

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"**

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



Efecto de Diferentes Poblaciones del Ácaro de Dos Manchas
Tetranychus urticae Koch (Acari: Tetranychidae) Sobre Hojas de
Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.).

Por:

GUILLERMO LÓPEZ GUILLÉN

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el
Título de:

Ingeniero Agrónomo Parasitólogo

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
Mayo de 1998.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA " ANTONIO NARRO "

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

Efecto de Diferentes Poblaciones del Ácaro de Dos Manchas
Tetranychus urticae Koch (Acari: Tetranychidae) Sobre Hojas de
Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.).

POR

GUILLERMO LÓPEZ GUILLÉN

TESIS

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

APROBADA POR:

EL PRESIDENTE DEL JURADO

SINODAL

JERÓNIMO LANDEROS FLORES.

-----DR.
M.C. ROSALINDA MENDOZA VILLARREAL.

SINODAL

SINODAL SUPLENTE

BIOL. JUANA E. GUERRERO TORRES.

DR. MELCHOR CEPEDA SILLER

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

M.C. MARIANO FLORES DÁVILA

Buenavista, Saltillo Coahuila, México.
Mayo de 1998

DEDICATORIA

A Dios:

Por el gran milagro que es la vida.

A mi madre:

Ma. Bertha Guillén Morales.

Por enseñarme siempre con su ejemplo a luchar por lo mejor de la vida, por darme fortaleza para luchar por las metas emprendidas y por ser lo más grande que tengo en la vida.

A la memoria de mi padre:

Guillermo López Pérez .

En donde quiera que te encuentres mil gracias por regalarme un recuerdo grato de tu paso por la vida.

A mis Hermanos:

Rubén y Raquel.

Por compartir momentos agradables y difíciles y por ayudarme a

llegar a una meta.

A mi **Tío Mauricio**:

Por sus consejos y apoyo desinteresado.

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Jerónimo Landeros Flores**, por su valioso apoyo, asesoría, corrección y tiempo dedicado a la realización de este trabajo.

A la **MC. Rosalinda Mendoza Villarreal**, por su disponibilidad y sugerencias prestadas.

A la **Biol. Juana E. Guerrero Torres**, por su aporte y oportuna ayuda en este trabajo.

A la Ing. **Ma. Guadalupe Herrera Arroyo**, por su ayuda desinteresada.

A la **Tec. Ma. de Jesús Sánchez**, por su apoyo en el trabajo de laboratorio.

A la **Tec. Angélica Martínez Ortiz**, por su ayuda en el trabajo de laboratorio de anatomía.

Al Equipo Internacional de Identificación de Plantas de Pastizales, por haber compartido momentos inolvidables.

A mis maestros, por haberme formado.

A mis compañeros de generación.

Al Departamento de Parasitología Agrícola, por haber culminado mi preparación.

A mi **Alma Terra Mater**, con especial cariño por haberme dado una valiosa herramienta que es la profesión.

A todos aquellos que de una u otra manera me apoyaron.

INDICE GENERAL

Páginas

INDICE DE CUADROS.....	iii
INDICE DE FIGURAS.....	iv
INTRODUCCION.....	1
Objetivos.....	3
Hipótesis.....	3
REVISION DE LITERATURA.....	4
Distribución.....	4
Ubicación Taxonómica.....	6
Aspectos Biológicos y de Comportamiento.....	7
Huevo.....	7
Larva.....	8
Ninfa.....	8
Adultos.....	9
Mecanismos de Dispersión.....	12
Proporción de Sexos.....	14
Diapausa.....	14
Metabolismo.....	15
Importancia dela Clorofila.....	16
Espectro de Absorción.....	19
MATERIALES Y METODOS.....	21
Area de Estudio.....	21
Evaluación Cuantitativa del Daño Sobre la Clorofila.....	21
Tratamientos y Análisis Estadístico.....	22
Determinación Cuantitativa de la Clorofila en Laboratorio.....	23

Daño Mecánico Sobre los Tejidos.....	24
Preparación del Tejido.....	25
Proceso de Fijación.....	25
Deshidratación para Inclusión.....	26
Aclarado del Tejido.....	26
Infiltración e Inclusión en Parafina.....	27
Seccionamiento en Micrótomo Rotatorio.....	28
Fijación de las Secciones a Portaobjetos.....	30
Coloración de Cortes de Tejido.....	31
RESULTADOS Y DISCUSION.....	34
Daño Mecánico de las Hojas de Frijol.....	38
CONCLUSIONES.....	43
RESUMEN.....	44
LITERATURA CITADA.....	46
APENDICE.....	50

INDICE DE CUADROS

Cuadro No.....	Páginas
2.1. Tiempo de desarrollo en días para <i>Tetranychus urticae</i> bajo una temperatura de 21°C.....	10
2.2. Pigmentos fotosintéticos en los diferentes organismos vivos.....	17

3.3.	Procedimiento de coloración utilizado para cortes de hoja de frijol infestados con <i>T. urticae</i>	32
4.4.	Análisis de varianza de la cantidad de clorofila total con las diferentes poblaciones de ácaros.....	51
4.5.	Comparación de medias del análisis de varianza.....	52
4.6.	Tabla de diferentes parámetros para medir la clorofila total y el número de ácaros/hoja/día en hojas de plántulas de frijol (variedad pinto) <i>Phaseolus vulgaris</i> L. con diferentes poblaciones de <i>T. urticae</i>	53

INDICE DE FIGURAS

Figura

No.....Páginas

4.1.	Respuesta lineal de la clorofila total de las hojas de frijol (variedad pinto) contra el número de ácaros/hoja/día de <i>Tetranychus urticae</i> durante cuatro días.....	35
------	--	----

4.2.	Cantidad de clorofila total de las hojas de frijol (variedad pinto) con respecto a las poblaciones iniciales de <i>Tetranychus urticae</i> durante cuatro días.....	37
4.3	Corte transversal de la hoja de frijol (variedad pinto) con cero ácaros, observado con un objetivo de 6.3X.....	38
4.4	Corte transversal de la hoja de frijol (variedad pinto) con cinco ácaros, observado con un objetivo de 6.3X.....	39
4.5	Corte transversal de la hoja de frijol (variedad pinto) con 15 ácaros, observado con un objetivo de 6.3X.....	39
4.6	Corte transversal de la hoja de frijol (variedad pinto) con 30 ácaros, observado con un objetivo de 6.3X.....	40
4.7	Corte transversal de la hoja de frijol (variedad pinto) con 50 ácaros, observado con un objetivo de 6.3X.....	40

INTRODUCCION

El llamado “ácaro de dos manchas”, *Tetranychus urticae* Koch (ACARI: TETRANYCHIDAE) está catalogado como una de las especies de ácaros que más problemas ocasiona a la agricultura en el mundo. Su alto potencial reproductivo le permite incrementar la población rápidamente, de tal manera que en un corto tiempo puede rebasar el umbral económico si no se toman medidas de control pertinentes (Gould, 1987), para su combate. Una de las herramientas mas ampliamente utilizadas la constituye el control químico, sin embargo, éste presenta desventajas tales como la destrucción de la fauna benéfica y la inducción de resistencia a los productos químicos utilizados al paso del tiempo (Mc Murtry et al, 1970; Jeppson et al, 1975).

En el caso de los cultivos su significación como plaga se ha visto aumentada notablemente en años recientes, debido a la misma tecnificación de la producción agrícola, la cual, entre otros factores cuenta con la utilización de productos químicos (insecticidas y fungicidas orgánicos) muchos de ellos con poco o nulo poder acaricida, pero que pueden facilitar en forma indirecta el desarrollo de altas poblaciones de ácaros fitófagos, llevándolos en esta forma a convertirse en factores de limitación a la producción económica de cosechas (Doreste, 1988).

En las plantas son capaces de vivir a expensas de todas las partes aéreas donde pueden atacar sobre la superficie de las hojas, vivir de los tejidos jóvenes y en hojas maduras se les encuentra tanto en el haz como en el envés.

Uno de los problemas más serios lo constituye la especie *Tetranychus urticae*, este es capaz de atacar una amplia gama de plantas hospederas, pudiendo causar daños muy fuertes, con frecuencia, ocasionan la muerte violenta de la planta por secado de follaje. La especie de este ácaro es considerada como la que más plantas ataca en el mundo (Hoffmann, 1988).

Por ello se ha realizado una investigación tendiente al conocimiento del efecto mecánico, así como la influencia que este tiene en la reducción de la capacidad clorofilica de la planta afectada.

Objetivos

1.- Determinar el daño cuantitativo de diferentes poblaciones del ácaro de dos manchas *Tetranychus urticae* Koch sobre el contenido de clorofila total en hojas de plántulas de frijol (variedad pinto) *Phaseolus vulgaris* L.

