C. González. Fundación Polar Venezuela. Caracas. Venezuela 530 p.
- Segovia, V. y Y. Alfaro. 2008. Maíz: Rubro prioritario en la alimentación de los venezolanos. INÍA. (Documento en línea). **In:** <http://www.inia.gob.ve/index.php> (consulta: noviembre 29-2009).

EFECTO DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE RUDA Y NEEM SOBRE EL CONTROL DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS DEL GÉNERO *Erwinia*¹

EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACTS OF RUE AND NEEM ON THE CONTROL OF PHYTOPATHOGENIC BACTERIA OF THE GENUS *Erwinia*¹

Guillermo Briceño*, Johangel García*, Anna Maselli** y Ligia Carolina Rosales**

¹Trabajo financiado por el proyecto “Fortalecimiento del Sector Biotecnológico como Apoyo a la Seguridad Alimentaria”, Subproyecto “Estudio y Uso de Biocontroladores para el manejo de plagas y enfermedades para la obtención de una agricultura sostenible con base Biotecnológica” del Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación.

*Ingenieros Agrónomos. UCV. **Investigadoras. INIA-CENIAP. Unidad de Protección Vegetal. Maracay, estado Aragua. Venezuela. Correo electrónico: guillermoal82@hotmail.com

RESUMEN

En la búsqueda de alternativas de control para las bacterias fitopatógenas, se realizó un ensayo para la obtención de extractos etanólicos a partir de plantas de ruda (*Ruta graveolens* L.) y nim (*Azadirachta indica* Adr. Juss), se evaluó su efecto en bacterias fitopatógenas del género *Erwinia*. A los extractos obtenidos se les determinó la presencia de metabolitos secundarios (MS), evidenciándose en ruda y nim aceites esenciales, alcaloides, flavonoides y saponinas; los polifenoles y taninos se encontraron presentes solamente en nim. La evaluación del efecto inhibitorio se realizó empleando el método de disco de papel de filtro en cajas Petri, donde los discos de 6 mm de diámetro previamente esterilizados se impregnaron con el extracto, a concentraciones de 0%, 5%, 15%, 20%, 25% y 30%. El modelo estadístico utilizado fue completamente aleatorizado con tres repeticiones por cada concentración. El extracto etanólico proveniente de ruda no evidenció efecto inhibitorio sobre ninguna de las bacterias fitopatógenas objeto de la investigación. Sin embargo, el nim presentó efecto inhibitorio sobre la bacteria *Erwinia* sp. aislada en plantas de berenjena, *Solanum melongena* L., siendo su efecto directamente proporcional a la concentración del extracto. Los datos se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis, observando diferencias estadísticas altamente significativas entre los tratamientos. El extracto etanólico de nim es una alternativa potencial para efectuar el manejo de las bacterias del género *Erwinia*, causante de daño en el cultivo de berenjena.

Palabras Clave: *Ruta graveolens* L.; *Azadirachta indica*; *Solanum melongena*; efecto inhibitorio; bacterias.

SUMMARY

In the search for alternatives to control plant pathogenic bacteria, a test was performed to obtain ethanol extracts from plants of rue (*Ruta graveolens* L.) and neem (*Azadirachta indica* Adr. Juss) and evaluated its effect on bacteria phytopathogen *Erwinia* genus. In the extracts was determined the presence of secondary metabolites (MS), evidenced in rue and neem oils, alkaloids, flavonoids and saponins, polyphenols and tannins were present only in nim. The evaluation of inhibitory effect was performed using the method of filter paper disc in Petri dishes, where discs of 6 mm diameter were impregnated with previously steri-lized extract at concentrations of 0%, 5%, 15%, 20% , 25% and 30%. The statistical model used was completely randomized with three replicates for each concentration. The ethanol extract from ruda not show any inhibitory effect on plant pathogenic bacteria under investigation. However, neem showed inhibitory effect on the bacteria *Erwinia* sp. eggplants isolated, its effect being directly proportional to the concentration of the extract. The data were analyzed using the Kruskal-Wallis test, showing highly significant differences between treatments. The ethanol extract of neem is a potential alternative to effect management of bacteria of the genus *Erwinia*, causing crop damage eggplant.

Key Words: *Ruta graveolens*; *Azadirachta indica*; *Solanum melongena*; Secondary Metabolites; eggplant.

RECIBIDO: marzo 11, 2010

APROBADO: noviembre 06, 2012

INTRODUCCIÓN

En Venezuela, la agricultura, el manejo de plagas y las enfermedades, se basaron en el uso indiscriminado de agroquímicos. El hombre en su intento de controlarlos, creó una alta dependencia de estos productos, ocasionando elevados costos de producción y alteraciones en el equilibrio natural de las poblaciones de insectos y microorganismos (Micheo, 1992).

La utilización de los agroquímicos es una práctica constante en los productores que la reconocen como primera opción. Además, ocurre que los agricultores frecuentemente se exponen a estos productos desde la preparación de las mezclas, en la aplicación con los equipos y durante el almacenamiento (FAO, 2003). Por otra parte, existe la presión de una mayor calidad de los cultivos por parte de los consumidores, y se puede observar a través del tiempo un aumento del uso de agroquímicos que en muchos casos es de manera irracional (Aguilar, 1992).

Por su condición de país tropical, Venezuela se caracteriza por poseer una gran variedad de especies de bacterias fitopatógenas que ocasionan pérdidas en los cultivos. En el caso del género *Erwinia* causan problemas en muchos cultivos de importancia agrícola como son: papa (*Solanum tuberosum* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), maíz (*Zea mays* L.), diferentes ornamentales, cebolla (*Allium cepa* L.), lechosa (*Carica papaya* L.), patilla (*Citrullus lanatus* (Thunb), lo cual hace que este género sea considerado para todos los estudios (Trujillo, 1996).

La agricultura del nuevo milenio debe establecer nuevas alternativas de control que produzcan un menor impacto ambiental y que permitan reducir significativamente el uso de plaguicidas. La utilización de los extractos vegetales para el control de enfermedades en las plantas representa una alternativa para el manejo integrado de los cultivos, debido a su bajo costo y el menor impacto sobre el ambiente y los alimentos (Guevara *et al.*, 2000, Maselli *et al.*, 2006).

Investigaciones recientes (Stauffer *et al.*, 2000; Rodríguez y Sanabria, 2005; Maselli *et al.*, 2006, 2008; Pino *et al.*, 2008) señalan que los extractos vegetales pueden ser utilizados exitosamente en el control o inhibición de bacterias y hongos fitopatógenos, además pueden constituirse en una herramienta para integrar a un manejo agroecológico del cultivo, sobre todo en pequeñas extensiones de terreno, como es el caso de las leguminosas y hortalizas.

En la búsqueda de alternativas de control más amigables con el ambiente, se planteó la obtención de extractos

vegetales etanólicos a partir de ruda (*Ruta graveolens* L.) y nim (*Azadirachta indica* A. Juss) y su evaluación *in vitro* sobre bacterias fitopatógenas del género *Erwinia*, aisladas de plantas de berenjena (*S. melongena* L.), mango (*Mangifera indica* L.), papa, maíz y parchita (*Passiflora edulis* Sims).

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en el Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) en Maracay, estado Aragua. Se realizaron los experimentos *in vitro* en el Laboratorio de Bacteriología y en el de Nematología Agrícola se obtuvieron los extractos vegetales etanólicos.

Obtención de extractos vegetales. El material vegetal que se utilizó, consistió en hojas de ruda y nim completas, que estaban libres de manchas y perforaciones por insectos. Éstas luego de ser colectadas se colocaron a secar en umbráculo bajo sombra por un período entre 7 y 10 d. Las hojas secas fueron molidas en una licuadora convencional hasta obtener un polvo fino. Seguidamente, se pusieron en un envase de vidrio de 3 l de capacidad y se les agregó etanol al 95% hasta cubrir todo el material por completo; se dejó macerar durante 48 h en un lugar fresco y protegido de la luz, luego mediante el uso de un rotoevaporador marca Yamato® Modelo BM 200 se destiló el alcohol y se obtuvo el extracto etanólico puro con cantidades despreciables de etanol, el cual se asume como concentración del extracto 100% puro. Posteriormente, se conservó en frascos estériles color ámbar en condiciones de refrigeración a una temperatura de 5 °C, hasta el momento en que se realizaron los ensayos (Marcano y Hasegawa, 2002).

Preparación de la solución bacteriana. Las suspensiones bacterianas fueron preparadas utilizando cultivos puros provenientes de la colección de bacterias fitopatógenas del Laboratorio de Bacteriología Vegetal del INIA-CENIAP; los del género *Erwinia* eran aislamientos obtenidos de plantas de berenjena, mango, papa, maíz y parchita, los cuales se sembraron en cápsulas de Petri, utilizando como medio de cultivo agar nutritivo (AN). A las 48 h de crecimiento se removieron con agua destilada estéril utilizando un triángulo de vidrio desinfectado. Estas suspensiones fueron homogenizadas mediante agitación. Se ajustó la concentración a 108 UFC/ml utilizando un espectrofotómetro marca Jenway 6320D, donde se midió la densidad óptica hasta un valor de 0,2, empleando una longitud de onda de 460 nm (Schaad *et al.*, 2001).

Evaluación de los extractos. La evaluación de los extractos se realizó siguiendo el método de discos de papel filtro en cápsulas de Petri con AN (Lorian, 1980). Los discos de papel de 6 mm de diámetro previamente esterilizados, se colocaron en cápsulas estériles con el extracto a concentraciones conocidas. Los tratamientos evaluados fueron 0% (testigo), 5, 15, 20, 25 y 30%, luego se dejaron secar durante 1 h dentro de una cámara de flujo laminar para evitar el exceso de extracto en el papel de filtro estéril. Posteriormente, se colocaron 5 discos de papel sobre AN donde previamente se había inoculado 100 µl de la suspensión bacteriana. Las cajas se incubaron por 48 h a 28 °C, seguidamente se realizaron las observaciones para identificar la presencia o ausencia del halo de inhibición alrededor de cada disco y en caso de estar presente tendría mayor efecto inhibitorio el que mostró mayor diámetro, el cual se midió con una regla graduada en mm.

Separación y determinación de los metabolitos secundarios (MS). El extracto puro obtenido a partir del macerado se usó para la separación y determinación cualitativa de los MS, a través del método propuesto por Marcano y Hasegawa (2002). El método de cromatografía de partición de capa fina (Thin Layer Chromatography, TLC) se utilizó para separar rápidamente la mezcla de MS en sus componentes. Para ello, se emplearon cromatofolios de sílica/gel Merck MR para TLC sílica / gel 60, F 254 de 0,25 mm de espesor, los cuales se cortaron en rectángulos de 6,5 cm x 2,5 cm con la ayuda de una tijera, colocando dos gotas de cada extracto a una distancia de 5 mm de la base y repitiéndose tres veces por metabolito para cada extracto.

Determinación de alcaloides y flavonoides. Se colocaron 10 ml de hexano en un beaker de 600 ml, sobre este se instalaron los cromatofolios con el extremo que tenía las dos gotas del extracto en contacto con el hexano, esperando hasta que el solvente lo recorriera, se retiró y dejó secar; posteriormente se situó bajo luz ultravioleta (UV). La presencia de una coloración anaranjada fluorescente evidencia la presencia de alcaloides; si la coloración es blanca fluorescente se estaría en presencia de flavonoides.

Determinación de polifenoles y taninos. En este caso el cromatofolio se colocó en contacto con 10 ml de agua destilada y ácido acético en una proporción 9:1, igualmente, se esperó que el solvente ascendiera, se retiró y esperó que seicara, luego se agregó cloruro férrico al 1% a toda la corrida del extracto; evidenciando la presencia de los polifenoles y taninos de observarse una coloración parda.

Determinación de antraquinonas. El cromatofolio se colocó en contacto con ácido acético para luego esperar que el solvente recorriera, seguidamente se retira de la solución dejándose secar y agregar hidróxido de amonio. La prueba era considerada positiva para la presencia de antraquinonas si había una coloración rojiza cuando se observa con luz UV.

Determinación de aceites esenciales. La presencia o ausencia de aceites esenciales se determinó por un olor característico aromático en el extracto.

Determinación de saponinas. Se determinó a partir de la agitación manual del extracto acuoso por espacio de 20 min, confirmando la presencia de saponinas si pasado este tiempo persistía una espuma consistente.

Análisis estadístico. Para los análisis estadísticos se evaluaron los seis tratamientos de la siguiente forma: 0, 5, 15, 20, 25 y 30% de concentración de extracto con tres repeticiones por cada concentración, teniendo como unidad experimental cada disco de papel de filtro colocado sobre el medio de cultivo donde estaba creciendo la bacteria. Como respuesta se evaluó la presencia o ausencia de un halo de inhibición del crecimiento de la bacteria, encontrado alrededor de cada papel de filtro; en los casos donde estaba presente se midió el diámetro del halo de inhibición.

Los datos experimentales obtenidos fueron analizados con el programa estadístico Statistix 8.0 para Windows XP, comparando las diferentes concentraciones de los extractos para verificar si existía o no diferencias significativas en el diámetro del halo de inhibición del crecimiento de la bacteria. Estos se analizaron por vía no paramétrica a través de la prueba para K (numero de muestras) muestras independientes de Kruskal - Wallis, ya que no se cumplió con el supuesto de homogeneidad de varianza del análisis de varianza (ANAVAR). Para realizar el análisis de comparaciones de medias se utilizó la prueba de comparaciones de rangos no paramétrica (Cochran y Cox, 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto de nim (concentración de 30%) presentó efecto inhibitorio (Figura 1) a la bacteria *Erwinia* sp. aislada del cultivo de berenjena, y no tuvo ningún impacto sobre las demás bacterias probadas. Los demás patógenos evaluados no evidenciaron respuesta con ninguno de los extractos estudiados. Estos resultados

determinaron que estos cultivos y las partes de plantas que fueron seleccionadas no tienen actividad biológica para las bacterias del género *Erwinia*.



