

Etiología de la malformación del tejido vegetativo del mango (*Mangifera indica* L.)
en Puerto Rico

Por

Nisael Nieves Méndez

Tesis sometida en cumplimiento parcial
de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

en

Protección de Cultivos

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGUEZ
2005

Aprobado por

Lydia I. Rivera Vargas, Ph.D.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Edwin Abreu Rodríguez, M.S.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Alejandro Segarra Carmona, Ph.D.
Presidente, Comité Graduado

Fecha

Angel Berrios Ortiz, Ph. D.
Representante Escuela Graduada

Fecha

Nelson Semidey Laracuente, Ph.D.
Director de Departamento

Fecha

SUMMARY

Recently, mango seedlings (*Mangifera indica* L.) showing symptoms of mango malformation syndrome were detected Puerto Rico. Typical symptoms were: mottled and deformed leaves, defoliation, and loss of apical dominance. The objective of the present study was to identify the causal agent of the symptoms previously described. Diagnose molecular tests were made to detect phytoplasmas and virus. Two species of mites were associated with the symptoms: *Polyphagotarsonemus latus* Banks (Acari: Tarsonemidae) and *Neocalacarus mangiferae* Channabasavanna (Acari: Eriophyidae). Tests for phytoplasmas and virus resulted all negative. The findings indicate that *P. latus* causes leaf deformation, which possibly causes defoliation, and development of lateral buds. No fungi were isolated from these seedlings. In contrast, *N. mangiferae* also caused the development of lateral buds, but did not induce leaf deformation. *Fusarium lateritium* was isolated associated to the symptoms and confirmed by pathogenicity test as a pathogen in mango seedlings causing cankers and lateral buds.

RESUMEN

En Puerto Rico, se detectó la presencia del síndrome de malformación en semilleros de árboles de mangó (*Mangifera indica* L.). Los síntomas observados fueron: deformación y moteado en las hojas, defoliación y pérdida de dominancia apical. El objetivo de éste estudio fue identificar el agente causal de los síntomas antes descritos. Se realizaron pruebas de diagnóstico a nivel molecular para detectar fitoplasmas y virus. Además se identificaron dos especies de ácaros, *Polyphagotarsonemus latus* Banks (Acari: Tarsonemidae) y *Neocalacarus mangiferae* Channabasavanna (Acari: Eriophyidae), asociados a los daños. Las pruebas para detectar virus y fitoplasmas resultaron negativas. Se observó que *P. latus* causa deformación de las hojas, defoliación y desarrollo de brotes laterales. En ensayos realizados con *N. mangiferae* se observó desarrollo de brotes laterales y no hubo defoliación. Se aisló *Fusarium lateritium* asociado a éstos daños y mediante pruebas de patogenicidad se corroboró que es patógeno en árboles de mangó en etapa de semillero causando canchros y brotes laterales.

DEDICATORIA

Es de suma satisfacción dedicarle este trabajo a Dios y a mi familia, quienes me han dado todo el apoyo y la confianza para poder realizarlo. A mis padres y hermanos por convencerme que, luego de 9 años trabajando en otra área fuera del campo para el cual me había preparado profesionalmente, aún no era tarde para volver a comenzar. A mi esposa Leticia y a mis hijos; Lenitza Marleen y Nisael Jomalier por todo su amor y paciencia en los momentos de mayor dificultad.

Con todo mi amor,

Nisael

AGRADECIMIENTOS

Durante los dos años y medio de investigación para completar mi grado de maestría hubo muchas personas que me ayudaron de diferentes maneras. Le agradezco en gran manera a la doctora Lydia I. Rivera por toda la ayuda y tiempo brindado durante toda esta investigación. Al doctor Alejandro Segarra, gracias por haber confiado en mí y aceptarme como su estudiante graduado. Además quiero agradecer al profesor Edwin Abreu por haber aceptado ser parte de este equipo de trabajo y por todo el tiempo brindado cada vez que requerí de su ayuda. Gracias al Dr. Angel Berrios por su colaboración como representante de la escuela graduada. También estoy muy agradecido de un grupo de personas que siempre estuvieron en la mejor disposición de ayudar, como lo son: la profesora Irma Cabrera y personal de la Estación Experimental Agrícola de Juana Díaz. Mi sincero agradecimiento al agrónomo Jaime Reyes y a los empleados de la Finca Alzamora, al agrónomo Marcos Morel de la finca de vegetales del sur, al biólogo José “Tito” Almodóvar, técnico de microscopio electrónico, a Leyinska Wiscovich y al Dr. Ronald Ochoa (USDA / APHIS) por la identificación de los ácaros *N. mangiferae*, a Silvia, Lynette y Maribel de la Estación Experimental Agrícola de Mayagüez, al doctor Nelson Semidey, María y Jeannette del Departamento de Protección de Cultivos; a todos gracias por su ayuda y colaboración durante la investigación. Gracias mil a la profesora Nydia Vicente por su tiempo, consejos, orientación y todo lo que hizo por mí. Y por supuesto, gracias a todos mis compañeros y amigos los cuales me brindaron su ayuda y comprensión.