2.- Conocer el daño mecánico de diferentes poblaciones *Tetranychus urticae* Koch sobre hojas de plántulas de frijol (variedad pinto) *Phaseolus vulgaris* L.

Hipótesis

El ácaro de dos manchas *Tetranychus urticae* en su afán de alimentarse succiona clorofila y daña mecánicamente las hojas afectando el proceso fotosintético en la planta.

REVISION DE LITERATURA

“El ácaro de dos manchas “, “arañita roja” o “ácaro del invernadero”, *Tetranychus urticae* Koch, antiguamente formaba parte de un complejo de cerca de 59 sinónimos descritos para diferentes hospederas. Adicionalmente, una revisión de la familia Tetranychidae publicada en 1955 (Pritchard y Baker citados por Jeppson et al 1975), incluía 43 sinónimos para *T. telarius* (nombre inicial de este complejo) concluyéndose que era una especie politípica compuesta por varias subespecies. Los ácaros de éste complejo de arañitas rojas se les reporta atacando a más de 150 especies de plantas cultivadas, por tal motivo es difícil conocer con exactitud las especies de plantas dañadas únicamente por *T. urticae*. Sin embargo, se sabe que esta especie es un serio problema en frutos deciduos, árboles de sombra y arbustos especialmente de climas templados (Jeppson et al 1975).

Distribución

La especie *T.urticae* se encuentra ampliamente distribuida en el mundoprincipalmente en zonas templadas. Se le ha asociado a más de 150 especies de plantas hospederas de importancia económica (Milley y Conell citados por Cruz, 1984). Esta especie es muy conocida en árboles frutales deciduos en la región boreal de Estados Unidos de América y Europa (Tuttle y Baker, 1968). En México se le reporta ocasionando daño en las zonas freseras de Irapuato, Guanajuato y Zamora, Michoacán y en menor grado en Jalisco, México, Puebla y Querétaro (Teliz y Castro, 1973). En los estados de Puebla, Morelos, México y Guanajuato ocasiona pérdidas en cacahuate, fresa y papayo

(Estébanes,1989). Por su parte, Yañes (1989) menciona que en el estado de México *T. urticae* afecta la calidad de la flor de crisantemo al deformar sus pétalos.

Ubicación Taxonómica

El ácaro de dos manchas según Krantz (1970) se ubica en los siguientes taxas:

Phyllum: Arthropoda

Subphyllum: Chelicerata

Clase: Arachnida

Subclase: Acarida

Orden: Acariformes

Suborden: Prostigmata

Supercohort: Promata

Cohort: Eleutherogonina

Superfamilia: tetranychoida

Familia: Tetranychidae

Subfamilia: Tetranychinae

Tribu: Tetranychini

Género: *Tetranychus*

Especie: *urticae*

Aspectos Biológicos y de Comportamiento

El primer paso importante para el conocimiento de la biología del grupo de las especies de arañas de dos manchas fue dado a principios de los años 20's cuando se encontró que el macho de estas especies tenía un número de cromosomas haploide y la hembra diploide (Nelson y Stafford, 1972). Actualmente se conoce que esta especie presenta tres pares de cromosomas y partenogénesis de tipo arrhenotokia (Helle y Bolland citados por Helle y Pijnacker, 1985).

Huevo.- Los huevecillos de *T. urticae* miden en promedio entre 110 y 150 μm . Son de color translúcido a opaco blanquecino y cambian a color café conforme se va desarrollando el embrión. La superficie del córion es lisa con leves irregularidades. En la última etapa del desarrollo embrionario se presenta un cono respiratorio que se proyecta sobre la superficie del huevecillo (Crooker, 1985).

Los huevecillos de *T. urticae* presentan un mecanismo especial de respiración para el intercambio de gases (Dittrich y Streibert citados por Van de Vrie et al 1972). Dos estigmas embrionarios de estructura complicada que penetran la pared del huevo durante la fase contractiva de la banda germinal, están conectados a una parte altamente especializada de la membrana intermedia que cubre el embrión. Esta membrana tiene numerosas perforaciones las cuales forman un plástron de aire de 0.2 a 0.3 μ entre la pared del huevecillo y el embrión. Mothes y Seitz (citado por Crooker, 1985) estudiando la capa del huevecillo han determinado que ésta consiste de una capa granular exterior, una capa densa media y una capa interna transparente.

En 1949 Cagle (citado por Nelson y Stafford, 1972) estudió el ciclo de vida de estos ácaros en el laboratorio (además de algunas observaciones de campo) y describió varios estados de vida, características de alimentación y hábitos de apareamiento. Así mismo, estudió los efectos de la temperatura sobre el periodo de incubación de los huevecillos, reportando que a 24 °C el periodo de incubación era de tres días, mientras que se necesitaban 21 días a una

temperatura de 11 °C. El tiempo de desarrollo fue de 5 a 20 días para machos (con un tiempo promedio de vida de 28 días).

Larva.- Las larvas son redondas y poseen tres pares de patas. Al emerger del huevo son blancas y únicamente se les notan las manchas oculares de color rojo carmín. Conforme pasa el tiempo se tornan de color verde claro y las manchas dorsales de color gris se empiezan a volver aparentes. Los peritremas tienen forma de bastón y están en posición dorsal al final de las setas propodosomales anteriores (Jeppson et al 1975).

Ninfa.- Las protoninfas son ovaladas y poseen cuatro pares de patas. Son de color verde claro con manchas dorsales bien definidas y peritremas en forma de hoz. La deutoninfa es muy similar a la protoninfa de tal forma que resulta difícil diferenciarlas. Es ligeramente mas oscura, de mayor tamaño y se les puede reconocer el sexo. Los peritremas son de forma de V. El tarso 1 tiene cuatro setas táctiles próximas a las setas dúplex, en tanto que la tibia 1 tiene nueve setas táctiles y una sensorial. El integumento es rugoso con lóbulos semioblongos en el filo de las arrugas (Jeppson et al 1975). El macho adulto es de coloración mas pálida y es mas pequeño que la hembra posee un abdomen puntiagudo y el mismo número de setas. Las manchas dorsales son casi imperceptibles y de color gris. El tarso 1 presenta cuatro pares de setas táctiles y dos sensoriales próximas a las dúplex proximales. La tibia 1 presenta nueve setas táctiles y cuatro sensoriales.

Adultos.- Se ha demostrado que el tiempo de desarrollo postembrionario está íntimamente asociado con la temperatura. Crooker (1985), reporta que Cagle en 1949 observó que a 22.8 °C el desarrollo del estado larval era un día, mientras que a 12.5 °C tardaba 11 días. El estado de protoninfa según este último autor era de un día a 23.3 °C y de 13 días a 9 °C. La deutoninfa tardó un día en completar su desarrollo a 23.4 °C y el tiempo de desarrollo se prolongó hasta 45 días cuando éstas se expusieron a 4.3 °C. Herbert (tomado de Crooker, 1985) resume en el cuadro 2.1 el tiempo de desarrollo de *Tetranychus urticae* bajo una temperatura de 21 °C.

cuadro 2.1. Tiempo de desarrollo en días para *Tetranychus urticae* bajo una temperatura de 21 °C (según Crooker, 1985).

Estado	Activa	Quiescente	Total
Larva			
macho	1.5	1.3	2.8
hembra	1.5	1.2	2.7
Protoninfa			
macho	1.0	1.3	2.3
hembra	1.3	1.2	2.4
Deutoninfa			
macho	1.0	1.4	2.5
hembra	1.5	1.4	2.9

Los adultos de *T. urticae* son muy similares a los de *T. cinnabarinus* a tal grado que antiguamente formaban parte del complejo de arañitas rojas.

Sin embargo ya se conocen en la actualidad algunas diferencias morfológicas tales como la forma del aedeago en los machos, la coloración de los individuos (verde blanquecino en *T. urticae* y rojo carmín en *T. cinnabarinus*) y diferencias en la densidad del lóbulo integumentario dorsal. Brandenburg y Kennedy (1981) encontraron bajo microscopía electrónica que el integumento dorsal de *T. urticae* presentaba estrías de forma semioblarga en un promedio de 6.44 lóbulos por cada 10 μ ; mientras que el integumento de *T. cinnabarinus* presenta una forma de tipo triangular y con un promedio de 7.47 lóbulos por cada 10 μ . Una objeción a esta información la constituye lo reportado por Mollet y Sevacherian (1984) quienes encuentran variaciones en la densidad de los lóbulos como respuesta a la variación de la humedad y temperatura.

