

Los nematodos agalladores (*Meloidogyne* spp.) son endoparásitos obligados con un rango de hospedantes superior a 5000 especies de plantas. El género agrupa a más de 90 especies. En Costa Rica están presentes, al menos siete de ellas, asociadas a una gran diversidad de cultivos comestibles y no comestibles, y se estima que causan pérdidas en rendimiento y daños considerables en la calidad de los productos que se comercializan. La identificación precisa rápida y a nivel de especie es fundamental para la implementación de medidas de control y sobretodo para impedir la diseminación a nuevas áreas de especies más agresivas e invasivas. Tradicionalmente la identificación de especies de *Meloidogyne* se realiza por medio de la caracterización morfológica y morfológica de machos, hembras, huevos y segundos estados juveniles. Es una tarea difícil de considerable destreza y experiencia y además demanda mucho tiempo. En los últimos años, el desarrollo y la aplicación de técnicas moleculares, basadas en la variabilidad presente en el ADN, ofrecen una alternativa para un diagnóstico más rápido y preciso de microorganismos,

utilizadas están la reacción en cadena de la polimerasa (PCR siglas en inglés) y la de polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción en conjunto con PCR (PCR-RFLP). La investigación tuvo por objetivo identificar molecularmente especies del género *Meloidogyne* presentes en Costa Rica por medio de PCR-RFLP y PCR con imprimadores específicos. Hembras ovigenas de *Meloidogyne* spp se extrajeron de raíces de arroz, café, tomate, fresa, papa, chile dulce, ñame, ornamentales (hriope, lengua de suegra, vinca, Cordyline, Caladium y Pothos) y un sustrato de fibra de coco, mediante disección en agua, con la ayuda de un estereoscopio. Las muestras provenían de diferentes zonas del país, y su recolecta se inició a partir del año 2003. Algunas poblaciones se incrementaron en plantas de tomate y arroz en un invernadero. Se realizó una identificación morfológica de la especie presente en cada muestra, con base en los diseños penneates de las hembras según la metodología de Taylor y Netscher. Para el análisis molecular, el ADN genómico total fue extraído a partir de 15-20 hembras, con el método CTAB. Para la identificación mediante PCR-RFLP, se amplificó la región mitocondrial entre los genes COII y 16S rARN con los imprimadores C2F3 y 1108 (3). Los productos de PCR fueron digeridos con las enzimas AluI, HinfI y OsaI, en forma independiente. Las condiciones de PCR y la electroforesis, tanto de los productos de PCR como de los fragmentos de digestión, se realizaron según lo descrito por Powers y Harris con algunas modificaciones. Se realizaron variaciones a la metodología para la determinación simultánea

de diferentes especies que afectan un mismo hospedero. En la identificación de las especies de *Meloidogyne* mediante la técnica de PCR con imprimadores específicos, se utilizaron los siguientes pares de imprimadores: M. incognita: Fine y Rinc. M. javanica: Fjav y Rjav; M. arenaria: Far y Rar. Los productos de PCR tienen tamaños de 1200, 670 y 420 pb, respectivamente. Las condiciones de PCR y la electroforesis de los productos de PCR se realizaron según la metodología de Zilstra et al. La identificación morfológica determinó la presencia de las especies: M. arabicida, M. arenaria, M. exigua, M. hapla, M. incognita, M. javanica y M. satasi. La técnica PCR-RFLP de la región mitocondrial permitió la identificación de las especies de *Meloidogyne* presentes en Costa Rica. Con respecto al tamaño inicial del producto de PCR, las especies se distribuyeron en tres grupos: 1) 1.5 kb, incluyó a M. arabicida y M. incognita; 2) 1.1 kb, incluyó a M. javanica y M. satasi; 3) 0.5 kb, formado por M. exigua, M. hapla y M. satasi. La identificación de las especies que presentaron un tamaño de PCR similar se realizó mediante la digestión del producto de PCR con enzimas de restricción AluI para las especies pertenecientes a los grupos 1 y 2 y con la enzima OsaI para las especies del grupo 3. Los patrones de digestión fueron especie-específicos y estables en relación con la localidad y el hospedero del que provinieron los aislamientos. También fue posible determinar simultáneamente la presencia de dos

raíces de café y M. incognita y M. hapla en chile dulce. La técnica PCR con imprimadores específicos corroboró la presencia de M. incognita, M. javanica y M. arenaria. El diagnóstico molecular de las especies de *Meloidogyne* es rápido, no requiere experiencia con el género y complementa la identificación morfológica. Se espera que se aplique como diagnóstico de rutina.