Con sincero agradecimiento, Nisael

TABLA DE CONTENIDO

Lista de Cuadros.....	x
Lista de Figuras.....	xi
Lista de Apéndices.....	xiii
Introducción.....	1
Revisión de Literatura.....	6
Objetivos.....	14
Materiales y Metodología.....	15
1. Determinar la presencia de fitoplasmas	15
1.1 Pruebas realizadas para detectar fitoplasmas.....	15
2. Determinar la presencia de virus en tejido infectado.....	16
2.1 Pruebas realizadas para detectar partículas virales.....	16
3. Identificación de ácaros observados en los árboles de mangó.....	17
3.1. Identificación de ácaros observados en hojas deformes.....	17
3.2. Identificación de ácaros observados en yemas axilares y pecíolos de las hojas de árboles de mangó.....	17
3.2.1 Montaje de ácaros para fotos en el microscopio electrónico.....	17
3.3. <i>Polyphagotarsonemus latus</i> como posible agente causal.....	18
3.3.1 Árboles de seis a siete meses de germinados, inoculados con <i>P. latus</i> (ensayo uno).....	19
3.3.2 Árboles de seis a siete meses de germinados, podados e inoculados con <i>P. latus</i> (ensayo dos).....	19
3.3.3 Árboles de seis semanas de germinados, inoculados con <i>P. latus</i> (ensayo tres).....	19

3.3.4 Árboles de dos semanas de germinados, inoculados con <i>P. latus</i> (ensayo cuatro).....	20
3.4 Ensayos realizados con <i>Neocalacarus mangiferae</i>	20
3.4.1 Ácaros <i>N. mangiferae</i> en árboles de seis a siete meses de edad, podados, (ensayo cinco).....	20
3.4.2 Ácaros <i>N. mangiferae</i> en árboles de seis a siete meses de edad, sin podar (ensayo seis).....	20
4. Aislamiento e identificación de hongos asociados a la sintomatología.....	21
4.1 Pruebas de patogenicidad.....	22
5. Ácaros observados durante los muestreos en los ensayos de tesis y durante varias inspecciones al vivero de la Estación Experimental Agrícola.....	23
Resultados.....	24
1. Pruebas para determinar presencia de fitoplasmas.....	24
2. Pruebas para determinar presencia de partículas virales.....	24
3. Identificación de ácaros observados en los árboles de mangó	24
3.1 Identificación de ácaros observados en hojas deformes	24
3.2 Identificación de ácaros observados en yemas axilares y pecíolos de las hojas de árboles de mangó	27
3.3. <i>P. latus</i> como posible agente causal.....	30
3.3.1 Árboles de seis a siete meses de germinados, inoculados con <i>P. latus</i> (ensayo uno).....	30
3.3.2 Árboles de seis a siete meses de germinados, podados e inoculados con <i>P. latus</i> (ensayo dos).....	30
3.3.3 Árboles de seis semanas de germinados, inoculados con <i>P. latus</i> (ensayo tres).....	34

3.3.4 Árboles de dos semanas de germinados, inoculados con <i>P. latus</i> (ensayo cuatro).....	36
3.4 Ensayos realizados con <i>N. mangiferae</i>	49
3.4.1 Ácaros <i>N. mangiferae</i> en árboles de seis a siete meses podados, (ensayo número cinco).....	49
3.4.2 Ácaros <i>N. mangiferae</i> en árboles de seis a siete meses sin podar, (ensayo número seis).....	51
4. Aislamiento e identificación de hongos asociados con la sintomatología....	53
4.1 Pruebas de patogenicidad.....	57
5. Ácaros observados durante los muestreos en los ensayos de tesis y durante varias inspecciones al vivero de la Estación Experimental Agrícola.....	61
Conclusiones.....	68
Recomendaciones.....	70
Literatura citada.....	72

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Promedio de los ácaros <i>Polyphagotarsonemus latus</i> por árbol para cada tratamiento en los ensayos uno y dos	33
Cuadro 2. Porcentaje del daño, causados por <i>P. latus</i> en los árboles de seis y dos semanas de germinados.....	40
Cuadro 3. Daños observados en los ensayos tres y cuatro en relación a la cantidad mínima de ácaros contabilizados en cada árbol en los diferentes tratamientos.....	41
Cuadro 4. Promedio de <i>P. latus</i> por tratamientos en los cuatro ensayos realizados.....	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Primeros síntomas observados en árboles de mangó en el vivero de la Estación Experimental Agrícola en Juana Díaz, P.R.: a) hojas deformes, (a y b) pérdida de dominancia apical.....	3
Figura 2. Síntomas observados en las hojas de los árboles de mango con malformación. (a) hojas deformes, (b) moteado en las hojas.....	4
Figura 3. Etapas del ciclo de vida de <i>Polyphagotarsonemus latus</i>	25
Figura 4. Adulto de <i>Polyphagotarsonemus latus</i>	26
Figura 5. Parte dorsal del adulto de <i>Neocalacarus mangiferae</i>	28
Figura 6. <i>Neocalacarus mangiferae</i> . a) adulto, b) estructuras de la pata: se observa el empodium (em) el cual tiene 6 radios a cada lado, el tarso (t), la uña (u) y las setas (s) de la pata I.....	29
Figura 7. Promedio de <i>Polyphagotarsonemus latus</i> por árbol durante los muestreos en los ensayos uno y dos.....	31
Figura 8. Dinámica poblacional de <i>Polyphagotarsonemus latus</i> en los tratamientos, durante ocho semanas de muestreos, en árboles de seis semanas de germinados	35
Figura 9. Total de ácaros de la especie <i>Polyphagotarsonemus latus</i> por tratamientos en árboles de seis semanas de edad durante ocho semanas de muestreos (ensayo tres).....	35
Figura 10. Dinámica poblacional de <i>Polyphagotarsonemus latus</i> por tratamientos durante los muestreos en árboles de dos semanas de edad (ensayo cuatro).....	38
Figura 11. Total de ácaros <i>Polyphagotarsonemus latus</i> por tratamientos durante las ocho semanas de muestreos en los árboles de dos semanas de edad (cuarto ensayo).....	38
Figura 12. Daño causado por <i>Polyphagotarsonemus latus</i> en árboles de dos y seis semanas de edad.....	44