FIGURA 1. Halo de inhibición del extracto de nim sobre la bacteria *Erwinia* sp. aislada del cultivo de berenjena

Este estudio da inicio a las investigaciones con estas plantas, dando oportunidad de seleccionar otros órganos como la semilla en el caso de Nim, o de las flores en el caso de ruda, y así poder detectar actividad biológica sobre el control de bacterias fitopatógenas.

En trabajos similares realizados por Chirinos *et al.* (2007), donde se evaluaron extractos acuosos de malojillo, verdolaga, nim, manzanilla y orégano en el control de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Pseudomonas* spp. y *Xanthomonas* spp., se obtuvo que los tratamientos de manzanilla, verdolaga, nim y malojillo tuvieron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las bacterias *Xanthomonas* spp. y *Pseudomonas* spp., así como, los de manzanilla y malojillo lograron un control efectivo sobre las bacterias *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* y *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*. El extracto de orégano no tuvo ningún control sobre las bacterias evaluadas.

Méndez *et al.* (2007) utilizaron extractos etanólicos de nim y flor escondida en ensayos *in vivo* sobre plantas de caraota para el control de la quemazón bacteriana por *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) Dowson (Xph).

Los resultados de la investigación reflejaron un retraso en la aparición de síntomas en las plantas que fueron tratadas con los extractos anteriores. Los tratamientos se realizaron aplicando los extractos etanólicos sobre las plantas de caraota 1 h antes de la inoculación con la bacteria Xph.

Chirinos *et al.* (2007) asegura que el poder de inhibición de cada extracto está relacionado con la especie de bacteria que afecta un determinado cultivo. Paralelamente, Viveros y Castaño (2006) señalan que la acción de estos extractos sobre el patógeno a controlar, depende directamente del tipo y cantidad de metabolitos secundarios que pueda poseer el mismo.

Evaluación de las concentraciones del extracto de nim. En el análisis de varianza (Cuadro 1) se observó diferencias entre tratamientos para la variable diámetro del halo de inhibición. Zarraga (2000) evaluó a nivel de campo el efecto bactericida del extracto acuoso de nim en el control de bacterias que infectan a la zábila, concluyendo que el mejor efecto control, considerando la incidencia y severidad de la enfermedad causada por *Rhizoctonia solani* Kühn y *Erwinia* sp., se adquirió con el extracto de hojas secas de nim a una dosis de 85,94 g l ha⁻¹.

CUADRO 1. Análisis de varianza de rangos de media por Kruskal - Wallis para el diámetro del halo de inhibición de las diferentes concentraciones de extracto etanólicos de nim en el control de *Erwinia* sp. aislada de berenjena.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P-value
Tratamiento	5	36 322,2	7 264,45	32,8	0,0001
Error	84	18 625,8	221,74		
Total	89	54 948,0			

Análisis de los rangos de medias. Al verificar si existió o no diferencia significativa en el diámetro del halo de inhibición por tratamiento, el análisis reveló que el grupo homogéneo "A" fue el que presentó mayor efecto antagonico correspondiente al tratamiento de 30% de concentración del extracto, mientras que el testigo no presentó ningún cambio, ubicándose en el grupo homogéneo "C". Los grupos "AB" y "BC" se consideran

como grupos intermedios en donde existe una relación directamente proporcional entre el rango y el efecto antagónico (Cuadro 2; Figura 2).

CUADRO 2. Análisis de los rangos de medias por Kruskal-Wallis para la prueba de comparaciones pareadas de grupos homogéneos del diámetro (mm) del halo de inhibición de las diferentes concentraciones de extractos etanólicos de hoja de nim en el control de *Erwinia* sp. aislada de berenjena.

Tratamientos (%)	Medias de rango	Grupos homogéneos
30	80,333	A
25	64,967	AB
20	57,933	BC
15	44,433	BC
5	24,8333	C
0	20,500	C

Kruskal-Wallis estadístico 73,4875. P-value usando la aproximación de chi-cuadrado ($P < 0,0001$)

Determinación de metabolitos secundarios presentes en los extractos. Con el uso de cromatografía de partición de capa fina (TLC) se pudo evidenciar la presencia y ausencia de diferentes grupos de metabolitos secundarios, los cuales se muestran en el Cuadro 3.

Por su parte, Izco (1997) consideró que la presencia de un MS tiene más valor que la ausencia, y en el segundo caso, al no detectarlo, habría que considerar la posibilidad de que se localice en órganos distintos a los utilizados o que se presente en fases distintas del ciclo vital de la planta; por ejemplo, en la época de floración, fructificación o en la fase vegetativa. Otros factores a considerar serían la variación estacional o diaria, o la producción y destrucción del compuesto durante las fases previas a su identificación o en su extracción. Los resultados obtenidos para la determinación de MS del extracto etanólico de *R. graveolens* coincide con Gandhi *et al.* (1991), quienes identificaron compuestos químicos en las hojas de ruda como aceites esenciales, furanocoumarinas, alcaloides, bajas concentraciones de lípidos neutros, xantofilas, carotenoides y la rutina (rutinosina).

La presencia de alcaloides de archidona está limitada a algunas especies de rutáceas incluyendo *R. graveolens* (Gibraltarskaya y Eilert, 1993). En el caso de las furanocoumarinas, presentan 56% de su contenido en la superficie de las hojas.

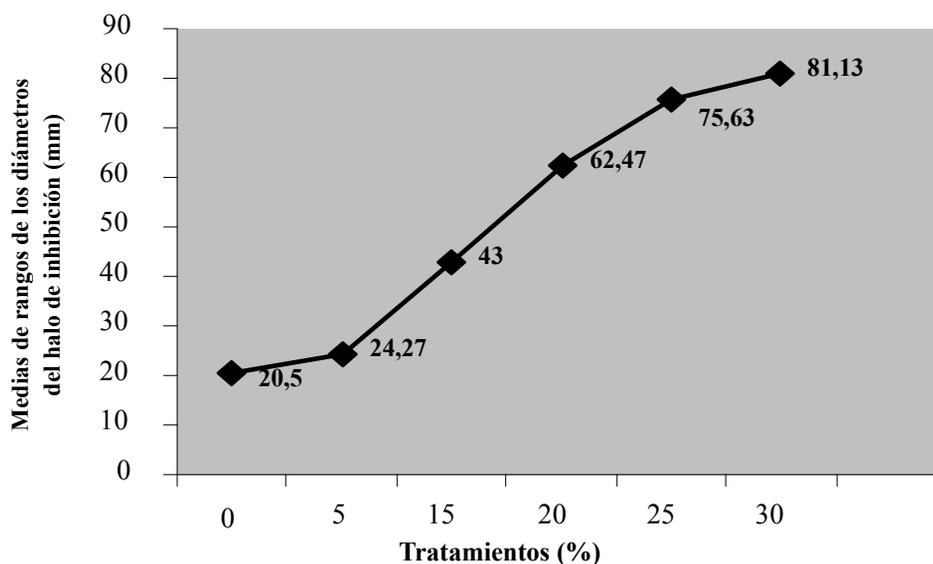


FIGURA 2. Análisis de los rangos de medias de Kruskal-Wallis del diámetro (mm) del halo de inhibición de las diferentes concentraciones de extracto etanólico de hoja de nim en el control de *Erwinia* sp. aislada de berenjena.

CUADRO 3. Metabolitos secundarios encontrados en los extractos etanólicos de hojas de ruda y nim.

Metabolitos	Extracto etanólico de hoja de ruda	Extracto etanólico de hoja de nim
Alcaloides	+	+
Flavonoides	+	+
Aceites esenciales	+	+
Saponinas	+	+
Antraquinonas	+	+
Polifenoles y taninos	-	+

(+) presencia; (-) ausencia

En los cultivos de células los callos celulares de *R. graveolens* producen MS como rutacridona, epóxido de hidroxirutacridona, alcaloides, cridona, furoquinolinas y coumarinas (Baumert *et al.*, 1998), en la mayoría de los casos en concentraciones más bajas que en las células de las plantas superiores (Heinstein, 1985); pero en algunas ocasiones estos metabolitos se encuentran en concentraciones más altas (Hamerski y Matern, 1990). Se aisló de *R. graveolens* MS como psoralinas, xanthotoxinas y bergapteno, ubicados en la superficie de frutos y semillas; el papel que desempeñan estas coumarinas es en defensa de la planta (Zobel *et al.*, 1991). Los flavonoides se encontraron tanto en el nim como la ruda, pero en cambio el grupo de los polifenoles y taninos, solo se detectaron en el extracto de nim y no así para el extracto de ruda.

Los compuestos fenólicos desempeñan funciones importantes y forman parte del metabolismo de la planta que los sintetizan, además pueden influir en el medio que rodea a la planta. Estos metabolitos actúan como antioxidantes e inactivan el centro activo de enzimas, presentando efecto antagónico sobre el crecimiento, en la atracción de insectos y también son persuasivos nutritivos de defensa frente a los animales fitófagos (Azcon *et al.*, 1993). Se señala entre otras propiedades, que los compuestos fenólicos inhiben el crecimiento y desarrollo de hongos fitopatógenos cultivados *in vitro* (Pernía *et al.*, 2001). De igual forma, la presencia de los taninos es común en plantas dicotiledóneas leñosas, lo cual se evidenció en este estudio en las plantas de nim y ruda. Este metabolito tiene como función la protección contra el ataque de enfermedades por fitopatógenos (Marcano y Hasegawa, 2002).

Igualmente, se evidenció que los taninos en altas concentraciones estimulan la resistencia de los tejidos jóvenes, como defensa al ataque de los microorganismos patógenos; por lo antes expuesto, se consideran fuertes inhibidores de muchas enzimas hidrolíticas. Sin embargo, su acción inhibidora se ve afectada por el paso del tiempo, y como resultado se produce un envejecimiento de los metabolitos, que disminuirá la resistencia a las infecciones. Esto se considera una limitante a tomar en cuenta en la investigación, puesto que hubo discrepancia en relación a los metabolitos secundarios determinados, y que estos resultados pudiesen tener alguna inherencia en el control de bacterias fitopatógenas del género *Erwinia* (Albornoz, 1980).

Las saponinas también estuvieron presentes en los extractos de nim y ruda, las cuales son consideradas por muchos autores como compuestos preformados de gran importancia por su actividad antifúngica. Sin embargo, se desconoce el mecanismo de acción para producir la resistencia a sus hospedantes contra hongos patógenos (Agrios, 2007).

Según Albornoz (1980), los alcaloides son de sabor amargo y han sido localizados en los tejidos periféricos de los órganos, como es el caso de la epidermis de las hojas. Esta característica y la ubicación de los mismos cumplen una importante función de protección contra el ataque de insectos, y se consideran reguladores del crecimiento. Los MS fueron detectados en los extractos etanólicos de nim y ruda. En investigaciones realizadas por Izco (1997), se determinó que los compuestos obtenidos en este estudio son los más comunes y están presentes en todos los órganos vegetales; además, el mismo autor indica que los compuestos fenólicos junto con los alcaloides, representan un enorme interés en la fotoquímica, por cuanto están presentes en las plantas superiores, específicamente en los órganos vegetales.

Los aceites esenciales también son MS reconocidos como insecticidas, como es el caso de los sintetizados por especies de Mimosaceae, Caesalpiniaceae y Papilionaceae (Leguminosaceae; Pascual-Villalobos, 1996).

Los MS detectados en esta investigación permiten establecer las bases que se deben considerar al momento de seleccionar plantas para el control de patógenos que atacan a los cultivos de importancia agrícola, porque los mismos forman parte de un grupo de compuestos orgánicos que son señalados como los responsables de ejecutar una serie de actividades biológicas, como es la de atraer y repeler insectos, estimulaciones hormo-

nales y fitoalexinas, entre otras, lo cual demuestra el potencial para el control y manejo integrado de plagas y enfermedades.