EVALUACIÓN AGRONÓMICA DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE PALMA DE ACEITE O X G (*Elaeis oleifera* X *Elaeis guineensis*) PROVENIENTES DE DIVERSOS ORIGENES AMERICANOS Y SU TOLERANCIA A LA PUDRICIÓN DEL COGOLLO.

Julián Barba Rosales, jbarbaros@hotmail.com, Francisco Orellana, Guillermo Vallejo, Roberto Manzano, Palmar del Río, Ecuador

La enfermedad conocida como Pudrición del Cogollo (PC), ha devastado áreas significativas de palma en América. Patmoriente SA, hoy Palmar del Río, Orellana, Ecuador, tiene cerca de 8000 has de cultivos guineenses, y luego de

15 años de investigación en colaboración con instituciones de renombre internacional para solucionar el problema, optó por buscar la resistencia genética como única salida viable a este inconveniente. Desde 1996 se recibieron semillas de híbridos interespecíficos O x G provenientes de palmas del género *Elaeis* oleífera colectadas en varias regiones de la Amazonia y Centro América. Se evaluó un total de 57 progenies F1, las que mostraron diversos comportamientos en cuanto a tolerancia de PC y producción de aceite por hectárea/año. De las progenies evaluadas dos ecotipos de oleíferas se presentan como las más prometedoras, ya que sus contenidos de aceite y tolerancia a la PC se comparan y superan las cifras obtenidas en años anteriores con los cultivos guineenses. El objetivo principal es evaluar materiales híbridos interespecíficos O x G, que sean tolerantes a la PC y que sus componentes de producción y contenidos de aceite sean similares a las palmas guineenses tradicionalmente cultivadas. La investigación se está realizando en Palmar del Río desde 1997, la plantación se encuentra ubicada en Ecuador Provincia de Orellana, Parroquia Nuevo Paraíso, en suelos inceptivos, de topografía plana, profundos, y de buena fertilidad. La región tiene una precipitación de 3450 mm, con 1450 horas sol y una temperatura promedio de 26°C. Se instalaron 4 ensayos experimentales con las siguientes nominaciones: HUGP1: 1997 Evaluación de 21 cruzamientos de materiales O

Urubú - Brasil. Lote 1002. 18 has. HUGP2: 1997 Evaluación de 10 cruzamientos de materiales O x G procedentes del IRHO - GIRAD Estación Experimental La Mé - Costa de Marfil. Lote 1101. 10 has. HUGP3: 1999 Evaluación de 16 cruzamientos de materiales O x G procedentes del EMBRAPA - Estación Experimental Río Urubú - Brasil. Lote 3B1. 15 has. HUGP4: 2002 Evaluación de 15 cruzamientos de materiales O x G procedentes del Palmar del Río - Ecuador. Lote 11E2. 12 has. En adición se evaluaron híbridos provenientes de *E. oleifera* de la región de Coari, para lo cual, se consideró la información obtenida del lote comercial 9C2, sembrado en año 2002, 15 has. Los ensayos HUGP1, HUGP2 y HUGP3 fueron dispuestos en un diseño de Fisher con 6 repeticiones, 12 palmas útiles por parcela y una densidad de 105 palmas/ha. El ensayo HUGP4 mantiene el diseño de Bloques al Azar, con tres repeticiones y 75 palmas útiles por cada progenie, su densidad de siembra es de 128 palmas/ha. Se determinó la tolerancia a la PC, producción y extracción de aceite en racimos. Tolerancia a la Pudrición del Cogollo. Los híbridos interespecíficos O x G presentaron una variación de 0 a 35 % de pérdidas acumuladas por Pudrición de Cogollo al cabo de 10 y 6 años de evaluación respectivamente. Las oleíferas más tolerantes a este problema fueron las de la región de Talsha (Ecuador) y Coari (Brasil), en tanto que los mayores índices de mortalidad por PC, se obtuvieron con los híbridos provenientes de oleíferas de Mangenot, Itapinima, Lago Anitinga y Santa Helena (Brasil). Producción: la producción varía entre 12 y