Figura 13. Otros daños causado por <i>Polyphagotarsonemus latus</i> en árboles de dos y seis semanas de edad	45
Figura 14. Síntomas asociados al síndrome de malformación del mangó durante ésta investigación.....	47
Figura 15. Comparación de diferentes síntomas asociados con el síndrome de malformación del mangó en varios países	48
Figura 16. Dinámica poblacional de <i>Neocalacarus mangiferae</i> en árboles podados de seis a siete meses de germinados, (ensayo cinco).....	50
Figura 17. Dinámica poblacional de <i>Neocalacarus mangiferae</i> en árboles sin podar de seis a siete meses de germinados.....	52
Figura 18. Hongos aislados de tejido vegetativo de árboles podados e infestados con <i>Neocalacarus mangiferae</i>	54
Figura 19. Daños observados en árboles podados e infectados con <i>Fusarium lateritium</i> y <i>Neocalacarus mangiferae</i>	56
Figura 20. Desarrollo de brotes laterales en árboles con heridas mecánicas inoculados con <i>Fusarium lateritium</i>	58
Figura 21. Cancros observados en árboles utilizados durante las pruebas de patogenicidad.	60
Figura 22. Síntomas observados en árboles, sin podar, de seis a siete meses de edad....	62
Figura 23. Especies de ácaros observados durante la investigación.....	63
Figura 24. <i>Aceria mangiferae</i> en árboles de mangó en el vivero de la Estación Experimental Agrícola en Juana Díaz.....	66
Figura 25. Síntomas observados en árboles de mangó infestados con <i>Aceria Mangiferae</i>	67

LISTADO DE APÉNDICES

Apéndice 1. Resultado de pruebas realizadas por Agdia Inc, Indiana, Estados Unidos.....	75
Apéndice 1. Continuación. Resultados de las pruebas de virus y fitoplasmas por segunda ocasión.....	76
Apéndice 2. Identificación de ácaros por USDA	77
Apéndice 3. Identificación de ácaros en “Invertebrate Diagnostician Central Science Laboratory” Sand Hutton York YO41 1LZ. UK.....	79
Apéndice 4. Poblaciones de <i>P. latus</i> en árboles de 6 a 7 meses sin podar (ensayo 1) durante 8 semanas.....	80
Apéndice 5. Poblaciones de <i>Polyphagotarsonemus latus</i> en árboles podados (ensayo 2) durante 8 semanas de muestreo.....	81
Apéndice 6. Poblaciones de <i>Polyphagotarsonemus latus</i> en árboles de 6 semanas de germinados (ensayo 3) durante 8 semanas.....	82
Apéndice 7. Poblaciones de <i>Polyphagotarsonemus latus</i> en árboles de 2 semanas de germinados (ensayo 4) durante 8 semanas.....	83
Apéndice 8. Identificación de hongos aislados en árboles de mangó podados y en árboles del área de producción de patrones de mangó para injertos en la EEA.....	84

INTRODUCCIÓN

El mangó (*Mangifera indica* L.) se cultiva en Puerto Rico desde el año 1750. En 1948, la Universidad de Puerto Rico estableció un proyecto de mejoramiento de mangó donde introdujeron sobre 150 variedades (Morton, 1987). El mangó es nativo de India y pertenece a la familia Anacardiaceae. En Puerto Rico, las principales siembras comerciales de mangó se encuentran en la costa sur de la isla, favorecidos principalmente por el clima seco prevaleciente en esta zona. Para el año 2002, se cultivaron aproximadamente unas 2,666 cuerdas de mangó distribuidas en 264 fincas, con una población de 206,968 árboles sembrados (United State Department of Agriculture, 2002). En Puerto Rico durante el año 2002-2003 hubo una producción de 17,375 tm de mangó para una aportación de \$13.9 millones a nuestra economía (FAO Stat, 2004).