Además de la temperatura, la humedad está también muy relacionada con el desarrollo del ácaro de dos manchas. Boudreaux (1958) estudió el efecto de la humedad relativa en la ovipostura, eclosión y supervivencia de seis especies de arañitas y encontró que bajo condiciones de baja humedad (0 a 35% H.R.) las hembras de *T. urticae* ponen mas huevecillos y viven mas. El autor concluye que el fenómeno es debido a que las condiciones anteriores ocasionan que la hembra ingiera alimento en mayor cantidad y éste se concentra mas en el cuerpo por la razón de que también habrá mayor evaporación a través de la cutícula.

Se ha estudiado ampliamente el desarrollo de las especies de ácaros fitoparásitos utilizando diferentes plantas hospederas y se conoce que de

acuerdo a las plantas utilizadas puede haber diferencias en desarrollo, reproducción, longevidad, e incremento poblaciones. Estas diferencias pueden estar asociadas con factores de tipo alimenticio como textura de las hojas, valor nutricional de la planta, fisiología o condiciones particulares microambientales (Crooker; 1985).

Todos los ácaros de la familia Tetranychidae pasan por las fases inmaduras de larva, protoninfa, deutoninfa y finalmente adulto. Los tres estados inmaduros se alimentan y entre cada uno de ellos hay períodos intermedios de quiescencia llamados protocrisálida, deutocrisálida y teliocrisálida, respectivamente. Durante los períodos de inactividad el ácaro se adhiere al substrato y forma una nueva cutícula (Crooker,1985). Al igual que muchos artrópodos el patrón de oviposición de los tetraníquidos comprende un período corto de preoviposición, un rápido pico de incremento pocos días después y por último un decremento paulatino. Aun cuando esto puede variar dependiendo de la temperatura con un óptimo para el ácaro de dos manchas de 28-32 °c en el cual se presenta un período de preoviposición de 0.5 días promedio (Bravenboer, citado por Van de Vrie et al 1972).

Mecanismos de dispersión.- Una de las características de los miembros de la subfamilia Tetranychinae a la que pertenece la especie *T. urticae* es la de producir una especie de hilo que utilizan en la construcción de telarañas. La forma y característica de la telaraña va de acuerdo a cada especie en particular. En el caso del ácaro de dos manchas una vez iniciada la invasión de las plantas

empiezan a construir telarañas de forma muy irregular en la superficie de la hoja. Cuando la población crece considerablemente se presenta en la telaraña numerosos gránulos de excremento, huevecillos y desechos corporales de los individuos muertos. La telaraña se adhiere a la hoja de tal forma que en invasiones severas la envuelve completamente y no la deja desprenderse una vez que ésta ha muerto (Saitó, 1985). El patrón de comportamiento de las hembras cambia como respuesta al desarrollo de la tela en hojas recién invadidas. Durante el inicio de la invasión las hembras comen activamente y giran sobre el hilo que se ha formado. Una vez que se ha cubierto parte de la hoja con telaraña su actividad se reduce y se esconden bajo la telaraña en donde se alimentan y ovipositan. Esto ocurre después de 6 a 7 horas de la invasión según el mismo autor. La telaraña además de las funciones ya mencionadas sirve también para dar protección contra factores climáticos adversos, enemigos naturales, acaricidas y puede marcar una especie de territorialidad contra individuos fitoparásitos de otras especies (Gerson, 1985).

Los tetraníquidos han desarrollado algunos mecanismos que les ayudan a dispersarse y colonizar plantas ampliamente separadas y pueden servir también como mecanismos de escape de los enemigos naturales. Para Kennedy y Smitley (1985) este mecanismo es el movimiento de individuos a partir de colonias altamente pobladas, pudiendo ocurrir de las partes infestadas a las no infestadas en una misma planta o bien hacia plantas diferentes. Según Hassey, Parr y Coates (citados por Kennedy y Smitley, 1985), la dispersión entre plantas en algunas especies es el resultado de la tendencia de un grupo de hembras

prereproductivas a emigrar de las hojas en las cuales ellas se desarrollaron. Una vez que han ovipositado, pocas hembras de *Tetranychus urticae* tiene la tendencia a colonizar hojas nuevas o al menos lo hacen en menor grado que las hembras que no han iniciado la oviposición.

Proporción de Sexos.- La proporción sexual según Overmeer (citado por Helle y Pijnacker, 1985) depende esencialmente de la cantidad de esperma transferido a la hembra. Si durante el apareamiento se interrumpe la cópula se produce un número inferior de hijas. En tanto que si se completa habrá una descendencia mayor de ellas, pudiendo considerarse como normal una producción de tres hembras por cada macho. Helle y Pijnacker (1985) mencionan a su vez que en caso de que las hembras no hayan sido fecundadas se producirán machos por partenogénesis.

Diapausa.- El fenómeno de diapausa en el ácaro de dos manchas ha sido estudiado por un buen número de acarólogos (Van de Vrie et al 1972; Veerman, 1985). Así por ejemplo, Veerman (1977) comenta que se ha demostrado ampliamente la importancia del fotoperíodo en la inducción de la diapausa en arañitas rojas. De acuerdo con el mismo Veerman, Bondarenko fue en 1950 el primero en reportar que *T. urticae* entraba en diapausa bajo la inducción de días cortos, de modo que bajo un régimen de cuatro horas luz por día indujeron la diapausa en la totalidad de los individuos de una colonia del ácaro de dos manchas. Bajo un régimen de 15 horas luz no existe diapausa.

Se ha encontrado también que no todas las poblaciones de *T. urticae* responden con el fenómeno de diapausa al mismo fotoperíodo. Bondarenko y Kuan (citados por Van de Vrie et al 1972) reportan que las poblaciones del ácaro de dos manchas que habitan diferentes latitudes responden de diferente manera a las horas de luz. En este caso el fotoperíodo decreció una hora por cada tres grados menos en latitud.

Metabolismo.- El ácaro de dos manchas *Tetranychus urticae* mencionan Ehrhardt y Voss (1961) que se han encontrado en él glucosidasas que son capaces de hidrolizar distintos hidratos de carbono, como maltosa, trehalosa, melobiosa, lactosa, melecitosa y rafinosa hasta dar monosacaridos. Por otra parte, no se ha demostrado la existencia de α -glucosidasa, celulasa, pectinasa y poligalacturonasa.

Además, Mehrotra (1960, 1961, 1963) ha comprobado que *T. urticae* puede utilizar las hexosas-fosfato a través de la vía glicolítica de la hexosa monofosfato (pentosa fosfato). Mehrotra ha calculado que aproximadamente el 40-45% de la glucosa es metabolizada por la vía de la hexosa monofosfato. La existencia de algunas enzimas que intervienen en el ciclo de Krebs sugiere la posibilidad de que este ciclo metabólico tenga lugar en el interior del ácaro.

La presencia de la ruta de la hexosa monofosfato en *Tetranychus urticae* tiene una gran importancia fisiológica, ya que Siperstein y Fagan (1958) han relacionado esta ruta con la síntesis de lípidos. Como Mehrotra ha apuntado, los estudios de McEnroe (1958) indican que el cociente respiratorio (CR) en la

forma de verano de *T. urticae* sugiere la síntesis de grasas a partir de los hidratos de carbono (autores citados por Cheng, 1978).

Importancia de la Clorofila

Hasta ahora el único pigmento mencionado que absorbe la luz ha sido la clorofila. Inicialmente se reconoció al pigmento verde de las plantas como la sustancia responsable de la absorción lumínica en la fotosíntesis, capaz de absorber la luz roja y la azul, no la verde. Sin embargo también existen otros pigmentos diferentes en las plantas (cuadro 2.2), de diversos colores, incluso la clorofila no es una sustancia simple sino un grupo de pigmentos interrelacionados. Se descubrió que algunas sustancias coloridas de las plantas están fuera de los cloroplastos, difundidas en el citoplasma o bien presentes en cuerpecillos especiales, a veces como plastos y a menudo de forma irregular o muy angular, llamados cromatóforos.

Bidwell (1979), reporta que los cloroplastos son el sitio de la fotosíntesis; por lo tanto los pigmentos fuera de los cloroplastos (notoriamente las antocianinas azules y rojas, las xantofilas amarillas y algunos carotenos rojo y naranja) no tienen que ver con la fotosíntesis. Además de la clorofila se encuentran en los cloroplastos varios pigmentos incluyendo algunas xantofilas y carotenos, y se han realizado muchos experimentos para determinar si forman parte de la fotosíntesis.

cuadro 2.2. Pigmentos fotosintéticos en los diferentes organismos vivos.