CONCLUSIÓN

- Los extractos etanólicos de las especies vegetales empleadas en esta investigación no mostraron actividad biológica en la mayoría de las bacterias estudiadas, es posible que muestren inhibición en bacterias fitopatógenas en otros cultivos. Futuras investigaciones pudieran estar dirigidas hacia otros organismos patógenos de importancia económica en la agricultura.
- Se deben continuar los estudios en esta área. Estos resultados aún preliminares indican que el extracto etanólico de nim representa una alternativa potencial para el manejo de las bacterias del género *Erwinia*, causante del daño en el cultivo de berenjena.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. N. 2007. Fitopatología. Editorial Limusa. México 35 p.
- Aguilar, J. 1992. Manejo integrado de insectos-plagas en hortalizas. FONAIAP Divulga 40:30-35.
- Albornoz, A. 1980. Productos naturales, sustancias y drogas extraídas de plantas. Universidad Central de Venezuela. Publicaciones U.C.V. Caracas, Venezuela 592 p.
- Azcon, J., M. Bieto y B. Talom. 1993. Fisiología y Bioquímica Vegetal. Interamericana McGraw-Hill. Health Group. Madrid 283 p.
- Baumert, A., D. Gröger, N. Kuzovkisa, and J. Reisch. 1998. Secondary metabolites produced by callus cultures of various *Ruta* species. *Plant Cell Tiss. Organ Culture* 28:159-162.
- Chirinos, J., Y. León y Y. Vallenilla. 2007. Evaluación de malojillo, verdolaga, nim, manzanilla y orégano como extractos acuosos en el control de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Pseudomonas* sp. y *Xanthomonas* spp. que ocasionan daños en yuca, pimentón, perejil y frijol. Memorias del XX Congreso Venezolano de Fitopatología, San Felipe, Yaracuy, Venezuela.
- Cochran, W. y G. Cox. 2001. Diseños experimentales. México. Trillas 661 p.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2003. Código de conducta para la distribución y utilización de plaguicidas. Roma, Italia 36 p.
- Gandhi, M., A. Zankaranayaranan and L. Sharma. 1991. Post-coital antifertility activity of *Ruta graveolens* in female rats and hamsters. *Journal of Ethnopharmacology* 34:49-59.
- Gibraltarskaya, E. and U. Eilert. 1993. S-Adenosyl-L-methionine:1-3-dihydroxy-N-methylacridone 3-0-methyltransferase: A new enzyme from *Ruta graveolens*. *Planta Médica* 47-48 pp.
- Guevara, Y., Maselli, A. y M. Sánchez. 2000. Efecto de extractos vegetales sobre bacterias fitopatógenas. *Manejo Integrado de Plagas* 56:38-44.
- Hamerski, D. and U. Matern. 1990. Accumulation of coumarins in elicitor-treated cell suspension cultures of *animalus*. *Phytochemistry* 29:1 137-1 140.
- Heinstein, P. 1985. Future approaches to the formation of secondary natural products in plant cell suspension cultures. *J. Nat. Product* 48:8-9.
- Izco, J. 1997. Botánica. McGraw-Hill Interamericana de España. Madrid 781 p.
- Marcano, D. y M. Hasegawa. 2002. Fitoquímica orgánica. 2^{da}. Ed. Universidad Central de Venezuela. Caracas 518 p.
- Maselli, A., L. C. Rosales y Y. Guevara. 2006. Uso de extractos vegetales sobre *Xanthomonas phaseoli*, causante de la quemazón en *Phaseolus vulgaris* L. *Revista Digital CENIAP HOY* N° 12. Maracay, Venezuela. Consultado el: 05/02/2008
- Maselli, A., R. Méndez, J. García, G. Briceño, A. Solano, L. Alemán, L.C. Rosales y L. Velázquez. 2008. Evaluación de extractos vegetales para el control de bacterias fitopatógenas de los géneros *Xanthomonas* y *Erwinia*. *Fitosanidad* 12(3):164.
- Méndez, R., A. Maselli, L. Alemán y J. García. 2007. Evaluación *in vivo* de extractos etanólicos de nim (*Azadirachta indica*) y flor escondida (*Phyllanthus*

- niruri*) en el control de la bacteriosis causada por *Xanthomonas phaseoli* en plantas de caraota (*Phaseolus vulgaris* L). Memorias del XX Congreso Venezolano de Fitopatología, San Felipe, Yaracuy, Venezuela.
- Micheo, A. 1992. La agricultura venezolana. 3^{ra} ed. Caracas. Centro Gumilla 44 p.
- Lorian, V. 1980. Antibiotics in laboratory medicine. New York. Department of Patology Albert Einstein College of Medicine 432 p.
- Pascual-Villalobos, M. J. 1996. Plaguicidas naturales de origen vegetal: Estado actual de la investigación. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). Madrid, España 35 p.
- Pernia, E., M. Tosta, E. García, S. Compagnone y A. Suárez. 2001. Compuestos fenólicos como posibles responsables de mecanismos de resistencia de musáceas a la sigatoca negra y amarilla (*Mycosphaerella fijiensis* y *M. munisiota*). Memorias V Congreso Venezolano de Química. Universidad del Zulia, Facultad de Ciencias 1 218 p.
- Pino, O., F. J. Lazo, Y. Sánchez, A. Iglesias, L. García y B. P. Khambag. 2008. La flora cubana como fuente de bioplaguicidas. Fitosanidad 12(3):163.
- Rodríguez, D. y M. Sanabria, 2005. Efecto del extracto de tres plantas silvestres sobre la rizoctoniosis, la mancha sureña del maíz y los patógenos que las causan. INCI. 30(12):739-744.
- Schaad, N., J. Jones and W. Chun. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3^{ra} ed. APS - Press. Minnesota 254 p.
- Stauffer, B. A., A. Orrego y A. Aquino. 2000. Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y/o bactericida. Revista de Ciencia y Tecnología 1(2):29-33
- Trujillo, G. E. 1996. Fundamentos de bacterias fitopatógenas. Trabajo de ascenso. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía. Maracay 38-385 pp.
- Viveros, F. J. y J. Castaño. 2006. Evaluación *in vitro* de extractos vegetales sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Agron. 14(1):35-50.
- Zárraga, D. 2000. Evaluación de extractos de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) y lechosa (*Carica papaya* L.) para el control de hongos y bacterias en el cultivo de zábila (*Aloe vera*) en el sector "La Hicotea", municipio Colina, Estado Falcón. Trabajo de Grado. Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda. Coro, Venezuela 63 p.
- Zobel, M., S. Brown and E. Nighswander. 1991. Influence of acid and salt sprays furanocoumarin concentrations on the *Ruta graveolens* leaf surfate. Annals of Botany 67:213-218.

EVALUACIÓN DEL COLOR Y DE LA ORIENTACIÓN DE TRAMPAS ADHESIVAS EN LA ATRACCIÓN DE TRIPS EN SIEMBRAS COMERCIALES DE VAINITA

EVALUATION OF COLOR AND LOCATION PREFERENCE OF TRIPS WITHIN COMMERCIAL A STRING BEANS CULTURE

María del C. Sánchez*, Rosana Figueroa**, Aristides Campos*** y Roberto Romero****

*Investigadora. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas-Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-CENIAP). Estado Aragua, Venezuela. **Profesora. Universidad Central de Venezuela (UCV). Facultad de Agronomía. ***Ingeniero agrónomo-Productor. Maracay, Venezuela. ****Técnico agropecuario. INIA-CENIAP. Maracay, Venezuela. Correo electrónico: mcsanchez@inia.gov.ve, figueroar@agr.ucv.ve

RESUMEN

Para evaluar la preferencia por la orientación cardinal, el color y la condición de la trampa (nueva o usada), se realizaron muestreos de *Thrips palmi* Karny, en dos ciclos de siembra de vainita, *Phaseolus vulgaris* L., variedad Opus, colocándose trampas adhesivas: azules, blancas, amarillas y violetas; separando los campos en cuadrantes, según los puntos cardinales. En ambos ciclos se usó un diseño completamente aleatorizado. La prueba de Tukey arrojó grupos estadísticamente diferentes entre sí ($P < 0,05$) para la evaluación de color en el primer ciclo. Las trampas blancas mostraron el mayor promedio de captura (85,08; $n=59$) de los cuatro grupos, mientras que para la orientación fue superior el que involucra al norte (NO: 55,02, $n=58$; NE: 58, 07, $n=60$) sobre los otros dos, correspondiente a las posiciones suroeste y sureste. Para el segundo ciclo, los colores blanco y violeta ($B=33,67$ y $V=29,65$, $n=48$) no presentaron diferencias significativas entre sí, pero difirieron del azul y el amarillo. Para la orientación se observaron tres grupos estadísticamente diferentes entre ellos, el conformado por el este (SE: 22,21 y NE: 21,50, $n=48$) y los correspondientes al suroeste y noroeste. En un tercer ciclo se evaluó la preferencia por el color y condición de la trampa: blanco nueva, blanco usada, violeta nueva y violeta usada; utilizando un diseño de bloques completos al azar. Según la prueba de χ^2 hubo diferencias altamente significativas para los porcentajes de captura, observándose el mayor con la blanca nueva (40,16). En general el color, la condición y orientación de las trampas influyen en la efectividad de captura de la especie *T. palmi*.

Palabras Clave: *Phaseolus vulgaris*; *Thrips palmi*; manejo integrado del cultivo; trampas de colores.

SUMMARY

Thrips palmi Karny field location and color trap preference were sampled in two sowing cycles of beans, *Phaseolus vulgaris* L., by placement of colored sticky traps (blue, white, yellow and violet) in fields separating into quadrants according to the cardinal points. A randomized design was used in both sowing cycles. Tukey tests showed statistically different groups ($P < 0.05$) for color evaluation in the first cycle, with white traps showing the highest average catch (85.08, $n=59$) of the four groups. Catch location was higher in the north (NW: 55.02, $n=58$, NE: 58, 07, $n=60$) than the southwest and southeast positions. For the second cycle, white and violet ($W=33.67$ and $V=29.65$, $n=48$) did not differ significantly from each other, but differed from blue and yellow and three statistically different orientation were observed: east (SE: 22.21 and NE: 21.50, $n=48$), southwest and northwest. In a third cycle color preference and trap condition were evaluated, with white and violet, new and used traps, using a random block design. A χ^2 test was highly significant for catch rates, with the greatest with the new, white, traps (40.16). Thus color, condition and trap location influence the effectiveness of collecting this species *T. palmi*.

Key Words: *Phaseolus vulgaris*; *Thrips palmi*; integrated crop management; colors traps.

RECIBIDO: octubre 15, 2011

APROBADO: junio 05, 2012

INTRODUCCIÓN

Los trips (Thysanoptera: Thripidae) son insectos polí-fagos que causan daños en cultivos de pepino (*Cucumis sativus* L.), pimentón (*Capsicum annuum* L.), ajonjolí (*Sesamum indicum* L.), girasol (*Helianthus annuus* L.), soya (*Glycine max* (L.) Merrill), frijol (*Vigna* spp.), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), auyama (*Cucurbita maxima* Lam.), algodón (*Gossypium hirsutum* L.), bananos (*Musa* spp.), mango (*Mangifera indica* L.), gladiolos (*Gladiolus* spp.), aguacate (*Persea americana* Mill.), vid (*Vitis vinifera* L.), espinaca (*Spinacia oleracea* L.) y cítricos (*Citrus limon* (L.) Burm. f.); así como en un sin número de malezas y plantas silvestres (De León *et al.*, 1974; Attique y Ahmad, 1990; Maryam, 1991; Peña *et al.*, 1998; Avila *et al.*, 2005; Roditakis *et al.*, 2006; Gil *et al.*, 2007; Goane *et al.*, 2007; Mujica *et al.*, 2007).

Dentro la familia Thripidae se citan como plagas al trips de las leguminosas (*Caliothrips phaseoli* Hood), de las flores (*Frankliniella occidentalis* Pergande, *F. schultzei* Trybom, *F. rodeos* Moulton y *F. insularis* Franklin), de la cebolla (*Thrips tabaci* Lindeman) y del melón (*T. palmi* Karny), entre otros (Cermeli y Montagne, 1990; Vázquez, 2003; Protecnet, 2001; Boito *et al.* 2006).

El trips del melón, es una especie polífaga con un amplio rango de hospederos, entre los cuales se mencionan: la caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), el frijol mungo (*V. radiata* L. R. Wilczek), la soya, el caupí (*V. unguiculata* L. Walp.), el crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) y el algodón; pero este insecto posee una marcada preferencia por las familias botánicas Cucurbitaceae, Solanaceae y Fabaceae (Capinera, 2008; Usabiaga *et al.* 2008).

El daño ocasionado por *T. palmi* es similar al causado por otras especies de trips, cuando las poblaciones son altas. Las larvas y los adultos se alimentan de las hojas, comenzando por las nervaduras centrales y las venas. Las ramas son atacadas particularmente cerca de los puntos de crecimiento; en las flores y en la superficie de los frutos dejan numerosas cicatrices y deformidades, finalmente pueden ocasionar la muerte de la planta (PROTECNET, 2001).

En el cultivo de vainita, *P. vulgaris* L., los adultos se encuentran en las hojas jóvenes y tejidos tiernos de la planta, mientras que las larvas prefieren las hojas más viejas. En algunos casos, cuando las poblaciones son muy altas, los adultos y las larvas se encuentran en las

vainas. En las larvas, el primer instar se dirige hacia las hojas de la parte inferior de la planta consumiendo los contenidos de las células más bajas del mesófilo, el segundo instar y el adulto también se alimentan, ocasionando espacios de aire entre tejidos y hojas distorsionadas, presentando un brillo plateado o resplandor característico. Además, producen como daño de alimentación, el ampollamiento y rizado de las hojas, hasta tornarlas en un bronceado brillante con algunas pizcas negras (Bueno y Cardona, 2001; Osorio y Cardona, 2003; Vázquez, 2003; Capinera, 2008, Usabiaga *et al.*, 2008).

También pueden mostrar preferencia por las flores y penetrar los tejidos en los frutos, ocasionando la ruptura de las células epidérmicas, produciendo un aspecto plateado y posteriormente el necrosamiento, lo cual conlleva al deterioro de la calidad y mermas en la producción; reportándose pérdidas variables que incluso pueden llegar hasta 100%, si las poblaciones de insectos son altas y no se controlan a tiempo (Bueno y Cardona, 2001; Rendón *et al.*, 2001; Osorio y Cardona, 2003; Vázquez, 2003; Capinera, 2008; Usabiaga *et al.*, 2008).

Para evitar pérdidas económicas y lograr rendimientos óptimos del cultivo, debe realizarse el manejo integrado de esta plaga, aplicando un conjunto de medidas que conduzcan a mantener bajos niveles poblacionales. Entre estas medidas de manejo se encuentran los controles biológicos, culturales, mecánicos, etológicos y químicos (Cermeli *et al.*, 1993, 2002; Akihito *et al.*, 2001; Coria, 2003; North *et al.*, 2006; Martín y Mau, 2007; Zamar *et al.*, 2007; Cannon *et al.*, 2007b; Capinera, 2008; Usabiaga *et al.*, 2008).