El cultivo del mangó a través de distintas partes del mundo ha conducido a la identificación de diferentes enfermedades o plagas. Entre estas enfermedades se incluyen: 1) Antracnosis, causada por un hongo conocido como *Colletotrichum gloeosporioides* (Pernezny and Ploetz, 1988), 2) Añublo polvoriento, causado por el hongo conocido como *Oidium mangiferae* (Pernezny and Ploetz, 1988), 3) Daños causados por el ácaro blanco, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Lamberts and Crane, 1990), 4) Daños causados por el eriófido del mangó, *Aceria mangiferae* (Sayed) (Doreste, 1984) y 5) Malformación vegetativa y floral cuya etiología al presente no se ha esclarecido (Kumar *et al*, 1993; Kumar and Beniwal, 1987).

Se observó una anomalía en árboles de mangó en el área de producción de patrones para injerto en la Subestación Experimental Agrícola de Juana Díaz, durante el mes de julio de 2003. Se observaron síntomas de: moteado en las hojas; áreas cloróticas

con manchas de color verde oscuro a través de toda la hoja, similar a síntomas causados por virus. Estos árboles también presentaban pérdida de dominancia apical y desarrollo de brotes laterales, dándoles la apariencia de escoba de bruja. Los árboles contenían hojas deformes y al observarse en el microscopio, se detectó la presencia de ácaros. Dichos síntomas resumen lo que conocemos como la malformación del follaje del mangó (Figs. 1 y 2).

Según la literatura existe la malformación vegetativa (MV) y la malformación floral (MF) (Kumar *et al.*, 1993; Kumar and Beniwal, 1987). La malformación floral causa daño principalmente a las inflorescencias, deformándolas y causándoles esterilidad. La malformación vegetativa afecta mayormente a los árboles en la etapa joven. Los síntomas típicos de la MV son la pérdida de dominancia apical en los árboles jóvenes y el desarrollo de brotes vegetativos en las yemas axilares y terminales, dándole una apariencia de manojo (escoba de bruja). Los síntomas observados en los arbolitos de mangó en la EEA de Fortuna son los síntomas típicos de malformación vegetativa. Según Kumar y Beniwal (1987), la MV y la MF son dos síntomas de la misma enfermedad.

La etiología y el control de éste síndrome no se conocen con exactitud. Diferentes estudios reportan diversos agentes causales a la malformación. Agentes tales como: ácaros (Doreste, 1984; Kumar *et al.*, 1993), virus (Kumar *et al.*, 1993), micoplasmas (Ing-Ming, 2003), hongos (Pernexny and Ploetz, 1988; Kumar and Beniwal, 1987) y otros factores fisiológicos (Singh and Dhillon, 1994).



Figura 1. Primeros síntomas observados en árboles de mangó en el vivero de la Estación Experimental Agrícola en Juana Díaz, P.R.: a) hojas deformes, (a y b) pérdida de dominancia apical.



Figuras 2. Síntomas observados en las hojas de los árboles de mango con malformación.
a) hojas deformes, b) moteado en las hojas.

Los objetivos de esta investigación fueron: 1) Identificar y determinar si los ácaros presentes en el material vegetativo son los agentes causales de los síntomas descritos, 2) Realizar pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) al tejido infectado para observar otros agentes causales asociados a los síntomas, como virus y fitoplasmas, 3) Aislar e identificar hongos asociados al tejido enfermo, 4) Realizar pruebas de patogenicidad con los posibles agentes causales para recrear los síntomas encontrados en arbolitos de mangó sanos.

REVISIÓN DE LITERATURA

El mangó (*Mangifera indica* L.) pertenece a la familia Anacardiaceae y es oriundo de Asia, probablemente del este de la India. El árbol crece entre 10 y 30 metros de altura y sus ramas se extienden entre 30 y 38 m. alrededor del árbol, con raíces que alcanzan una profundidad de hasta seis metros. El mangó se ha propagado por distintas partes del mundo a través de los años, incluyendo Puerto Rico donde fue introducido en el año 1750 (Morton, 1987).

El cultivo del mangó se afecta por diferentes factores, tanto bióticos como abióticos, los cuales producen diferentes condiciones o enfermedades. Entre las enfermedades que afectan el cultivo del mangó se encuentra el síndrome de malformación del mangó (SMM) en sus formas vegetativas y florales. Al presente, y a más de cien años de investigación se desconoce con exactitud el agente causal de este síndrome.

Kumar y Beniwal, (1987) utilizaron esquejes de árboles adultos que produjeron inflorescencias malformadas durante la cosecha anterior, como injertos en patrones sanos. Encontraron que una vez establecidos los injertos, los esquejes infectados produjeron síntomas típicos de malformación vegetativa. Las plantas que procedían de tales injertos produjeron panículas deformes, por lo que ellos concluyeron que la malformación floral y vegetativa son dos expresiones distintas de la misma enfermedad.

Pernexny y Ploetz (1988), describieron al síndrome de la malformación vegetativa del mangó como una que produce el desarrollo de yemas axilares y apicales, con entrenudos cortos y hojas pequeñas lo que da la apariencia de manojo o escoba de bruja. Los autores mencionan otros trabajos que consideran a ácaros, a hongos, a virus, a

micoplasmas ó a desordenes fisiológicos como posibles agentes bióticos causales del síndrome.