Pigmento	Organismos	Luz absorbida
Clorofila a	Todas las plantas verdes	Roja y azul-violeta
Clorofila b	Plantas verdes, ni algas rojas o verde-azul ni diatomeas	Roja y azul-violeta
Clorofila c	Algas morenas. Diatomeas	Roja y azul-violeta
Clorofila d	Algas rojas	Roja y azul-violeta
Protoclorofila	Plantas etioladas	Plantas etioladas
Bacterioclorofila	Bacterias púrpura	Rojo cercano y azul-violeta
Bacterioviridina	Bacterias verdes sulfurosas	Rojo cercano y azul-violeta
Ficocianina	Algas verde-azul, algas rojas	Rojo naranja
Ficoeritrina	Algas rojas y verde-azul	Azul, verde-azul
Carotenoides (carotenos y xantofilas)	La mayoría de plantas, bacterias	Azul, verde-azul

Garcidueñas (1979), menciona que las diferencias químicas entre la clorofila a y la clorofila b no son muy grandes y las fisiológicas, es decir, las posibles diferencias en el papel que juegan en la fotosíntesis, no se conocen; ambas son los pigmentos fotosintéticos del vegetal y se engloban bajo el nombre común de clorofila. Por su parte Fruton (1961), reporta que en la estructura química de la clorofila a con respecto a la de la clorofila b el grupo metilo en posición 3 es substituido por un grupo formilo (-CHO); además en las hojas verdes de los vegetales superiores, el contenido en clorofila es un 0.1 por ciento del peso fresco y la relación de clorofila a a clorofila b es usualmente de 2.5.

Bidwell(1979), menciona que la clorofila es un tetrapirrol y tiene un gran parecido con la estructura del heme y de los citocromos, la clorofila difiere de

esas enzimas ferrosas en que contiene un átomo de magnesio que no parece participar directamente en reacciones de transferencia de electrones como lo hace el hierro del citocromo. La clorofila se caracteriza por un anillo de ciclo pentanona con grupos laterales característicos en varios puntos. La identidad de dichos grupos diferencia las clorofilas. El más importante de ellos es el éster fitol adherido al anillo pirrólico. Este a la molécula de una larga cadena (“cola”) lipofílica muy importante en la orientación y anclaje de las moléculas de clorofila en lamelas o laminillas del cloroplasto.

La clorofila tiene el potencial para diversos mecanismos de reacción en la absorción lumínica. Puede cambiar su contenido energético por resonancia de la estructura de sus enlaces coordinados (los enlaces alternos sencillos y dobles pueden resonar “cambiando lugares” una y otra vez), por reducción de uno de sus enlaces dobles, por reducción de la quinona (=O) en el anillo de la ciclopentanona, o por pérdida de uno de sus electrones en la estructura con dobles enlaces. Los experimentos con los isótopos del hidrógeno deuterio o tritio han indicado claramente que la clorofila no participa en las reacciones de transferencia de H o en óxido-reducciones que involucren H. Al parecer la clorofila participa en las reacciones de transferencia de energía tanto por transporte de electrones (o sea oxidación-reducción por ganancia y pérdida de un electrón), como por resonancia (una transferencia directa de energía).

Por su parte Garcidueñas (1979), establece que en la estructura química de la clorofila, es típico el núcleo con un metal, en este caso el magnesio, al que se unen los anillos pirrólicos; este núcleo se llama porfirínico, porque confiere color a los compuestos y también gran capacidad de oxidación-reducción, o sea, acepta

y libera electrones con generación de energía; se encuentra también en la sangre y pigmentos respiratorios de animales y vegetales.

La planta sintetiza clorofila a partir del aminoácido más sencillo: la glicina y de la succinilcoenzima A. Para su síntesis debe existir luz en las plantas superiores, magnesio y hierro; la falta de estos metales conduce, por lo tanto, a una falta de clorofila o clorosis, en que la hoja quede blanca o amarillo claro. Puesto que el magnesio es un constituyente de la molécula de clorofila.

Emerson y Arnold, 1932 (citados por Célis, 1985), encontraron midiendo la cantidad de clorofilas que se necesitan para hacer un evento fotosintético en algunas algas verdes: para producir un átomo de O_2 se necesitan 2400 moléculas de clorofila, mientras que para transferir $1 e^-$ se requieren 600 moléculas de clorofila.

Por lo tanto la mayoría de los pigmentos actúa como colectores de energía de la luz o antenas y la canalizan a un pequeño grupo de clorofilas reactivas especiales llamadas centros de acción.

Espectro de Absorción.- Mazur (1973), menciona que en un día de sol brillante, 1 cm^2 de tierra recibe aproximadamente 1 cal por minuto de radiación solar incidente perpendicularmente y la mitad de esta radiación está en la región del espectro de luz visible de 800 $m\mu$. Como la máxima absorción de luz visible por clorofila a, el pigmento mayor en los pigmentos verdes ocurre a 683 $m\mu$, es probable que la energía radiante útil para fotosíntesis resida en la región por debajo de 700 $m\mu$. Clorofila b es un componente menor de las células que tienen a su cargo la fotosíntesis, y su máximo de absorción está a 650 $m\mu$.

MATERIALES Y METODOS

Area de Estudio

El trabajo se realizó en una cámara bioclimática en Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), que se localiza en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Con el propósito de conocer algunas de las alteraciones que suceden en las hojas de plantas cuando son atacadas por *Tetranychus urticae* se realizaron una serie de experimentos para cuantificar el daño sobre el contenido de clorofila y cualificar el grado de daño mecánico sobre los tejidos del primer par de hojas de plántulas de frijol.

Evaluación Cuantitativa del Daño Sobre la Clorofila

A partir de la primavera de 1996 se realizaron infestaciones sobre el primer par de hojas de plántulas de frijol (variedad pinto) vivas sembradas sobre un sustrato a base de suelo esterilizado y bajo las mismas condiciones de humedad, temperatura y horas luz en una cámara bioclimática Biotronette Mark III a temperatura de 25 ± 2 °C., 60-70 % H.R. y con 12 horas luz. Por separado se mantuvieron poblaciones de laboratorio de una colonia de *Tetranychus urticae* sobre plantas de frijol; cuando se obtuvo el material biológico en cantidades adecuadas, se realizó la infestación respectiva por lo cual se transfirió diferente número de ácaros hembra mediante un pincel de pelo de camello bajo microscopio estereoscópico de acuerdo a cada tratamiento previamente establecido (0, 5, 15, 30, 50 ácaros hembra por hoja), posteriormente las plántulas ya infestadas se colocaron en la cámara bioclimática.

Las hembras depositadas sobre las hojas de las plántulas de frijol permanecieron por un lapso de cuatro días, al cabo de este tiempo se realizó un conteo final sobre las poblaciones de cada hoja para poder aplicar el modelo

matemático de ácaros / hoja / día (h/d/a): $\frac{1}{2} (P_i + P_f) \times t$ y se llevaron al laboratorio para cuantificar la clorofila de acuerdo al número de individuos por hoja.

Tratamientos y Análisis Estadístico

Los tratamientos en estudio resultaron del producto de la combinación de cuatro grados de daño con poblaciones iniciales de ácaros de 5, 15, 30, y 50; más un testigo con cero ácaros con cuatro repeticiones cada uno. Dichos tratamientos se sometieron a un análisis completamente al azar acompañado de la prueba de Tukey para obtener diferencias estadísticas del daño a la clorofila en los diferentes tratamientos. Por otro lado se procedió una regresión lineal; tomando como base para ello todos los datos obtenidos sobre el daño de cada uno de los tratamientos y el número de ácaros / hoja / día (a/h/d), para tener una idea de la cantidad de clorofila que se consume en las diferentes poblaciones, todo lo anterior se presenta en los resultados y discusión.

Determinación Cuantitativa de la Clorofila en Laboratorio

Se colocaron en un mortero 1 gr de hojas frescas de frijol, cortadas en trocitos las cuales se molieron con el mortero, posteriormente se agregó 4 ml de acetona pura y se continuo moliendo el tejido hasta obtener una pasta fina, se incorporaron de nuevo 20 ml más de acetona. En seguida se transfirió

cuidadosamente el extracto resultante a un embudo Buchner provisto de un disco de papel filtro y se filtró al vacío. Agregando otros 30 ml de acetona a la pulpa de hojas, se reanuda la molienda, luego se filtro este segundo extracto y se agregó al primero. Hasta que el tejido quedo sin clorofila tomando una coloración blanquecina; en el caso contrario cuando no tomó el color blanquecino se repitió el proceso agregando 20 ml más de acetona e incorporando este filtrado a los anteriores. Se lavó el mortero y embudo con 10 a 30 ml de acetona que se incorporaron posteriormente al filtrado. El volumen final fue de 100 ml (Fernández, 1986).