28 toneladas por ha año, en tanto que el porcentaje de aceite en racimos oscilo entre el 15 y 22 %, lo que equivale a un potencial de aceite por ha año que puede fluctuar entre 2 y 6 toneladas de aceite por ha año. Los híbridos inter específicos O x G. provenientes de madres brasileñas, costarricenses y panameñas, presentan inflorescencias femeninas provistas de espigas y antesis heterogénea, lo que dificulta en cierto grado la labor de polinización. Los híbridos provenientes de oleíferas ecuatorianas - Taisha, presentan un pedúnculo largo. La presencia de fibra en los racimos es mínima y su antesis es uniforme, lo que facilitaría la labor de polinización. acción indispensable para una buena formación de racimos. Se concluye que no todas las palmas del género E. oleífera pueden ser utilizadas como progenitores en la producción de semilla de híbridos inter específicos O x G. varios de los ecolipos evaluados demostraron ser susceptibles a la pudrición del cogollo, al menos bajo las condiciones ambientales de la amazonia ecuatoriana. Los resultados de estas evaluaciones evidencian que es posible conseguir una buena alternativa genética para contrarrestar la enfermedad conocida como Pudrición del Cogollo; su bajo crecimiento y calidad de aceite los vuelven competitivos con las palmas guineensis tradicionalmente sembradas.

CARACTERIZACIÓN DE POBLACIONES DE MOSCA BLANCA Y VIRUS EN CULTIVOS DE CHILE DULCE (*Capsicum annuum*) Y TOMATE (*Lycopersicon esculentum*) EN AMBIENTES PROTEGIDOS DE CARTAGO, COSTA RICA

José Andrés Vargas¹, Natalia Barboza¹, Eduardo Hernández¹, R. Hammond⁴, Floribeth Mora², Eric Fuchs⁵, R. Gilbertson³, M. Ramas³, Pilar Ramirez¹

¹ Centre de Investigación en Biología Celular y Molecular. ² Convenio 1110 SFE-MAGICIBCM-UCR. ³ Plant Pathology Department. UC Davis ⁴ USDA. Maryland ⁵ Escuela Biología. UCR

La producción de chile dulce y tomate en Costa Rica se ha transfido de campo a abierto a invernaderos, esto debido a su mayor productividad y para tratar de cumplir con los estándares de calidad para la exportación de productos. El manejo de estos sistemas puede inducir al desarrollo de plagas que restringen la producción, disminuyen los rendimientos y causan pérdidas económicas, se han reportado incrementos en las poblaciones de mosca blanca (Hom: Aleyrodidae) y en la incidencia de virus transmitidos por éstas en invernaderos. Estos virus representan uno de los más importantes grupos de patógenos de plantas que causan daños significativos en cultivos de importancia económica, varios de estos patógenos