Los ácaros como posibles agentes causales:

Kumar, *et al.*, (1993), mencionaron que el ácaro, *Aceria mangiferae* (Sayed), (Acarina: Eriophyidae) se observó en Egipto asociado tanto con la malformación floral como con la malformación vegetativa del mangó. También mencionan que existen otras especies de ácaros asociadas con la enfermedad y que existe una correlación positiva entre la densidad poblacional del ácaro y la incidencia de la enfermedad. También mencionan diferentes pruebas de inoculación donde demostraron que la severidad de la condición disminuye al aplicarse acaricidas.

Morton, (1987), mencionó algunos de los agentes causales asociados al síndrome de la malformación vegetativa. Entre los agentes causales hizo referencia a la acción combinada de *Fusarium moniliforme* (Sheld) con los ácaros, *A. mangiferae* o *Eriophyes sp.*

Ácaros reportados en árboles de mangó.

Lamberts, (1990), mencionó diferentes plagas que afectan el cultivo del mangó. Entre las plagas más importantes del cultivo del mangó reportó al ácaro blanco, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks), (Acarina: Tarsonemidae) y al ácaro rojo *Oligonychus yothersii* (McG.), (Acarina: Tetranychidae).

El ácaro *P. latus* es tan pequeño que sería muy difícil observarlo a simple vista. La hembra puede depositar entre 30 y 76 huevos en un periodo de oviposición de 8 a 13 días. La hembra en ausencia del macho produce huevos machos y cuando la hembra se aparee produce cuatro huevos hembra por cada huevo macho. Las larvas emergen del

huevo de dos a tres días y comienzan a alimentarse inmediatamente. Las larvas se mueven muy poco por lo que no se dispersan muy lejos. En un periodo de dos a tres días estas entran en una etapa quiescente; etapa que resulta atractiva a los machos, los cuales las recogen y las llevan hasta nuevos follajes. Cuando las larvas emergen del estado quiescente los machos se aparean inmediatamente con estas. Los machos pueden vivir por un periodo de cinco a nueve días y las hembras por 8 a 13 días. Una generación puede completarse en ocho días, dependiendo de la temperatura, (Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 2001).

De acuerdo a Childers, *et al*, (2003), el ácaro *P. latus* solo puede alimentarse de frutas u hojas tiernas (jóvenes) y la saliva inyectada al alimentarse resulta tóxica causando daños significativos. También mencionaron que las condiciones óptimas para su desarrollo son: temperaturas cálidas, alta humedad y baja intensidad de luz. Martin Kessing y Mau (2003) mencionaron algunos de los hospederos del ácaro blanco, *P. latus*, entre los cuales se encuentran: pepino, berenjena, habichuelas verdes, guayaba, mangó, parcha, pimientos y tomates. También mencionan que éste ácaro es una plaga secundaria durante los meses de verano y se alimenta perforando las células y extrayendo la savia, por lo que causa reducción en la fotosíntesis e inestabilidad en el balance osmótico de la planta. Otro daño causado por los ácaros es la deformación de las hojas terminales que puede reducir el crecimiento de la planta. Éstos autores mencionaron que según Waterhouse y Norris (1987), *P. latus*, no es vector de enfermedades causadas por virus en las plantas.

Existen otras especies de ácaros reportados en el mangó, algunos de los cuales se han descrito recientemente y se desconoce su impacto con respecto al hospedero.

Ejemplo de ello es el ácaro *Neocalacarus mangiferae* Channabasavanna, (Acarina: Eriophyidae) descrito en India en el año 1966, usando sólo especímenes hembra. No se conocía mucho de este ácaro hasta que se informó en Brazil en el 2000. Allí, se redescubrió la hembra y se describió el macho por primera vez, (Návia and Flechtmann, 2000). Luego de su aparición en Brazil, se informó la presencia de éste ácaro en Australia en el 2002, (Knihinicki and Boczek). Hasta el momento no se han reportado daños asociados con *N. mangiferae* y no hay suficiente información sobre la biología del ácaro.

Otro ácaro informado en mangó lo es *Aceria* (= *Eriophyes*) *mangiferae*. Dorestes, (1984), señaló que en Venezuela la malformación de las inflorescencias y el superbrotamiento de las yemas es un problema relacionado con el ácaro. También describió como el ácaro va causando el daño. *Eriophyes mangiferae*, vive bien protegido dentro de las yemas terminales y preferentemente dentro de la yema, en las hojas jóvenes internas. Su alimentación ocasiona la muerte de este tejido joven y no permite que las yemas se desarrollen normalmente, por esta razón, las ramas terminales van quedando desnudas y sin hojas.

Abreu y colaboradores, (1987), informaron de la presencia de varios ácaros en *Mangifera indica*, en Puerto Rico. Entre ellos se encuentran *Eriophyes mangiferae* y *Tegonotus mangiferae* (Keifer), (Acarina: Eriophyidae). Según ésta revisión de literatura no se han realizado estudios dirigidos a evaluar daños asociados a estos ácaros en el cultivo de mangó en P. R.

Virus como posible agente causal:

Das, *et al.*, (1988), mencionaron que según Saltar, (1946), el síndrome de malformación del mangó (SMM) se atribuye a un virus. Kumar, *et al.*, (1993),

mencionaron la hipótesis viral, la cual se basa en que la malformación ocurre tanto en injertos como en árboles de semilleros y a que la incidencia aumenta lentamente, lo que sugería que era de origen viral. Sin embargo resultados de estudios de serología, transmisión y microscopía electrónica realizados en India y Egipto no encontraron evidencia de virus en el tejido malformado de mangó (Kumar, *et al.*, 1993).