Con la finalidad de aplicar estas medidas de control en el momento oportuno, se requiere monitorear las poblaciones de trips y determinar los umbrales de acción de las mismas, para lo cual Bueno y Cardona (2003) establecieron un índice de siete adultos por foliolo para el cultivo de vainita. Este proceso se ha realizado mediante trampas de agua, trampas fluorescentes y trampas adhesivas de diferentes colores (Kawai, 1990; Coli *et al.*, 1992; Layland *et al.*, 1994; Hoddle *et al.*, 2002; Osorio y Cardona, 2003; Macintyre *et al.*, 2005; Cannon *et al.*, 2007a; Harman *et al.*, 2007).

El *T. palmi* representa una plaga económicamente importante, cuyo control químico es difícil debido a que, por sus hábitos de vida, se puede tornar resistente a los insecticidas (Cermeli y Montagne, 1990; Rodríguez *et al.*, 2003; CABI/EPPO, 2009). Además, en la literatura hay controversias en cuanto al tipo y color de la trampa

a emplear para su control (Kawai, 1990; CIAT, 1999; SAGARPA, 2011).

En Venezuela no se ha investigado el manejo integrado de trips en vainita, variedad Opus, por lo cual se planteó realizar un estudio con los siguientes objetivos: a) evaluar la captura de los trips en dos ciclos de siembra comercial, mediante el uso de trampas de colores: azul, blanco, violeta y amarillo, b) evaluar si existe relación entre la captura y la orientación de la trampa según los puntos cardinales y c) en un tercer ciclo, determinar la preferencia de los trips por la condición de la trampa (nueva, usada) con los colores donde hubo la mayor captura en los dos ciclos anteriores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar la preferencia de *T. palmi* por el color, la orientación y condición de la trampa, se realizaron experimentos durante 3 años sucesivos en siembras comerciales de vainita (variedad Opus), situadas en la región centro-norte de Venezuela, población El Consejo, estado Aragua, a 10° 10' 43, 21" de latitud norte y 67° 14' 17, 38" de longitud oeste. Esta localidad se encuentra a 1 350 m.s.n.m., presenta una temperatura media anual nocturna de 11 °C y diurna de 25 °C, con dirección principal del viento en sentido este-oeste.

En los dos primeros ciclos se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado, combinando dos factores (color y orientación de la trampa) con tres repeticiones. Cada campo se separó en cuatro cuadrantes, que correspondieron a los puntos cardinales noreste, noroeste, sureste y suroeste, con la finalidad de establecer si la colonización seguía algún patrón en particular. En cada cuadrante se colocaron tres trampas al azar por cada color, totalizando 12 trampas por cuadrante y 48 por cada campo. Las mismas se colocaron una semana después del trasplante de las plántulas.

En todos los casos, las trampas consistieron en platos plásticos redondos, con un diámetro de 23 cm cada uno, de los colores: azul, blanco, amarillo y violeta. Los mismos son económicos y fáciles de adquirir por los agricultores. En el campo, cada uno se sujetó e identificó mediante un listón de madera de 50 cm de longitud, se impregnaron con una brocha de una solución de pega utilizada para atrapar roedores marca Alt® (135 g, ciclohexano 17%, estearato de zinc 3%, ingredientes aditivos 80%) y gasolina en la proporción de 2 tubos de pega por cada litro de gasolina.

Las trampas se cambiaron semanalmente durante todo el ciclo del cultivo, transportándose al laboratorio para realizar el conteo de los insectos. Las de colores blanco y violeta "usadas" estuvieron constituidas por los platos manipulados durante los dos primeros ciclos del cultivo, ya lavados con gasolina y agua jabonosa.

El análisis de color de los platos se determinó por colorimetría de reflectancia, utilizando un colorímetro marca Hunter Lab, modelo color flex; donde el espacio de color Hunter ($L^* a^* b^*$) es rectangular de tres dimensiones, basado en la teoría de los colores opuestos. En esta escala de triple estímulo ($L^* a^* b^*$), el eje L^* mide luminosidad de 0-100 (0= negro y 100= blanco), el eje a^* mide la tendencia del color al rojo (positivo) y verde (negativo), y el eje b^* mide la tendencia del color al amarillo (positivo) y azul (negativo). Cada lectura obtenida da un valor para cada eje, lo cual puede detectar las diferencias de la muestra respecto a coloración, claridad y tono (HunterLab, 2000).

El primer ciclo del cultivo de vainita se realizó en la época lluviosa, durante los meses de mayo y junio, tomándose de una parcela de 1,5 ha, un área de 832 m²; al siguiente año se efectuó el segundo ciclo en la época seca, durante los meses de marzo y abril, y se usó un área de 394 m². En ambos momentos se colocaron trampas adhesivas de colores: azul ($L= 64,62$; $a= -21,99$; $b= -22,76$), blanco ($L= 91,49$; $a= -1,43$; $b= 4,94$), amarillo ($L= 69,99$; $a= 4,72$; $b= 68,31$) y violeta ($L= 71,73$; $a= -6,57$; $b= -14,12$).

Para el tercer ciclo del cultivo se evaluó la preferencia de los trips por los colores que reflejaron las mayores capturas en los dos ciclos anteriores, y por la condición de la trampa: blanco nueva ($L= 92,33$; $a= -1,34$; $b= 4,46$), blanco usada ($L= 91,49$; $a= -1,43$; $b= 4,94$), violeta nueva ($L= 65,40$; $a= 4,56$; $b= -23,28$) y violeta usada ($L= 71,73$; $a= -6,57$; $b= -14,12$). El ensayo se llevó a cabo al final de la época seca y comienzo de la lluviosa, durante los meses de abril y mayo, en una parcela de 1,5 ha. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar. El campo se separó en 4 bloques, cada uno de 720 m². Al momento de germinar las semillas, se colocaron aleatoriamente en cada bloque tres trampas por cada color y condición, para un total de 12 por bloque y 48 por campo.

Durante los tres ciclos no se utilizaron insecticidas para el control de plagas.

Todos los conteos se efectuaron con un microscopio estereoscopio marca Wild M3Z. Para el primero y segundo ciclo, los datos se analizaron mediante un análisis de

varianza (ANDEVA) y las medias se separaron por la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$), usando el paquete estadístico InfoStat 1.1. En el caso del tercer ciclo, como los datos no cumplieron con los supuestos de normalidad, aditividad, independencia y homogeneidad, se aplicó la prueba de χ^2 (95%) mediante el paquete estadístico InfoStat 1.1 (InfoStat, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Primer ciclo de cultivo: se capturaron 11 790 ejemplares de *T. palmi* con las trampas de colores; lográndose obtener con las blancas el mayor número de especímenes (4 970), mientras que con las amarillas se colectaron menos (878).

El ANDEVA arrojó diferencias altamente significativas para tratamiento (color de trampa) y significativas al realizar la prueba de medias para los cuatro colores; obteniéndose con las trampas blancas el mayor promedio de trips, siguiendo en orden decreciente las de color violeta, azul y amarillas (Cuadros 1 y 2).

Estos resultados concuerdan en parte con estudios realizados por Kawai (1990) con diferentes cultivos en invernaderos, en los que esta misma especie fue atraída por los colores blanco y azul claro; dejando fuera al rojo, negro y plateado.

CUADRO 1. Análisis de varianza para el primer ciclo de cultivo de vainita.

Fuente de Variación	gl	F	Valor de P
Modelo	111	7,19	<0,0001
Semana	4	52,90	<0,0001
Semana* réplica	8	0,76	0,6377
Bloque	3	5,89	0,0037
Semana*bloque	12	3,68	0,0032
Semana*bloque*réplica	24	0,95	0,5368
Tratamiento	3	110,41	<0,0001
Semana*tratamiento	12	7,61	<0,0001
Bloque*tratamiento	9	3,79	0,0003
Semana*bloque*tratamiento	36		0,0001
Error	123		
Total	234		

$R^2 = 0,75$; $CV = 44,76$; $gl =$ grados de libertad.

CUADRO 2. Medias de *Thrips palmi* por color de trampa (tratamientos) durante el primer ciclo de cultivo de vainita.

Tratamiento	Medias*	n
Amarillo	15,35 a	59
Azul	35,91 b	58
Violeta	67,15 c	59
Blanco	85,08 d	59

*Prueba de Tukey. Letras distintas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$).

Además, difieren de lo hallado por Coli *et al.* (1992) en cultivos de manzano, donde recolectaron el mayor número de trips (*Taeniothrips inconsequens* Uzel) con trampas rectangulares amarillas fluorescentes colocadas en posición vertical; las cuales no difirieron significativamente de las trampas comerciales de color amarillo, rojo oscuro y blanco.

Cannon *et al.* (2007b) incluyen el uso de láminas amarillas pegajosas como medida de control de *T. palmi*. También para otras especies de la misma familia como *T. tabaci* y el trips del aguacate (*Scirtothrips perseae* Nakahara), el color amarillo fue significativamente más atrayente, mientras que el blanco lo fue para *S. citri* y *F. occidentalis* (Beavers *et al.* 1971; Hoddle *et al.* 2002; Demirel y Yildirim, 2008).

De acuerdo al análisis de varianza (Cuadro 1), se observaron diferencias significativas para el bloque (orientación de las trampas); colectándose el mayor número de insectos en la posición noreste (3 484) y el menor en la sureste (2 538). Al utilizar la prueba de Tukey, esta arrojó tres grupos estadísticamente diferentes entre sí: un grupo conformado por la posición donde se encuentra involucrado el norte, y los otros dos grupos correspondientes a las posiciones suroeste y sureste (Cuadro 3).

Esto concuerda con Grout *et al.* (1986), quienes encontraron durante 3 años continuos la mayor población del trips de los cítricos (*Scirtothrips citri* Moulton) en la posición noreste. Del mismo modo, Pankeaw *et al.* (2011) indicaron que la mayor cantidad de trips capturados con trampas colocadas en plantaciones de mangostán (*Garcinia mangostana* L.) estuvieron en las posiciones norte y este.

CUADRO 3. Medias de *Thrips palmi* por orientación de la trampa (bloque) durante el primer ciclo de cultivo de vainita.

Bloque	Medias*	n
Sureste	42,49 a	59
Suroeste	47,89 ab	58
Noroeste	55,02 b	58
Noreste	58,07 b	60

*Prueba de Tukey. Letras distintas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$)

Segundo ciclo del cultivo: el análisis estadístico (Cuadro 4) arrojó diferencias altamente significativas para tratamiento (color de la trampa) y diferencias significativas para bloque (orientación de las trampas). Durante este período se totalizaron 3 679 ejemplares de *T. palmi*.

Al igual que el primer ciclo de cultivo, el mayor número de trips se obtuvo con las trampas de color blanco (1 616) y el menor con las de color amarillo (120).

CUADRO 4. Análisis de varianza para el segundo ciclo de cultivo de vainita.

Fuente de variación	gl	F	Valor de p
Modelo	87	7,00	<0,0001
Semana	3	18,50	0,0020
Semana* réplica	6	1,01	0,4199
Bloque	3	7,63	0,0017
Semana*bloque	9	11,11	<0,0001
Semana*bloque*réplica	18	0,59	0,8986
Tratamiento	3	91,00	<0,0001
Semana*tratamiento	9	10,39	<0,0001
Bloque*tratamiento	9	1,62	0,1188
Semana*bloque*tratamiento	27	3,04	<0,0001
Error	104		
Total	191		

$R^2 = 0,73$; $CV = 56,53$; $gl =$ grados de libertad.

Las trampas de color blanco y violeta no presentaron diferencias significativas entre sí durante este ciclo, pero sí de los otros colores utilizados. Asimismo, las trampas de color azul resultaron significativamente diferentes de las amarillas (Cuadro 5).

CUADRO 5. Medias de *Thrips palmi* por tratamiento (color de trampa) durante el segundo ciclo de cultivo de vainita.

Tratamiento	Medias*
Amarillo	2,50 a
Azul	10,83 b
Violeta	29,65 c
Blanco	33,67 c

*Prueba de Tukey. Letras distintas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$). $n = 48$.

Salas y Mendoza (1996) consiguieron diferencias significativas con trampas de colores blanco, azul y amarillo para *T. palmi*, en el cultivo de pimentón. Estos resultados no coinciden con las investigaciones realizadas por Harman *et al.* (2007), al monitorear el trips del frijol (*Caliothrips fasciatus* Pergande) en helechos con trampas pegajosas blancas, azules, amarillas y verdes; donde las de color verde capturaron significativamente mayor número de trips. En cambio, Beavers *et al.* (1971) utilizaron trampas adhesivas de colores blanco, amarillo, azul, rojo, verde y negro para atrapar *S. citri* en árboles de naranjo, encontrando que las de color blanco lograron mayor número de trips.

De acuerdo con la orientación de las trampas, el mayor número de *T. palmi* se consiguió en la posición sureste (1 066) y el menor en la suroeste (724).

Al igual que en el primer ciclo de cultivo, hubo diferencias significativas con respecto a la orientación de las trampas, obteniéndose tres grupos estadísticamente diferentes; el grupo donde se encuentra involucrado el este no difiere entre sí, pero se contrasta de los restantes: suroeste y noroeste (Cuadro 6).

Los resultados concuerdan con Beavers *et al.* (1971), quienes mencionan que las trampas ubicadas en plantaciones de naranja en la posición sureste, capturaron significativamente mayor número de trips (*S. citri*).

CUADRO 6. Medias de *Thrips palmi* por bloque (orientación de la trampa) durante el segundo ciclo de cultivo de vainita.

Bloque	Medias*	n
Sureste	22,21 b	48
Suroeste	15,08 a	48
Noroeste	17,85 ab	48
Noreste	21,50 b	48

*Prueba de Tukey. Letras distintas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$)

Adicionalmente, García (1999) encontró que las trampas adherentes orientadas en dirección oeste o sur tuvieron influencia significativa en la captura de *Frankliniella fusca* (Hinds), en plantaciones de maní (*Arachis hypogaea* L.). Asimismo, Osorio y Cardona (2003) registraron mayores poblaciones de *F. occidentalis* con trampas orientadas al este, en la periferia del cultivo de vainita.