se ha reportado que infectan cultivos de tomate y chile dulce establecidos en campo abierto en Cartago. El objetivo de esta investigación fue identificar y caracterizar las poblaciones de mosca blanca y los virus transmitidos por éstas en tomate y chile dulce cultivados en ambientes protegidos en la provincia de Cartago. Se visitó alrededor del 90% de los invernaderos productores de tomate y chile dulce ubicados en la provincia de Cartago. en cada uno de ellos se recolectaron individuos de mosca blanca y muestras de tejido foliar del cultivo así como de las arvenses presentes en el invernadero. Las moscas blancas fueron identificadas utilizando marcadores tipo SCAR. se analizaron secuencias del gen mtCOI para establecer las relaciones entre las poblaciones de mosca blanca. Se utilizó la técnica de dot blot con AlkPhos Direct Hybridization kit (Amersham Pharmacia, Piscataway, NJ.). RCA utilizando el Templiph kit (Amersham Biosciences) y PCR iniciadores generales para la detección de los Begomovirus. Se utilizó el PCR tiempo real (RT-qPCR) con iniciadores específicos para la detección de los virus Tomato infectious chlorosis virus (TICV) y Tomato chlorosis virus (ToCV) en las muestras vegetales. Trialeurodes vaporariorum (Westwood) fue la única especie identificada en todas las regiones evaluadas. Analizar las secuencias obtenidas del gen mtCOI, no se detectó ningún proceso de diferenciación entre las poblaciones de mosca blanca al evaluar todos los individuos colectados provenientes de diferentes zonas geográficas. Existen indicios de relaciones cercanas entre las poblaciones de esta misma especie presentes en Costa Rica. con las reportadas para California y las Islas Canarias, a diferencia de las provenientes de Arizona y Europa que se agrupan de forma separada. Se diagnosticó la presencia de begomovirus en siete plantas de chile dulce y en una de tomate. Es importante señalar que este género de virus es transmitido por Bemisia tabaci (Gennadius). la cual no fue identificada en ninguna de las muestras analizadas. Existen varias hipótesis al respecto, entre éstas 1.- que la infección ocurrió en estados fenológicos iniciales de la plántula y que posteriormente esta fuera establecida en los invernaderos evaluados 2.- Que no se identificaran individuos de B. tabaci, debido a que estas poblaciones fueron eliminadas con aplicaciones de insecticidas de origen sintético. 3.- Que estas especies de virus puedan ser transmitidas tanto por B. tabaci como por T. vaporariorum en estas regiones específicas. Se determinó que los virus más importantes en estos ambientes pertenecen al género crinivirus. con alrededor del 25% de las muestras evaluadas infectadas con el Tomato chlorosis virus (ToCV) y una con el Tomato Infectious chlorosis virus (TICV). Se identificó el ToCV en una arvensis perteneciente al género Solanum, lo cual es importante ya que se constituye en una fuente alimenticia para el vector, así como de reservorio para este virus.

PONENCIAS TIPO CARTEL

DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA DE *Poa annua* AL HERBICIDA CLETODIM USADO EN EL CULTIVO DE CEBOLLA (*Allium cepa* L.)

Ana Ma. Rodríguez R1 aaa.cpdaguezru1z@uccac.cr, Franklin Herrera1, Alberto Hernandez2

¹ Estación Experimental Fabio Baudin Moreno. Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica ² Agencia de Extensión Agrícola, Mm1steno de Agricultura y Ganadería, Potrero Cerrado, Cartago, Costa Rica

Poa annua es una arvensis de la familia Poaceae introducida a nuestro país y con una amplia distribución mundial. Es una planta anual y cespitosa. desde hace mucho tiempo considerada como maleza problemática en países como Bélgica, Alemania e Inglaterra. *P. annua* se encuentra entre las malezas más problemáticas en el cultivo de la cebolla (*Allium cepa* L.) en la zona de Cartago. Uno de los herbicidas que se ha estado utilizando para el control de *P. annua* es el cletodim aplicado en posemergencia a la maleza y al cultivo. Este herbicida pertenece al grupo químico de las ciclohexanodionas, cuyo mecanismo de acción consiste en inhibir la enzima Acetil CoA carboxilasa, lo que bloquea la formación de fosfolípidos. básicos en la formación de membranas y crecimiento celular. Debido a que es un herbicida de buen efecto sobre poaceas y selectivo a cultivos dicotiledóneos y cebolla, ha sido de uso intenso en esta zona. En el cantón de Tierra Blanca y alrededores se ha visto buena eficacia del cletodim para el control de *P. annua* en algunas fincas. mientras que en fincas vecinas o lotes dentro de una misma finca, el control a sido deficiente. Esto ha llevado a la sospecha de la presencia de poblaciones con algún grado de resistencia a este herbicida. El objetivo del trabajo es determinar si existen poblaciones de *P. annua* resistentes al cletodim. El trabajo se realizó en las instalaciones del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) situadas en Potrero Cerrado de Cartago, aproximadamente a 2072 msnm. Se llenaron potes con suelo procedente de la línea de los hermanos Gómez. situada en el mismo lugar. a 2342 msnm, en coordenadas latitud N 09°55'832" y longitud O 083°53'191". La mitad de los potes se sembraron con semilla de *P. annua* procedente de un área donde no se tiene problemas para su control (Población A) y la otra mitad con semilla de otro lote donde existen problemas para su control (Población B). Cuando las plantas tenían de dos a tres hojas y entre uno a tres cm de alto, se aplicaron con cletodim en dosis de 120, 240, 480, 920 y 1840 g/ha. siendo la dosis de