Fitoplasmas como posibles agentes causales:

Los fitoplasmas son bacterias fitopatógenas sin pared celular. Éstas afectan a cientos de especies de plantas. Su sintomatología ha sido uno de los mayores criterios en el diagnóstico preliminar de enfermedades fitoplásmicas. Las plantas infectadas exhiben una serie de síntomas característicos, como lo son: la formación de flores estériles, proliferación de retoños axilares resultando en apariencia de escoba de bruja, prolongación de entrenudos resultando en finos o delgados retoños y hojas encorvadas. Según García de la Rosa, (1996), los únicos causantes de la escoba de bruja son micoplasmas.

Debido a la inhabilidad de cultivar los fitoplasmas en medio artificial, su detección e identificación está basada en sus características moleculares. Ensayos con iniciadores específicos utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) son una de las pruebas más sensitivas disponible para la detección de fitoplasmas. Las pruebas de PCR se basan en la utilización de iniciadores universales o genéricos de fragmentos de DNA específicos, que nos permiten detectar un amplio rango de fitoplasmas desconocidos asociados con plantas e insectos (Ing-Ming, 2003).

Hongos como agentes causales:

Ghosal *et al.*, (1979), mencionaron que *Fusarium moniliforme* (Sheldon) produce una gran cantidad de micotoxinas en las partes de la planta infectadas con la malformación.

Pernexny y Ploetz, (1988), concluyeron que la enfermedad de la malformación es causada por *F. subglutinans* (Wollenw. & Reinking) Nelson, Toussoun & Marasas. Los autores sugirieron la posibilidad de que el ácaro *A. mangiferae*, sea el vector de este patógeno. Indicaron que a medida que el ácaro se alimenta crea laceraciones al tejido del hospedero, las cuales sirven al hongo como portal para infectar el tejido. También mencionaron que este hongo puede diseminarse en los viveros mediante el uso de esquejes para injertos infectados con este patógeno.

Según Kumar, *et al.*, (1993), la teoría del hongo se basa en que *F. moniliforme* está asociado al tejido malformado. Ellos también mencionaron que se ha encontrado *Fusarium* spp. en tejido sano. Este controvertible dato ha causado que algunos investigadores no acepten a *Fusarium* sp. como organismo patogénico asociado con la malformación del mangó. Kumar y colaboradores concluyeron que no se ha demostrado exitosamente la asociación de *Fusarium* spp. con tejido malformado mediante pruebas de patogenicidad.

Rondón *et al.*, (1984), aislaron a *F. decemcellulare* Brick de plantas de diferentes especies; Achiote (*Bixa orellana* L.), quenepa (*Melicocca bijugata* L.), guayabo pesgua (*Syzygium cumini* L.) y cacao (*Theobroma cacao* L.). El hongo *Fusarium* sp. inoculado en mangó reprodujo los síntomas típicos de la enfermedad. Los reaislamientos del tejido afectado reprodujeron, en un alto porcentaje, el hongo inoculado al comienzo. Ellos

concluyeron que las agallas o escobas de brujas en ramas de mangó son causadas por *F. decemcellulare*.

Freeman, *et al.*, (1999), señalaron que la MF y la MV están asociadas con *F. subglutinans*. Se realizaron estudios de transformación genética de *F. subglutinans* con genes de resistencia a hygromicina y con GUS (β - glucuronidasa). El micelio marcado con GUS se inoculó en brotes florales y vegetativos sanos de mangó. Se observaron síntomas típicos de la enfermedad al cabo de seis a ocho semanas después de la inoculación. Según estos investigadores la presencia del micelio del patógeno teñido con GUS y observado a través de microscopio, provee evidencia inequívoca de que *F. subglutinans* es realmente el agente causal del SMM.

Finalmente, Britz, *et al.*, (2002), demostraron que hay al menos dos especies diferentes de *Fusarium spp.* asociados con los síntomas de malformación del mangó; *F. mangiferae*, previamente identificado como *F. subglutinans* (reportado como el agente causal de la malformación del mangó en distintas partes del mundo) y *F. sterilihyphosum* el cual se aisló únicamente en tejido malformado de mangó en el sur de África. Se identificó una posible tercer especie pero la colección no contaba con el material suficiente para justificar la descripción de la misma.

Según Britz, *et al.*, (2002), el hecho de que se hayan aislado tres especies diferentes asociadas a los síntomas de malformación de mangó enfatiza un serio problema con respecto a la etiología de la enfermedad de la malformación del mangó. *Fusarium mangiferae* se indicó inequívocamente como el agente causal de la malformación (Freeman *et al.* 1999), esto sin conocer si *F. sterilihyphosum* o el *Fusarium sp.* (no identificado aún) son capaces de causar la enfermedad en árboles de mangó.

Los desordenes fisiológicos como posibles agentes causales:

Kumar, *et al.*, (1993), mencionaron que, según otros investigadores, la malformación del mangó es causada por diferentes desordenes fisiológicos. Algunos atribuyen la enfermedad a un exceso de humedad y no a agentes bióticos como los hongos e insectos.