Con relación al color de la trampa, al comparar los dos ciclos de cultivo se observó que los resultados de ambos periodos concuerdan entre sí. Además, se visualizó el menor número de trips en las amarillas y el mayor en las blancas. Esto difiere con lo encontrado por Demirel y Yildinm (2008), quienes en el primer ciclo del cultivo de algodón hallaron que las trampas amarillas totalizaron significativamente más ejemplares de *T. tabaci*, mientras que para el segundo ciclo las azules fueron significativamente más atractivas.

Tercer ciclo del cultivo: se totalizaron 9 418 ejemplares, presentándose el mayor número con las trampas blancas (5 244). Cabe señalar, que el color violeta fue poco evaluado en la captura de trips, así que los resultados del presente estudio se pueden comparar con los de Vernon y Gillespie (1995), quienes mediante ensayos en pepino con trampas y láminas de colores amarillo, violeta, azul y verde, determinaron que las de color contrastante colocadas detrás de trampas, colectaron más trips que cuando ambos eran del mismo color. Estos autores obtuvieron la mayor población de *F. occidentalis* con las de color amarillo y láminas de fondo color violeta.

De esta manera, Ixcot (1999) evaluó trampas violetas, blancas, amarillas y combinaciones de colores violeta y amarillo en el cultivo de arveja china (*Pisum sativum* L.), pero no encontró diferencias significativas para el

número de *Frankliniella* sp. capturados con trampas. A pesar de estos hallazgos, las de color violeta disminuyeron el daño a las vainas y las blancas la presencia de trips en las flores.

Con respecto a la condición de la trampa, el mayor número de ejemplares de *T. palmi* se obtuvo con las nuevas, posiblemente porque el sol degradó el color de las usadas, lo cual ocurre, según Quartino (2006) y CABOT (2012) por la migración de componentes o la oxidación producida por los factores climáticos, en particular por la radiación ultravioleta de la luz solar.

Por su parte, Stevens *et al.* (1991) señalaron que los plásticos transparentes se degradan con frecuencia bajo la exposición de los rayos ultravioleta del sol. Asimismo, Childers y Brecht (1996) indicaron que la atracción de los trips puede variar debido a la degradación del color de las trampas por la luz del sol.

En este período se presentaron diferencias altamente significativas entre los porcentajes de captura para el color y la condición de la trampa; observándose que la nueva de color blanco tiene el mayor porcentaje de captura (Cuadro 7).

CUADRO 7. Prueba de χ^2 para porcentaje de *Thrips palmi*, colectados según condición y color de la trampa, durante el tercer ciclo de siembra de vainita.

Color de la trampa	Condición de trampa		Total
	Nueva	Usada	
Violeta	29,84	14,48	44,32
Blanco	40,16	15,52	55,68
Total	69,99	30,01	100

$P=0,0000$

CONCLUSIONES

- La atracción de los trips por el color de la trampa depende de la especie involucrada. En este caso los colores blanco y violeta ejercieron la mayor atracción para *T. palmi*; mientras que, con las trampas nuevas se colectó el mayor número de ejemplares.

- La preferencia en la ubicación de las trampas también varía de acuerdo a la especie; *T. palmi* prefirió las posiciones donde están involucrados el norte y el este.
- Se sugiere que para el manejo de *T. palmi* en el cultivo de vainita se considere el uso y la orientación de trampas nuevas blancas al este o al norte, con la finalidad de disminuir las poblaciones de este insecto plaga y así lograr rendimientos adecuados del cultivo.

BIBLIOGRAFÍA

- Akihito, O., O. Mitsuaki and K. Hisatoshi. 2001. Biological Control of Thrips *palmi* Karny by *Amblyseius cucumeris* Oudemans on melon in greenhouses. Proceedings of the Kanto-Tosan Plant Protection Society 48:125-128.
- Attique, M. and Z. Ahmad. 1990. Investigation of *Thrips tabaci* Lind. as a cotton pest and the development of strategies for its control in Punjab. Crop Protection 9(6):469-473.
- Ávila, G., D. Téliz, H. Vaquera, H. González y R. Johansen. 2005. Progreso temporal del daño por trips (Insecta: Thysanoptera) en aguacate (*Persea americana* Mill.). Agrociencia 39(4):441-447.
- Beavers, J., J. Shaw and R. Hampton. 1971. Color and height preference of the citrus trips in a navel orange grove. J. Econ. Entomol. 64(5):1 112-1 113.
- Boito, G., J. Ornaghi, J. Giuggia y D. Giovanni. 2006. Primera cita de dos especies de insectos sobre el cultivo de maní (*Arachis hypogaea* L.) en Córdoba, Argentina. Agriscientia 23(2):99-103.
- Bueno, J. y C. Cardona. 2001. Biología y hábitos de *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) como plaga de frijol y habichuela. Rev. Colomb. Entomol. 27(1-2):49-54.
- Bueno, J. y C. Cardona. 2003. Umbral de acción para *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) en habichuela en el Valle del Cauca, Colombia. Rev. Colomb. Entomol. 29(1):51-55.
- CABI/EPPO (Center for Agricultural Bioscience International/European and Mediterranean Plant Organization). 2009. Data sheets on quarantine organisms No. 175. *Thrips palmi*. Disponible en: http://www2.zf.jcu.cz/public/departments/krv/rostlin/vyuka/galerie/trasnenky/datovy_list_skudce/Thrips%20palmi.pdf. Consultado el 06 de enero del 2009.
- CABOT (Corporation). 2012. Degradación UV y Métodos de test relacionados. U.S.A. Disponible en: www.cabotcorp.com/wcm/download/enus/sb/UV%20WEATHERING%20Spanish.pdf. Consultado el 03 de mayo del 2012
- Cannon, R., L. Matthews and D. Collins. 2007a. A review of the pest status and control options for *Thrips palmi*. Crop Protection 26(8):1 089-1 098.
- Cannon, R., L. Matthews, D. Collins, E. Agallou, P. Bartletta, K. Walters, A. Macleod, D. Slawson and C. Gaunt. 2007b. Eradication of an invasive alien pest, *Thrips palmi*. Crop Protection 26(8):1 303-1 314.
- Capinera, J. 2008. Melon Thrips, *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae). University of Florida. Disponible en: <http://edis.ifas.ufl.edu/IN292>. Consultado el 15 de enero del 2008.
- Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 1999. Annual Report. Project IP-1. Bean Improvement for sustainable productivity input use efficiency, and poverty alleviation 48-49 pp.
- Cermeli, M. and A. Montagne. 1990. *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera, Thripidae) nueva plaga para Venezuela. Boletín Entomol. Ven. 5(20):192.
- Cermeli, M., A. Montagne y F. Godoy. 1993. Resultados preliminares en el control químico de *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera, Thripidae) en caraotas (*Phaseolus vulgaris* L.). Boletín Entomol. Ven. 8(1):63-74.
- Cermeli, M., A. Montagne, R. Castro y R. Romero. 2002. Control químico de *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) en caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). Rev. Fac. Agron. (LUZ). 19(1):1-8.
- Coli, W., C. Hollingsworth and C. Maier. 1992. Traps for monitoring pear thrips (Thysanoptera: Thripidae) in maple stands and apple orchards. J. Econ. Entom. 85(6):2 258-2 262.
- Coria, V. 2003. Fluctuación poblacional de trips y efectividad de un insecticida biológico para su control en aguacate. Agric. Téc. México 29(2):193-200.

- Childers, C. and J. Brecht. 1996. Colored sticky traps for monitoring *Frankliniella bispinosa* (Morgan) (Thysanoptera : Thripidae) during flowering cycles in citrus. J. Econ. Entomol. 89(5):1 240-1 249.
- De León, M., G. Ibarra y M. de León. 1974. Biología, fluctuación de la población y combate del trips del plátano. Folia Entomol. Mexic. No. 28:21-26.
- Demirel, N., A. Yildirim. 2008. Attraction of various sticky color traps to *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) and *Empoasca decipiens* Paoli (Homoptera: Cicadellidae) in cotton. J. Entomol. 5(6):389-394.
- García, L. 1999. Seasonal occurrence and epidemiology of tomato spotted wilt virus and *Frankliniella fusca* (Hinds) (Thysanoptera: Thripidae) with emphasis on 3 peanut genotypes in North Carolina. Tesis PhD. Raleigh, U.S.A. North Carolina State University, Department of Entomology 76 p.
- Gil, R., D. Carrillo y J. Jiménez. 2007. Determinación de las principales plagas de la espinaca (*Spinacia oleracea*) en Cota, Colombia. Rev. Colomb. Entomol. 33(2):124-128.
- Goane, L., V. Pereyra, H. Salas. 2007. Presencia de *Chaetanaphothrips orchidii* (Insecta: Thysanoptera: Thripidae) en fincas de limonero en Tucumán, Argentina. Rev. Ind. Agric. Tucumán 84(2):25-27.
- Grout T., J. Morse, N. O'Connell, D. Flaherty, P. Goodell, M. Freeman and R. Coviello. 1986. *Citrus Thrips* (Thysanoptera: Thripidae) Phenology and Sampling in the San Joaquin Valley. J. Econ. Entomol. 79(6):1 516-1 523.
- Harman, J., C. Mao and J. Morse. 2007. Selection of colour of sticky trap for monitoring adult bean thrips, *Caliothrips fasciatus* (Thysanoptera: Thripidae). Pest Management Science 63(2):210-216.
- Hoddle, M., L. Robinson and D. Morgan. 2002. Attraction of thrips (Thysanoptera: Thripidae and Aeolothripidae) to colored sticky cards in a California avocado orchard. Crop Protection 21:383-388.
- Hunter Lab. 2000. Universal Software Version 4.0 and Above User's Manual. Hunter Associates Laboratory. Virginia, USA. 470 p.
- InfoStat. 2002. Manual de Usuario. version 1.1. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, 1ra ed. Ed. Brujas. Argentina.
- Ixcot, R. 1999. Evaluación de altura de trampas de colores en la captura del trips del género *Frankliniella* sp. y mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* Blanchard en parcelas productoras comerciales de arveja china *Pisum sativum* L. en finca La Sierra, Patzun, Chimaltemango. Tesis Ing. Agr. Universidad San Carlos de Guatemala. Fac. Agron. Guatemala 75 p.
- Kawai, A. 1990. Control of *Trips palmi* in Japan. Jpn. Agric. Res. Q. 24(1):43-48.
- Layland, J., M. Upton, H. Brown. 1994. Monitoring and identification of *Thrips palmi*. J. Aust. Entomol. Soc. 33(2):169-173.
- Macintyre, J., C. Scott, J. Tolman, C. Harris. 2005. Evaluation of sampling methodology for determining the population dynamics of onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) in Ontario onion fields. J. Econ. Entomol. 98(6):2.272-2.281.
- Martin, J., R. Mau. 2007. *Thrips palmi*. Crop knowledge master. *Thrips palmi* (Karny) Melon Thrips. Disponible en: http://www.extento.hawaii.edu/Kbase/Crop/Type/t_palmi.htm. Consultado el 08 de enero del 2009.
- Maryam, A. 1991. Brief review of thrips attack on gladiolus and their control during rainy season. Hortikultura (Indonesia) 30:34-36.
- Mujica, M., J. Scatoni, J. Franco, S. Nuñez y C. Betancourt. 2007. Fluctuación Poblacional de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) en *Vitis vinifera* L. cv. Italia en la Zona Sur de Uruguay. Bol. Sanid. Veg. Plagas 33(4):457-468.
- North, P., A. Cuthbertson and K. Walters. 2006. The efficacy of two entomopathogenic biocontrol agents against adult *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae). J. Invertebr. Pathol. 92(2):89-92.
- Osorio, J., C. Cardona. 2003. Fenología, fluctuación de poblaciones y métodos de muestreo para *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) en habichuela y frijol. Rev. Colomb. Entomol. 29(1):43-49.