El extracto de clorofila se leyó en un espectrofotómetro, obteniendo la densidad óptica a 645 y 663 nm, como blanco se utilizó acetona.

Una vez que se tomaron las lecturas en el espectrofotómetro se calculó la cantidad de clorofila mediante la siguiente formula:

$$\text{clorofila total} = 20.2 (D_{645}) + 8.02 (D_{663}) \times v / 1000 \times \text{pf}$$

Donde:

D = Densidad óptica del extracto de clorofila leída a longitud de onda inidicada en el subíndice.

V = Volumen final del extracto clorofila - acetona 80 %.

pf = peso fresco en gramos del tejido extraído.

Daño Mecánico Sobre los Tejidos

A partir del verano de 1997 se efectuaron infestaciones sobre el primer par de hojas de plántulas de frijol sembradas y mantenidas bajo las mismas condiciones que en el experimento anterior. Se efectuaron cuatro tratamientos de 5, 15, 30 y 50 ácaros hembra por hoja más un testigo sin repeticiones. La infestación y cría se realizó de la misma manera que en el caso anterior y se colocaron las plántulas en la cámara bioclimática por espacio de cuatro días, pasado ese tiempo se llevaron al laboratorio para procesar el material sin realizar el conteo final, pero sí sacando con cuidado los ácaros. El procesamiento que siguieron las hojas para el trabajo de microtomía fue el siguiente:

Preparación del Tejido

1.- Se cortó el tejido en un trozo de 1 milímetro de diámetro, inmediatamente antes de colocarlo en el fijador.

El tejido debe estar limpio para evitar graves daños en el seccionamiento.

2.- Se preparó una pequeña etiqueta de papel “bond” y con un lápiz duro o tinta india se anotaron todos los datos acerca del material; la fecha en que el material fue fijado, el tipo de fijador usado y principalmente el nombre del material de que se trata, se colocó la etiqueta en el frasco que contenía fijador y el material y fueron mantenidos juntos todo el tiempo que duró el proceso.

Proceso de Fijación

El fijador más común en la preparación de material para microtomía es el “FAA” (mezcla de formaldehído-alcohol-ácido acético).

- 1.- Se colocó el fijador “FAA” y el tejido en pequeños frascos provistos de tapón de rosca.
- 2.- Se uso siempre un volumen grande de fijador (20 ml) en relación al volumen del tejido.
- 3.- El tiempo de fijación y almacenaje del material fue de 24 horas mínimo.

Deshidratación para Inclusión

La deshidratación consiste en remover el agua de los tejidos fijados y endurecidos. La deshidratación tiene alguna acción de lavado y hace el material firme y posiblemente duro. El procedimiento consiste en tratar a los tejidos con una serie de preparaciones de alcoholes. Dos métodos contrastados se usan para deshidratar y preparar el material para la infiltración. El agente deshidratante más común, en esta categoría es el alcohol etílico (etanol). Este se adquiere en presentación comercial al 95% (anhidro). Las soluciones en las series deshidratantes se hicieron por dilución del alcohol de 95% con agua destilada. La serie de alcoholes usados fueron: alcohol al 70%, alcohol al 80%, alcohol al 96% más eosina, alcohol al 96% como enjuague y alcohol al 100% . Esto fue en la primera serie de alcoholes y en cada cambio se efectúo en un lapso de 2 horas.

Aclarado del Tejido

El término aclarado aplicado a este cambio, es debido al hecho de que algunos solventes de parafina vuelven transparentes a los tejidos. La acción de aclarado es meramente accidental a la función del reactivo.

En el aclarado del material se usaron combinaciones de alcohol absoluto- xilol en proporción (3:1), alcohol absoluto-xilol en proporción (1:1), alcohol absoluto-xilol en proporción (1:3) y xilol puro. Cada cambio se llevo a cabo cada 2 horas. El xilol funciona también como un solvente con la parafina y la acción del alcohol es meramente accidental ya que de hecho algunos solventes de parafina comúnmente como el xilol vuelven transparentes los tejidos.

Infiltración e Inclusión en Parafina

- 1.- Utilizando un frasco de aproximadamente 100 ml. de capacidad se agrego xilol hasta hasta la mitad de su capacidad.
- 2.- Periódicamente se añadieron pequeñas escamas de parafina y se colocó en una estufa a temperatura de 35°C. Se siguió agregando parafina conforme se fue disolviendo pero sin dejar destapado el frasco. A esta temperatura el frasco permaneció por un tiempo de 24 horas.
- 3.- Se subió la temperatura a 45°C, se destaparon los frascos y se siguió agregando parafina hasta saturar el solvente.

Mientras esto sucedía, aparte en una cápsula de porcelana se puso parafina de punto de fusión de 52-54°C para que fuera tomando la temperatura de la estufa.

4.- Se subió nuevamente la temperatura de la estufa a 55°C. Se esperó a que la parafina se fundiera, cuando estuvo disuelta, por decantación se tiro la mezcla de solvente-parafina que contenían los frascos con tejidos y se puso parafina pura.

5.- Los moldes de inclusión de papel aluminio se pusieron dentro de la estufa para que éstos tomaran la temperatura de ésta.

6.- Se elevó la temperatura a 60°C para hacer la inclusión de la siguiente manera:

a) Se saco una cápsula de porcelana que contenía el material y se transfirió en el molde por una de las orillas.

c) Con una aguja de disección caliente, se orientó el material en el molde para corte transversal. Se puso una etiqueta con los mismos datos de la fijación.

d) Una vez concluida la orientación y etiquetado del material, se pasó cuidadosamente el molde a un recipiente que contenía agua fría hasta que solidificó la parafina. Hecho todo lo anterior quedo concluido el proceso de inclusión.

Seccionamiento en Micrótopmo Rotatorio

1.- Se removió cuidadosamente del bloque de parafina un pedazo que contenía el tejido para ser seccionado.

Se usó una navaja de rasurar para hacer unas ranuras en forma de “V” en los cuatro lados del bloque a lo largo de las líneas en las cuales quiera romper la pieza.

2.- Se montó el pedazo de parafina que contenía el tejido sobre una platina ranurada del micrótopo.

3.- Para montar el tejido incluido, en la platina, se calentó cuidadosamente las bases del bloque de parafina y de la platina. Mientras se fundía un poco el bloque y la parafina estaba caliente, se presionó juntando las dos superficies para que solidificaran. Se usó una espátula caliente para formar con un poco de parafina un montículo en la base de la pieza para reforzarla.

4.- Se enfrió la parafina con agua.

5.- Cuando la parafina estuvo completamente fría, se recortó la pieza usando una navaja de rasurar de un solo filo. Se removi6 el exceso de parafina de alrededor del tejido, pero se dejó la base tan amplia como fue posible. En seguida se hizo que las superficies de las piezas fueran paralelas a la hoja de la cuchilla, lo que hace que tenga una apariencia dentada que ayuda a la delimitación visual de las secciones.

6.- Se puso el bloque recortado en agua fría o en refrigerador hasta poco antes de seccionarlo en el micrótopo.

7.- Se colocó la platina en el micrótopo. Asegurándose de que el pestillo de seguridad estaba en su lugar. La platina con el bloque se aseguró al micrótopo. Cuidadosamente se alineó el tejido en relación con la cuchilla ajustando los tres tornillos en la conexión universal.

8.- Se graduó el micrótopo a 16 micras de grosor y se liberó el pestillo de seguridad. Se cortaron unas pocas secciones como prueba. Al comenzar a curvarse, se dejó de seccionar y se recortó juiciosamente el bloque de parafina con una navaja de rasurar sin moverlo del micrótopo.

9.- Cuando llego hacer evidente que se formo una cinta recta y que el plano de las secciones era deseado, se empezó a seccionar a una velocidad regular (uniforme) de aproximadamente una sección por segundo.

10.- A medida que se formó la cinta, se desliza debajo de ella una aguja o pinza de disección, o bien un pincel, para guiarla hacia afuera de la cuchilla. Se colocó con cuidado sobre una cartulina negra y se corto la cinta a poca distancia del borde de la cuchilla.

Fijación de las Secciones a Portaobjetos

1.- Se lavaron los portaobjetos, con alcohol del 95% conforme se fueron usando.

2.- Se cortó la cinta de parafina en secciones que no ocupan más de 2/3 de la longitud del cubreobjetos.

3.- Se puso un poco de vaho sobre el portaobjetos; con el dedo índice se aplico una capa delgada de adhesivo quitando el exceso, ya que cristalizado el adhesivo es insoluble y altamente colorable, y se tendría un mal aspecto de la preparación al ser coloreada.