Singh y Dhillon, (1994), mencionaron que la enfermedad se debe a una alteración de la relación Carbono/Nitrógeno. También hicieron referencia a otros trabajos realizados por ellos mismos en 1989, donde se plantea un desbalance hormonal del tejido malformado con cambios metabólicos que provienen de la interacción parásito-hospedero.

Singh y Dhillon, (1994), realizaron un estudio donde colectaron por tres años consecutivos tejido sano y enfermo (malformado) de árboles de mangó de dos años de edad para analizar posibles cambios metabólicos. Señalaron que los árboles con malformación exhibían niveles significativamente más altos de carbohidratos totales, azúcares totales y almidón que los árboles sanos. También encontraron que el tejido malformado mostraba diferencias significativamente altas en el contenido total de fenoles, ortodihidroxy fenoles, DNA, RNA, niveles de proteína, aminoácidos libres totales, aminoácidos totales y amonía con relación a tejidos sanos. Los mismos investigadores encontraron en otro estudio posterior que estos cambios bioquímicos asociados con la malformación vegetativa son similares a aquellos asociados con la malformación floral del mangó.

OBJETIVOS

Esta investigación tuvo como objetivo principal identificar el agente causal responsable de la malformación vegetativa del mangó en Puerto Rico. Para poder identificar el agente causal ésta investigación propuso alcanzar los siguientes objetivos específicos:

1. Realizar pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) al tejido infectado para detectar agentes causales asociados a los síntomas, tales como: virus y fitoplasmas.
2. Identificar y determinar si el ácaro presente en el material vegetativo es el agente causal de los síntomas descritos.
3. Aislar e identificar hongos asociados al tejido enfermo.
4. Realizar pruebas de patogenicidad con los posibles agentes causales para recrear los síntomas observados.

MATERIALES Y METODOLOGÍA

1. Determinar la presencia de fitoplasmas en tejido infectado.

Durante el mes de mayo de 2004 se colectaron varias hojas con tejido infectado para determinar la presencia de fitoplasmas. Se colectaron entre ocho y diez hojas de mangó con síntoma de moteado. Las hojas se colectaron de diferentes árboles para formar una muestra compuesta. La muestra se colocó en una bolsa plástica sellada y se envió a los laboratorios de Agdia Inc. ubicados en Elkhart, Indiana en los Estados Unidos.

Se realizaron 11 tipos de pruebas de PCR para determinar presencia de fitoplasmas. Las pruebas se repitieron durante el mes de septiembre de 2004.

1.1 Pruebas realizadas para detectar fitoplasmas:

- Ash yellows (Ash Y)
- Aster yellows (AY)
- Clover proliferation (CP)
- Coconut lethal yellows (LY)
- Elm yellows (EY)
- Lilac Witches-broom (LiWB)
- Maize bushy stunt (MBS)
- Potato Witches-broom (PWB)
- Tomato big bud (BB)
- Vinca virescence (VR)
- Western X-disease (WX)

2. Determinar la presencia de virus en tejido infectado.

Debido a que entre los síntomas observados en los árboles con malformación se encontraba un moteado en las hojas, aparentando daño por virus, y debido a que trabajos previos como el de Kumar, *et al.*, (1993), mencionaban a los virus como posible agente causal de la MV del mangó, se decidió realizar pruebas de PCR para detectar la presencia de partículas virales en el tejido infectado. Durante el mes de mayo de 2004 se colectaron muestras que se enviaron a los laboratorios de Agdia Inc., (misma muestra utilizada para las pruebas de fitoplasmas). Se realizaron 18 pruebas de PCR diferentes para determinar la presencia de partículas virales. Dichas pruebas se repitieron durante el mes de septiembre de 2004.

2.1 Pruebas realizadas para detectar partículas virales:

- Begomovirus BEGOMO (PCR)
- Bromovirus BROMO (PCR)
- Carlavirus CARLA (PCR)
- Carmovirus CARMO (PCR)
- Closterovirus CLOSTERO (PCR)
- Comovirus COMO (PCR)
- Curtovirus CURTO (PCR)
- Dianthovirus DIANTHO (PCR)
- Fabavirus FABA (PCR)
- Ilarvirus ILAR (PCR)
- Luteovirus LUTEO (PCR)
- Nepovirus NEPO (PCR)
- Potexvirus POTEX (PCR)
- Potyvirus POTY (PCR)
- Tobamovirus TOBAMO (PCR)
- Tombusvirus TOMBUS (PCR)
- Tospovirus TOSPO (PCR)
- Trichovirus TRICHO (PCR)

3. Identificación de ácaros observados en los árboles de mangó

3.1 Identificación de ácaros observados en hojas deformes

Se identificó el género y la especie de los ácaros presentes en las hojas deformes. Los ácaros se encontraron en el haz y en el envés de las hojas. Se tomaron fotos en un microscopio electrónico de rastreo modelo Jeol® JSM 5410 LV para complementar la investigación. La identificación se realizó de acuerdo a las características morfológicas presentadas por Jeppson *et al.*, (1975), lo cual fue corroborado por el especialista, el Prof. Edwin Abreu Rodríguez, EEA, Isabela, P.R.