- Pankeaw, K., A. Ngampongsai, S. Permkam and O. Rukadee. 2011. Abundance and distribution of thrips (Thysanoptera: Thripidae) in mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) grown in single- and mixed-cropping systems. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 33(3):263-269.
- Peña, J., A. Mohyuddin and M. Wysoki. 1998. A review of the pest management situation in mango agroecosystems. *Phytoparasitica* 26(2):1-20.
- PROTECNET. 2001. Técnica para ARP de *Trips Palm* en Colombia. Servicio fitosanitario del estado de Costa Rica. Disponible en <http://www.protecnet.go.cr/Cuarentena/fichas/Thripspalmi.htm>. Consultado el 01 de enero de 2009.
- Quartino, R. 2006. Degradación de plásticos. Hilo INTI No 10. INTI. Instituto Nacional de Tecnología Industrial. Disponible en: <http://www.inti.gov.ar/hilo/h10/h10-2.php> Consultado el 03 de mayo del 2012.
- Rendón, F., C. Cardona y J. Bueno. 2001. Pérdidas causadas por *Trialetrodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) y *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) en habicuela en el Valle del Cauca. *Rev. Colomb. Entomol.* 27(1-2):39-43.
- Roditakis, E., L. Mound and N. Roditakis. 2006. First Record in Crete of *Hercinothrips femoralis* in Greenhouse Banana Plantations. *Phytoparasitica* 34(5):488-490.
- Rodríguez, I., I. Duran, H. Morales and C. Cardona. 2003. Línea base, dosis diagnóstico y medición periódica de resistencia a imidacloprid, spinosad y carbosulfan en poblaciones de adultos de *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) en el Valle del Cauca. *Colombia. Rev. Colomb. Entomol.* 29(1):29-33.
- SAGARPA-SENASICA. 2011. Manual Operativo de la campaña contra el trips oriental (*Thrips palmi* Karny). Disponible en: <http://www.cesavep.org/sitecesavep/Descargas/Normatividad/MANUAL OPERATIVOC AMPA%C3%91ACONTRATRIPS ORIENTAL.pdf>. Consultado el 26 de septiembre del 2011.
- Salas, J. y O. Mendoza. 1996. Trampas adhesivas de diferentes colores en la atracción de *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera, Thripidae) en pimentón. *Bol. Entomol. Ven.* 11(2):185-190.
- Stevens, C., V. A. Khan, J. E. Brown, G. J. Hochmuth, W. E. Splittstoesser and D. M. Granberry. 1991. Plastic chemistry and technology as related to plasticulture and solar heating of soil. **In:** Katan, J., DeVay, J. E. (Eds.) *Soil solarization* 23-37 pp.
- Usabiaga, J., J. Trujillo, J. Hernández, H. Sánchez, M. Ramírez y S. Morales. 2008. Manual Operativo de la campaña contra el trips oriental (*Thrips palmi* Karny). Disponible en: http://www.cofemermir.gob.mx/uploadtests/5906.59.59.4.MANUAL_OPERATIVO_TRIPSFINAL14SEP.doc. Consultado el 18 de junio del 2008
- Vázquez, L. 2003. Bases para el manejo integrado de *Thrips palmi*. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (CATIE, Costa Rica) 69:84-91.
- Vernon, R. and D. Gillespie. 1995. Influence of trap shape, size, and background color on captures of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) in cucumber greenhouse. *J. Econ. Entomol.* 88(2):288-283.
- Zamar, M., M. Arce De Hamity, A. Andrade, A. Amendola De Olsen y V. Hamity. 2007. Efecto de productos no convencionales para el control de *Thrips tabaci* (Thysanoptera. Thripidae) en el cultivo de ajo (*Allium sativum*) en la Quebrada de Humahuaca (Jujuy-Argentina). *Idesia (Arica).* 25(3):41-46.

NOTA TÉCNICA

CONDICIONES PARA LA AMPLIFICACIÓN DE MICROSATÉLITES EN CULTIVARES DE PAPA

CONDITIONS FOR AMPLIFICATION MICROSATELLITES IN POTATO CULTIVARS

Martha Osorio Delgado*, Ariadne Vegas García*, Alexis Marques Urdaneta** y Lourdes González Pérez***

*Investigadoras y **Técnicos Asociados a la Investigación. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-CENIAP). Zona Universitaria. Maracay 2101, estado Aragua.

***Investigadora. INIA Mérida, Venezuela. Correo electrónico: mosorio@inia.gov.ve

RESUMEN

La identificación de cultivares de papa, *Solanum tuberosum* L., es de suma importancia para el manejo de bancos de germoplasma, programas de mejoramiento genético, análisis de diversidad genética, procesos de micropropagación y producción de semilla. Por su alto grado de polimorfismo, los microsatélites (SSR) han demostrado ser una herramienta muy poderosa para análisis de variabilidad, además es reproducible. El objetivo del trabajo fue estandarizar las condiciones para la amplificación de ADN utilizando cuatro accesiones provenientes del Banco de germoplasma del INIA-Mérida usando marcadores microsatélites. La extracción del ADN se realizó con un rápido, económico y confiable método. De los 24 iniciadores propuestos para estudios de diversidad se seleccionaron por su mayor contenido polimórfico 12 marcadores. Los productos amplificados se resolvieron en geles de agarosa al 3%, teñido con bromuro de etidio. Se probaron diferentes métodos utilizados en estudios previos para diversidad genética e identidad en papa, siendo la de reducciones en las concentraciones de Taq polimerasa, cloruro de magnesio e iniciadores, así como en los tiempos del perfil térmico, la que permitió obtener patrones de fragmentos de ADN nítidos, precisos y reproducibles. Se establecieron concentraciones óptimas de 0,2 U de Taq polimerasa, 1,5 mM de MgC₁₂ y 0,2 μM de iniciadores y se redujo 30 min en cada amplificación, obteniéndose una mayor eficiencia por reacción. De los 12 iniciadores, cuatro fueron seleccionados basados en su polimorfismo y la calidad de los fragmentos de ADN amplificados.

Palabras Clave: *Solanum tuberosum* L.; marcadores moleculares; banco de germoplasma; SSR; diversidad.

SUMMARY

The identification of cultivars of potato, *Solanum tuberosum* L., is critical for the management of genebanks, breeding programs, genetic diversity analysis, processes micropropagation and seed production. Because of its high degree of polymorphism, microsatellites (SSR) have proved a powerful tool for analysis of variability is also reproducible. The objective was to standardize the conditions for DNA amplification using four accessions from the germplasm bank of INIA-Merida using microsatellite markers. DNA extraction was performed with a fast, economical and reliable method. Of the 24 primers proposed diversity studies were selected for their higher content polymorphic 12 markers. The amplified products were observed in gels of 3% agarose, stained with ethidium bromide. We tested different methods used in previous studies for genetic diversity and identity in potato, being it possible to obtain DNA fragment patterns sharp, accurate and reproducible one whose optimum concentrations was 0.2 U of Taq polymerase, 1.5 mM MgC₁₂ and 0.2 μM of primers and 30 min decreased over time in each amplification, yielding greater efficiency per reaction. Of the 12 primers, four were selected based on their polymorphism and the quality of the amplified DNA fragments.

Key Words: *Solanum tuberosum* L.; molecular markers; germoplasm bank; SSR; diversity.

RECIBIDO: noviembre 28, 2011

APROBADO: julio 24, 2012

INTRODUCCIÓN

Los marcadores moleculares han contribuido a un mayor conocimiento genético en muchas especies vegetales, entre las cuales se incluye la papa *Solanum tuberosum* L. Además, permiten seleccionar de manera eficiente individuos con características específicas, incluso en fases tempranas o juveniles, comparar diferentes materiales promisorios y monitorear nueva diversidad en programas de mejoramiento genético (Egúzquiza, 2000).

Los marcadores de ADN utilizados para la identificación varietal a través de la huella genética, constituyen una herramienta precisa y complementaria a los métodos convencionales de identificación, basados en observaciones morfológicas y estudios fotoquímicos (Orona-Castro *et al.*, 2006).

La caracterización molecular de los materiales de papa constituye la base para iniciar trabajos de mejoramiento genético que permitan dar respuesta a la creciente exigencia de nuevos cultivares, con resistencia a plagas y enfermedades, altos niveles de producción y calidad culinaria (Colman *et al.*, 2009).

El uso de los marcadores microsatélites (SSR) para estudios de diversidad genética en papa, es de suma importancia para el manejo de los bancos de germoplasma (colecciones núcleo, detección de duplicados), en programas de mejoramiento genético, en la micropropagación y en la producción de papa semilla (Norero *et al.*, 2003). Su amplia utilización está soportada en su base genética codominante, su abundancia en el genoma, rapidez y sencillez; alto grado de polimorfismo y alta reproducibilidad entre laboratorios (Norero *et al.*, 2002; Norero *et al.*, 2003; Izpizúa *et al.*, 2003; Mathias *et al.* 2004; Merino, 2006).

El objetivo de este estudio fue estandarizar las condiciones para la amplificación de ADN mediante SSR, utilizando cuatro cultivares de papa pertenecientes al Banco de germoplasma *in vitro* del INIA-Mérida.

MATERIALES Y MÉTODOS

Extracción de ADN: Para la extracción del ADN genómico se utilizaron vitroplantas de cuatro accesiones pertenecientes al Banco de germoplasma del INIA-Mérida (Cuadro 1). Los cultivares Fri papa INIA, María Bonita y Tibisay fueron liberadas por el INIA, mientras que Monserrate forma parte del grupo de cultivares

comerciales de mayor preferencia por parte de los agricultores de las zonas altas de Venezuela. Los mismos se procesaron de acuerdo a la metodología propuesta por Zambrano *et al.* (2002).

CUADRO 1. Cultivares de papa del Banco de Germoplasma *in vitro* del INIA-Mérida, utilizados en la estandarización de las condiciones para la amplificación de ADN mediante microsatélites, indicando el código de registro del CIP y del INIA, respectivamente.

Cultivar	Código CIP	Código INIA
Monserrate	720071	003
Fripapa INIA	388790.24	007
María Bonita	388676.1	013
Tibisay	-----	059

Fuente: Registros INIA-Mérida.

Cuantificación del ADN

La concentración del ADN se evaluó en geles de agarosa al 1% teñidos con bromuro de etidio (10 mg/ml), esta determinación se hizo tanto de manera visual (por comparación con marcadores estándares de ADN de lambda no digerido) como digitalizada mediante el uso del programa Quantity One del Chemi Doc (marca BIO RAD).

Amplificación de SSR en los materiales de papa

Para la estandarización de la metodología de amplificación de los ADNs con el uso de SSR, se utilizaron metodologías descritas en estudios de identidad y diversidad genética en papa, entre ellas la propuesta por Norero *et al.* (2003); Mathias *et al.* (2004); Ghislain *et al.* (2004); Feingold *et al.* (2005); Marchezi *et al.* (2010). Se probaron en la forma originalmente descrita y con modificaciones tanto en la mezcla de amplificación como en los tiempos de los perfiles de temperatura (Cuadros 2 y 3).

De los 24 iniciadores propuestos para estudios de diversidad e identidad genética en papa (Ghislain *et al.*, 2004; Feingold *et al.*, 2005; Marchezi *et al.*, 2010), para este estudio se seleccionaron 12 por su alto índice de contenido polimórfico (Cuadro 4), los cuales se probaron con el ADN de las cuatro accesiones seleccionadas. Los

ciclos de amplificación se llevaron a cabo utilizando un termociclador modelo Gene Pro marca BIOER.

Separación de los productos amplificados: Los productos amplificados se separaron en geles de agarosa MS8 al 3%, en buffer TBE 1X y corrido en TBE 0,5X, en condiciones de 100 V, 45 mA y 5 W (Osorio *et al.*, 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La metodología de extracción del ADN genómico de los cultivares de papa utilizados, permitió obtener altas concentraciones de ADN por gramo de tejido foliar, además, los ADN obtenidos fueron de alta calidad y pureza óptimo para la amplificación por SSR (Figura 1).

CUADRO 2. Mezclas de amplificación del ADN utilizadas para SSR en papa, en un volumen total de 25 μ l.

Mezcla de amplificación	CIP (Ghislain <i>et al.</i> , 2004)	INTA (Feingold <i>et al.</i> , 2005)	EMBRAPA (Marchezi <i>et al.</i> , 2010)
Buffer	1X	1X	1X
MgCl ₂	2,5 mM	2,5 mM	1,5 mM
dNTPs	0,2 mM	0,2 mM	0,2 mM
Primer Izq.	0,5 μ M	100 μ M	0,3 μ M
Primer Der.	0,5 μ M	100 μ M	0,3 μ M
Taq. Pol	1 U	0,5 U	1 U
ADN	10 ng	50 ng	20 ng

Fuente: Ghislain *et al.*, 2004; Feingold *et al.*; 2005; Marchezi *et al.*, 2010.

CUADRO 3. Perfiles térmicos utilizados para microsatélites en papa, según la metodología probada.

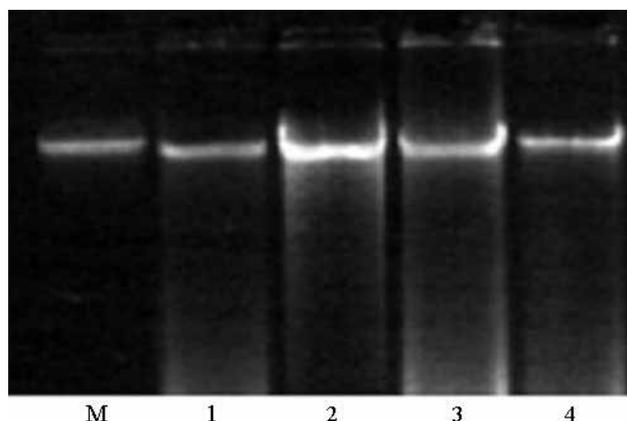
Perfil térmico (Ghislain <i>et al.</i> , 2004)	Perfil térmico (Feingold <i>et al.</i> , 2005)	Perfil térmico (Marchezi <i>et al.</i> , 2010)
3 min a 94 °C	3 min a 94 °C	2 min a 94 °C
2 min a temperatura de acoplamiento	0 min	0 min
1 min y 30 seg a 72 °C	0 min	0 min
29 Ciclos:	30 Ciclos	29 Ciclos:
1 min a 94 °C	1 min a 94 °C	1 min a 94 °C
2 min a temperatura de hibridación	2 min a temperatura de hibridación	2 min a temperatura de hibridación
1 min y 30 seg a 72 °C	1 min a 72 °C	1 min y 30 seg a 72 °C
5 min a 72° C	5 min a 72 °C	5 min a 72 °C

Fuente: Ghislain *et al.*, 2004; Feingold *et al.*; 2005; Marchezi *et al.*, 2010.

CUADRO 4. Iniciadores para diversidad genética en papa utilizados en este estudio, indicando el nombre del locus, índice de contenido polimórfico (PIC), motivo repetitivo, secuencia, ubicación en los cromosomas y temperatura de hibridación (TH).