4.- Se pusieron una o dos gotas de agua destilada.

5.- Con una aguja de disección se colocó sobre la gota de agua 2 secciones de la cinta de parafina.

6.- Se calentó suavemente la preparación sobre la flama de una lámpara de alcohol para que las cintas se extendiera y perdiera la apariencia rugosa que tenían en un principio. Se tuvo cuidado de no aplicar demasiado calor para no disolver la parafina y distorsionar los tejidos.

7.- Cuando el tejido estuvo completamente extendido, con un lienzo limpio se drenó por decantación la mayor cantidad de agua.

8.- Con una aguja de disección se arregló el tejido y se removió el líquido restante.

9.- Se volvió a dar calor y con una aguja de disección se cercioró de que los tejidos ya no se movieran del portaobjetos. De esta forma se tuvieron almacenadas las preparaciones cuidando.

Coloración de Cortes de Tejido

La coloración de la estructura celular está basada en la afinidad específica entre ciertos colorantes y la estructura particular de la célula. Esta especificación se ayuda de un mordente, usualmente una sal, la cual penetra en algunas de las tres formas relacionadas entre el mordente, el colorante y alguna parte de la célula.

Los procedimientos de coloración usados se presentan en el siguiente cuadro:

Cuadro 3. Procedimiento de coloración utilizado para cortes de hoja de frijol infestados con *T. urticae*.

SAFRANINA-FAST GREEN	
Xilol I, II, III. Desparafinado	15 minutos
Alcohol Etílico Absoluto I	5 minutos
Alcohol Etílico de 90%	5 minutos
Alcohol Etílico de 80%	5 minutos
Alcohol Etílico de 70%	5 minutos
Safranina	24 horas
Agua Común	Enjuague
Agua Destilada	Enjuague
Alcohol Etílico de 70%	Enjuague
Alcohol Etílico de 85%	Enjuague
Alcohol Etílico de 96%	Enjuague
Verde Rápido en Alcohol Etílico de 96%	20 segundos
Alcohol Etílico Absoluto 96%	Enjuague
Alcohol Etílico Absoluto I y II	Enjuague
Xilol I	5 minutos
Xilol II	5 minutos
Xilol III	5 minutos
Resina y Cubreobjetos	

- 1.- Se preparó una serie de reactivos en frascos coplin con capacidad para cinco preparaciones cada uno. Los cuales fueron etiquetados.
- 2.- Se colocaron las preparaciones dentro del primer frasco de manera que el tejido quedara del lado izquierdo. Los primeros tres frascos contenían desparafinador.
- 3.- Con unas pinzas de disección se pasaron después a el siguiente frasco en forma sucesiva del tiempo necesario al siguiente frasco.
- 4.- Se pasaron al colorante en el que permanecieron por 24 horas.

5.- Después del colorante se pasaron las muestras a otro frasco con una solución de mordente.

6.- A partir de aquí, el material se manejó de forma distinta, ya que al principio de la serie se había manejado de forma continua de cinco en cinco preparaciones; ahora se hizo de una en una hasta llegar al xilol en donde se almacenaron temporalmente.

7.- Después de todo lo anterior se llevó al microscopio a cada una de las muestras con el objetivo 10X y 40X para observar la diferenciación de la preparación.

8.- Una vez hecha la observación y visto el contraste se paso al ultimo alcohol cada una de las muestras.

9.- Por último, se sacó la preparación del último xilol, se escurrió y se le puso un poco de Bálsamo de Canadá y se colocó un cubreobjetos (Hernández, 1984).

Se quito el exceso de bálsamo con una toalla de papel absorbente y se puso en una estufa a 30-40 °C a secar por espacio de una semana. Posteriormente se etiquetaron y quedaron listas para la obsevación con objetivos de 10X y 40X y luego fueron fotografiadas con un objetivo de 6.3X.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos sobre el daño o disminución de clorofila se registraron en el cuadro 4.6 del apéndice y con ellos se realizó un análisis de varianza con prueba de Tukey, cuyos datos se registran en el cuadro 4.4 y 5.5 del apéndice. Como puede observarse se presentaron diferencias altamente significativas en

los diferentes tratamientos, la prueba de Tukey nos arroja que el testigo (0 ácaros por hoja) mostró cierta diferencia con el tratamiento de menor infestación (5 ácaros por hoja). Al mismo tiempo el tratamiento dos (15 ácaros por hoja) mostró algunas diferencias con el testigo y en menor proporción con el tratamiento uno. Además los tratamientos representados por las infestaciones de 30 y 50 ácaros por hoja fueron totalmente diferentes comparados con los tratamientos anteriores (0, 5 y 15 ácaros por hoja) y mostraron similitud entre ellos.

Al transformar los datos de la infestación inicial y la población final utilizando el modelo matemático de ácaros / hoja / día nos damos cuenta que corresponde a un promedio de 0, 37, 95, 262, y 615 ácaros / hoja / día en un tiempo de cuatro días, según corresponde a cada tratamiento. Lo anterior se realizó para que en el momento de seguir el proceso de la pérdida de clorofila por la

alimentación de los ácaros nos diéramos cuenta de cuantos ácaros en promedio ocasionan ese daño, de tal forma que con estos datos sacamos mediante un calculo matemático cuantos ácaros se alimentan en promedio por día, de acuerdo a los resultados de ácaros / hoja / día, por lo que tenemos que fue de 0, 9.25, 23.75, 65.5, 153.75 ácaros / hoja / día durante un día, consumen un promedio de clorofila total de 0, 0.0396, 0.0808, 0.1551, 0.1726 mg de clorofila por gr de hoja, respectivamente. Estos resultados, sin embargo, no nos dicen nada en relación a lo que pudo haber consumido un solo ácaro, es por ello que se considero necesario estimar el efecto cuantitativo de las diferentes poblaciones de *T. urticae* sobre la clorofila total y para esto se analizó mediante una regresión lineal relacionando clorofila total contra ácaros / hoja / día, la cual se presenta en la fig. 4.1.

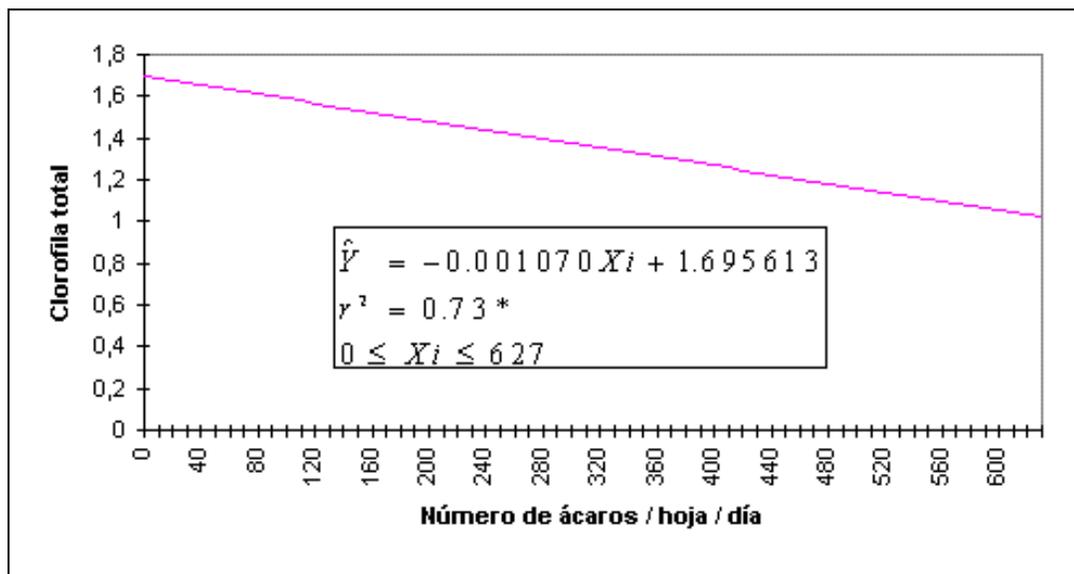


Fig. 4.1. Respuesta lineal de la clorofila total de las hojas de frijol variedad pinto contra el número de ácaros / hoja / día de *Tetranychus urticae* durante cuatro días.

Como se observa en la fig. 4.1 la respuesta lineal de la relación que existe entre la clorofila total y el número de ácaros / hoja / día es negativa, la cual queda representada por una recta cuya ecuación de predicción es :

$$\hat{Y} = -0.001070X_i + 1.695613$$

$$r^2 = 0.73^*$$

$$0 \leq X_i \leq 615$$

La tendencia indica que a medida que la cantidad de ácaros / hoja / día se incrementó, la cantidad de clorofila total disminuyó. De forma que este calculo al trasladarlo hacia el daño que cada uno de ellos ocasionó durante cuatro días en consecuencia se obtuvo que fue de 0.001070 mg de clorofila por gr de hoja y en un día ocasionaron una pérdida de 0.0002675 mg de clorofila por gr de hoja aproximadamente, aunque realmente no podemos saber con certeza cuanto daño pudiera ser a nivel capacidad fotosintética productiva, quizá sería necesario en posteriores estudios analizar una relación clorofila-producción, más sin embargo, estos resultados indican que altas poblaciones de esta especie puede ser muy dañina en un corto periodo de tiempo.

Observaciones visuales del experimento; sobre la hoja altamente infestada (30 y 50 a/h/d) muy pronto se notó con claridad un cambio de color en la hoja.

Resultados más claros se pueden presentar gráficamente para observar las diferencias en daño clorofílico en cada uno de los tratamientos, es por ello que se realizó una gráfica de barras en donde se comparó las poblaciones iniciales de cada tratamiento contra la clorofila total absorbida, tal y como se presenta a continuación:

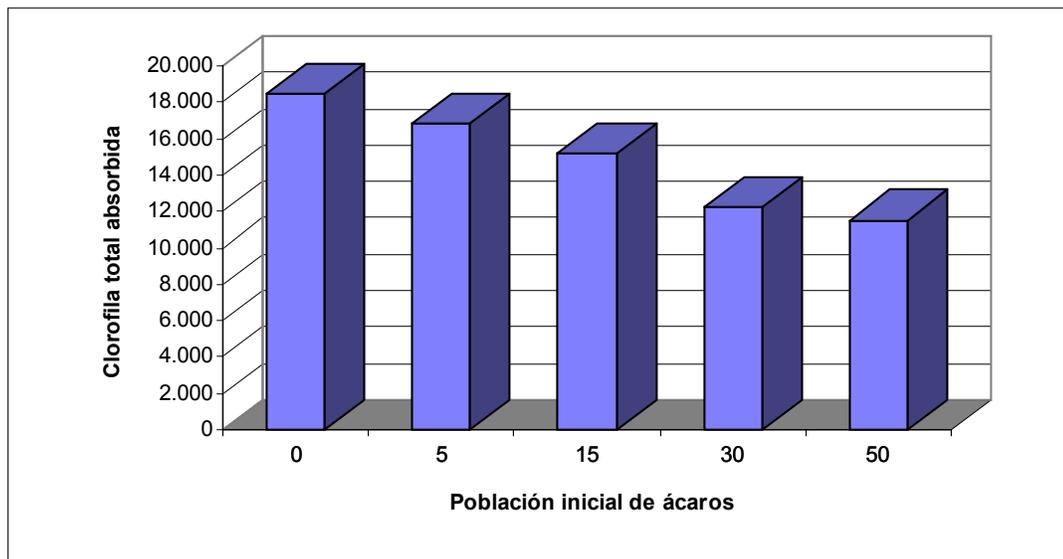


Fig. 4.2. Cantidad de clorofila total de las hojas de frijol variedad pinto con respecto a las poblaciones iniciales de *Tetranychus urticae* durante cuatro días.

La fig. 4.2 indica que conforme se aumento la población de ácaros disminuyó la cantidad de clorofila total.

Daño Mecánico de las Hojas de Frijol

Para mostrar el daño mecánico de *T. urticae* se presentan las siguientes ilustraciones:

Fig. 4.3. Corte transversal de la hoja de frijol (variedad pinto) con cero ácaros, observado con un objetivo de 6.3X.

Fig. 4.4. Corte transversal de la hoja de frijol (variedad pinto) con cinco ácaros, observado con un objetivo de 6.3X.

Fig. 4.5. Corte transversal de la hoja de frijol (variedad pinto) con 15 ácaros, observado con un objetivo de 6.3X.

Fig. 4.6. Corte transversal de la hoja de frijol (variedad pinto) con 30 ácaros, observado con un objetivo de 6.3X.

Fig. 4.7. Corte transversal de la hoja de frijol (variedad pinto) con 50 ácaros, observado con un objetivo de 6.3X.

Los tejidos aquí observados sugieren que cada una de las muestras de los tratamientos (con 5, 15, 30 y 50 ácaros hembra) presentan daño a nivel del parénquima esponjoso, lo que provoca que la epidermis inferior se presente desprendida comparado con el testigo que se encuentra completamente intacto y presenta cada uno de sus tejidos.

La ausencia de parénquima esponjoso contrasta con la permanencia de parénquima en empalizada, nervadura central y haces vasculares completos,

pues en ninguna de las muestras observadas se encontró destrucción de estos tejidos.

Ahora bien, el desprendimiento de la epidermis inferior se presenta siempre a los lados de la nervadura central sin llegar necesariamente hasta los bordes de la hoja, esto coincide con el habito de los ácaros de agruparse generalmente en el envés muy cerca de la nervadura principal de la hoja.

Todo lo anterior se puede interpretar de la siguiente forma: el ácaro de dos manchas al introducir el aparato bucal y succionar jalan células del parénquima esponjoso que pudiera representar un tejido más fácil de movilizar dado el gran número de espacios intercelulares y la poca superficie de contacto entre las células, así como la proximidad del tejido.

En cambio el parénquima empalizada se encuentra más alejado y la superficie de contacto entre las células es mayor lo que dificulta el desprendimiento de dichas células.

En el caso de la nervadura central no se encuentra ninguna alteración, posiblemente por las características de las células que la integran, como son: paredes engrosadas a base de celulosa y sin espacios intercelulares y un haz vascular grande donde además de algunas fibras los elementos conductores del xilema presentan paredes lignificadas lo que representa una limitante para los ácaros si se considera el poder succionador que tienen.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se desarrollo esta investigación se puede deducir lo siguiente:

- La respuesta lineal de la relación que existe entre la clorofila total y el número de ácaros/hoja/día, indica que a medida que se incrementan las poblaciones (hasta 615 a/h/d) disminuye el contenido de clorofila en las hojas de frijol y que un ácaro consume aproximadamente 0.001070 mg de clorofila por gr de hoja durante cuatro días (con 0 a 615 a/hd).

- El daño mecánico se presenta únicamente en el parénquima esponjoso en cada tratamiento con infestación (5 a 50 ácaros por hoja), debido a que los ácaros succionan células con clorofila que se encuentran en este tejido.

RESUMEN

Se realizó un experimento en el Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Los objetivos de la investigación era determinar el daño cuantitativo de diferentes poblaciones del ácaro de dos manchas sobre la clorofila de hojas de frijol (variedad pinto) y al mismo tiempo también conocer el efecto mecánico de dicho ácaro sobre las mismas.

El trabajo consistió en dos etapas, en la primera consistió en infestar hojas de plántulas de frijol (variedad pinto) con *Tetranychus urticae* a razón de 0, 5, 15, 30 y 50 ácaros hembra por hoja con cuatro repeticiones cada una. Las plántulas infestadas permanecieron por espacio de cuatro días en una cámara

bioclimática Biotronette Mark III a temperatura de 25 ± 2 °C, 60-70% H.R y con 12 horas luz al final de este tiempo se realizó un conteo final de los ácaros por hoja y llevaron al laboratorio las plántulas a analizar al laboratorio para determinar la clorofila total y detectar las diferencias.

Los resultados del diseño completamente al azar con prueba de Tukey arrojaron diferencias altamente significativas en los diferentes tratamientos. La cantidad de clorofila total consumida por ácaro durante cuatro días se estimó mediante una regresión lineal, la cual fue 0.001070 mg de clorofila por gr de hoja con 0 a 615 ácaros/hoja/día.

En la segunda etapa de la investigación, el experimento se montó de igual forma que el anterior con la diferencia que no hubo conteo final. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio en donde se realizaron cortes transversales para poder apreciar el daño a microscopio compuesto, en donde se encontró que el parénquima esponjoso y la epidermis inferior sufrieron daño por efecto del ácaro de dos manchas comparada con el testigo que permaneció intacto, mientras que el haz vascular y parénquima empalizada permanecieron sin daño en todas las muestras.

LITERATURA CITADA

Bidwell, R. G. 1979. Fisiología vegetal. Primera edición en español. Editorial AG editor. México.784pp.

Boudreaux, H. B. 1958. The effect of relative humidity on egg-laying, hatching, and survival in various Spider mites. Jour. Insect. Physiol. 2: 65-72.