Locus	PIC	Motivo repetitivo	Secuencia 5'-3'	Crom.	TH(°C)
STM 0019	0,8808	(AT)7(GT)10(AT)4(GT)5(GC)4(GT)4	AATAGGTGTACTGACTCTCAATG TTGAAGTAAAAGTCCTAGTATGTG	VI	47
STM 2022	0,7531	(CAA)3...(CAA)3	GCGTCAGCGATTTTCAGTACTA TTCAGTCAACTCCTGTTGCG	II	53
STM 1049	0,7531	(ATA)6	CTACCAGTTTGTGATTGTGGTG AGGGACTTTAATTTGTTGGACG	I	57
STM 0031	0,7714	(AC)5...(AC)3 (GCAC)(AC)2 (GCAC)2	CATACGCACGCACGTACAC TTCAACCTATCATTGTTGAGTCG	VII	57
STM 1052	0,8320	(AT)14 GT (AT)4 (GT)6	CAATTTTCGTTTTTCATGTGACAC ATGGCGTAATTTGATTTAATACGTAA	IX	50/60
STM 2013	0,8728	(TCTA)6	TTCGGAATTACCCTCTGCC AAAAAAGAACGCACG	VII	55
STM 1104	0,8916	(TCT)5	TGATTCTCTTGCCTACTGTAATCG CAAAGTGGTGTGAAGCTGTGA	VIII	57
STM 1016	0,7757	(TCT)9	TTCTGATTTTCATGCATGTTCC ATGCTTGCCATGTGATGTGT	VIII	53
STM 3012	0,6944	(CT)4, (CT)8	CAACTCAAACCAGAAAGGCAAA GAGAAATGGGCACAAAAACA	IX	57
STM 1106	0,8216	(ATT)13	TCCAGCTGATTGGTTAGGTTG ATGCGAATCTACTCGTCATGG	X	55
STM 0037	0,7865	(TC)5(AC)6 AA(AC)7 (AT)4	AATTTAACTTAGAAGATTAGTCTC ATTTGGTTGGGTATGATA	XI	53
STM 0030	0,8641	Compuesto (GT/GC)(GT)8	AGAGATCGATGTAAAACACGT GTGGCATTGATGGATT	XII	53

Fuente: Merino, 2006; Ghislain *et al.*, 2004



(M=Marcador lambda; 1=Monserrate; 2=Frippapa INIA; 3=María bonita; 4=Tibisay).

FIGURA 1. Análisis electroforético de la calidad de ADN extraído en los cultivares de papa en estudio, comparados con 100 ng de ADN de lambda no digerido.

La metodología de amplificación de ADN de papa mediante SSR descrita por Ghislain *et al.* (2004) con reducciones en las concentraciones de Taq polimerasa, cloruro de magnesio ($MgCl_2$) e iniciadores en la mezcla de reacción, así como en el tiempo en que se cumplió el perfil térmico del proceso de amplificación, fue la que permitió, en nuestro laboratorio y con los reactivos empleados, la obtención de patrones de fragmentos de ADN nítidos, precisos y reproducibles (Cuadros 5 y 6).

En las modificaciones realizadas a la metodología de amplificación de ADN de papa mediante SSR descrita por Ghislain *et al.* (2004), se determinaron las concentraciones óptimas de 0,2 U de Taq polimerasa, 1,5 mM de $MgCl_2$ y 0,2 μM de iniciadores, así como un tiempo de desnaturalización inicial de 2 min de hibridación 1,5 min y alargamiento de 1 min en el perfil térmico, manteniéndose constantes las temperaturas de hibridación sugeridas para cada iniciador (Cuadro 4).

CUADRO 5. Mezcla de amplificación del ADN, en un volumen total de 25 µl, modificada en este estudio.

Mezcla de amplificación	Metodología modificada
Buffer (10X)	1X (Promega Corp.)
MgCl ₂ (25 mM)	1,5 mM (Promega Corp.)
dNTP's (10 mM)	0,2 mM (Promega Corp.)
Primer izq. (10 mM)	0,2 µM (Bio Source)
Primer der. (10 mM)	0,2 µM (Bio Source)
Taq. Polimerasa	0,2 U GoTaq Flexi (Promega)
ADN	10 ng

CUADRO 6. Comparación de los perfiles térmicos y tiempos de desnaturalización, hibridación y elongación para la amplificación del ADN, en un volumen total de 25 µl, según la metodología original y la modificada en este estudio.

Perfil térmico	Perfil térmico (modificado)
3 min a 94 °C	2 min a 94 °C
2 min a temperatura de hibridación	
1 min y 30 seg a 72 °C	
29 Ciclos:	29 Ciclos:
1 min a 94 °C.	1 min a 94 °C.
2 min a temperatura de hibridación	1,5 min a temperatura de hibridación
1 min y 30 seg a 72 °C	1 min a 72 °C
5 min a 72 °C	5 min a 72 °C

Fuente: Ghislain *et al.*, 2004.

Todas las metodologías probadas en este estudio, con las cantidades de reactivos indicadas en las mezclas de amplificación y los tiempos en los perfiles térmicos, permitieron la amplificación de los microsatélites de ADN de los cultivares de papa utilizados, sin embargo, con las modificaciones realizadas no sólo se disminuyeron los costos y los tiempos de las reacciones, sino que además los patrones de fragmentos de ADN obtenidos fueron más nítidos, precisos y reproducibles.

De los 12 iniciadores microsatélites de alto índice de contenido polimórfico utilizados en este estudio, los

patrones de fragmentos de ADN obtenidos con los iniciadores STM-0019, STM-3012, STM-2022 y STM-2013, permitieron discriminar los cuatro cultivares de papa estudiados (Figura 2).

Con los iniciadores STM-3012, STM-2022, STM-2013, se logró de uno a dos fragmentos de ADN, según el cultivar; mientras que con el iniciador STM-0019 se amplificaron hasta cinco fragmentos de ADN y se obtuvo un patrón particular y específico para cada cultivar. No obstante, a pesar de que los tres primeros iniciadores definieron un máximo de dos fragmentos de ADN, permitieron hacer diferenciaciones entre los cultivares empleados en este estudio, además, todos los fragmentos amplificados con estos iniciadores fueron nítidos, intensos y reproducibles. Los ocho iniciadores restantes describieron patrones de fragmentos de ADN monomórficos, en todos los casos para los cuatro cultivares estudiados.

La selección del sistema de amplificación de ADN mediante el uso de microsatélites en papa, se basó en: **1.** la calidad (definición e intensidad) de fragmentos de los productos amplificados por evaluación visual en gel de agarosa, el nivel de polimorfismo y su reproducibilidad; **2.** el ajuste de las cantidades de Taq polimerasa e iniciadores en la mezcla de amplificación modificada, las cuales fueron menores al compararlas con las recomendadas para estudios de microsatélites en papa (Norero *et al.*, 2003; Mathias *et al.*, 2004; Ghislain *et al.*, 2004; Feingold *et al.*, 2005; Marchezi *et al.*, 2010), lo que es importante si se considera que la disminución en las cantidades de reactivos importados de elevado precio, sobretudo en el caso de la Taq polimerasa, redundan en un menor costo por reacción; **3.** La disminución en el tiempo en que se cumplieron los perfiles térmicos de la amplificación fue aproximadamente 30 min. cuando se compararon con los protocolos de Ghislain *et al.* (2004); Feingold *et al.* (2005) y Marchezi *et al.* (2010), haciendo que hubiese mayor eficiencia por amplificación.

Los iniciadores STM-0019, STM-3012, STM-2022 y STM-2013, pueden ser ampliamente usados para la identificación y la determinación de la diversidad existente en las accesiones de papa conservadas en los bancos de germoplasma de papa del país. El uso de un reducido número de iniciadores para la determinación de diversidad e identidad genética en cultivos es soportado por estudios como los de Reid y Kerr (2007) y Marchezi *et al.* (2010), quienes utilizaron apenas seis y dos iniciadores microsatélites para determinar la diversidad existente en 400 y 14 genotipos de papa, respectivamente.

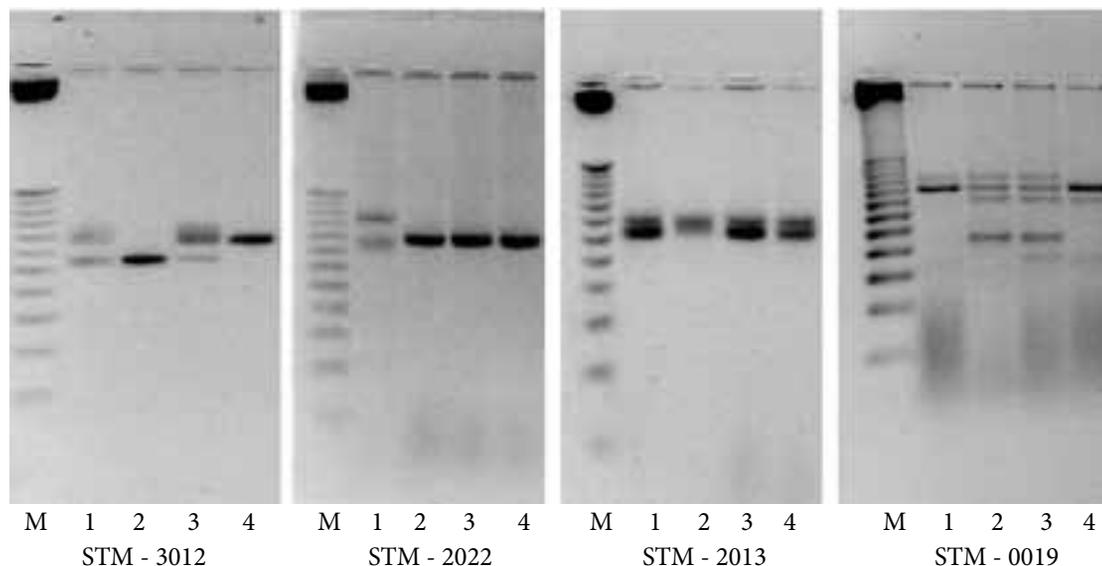


FIGURA 2. Geles de agarosa mostrando los productos de amplificación de los cuatro cultivares *in vitro*, con los iniciadores STM-3012, STM-2022, STM-2013 y STM-0019 (M= marcador 25 pb DNA step ladder de Promega, 1= Monserrate, 2= Friepapa INIA, 3= María bonita y 4= Tibisay).

El iniciador STM-0019 fue capaz de definir patrones que mostraron hasta 5 fragmentos de ADN por patrón electroforético, siendo el iniciador más polimórfico, de más alto poder discriminatorio para las accesiones utilizadas, y con potencial para identificar cultivares y/o patrones únicos en nuestros materiales.

CONCLUSIÓN

- La metodología modificada en este estudio redujo los costos por reacción y demostró ser más eficiente, debido a que con menor cantidad de reactivos en la mezcla de amplificación y disminución de los tiempos en el perfil térmico, permitió la obtención de patrones de fragmentos de ADN nítidos, precisos y reproducibles, similares a los observados en otros estudios con microsatélites en papa. Por lo tanto, puede ser ampliamente usada para determinar la identidad y diversidad genética existente en las papas nativas y cultivares comerciales conservados en parcelas de agricultores (as) y en los bancos de germoplasma *in vitro* e *in vivo* del país.
- Los resultados obtenidos constituyen la base para iniciar trabajos de caracterización molecular que complementen la caracterización morfológica tradicional requerida para la selección de materiales promisorios, para apoyar los programas de certificación

de semillas, la determinación de patentes, e identificación y selección de nuevos cultivares a utilizar en los programas de mejoramiento genético de papa.

- Se recomienda la utilización de los cuatro iniciadores STM-0019, STM-3012, STM-2022 y STM-2013 para la identificación y la determinación de la diversidad del resto de las accesiones de papa del Banco de Germoplasma del INIA-Mérida, basado en la calidad de los fragmentos de ADN y el polimorfismo obtenido.

BIBLIOGRAFÍA

- Colman, S. L., M. C. Monti, S. B. Divito, A. Digilio y S. E. Feingold. 2009. Marcadores funcionales asociados al endulzamiento inducido por frío en papas nativas de Argentina. *Revista Latinoamericana de la Papa* 15(1):61-65
- Egúsqiza, B. R. 2000. La papa: Producción, transformación y comercialización. CIMAGRAF S.R.L. PRISMA-PPA. Perú 192 p.
- Feingold, S., J. Lloyd, N. Norero, M. Bonierbale and J. Lorenzen. 2005. Mapping and characterization of new EST-derived microsatellites for potato (*Solanum tuberosum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 11(1):456-466.