Brandenburg, R. L. y G?G? Kennedy. 1981. Differences in Dorsal Integumentary Lobe Densities Between *Tetranychus urticae* Koch and

Tetranychus cinnabarinus (Boisduval) (Acarina: Tetranychidae) From Northeastern North Carolina. *Internat. J. Acarol.* 7 (4): 231-234.

Célis, S. H. 1985. Fotosíntesis microbiana. *Mensaje bioquímico.* 8: 337-361.

Cheng, T. C. 1978. *Parasitología general.* Primera edición. Editorial AC. España. 965pp.

Crooker A. 1985. Embryonic and Juvenile Development. pp. 149-160. En Helle W. y W. M. Sabelis (Editores) *Spider Mites Their Biology, Natural Enemies and Control.* Vol. 1A. Elsevier Science Publishing Company.

Cruz, M. P. 1984. *Acaros fitófagos de los principales cultivos de México.* Vera G. J., E. Prado y A. Lagunes (Editores) Chapingo, México. pp 251-259.

Doreste, S. E. 1988. *Acarología.* Segunda edición. Servicio editorial IICA. Costa Rica. 410 pp.

- Estebanez, M. L. 1989. acaros en Frutales del Estado de Morelos. Instituto de Biología de la UNAM y Dirección General de Sanidad y Protección forestal SARH, México, D.F.360 pp.
- Fernández, H. G. 1986. Fisiología vegetal experimental. IICA. Costa Rica. 428 pp.
- Fruton, J. S. 1961. Bioquímica general. Segunda edición. Ediciones omega. España. 1045pp.
- Gerson U. 1985. Webbing. pp. 223-230. En Helle y Sabelis (Editores) Spider Mites Their Biology, Natural Enemies and Control. Vol. 1A. Elsevier Science Publishing Company.
- Gould, H. J. 1987. Protected crops. En, Burn A. J., T. H. Croaker y P. C. Jepson, Edits. : Integrated Pest Management. Academic. Press Co. pp.404-405.
- Helle W. y L. P. Pijnacker. 1985 Partenogenesis, cromosomas y sex. pp. 129-138. En Helle y Sabelis (Editores) Spider Mites Their Biology, Natural Enemies and Control. Vol. 1A. Elsevier Science Publishing Company.
- Helle W. y W. P. J. Overmeer. 1973. Variability in Tetranychid Mites. Ann. Rev. Entomol. 18: 97-120.
- Hernandez, S. M. 1984. Manual de laboratorio citología y citogenética. Buenavista, Saltillo, Coahuila, UAAAN. México. 92 pp.
- Hoffmann, A. 1988. Animales desconocidos relatos acarológicos. Primera edición. Fondo de cultura económica. México. 127 pp.
- Jeppson, L. R., H. H. Keifer, y E. W. Baker. 1975. Mites Injurious to Economic Plants. University of California Press. 614 pp.

- Kennedy , G. C. y D. R. Smitley. 1985. Dispersal pp. 233-240. En Helle W. y M. W. Sabelis (Editores) Spider Mites Their Biology, Natural Enemies and Control. Vol. 1A. Elvesier SciencePublishing Company.
- Krantz, G. W. 1970. A Manual of Acarology. Oregon State University. Book Stores inc. 509 pp.
- Mazur, A. 1973. Bioquímica básica. Decima edición. Editorial interamericana. México. 725pp.
- Mc Murtry, J. A., C. B. Huffaker y M. Van de Vrie. 1970. Tetranychid enemies: their biological characters and the impact of spray practices. Hligardia 40: 331-390.
- Mollet, J. A. y V. Sevacherian. 1984. Effect of temperature and humidity on dorsal striallobe densities in *Tetranychus* (Acari: Tetranychidae) Internat. J. Acarol. 10 : 159-161.
- Rojas, G. M. 1979. Fisiología vegetal aplicada. Segunda edición. Editorial McGraw-Hill. México. 262pp.
- Saitó , Y. 1985. Life Types of Spider Mites. pp. 253-264. En Helle W. y M. W. Sabelis (Editores). Spider Mites Their Biology, Natural Enemies and Control. Vol. 1A. Elvesier SciencePublishing Company.
- Teliz, O.D. y F. J. Castro. 1973. El cultivo de la fresa en México. Folleto de Divulgación no. 48. INIA-CIAB. MÉXICO.
- Tuttle, D. M. y E. W. Baker. 1968. Spider Mites of Southwestern United States. and a revision of the family Tetranychidae. The University arizona Press. 129 pp.

- Van de Vrie, J. A. McMurtry y C.B. Huffaker. 1972. Biology, Ecology, and Pest Status and Host-Plants Relations of Tetranychids en Ecology of Tetranychid Mites and Their Natural Enemies: A Review. *Hilgardia*. 41 (13): 343-432.
- Veerman, A. 1977. Aspects of the Induction and Termination of Diapause in a Laboratory Strain of the Mite *Tetranychus Urticae*. *J. insect Physiology*. 23: 703-711.
- Veerman, A. 1985. Diapause in Tetranychid Mites: Characteristics and Occurrence. pp. 279-310. En Helle W. y M. W. Sabelis. (Editores) *Spider Mites Biology., Natural Enemies and Control*. Vol. 1A. Elsevier SciencePublishing Company.
- Yañes, A. G. 1989. Respuesta de 6 variedades de crisantemo (*Crisanthemum morifolium* Ramat) al ataque de araña roja (*Tetranychus urticae* Koch). Depto de Parasitología Agrícola UACH. Chapingo, México.

APENDICE

Cuadro 4. Análisis de varianza de la cantidad de clorofila total con las diferentes poblaciones de ácaros.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	4	1.4646	0.3662	42.5588* *	0.000
ERROR	15	0.1291	0.0086		
TOTAL	19	1.5937			

C.V. 6.27%

** altamente significativa

Cuadro 5. Comparación de medias del análisis de varianza.

Tabla de medias.

TRATAMIENTO	REPETICIONES	MEDIA
TESTIGO	4	1.8434
TRAT.1	4	1.6850
TRAT.2	4	1.5201
TRAT.3	4	1.2229

TRAT.4	4	1.1273
--------	---	--------

Nivel de significancia= 0.001

Número de tratamientos= 5

Número de repeticiones= 4

Cuadrado medio del error= 0.0086

Grados de libertad del error= 15

Prueba Tukey

TRATAMIENTO	MEDIA
TESTIGO	1.8434a
TRAT.1	1.6850ab
TRAT.2	1.5201b
TRAT.3	1.2229c
TRAT.4	1.1273c

Nivel de significancia= 0.01

Valores de tablas (0.05, 0.01)= 4.37, 5.56 Tukey= 0.2579

Cuadro 6. Tabla de los diferentes parametros para medir la clorofila total y número de ácaros / hoja / día en hojas de frijol (variedad pinto) con diferentes poblaciones de *Tetranychus urticae*.

TRATS	Pi	Pf	A/H/D	ABSORBANCIA (NM)		CT
				645	663	
TEST. 1	0	0	0	0.502	1.052	1.8577
TEST.2	0	0	0	0.504	1.045	1.8562
TEST.3	0	0	0	0.465	1.023	1.7597
TEST.4	0	0	0	0.528	1.039	1.8998
MEDIA	0	0	0	0.498	1.039	1.8434
T1R2	5	12.5	30	0.440	0.972	1.6683

T1R2	5	16	37	0.382	0.868	1.4678
T1R3	5	16	37	0.526	1.069	1.9199
T1R4	5	16.5	43	0.449	0.969	1.6841
MEDIA	5	15.25	37	0.449	0.969	1.6850
T2R1	15	37.5	90	0.395	0.928	1.5422
T2R2	15	57.5	130	0.406	0.915	1.5540
T2R3	15	26	82	0.381	0.876	1.4722
T2R4	15	31	77	0.398	0.883	1.5121
MEDIA	15	38	95	0.395	0.987	1.5201
T3R1	30	103	236	0.350	0.722	1.2860
T3R2	30	130.5	291	0.324	0.679	1.1990
T3R3	30	110.5	251	0.316	0.657	1.1652
T3R4	30	120	270	0.333	0.709	1.2413
MEDIA	30	120	262	0.331	0.692	1.2229
T4R1	50	263.5	627	0.294	0.606	1.0798
T4R2	50	263	626	0.304	0.672	1.1530
T4R3	50	252	604	0.318	0.728	1.1226
T4R4	50	251.5	603	0.308	0.663	1.1539
MEDIA	50	257.5	615	0.306	0.667	1.1532

Pi= Población inicial

Pf= Población final

A/H/D= Número de ácaros/hoja/día

$A/H/D=0.5 (P_i + P_f) t$

t= 4 días

CT= Clorofila total (mg de
clorofila por gr de hoja)