- Ghislain, M., D. M. Spooner, F. Rodríguez, F. Villamón, J. Núñez, C. Vásquez and R. Waugh. 2004. Selection of highly informative and user-friendly microsatellites (SSRs) for genotyping of cultivated potato. *Theor. Appl. Genet.* 108:881-890.
- Ispizúa, V., A. Clausen, R. Guma y S. E. Feingold. 2003. Estudio de la diversidad genética en variedades nativas de *Solanum tuberosum* L. ssp. Andígena mediante la utilización de microsatélites. UNMDP-EEA-Balcarce. INTA., CC.276. Balcarce-Buenos Aires, Argentina. *Biología Molecular y Genética*.
- Mathias, M., J. Kalazich y B. Sagredo. 2004. Identificación de cultivares de papa a través de marcadores SSR en Chile. Suplemento Revista Latinoamericana de la papa **In: XXI Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa (ALAP)**. ISSN:1019-6609.
- Marchezi R. P., T. de Campos, A. C. Barbosa de Sousa, D. A. Sforça, G. A. Montan Torres e A. Pereira de Souza. 2010. Identificação de cultivares de batata por marcadores moleculares. *Pesq. agropec. Bras.* 45(1):15-28.
- Merino, C. G. 2006. Divergencia de Loci Microsatélites entre Papas Silvestres y Cultivadas (Familia Solanaceae, Género *Solanum* sección Petota). Tesis para optar al título de Biólogo, Mención Biología Celular y genética. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.
- Norero, N. S., M Huarte y S. E. Feingold. 2003. Microsatélites: Potente herramienta para la identificación de cultivares de papa. **In: IV Simposio de Recursos Genéticos para América Latina y el Caribe, Mar del Plata, Argentina 10-14 de nov. 2003.**
- Norero, N., J. Mallevile, M. Huarte y S. E. Feingold. 2002. Identificación de cultivares de papa (*Solanum tuberosum* L.) mediante amplificación de microsatélites. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), CC276, Balcarce-Buenos Aires, Argentina. *Biología Molecular y Genética* www.biologia.org
- Osorio, M., A. Vegas y A. Marques. 2005. Estandarización de las condiciones para la separación electroforética de productos amplificados por microsatélites (SSRs) en materiales de papa. CENIAP HOY N° 8. Disponible en: http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/ceniaphoy/articulos/n8/arti/osorio_m/osorio_m.htm
- Orona-Castro, F., V. Pecina-Quintero, M. A. Rocha-Peña, M. A. Cadena-Hinojosa, O. Martínez de la Vega e I. H. Almeyda-León. 2006. Caracterización molecular de genotipos comerciales y élite de papa (*Solanum tuberosum* L.) en México. *Agricultura Técnica en México* 32(2):171-180
- Reid, A. and E. M. Kerr. 2007. A rapid simple sequence repeat (SSR)-based identification method for potato cultivars. *Plant Genetic Resources* 5:7-13.
- Zambrano, A. Y., J. R. Demey, G. Martínez, F. Fuenmayor, Z. Gutiérrez, G. Saldaña y M. Torrealba. 2002. Método rápido, económico y confiable de minipreparación de ADN para amplificaciones por RAPD en Bancos de Germoplasma. *Agronomía Trop.* 52(2):235-243.

AGRONOMÍA TROPICAL

Revista del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Venezuela Instrucciones para los Autores

Agronomía Tropical publica trabajos originales producto de la investigación en el área de la agronomía. Se reconocen por trabajos originales aquellos que son producto de la investigación o experimentación, que tienen como objetivo concreto desarrollar nuevos conceptos o tecnologías y adaptar las existentes a las condiciones locales.

El envío de trabajos a **Agronomía Tropical** implica que no han sido presentados para su publicación en otra revista.

Los trabajos cortos, que describen técnicas experimentales, equipos, fenómenos naturales, o especies nuevas, serán publicados en la revista como **notas técnicas**. También se aceptan reseñas de libros recientemente publicados.

Manuscritos

Se requieren un original y tres copias legibles, transcritas a doble espacio en papel blanco tamaño carta (28,0 x 21,5 cm), utilizando una sola cara con márgenes de 2 cm en la parte superior y 3 cm en los demás lados. Las páginas deben ser numeradas consecutivamente. La versión final del trabajo, en la cual se han acogido las observaciones de los revisores, deberá remitirse tanto en un original transcrito, como archivado en un CD archivado en el programa MS Word, Open Office Writer.

Los manuscritos también pueden enviarse vía correo electrónico a las siguientes direcciones de la revista: agrotrop@inia.gob.ve o agrotropi@yahoo.com.

La secuencia en la presentación de un trabajo es como sigue: título en español e inglés, resumen y summary, autor(es), palabras clave, introducción la cual debe incluir la revisión de literatura, materiales y métodos, resultados y discusión, conclusiones (si hubiere), agradecimiento (si hubiere) y bibliografía.

Los títulos de cada una de las partes del trabajo deben insertarse en el texto en letras mayúsculas y en el centro de la página.

La extensión del trabajo no debe exceder de 25 páginas a doble espacio, incluyendo en ellos cuadros, figuras y

referencias. Junto al manuscrito es necesario anexar una carta de Fe, donde se declare que el trabajo no ha sido presentado en ningún otro medio.

Una vez aceptado el manuscrito se le enviará la comunicación oficial de aprobación con la ubicación relativa donde será incluido en la revista **Agronomía Tropical**.

Título. Escrito en letras mayúsculas, debe ser claro y conciso, procurando no excederse de 20 palabras. Debe identificar y describir concretamente el contenido del trabajo, sin abreviaturas. Sólo deben incluirse los nombres comunes de plantas, insectos, etc., cuando se requiere, dejando como palabra clave el nombre científico de los mismos.

Autor(es). Primer nombre completo, inicial del segundo y apellidos completos. Después de los nombres se usarán asteriscos (*) para identificar al pie de página el cargo, la institución, dirección postal donde trabajan y correo electrónico. Debe usar el nombre completo de la institución con la abreviatura o sigla entre paréntesis. Así mismo, puede identificarse si es necesario, la institución que financió el trabajo, o si es parte de una tesis de grado.

Resumen. Debe tener un máximo de 250 palabras (150 para las Notas), en un sólo párrafo. Específicamente debe exponer cuál es el objetivo del trabajo, cómo se realizó, los resultados cuantitativos más relevantes, porqué son relevantes y la conclusión. Los entes biológicos y los suelos deben ser identificados por sus nombres científicos cuando son mencionados por primera vez en el resumen y en el summary la primera vez que aparezcan en el cuerpo del trabajo, tanto en castellano como inglés, y no deben repetirse en el cuerpo del artículo.

Palabras Clave. Son aquellas que permiten identificar el tópico que se discute en el texto y que faciliten la elaboración del índice de materias, tratando de no repetir las que se usen en el título. Debe incluir los nombres científicos de los entes biológicos.

Introducción. Debe estar formada por una breve referencia de los antecedentes que motivaron a la realización del trabajo; igualmente, puede incluirse la revisión de literatura con las investigaciones más recientes que

aporten ideas fundamentales para la realización del trabajo. También incluirá el objetivo del mismo. Para las referencias bibliográficas se usará el sistema de apellidos del primer autor y el año de publicación.

Materiales y Métodos. La presentación debe ser clara y concreta, siguiendo un ordenamiento lógico de las técnicas empleadas en la investigación y los materiales utilizados. Los procedimientos analíticos y estadísticos usados deberán ser descritos claramente o citados como referencias bibliográficas.

Resultados y Discusión. Esta sección debe satisfacer los objetivos que se señalaron en la introducción, manejando la información cuantitativa a través de cuadros o figuras a fin de transmitir en forma clara el significado de los resultados obtenidos. Es necesario el uso de la estadística para verificar la validez de los resultados, cuando así se requiera. La discusión de los datos deberá hacerse basada en los soportes disponibles en la literatura.

Agradecimiento. Se utilizarán para reconocer a aquellas personas que han hecho contribuciones sustanciales al trabajo o han prestado asistencia técnica. Igualmente, para reconocer a las instituciones que han brindado apoyo financiero a la investigación se debe anexar al pie de página en la primera parte del trabajo, es decir, debajo de las palabras claves, indicando la llamada número 1 al terminar el título e incluyéndose, debajo de la página del resumen.

Cuadros. Cada cuadro se presentará en hoja separada, colocada a continuación del texto donde se haga alusión a él por primera vez, y seguirán la paginación del texto. El contenido de los cuadros no debe ser duplicado en las figuras. Los asteriscos se usarán para mostrar el nivel de significancia estadística de 0,05 (*), 0,01 (**), y 0,001 (***); los asteriscos deben ir acompañados del nombre de la prueba estadística realizada. Para otras llamadas deberán utilizarse otros símbolos. El título del cuadro debe ser concreto y expresar el contenido del mismo. Los cuadros deben ser elaborados utilizando la tabla del programa Words, Harward Graphic o Excel.

Figuras. Se entiende por figura cualquier ilustración que se incluya en el trabajo (gráficos, dibujos, fotografías, esquemas, mapas). Estas no deben ser una duplicación de la información de los cuadros. Las figuras pueden dibujarse a mano alzada con tinta china en papel albanene, o elaboradas con un Software y reproducidas en impresora láser. De ser posible, use figuras de 1/2 página (9 x 11 cm). No es deseable usar letras mayúsculas en el título el cual debe colocarse en la parte inferior de la figura.

En caso de usar fotografías, las leyendas se describirán en hoja aparte, con el respectivo número de la figura. Se requieren los negativos o diapositivas, marcadas por detrás con lápiz suave, con el número de la figura y el título del artículo.

Para las fotografías y otros dibujos digitalizados, deberán procesarse en formato TIFF (cmyk). En cuanto a los gráficos (líneas, barras, tortas...) se recomienda utilizar los programas Power Point, Harward Graphic o Excel, con la información adjunta la cual se elabora la figura, de tal manera que cuando se requiere pueda ser modificada en la oficina de edición de la revista. No use innecesariamente figuras tridimensionales.

Debe evitar el uso del color en los gráficos y demás figuras, ya que esto encarece la edición de la revista. De requerirse el uso del color en las fotografías, agrúpelas y enumérelas secuencialmente.

Bibliografía. Sólo deben ser incluidas publicaciones que estén disponibles en las bibliotecas; las comunicaciones personales serán citadas en el texto al pie de página indicando el nombre completo y la dirección del autor de la comunicación, el año en que se produjo. Las citas bibliográficas deben ser ordenadas alfabéticamente siguiendo el siguiente esquema:

- **Artículos de revistas:** autor(es), colocar el apellido del primer autor y luego la inicial del nombre, para los otros autores, primero la inicial del nombre y luego el apellido (en mayúscula); año de la publicación; título del artículo; abreviatura del nombre de la revista; volumen; página inicial y final del artículo.
- **Libros y folletos:** autor(es), año de la publicación, título, editor o traductor, número de la edición, lugar de la publicación (ciudad), casa editorial, paginación y serie.
- **Artículos en una publicación colectiva:** autor(es), año de la publicación, título del artículo, preposición latina **In** subrayada o en negrita, y seguida de dos puntos (:) y luego la referencia completa del libro.
- **Tesis:** autor, año, título, la palabra tesis, el grado académico en forma abreviada y en el mismo idioma en que está redactada la tesis, ciudad, país, universidad, facultad y número de páginas.

Dos o más artículos del mismo autor(es) deben ser ordenados cronológicamente, en caso de ser del mismo año debe usarse letras minúsculas a, b, c, d, etc.

Revisión de los Manuscritos. La revista garantiza la confidencialidad en el proceso de revisión de los trabajos por parte de especialistas reconocidos.

Estilo. Los entes biológicos deben ser identificados por sus nombres científicos completos (binomial) en el título (cuando se requiera así como en el resumen, summary y la primera vez que se mencionan en el cuerpo de trabajo.

Los nombres de productos comerciales deben evitarse, prefiriéndose el nombre genérico. Cuando ello sea posible utilícelo seguido del símbolo®.

Los nombres de las variedades, cultivares e híbridos deberán acompañarse de virgulillas o comillas simples sólo cuando se mencionen por primera vez en el resumen, en el summary y en el cuerpo del artículo.

Los suelos deben ser identificados taxonómicamente; si el nombre de la serie no es muy conocido deberá señalarse la familia.

Los símbolos no tienen plural ni llevan punto (.) después de ellos, y sólo se escriben en mayúsculas aquellos derivados de nombre propios Celsius, Kelvin, Joule.

Los decimales deben separarse con coma (,) y no con punto (.). Las unidades de mil o millón se indicarán con un espacio en blanco.

La abreviatura correspondiente a Agronomía Tropical es Agronomía Trop.

Para más detalles de estilo y presentación obsérvese los últimos números de la revista.

Los símbolos a usar son:

	Símbolo/abrev,	reemplaza
metro,	m,	
kilómetro,	km (10 ³ m)	
decímetro,	dm	
centímetro,	cm (10 ⁻² m)	
milímetro,	mm (10 ⁻³ m)	
micra	m	
micromilímetro,	mm (10 ⁻⁶ m),	microm
nanómetro,	nm (10 ⁻⁹ m),	Angstrom
metro cuadrado,	m ²	
hectárea,	ha	
metro cúbico,	m ³	
litro,	l	
gramo,	g	

kilogramo,	kg	
tonelada,	t	
mega gramo,	Mg,	
miligramo,	mg (10 ⁻³ g)	
microgramo,	µg (10 ⁻⁶ g)	
nanogramo,	ng (10 ⁻⁹ g)	
kilogramo/hectárea,	kg ha ⁻¹	
toneladas/hectárea,	t ha ⁻¹	
megapascal,	M Pa,	bar
grado Celsius,	°C	
grado Joule,	J,	caloría
grado Kelvin	°K	
centimole por kilogramo,	c mol kg ⁻¹ ,	meq por 100g
gramo por kilogramo,	g kg ⁻¹	
miligramo por kilogramo,	mg kg ⁻¹ ,	ppm
metro sobre el nivel del mar	m.s.n.m.	

La revista proporcionará gratis a los autores 25 separatas de sus trabajos.

Para reproducir un material o parte de él, deberá obtenerse el permiso de la revista.

Los manuscritos deben ser enviados al Editor de **Agronomía Tropical**, INIA, Apdo. 2103, Maracay 2101, estado Aragua, Venezuela, acompañados de una comunicación en la cual se señale el autor a quién deberá dirigirse la correspondencia, su dirección, teléfonos de oficina y domicilio y la firma de cada uno de los autores del trabajo.

Para suscripción. Realizar depósito según el monto del volumen completo, más costo de envío al Banco Mercantil, Cuenta Corriente N° 0105-0100-84-1100095039 a nombre del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. INIA-Gerencia General. Av. Universidad, vía El Limón. Apdo. 4653. Maracay 2103, estado Aragua, Venezuela.

Composición: Carmen Elena Solórzano
Montaje: Mario Pino
Fotolito: Mario Pino
Impresión: Eliseo Silva

Impreso en el Taller Gráfico del INIA
Maracay, estado Aragua, Venezuela
Mayo 2013

Agronomía
Tropical

Agronomía
Tropical

Agronomía
Tropical

Agronomía
Tropical