3.2 Identificación de ácaros observados en yemas axilares y pecíolos de las hojas de árboles de mangó

Los ácaros de la familia Eriophyidae fueron observados en las yemas axilares y en los pecíolos de las hojas. Se colectaron muestras de ácaros en frascos de cristal con alcohol etílico al 70%, se enviaron al “Invertebrate Diagnostician Central Science Laboratory” ubicado en Sand Hutton, United Kingdom y al Dr. Ronald Ochoa (USDA, ARS) para su identificación. Se tomaron fotos en microscopio electrónico para complementar la identificación.

3.2.1 Montaje de ácaros para fotos en el microscopio electrónico

Los ácaros de las especies *P. latus*, *N. mangiferae* y *A. mngiferae* se congelaron y se colocaron directamente en el microscopio electrónico. A los ácaros de la familia Cheyletidae se les aplicó una cubierta de oro y se colocaron directamente en el microscopio electrónico. El microscopio se utilizó en “Low Vacuum”.

3.3. *Polyphagotarsonemus latus* como posible agente causal

Una vez identificados los ácaros, se realizaron varios ensayos en los cuales se infestaron árboles jóvenes de mangó (“seedlings”). Estos ensayos se realizaron con el objetivo de identificar la relación existente entre los síntomas y la presencia de ácaros en el tejido malformado. En los ensayos uno al cuatro se utilizaron poblaciones de 0, 5, 10 y 20 ácaros de la especie *P. latus* por árbol, a las cuales nos referimos como tratamientos T1, T2, T3 y T4, respectivamente. Se utilizaron un total de cuatro bloques por ensayo. Cada bloque estuvo compuesto de tres arbolitos por cada población de ácaros, para un total de 12 árboles por bloque. Los árboles se colocaron en forma aleatorizada dentro del bloque a una distancia aproximada de 0.33 x 0.33m unos de otros.

Los ácaros *P. latus* utilizados en los ensayos uno al cuatro se obtuvieron a partir de plantas de pimiento (*Capsicum annum*, L.). Se observaron hojas de plantas de pimiento bajo un estereoscopio. Con un alfiler (tamaño triple cero) se extrajeron y se contabilizaron los ácaros que se colocaron en cada árbol de mangó. Los ácaros se colocaron en pedazos de hojas tiernas de mangó (2-3 cm² aproximadamente) y éstas a su vez se colocaron sobre el ápice de cada árbol de mangó a infestarse. Todos los ensayos se realizaron en un umbráculo de la Estación Experimental Agrícola de Juana Díaz durante los meses de junio de 2004 a enero de 2005.

Los parámetros utilizados durante la investigación fueron: 1) ruptura de dominancia apical (presencia o ausencia de ramificaciones), 2) deformación de las hojas y 3) cantidad de ácaros presentes en las hojas (cantidad de ácaros por cm.²). Las observaciones y los conteos de ácaros se realizaron durante ocho semanas en cada ensayo. Para los conteos de los ácaros se utilizó un magnificador 20X (RadioShack®,

modelo 63-1304). Los datos fueron analizados mediante el programa estadístico SAS y se realizó la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) con un α de 0.05.

Durante el proceso de investigación se realizaron un total de seis ensayos. Se realizaron cuatro ensayos con ácaros de la especie *P. latus* y dos ensayos con ácaros de la especie *N. mangiferae*.

3.3.1 Árboles de seis a siete meses de germinados, inoculados con *P. latus* (ensayo uno).

Los árboles utilizados en éste ensayo, proporcionados por la finca Alzadora (RUM, UPR), tenían entre seis y siete meses de edad. Debido a que los árboles no tenían una altura uniforme se dividieron en dos grupos. Dentro del primer grupo se colocaron aquellos árboles que no sobrepasaban los 50 cm. de altura y los cuales se utilizaros en el primer ensayo.

3.3.2 Árboles de seis a siete meses de germinados, podados e inoculados con *P. latus* (ensayo dos).

Los árboles provenientes de la finca Alzamora que sobrepasaban los 75 cm. se podaron a una altura promedio de 35 cm. Los árboles se podaron un mes antes de inocularse con los ácaros.

3.3.3 Árboles de seis semanas de germinados, inoculados con *P. latus* (ensayo número tres).

Se utilizaron árboles de la variedad piña, provenientes de la EEA en Juana Díaz, para realizar un ensayo y evaluar si existían diferencias en daños entre la etapa fisiológica de los árboles de seis a siete meses de edad y los árboles de solo seis semanas de germinados.

3.3.4 Árboles de dos semanas de germinados, inoculados con *P. latus* (ensayo cuatro).

Se realizó un cuarto ensayo con árboles de solo dos semanas de germinados a fin de obtener evidencia suficiente para sustentar los resultados obtenidos.

3.4 Ensayos realizados con *Neocalacarus mangiferae*

Una vez terminados los muestreos en los ensayos uno y dos se utilizaron los mismos árboles para realizar nuevos muestreos ya que se detectó una segunda especie de ácaros, no inoculados manualmente.

3.4.1 Ácaros *Neocalacarus mangiferae* en árboles de seis a siete meses de edad, podados (ensayo cinco).

De un total de 48 árboles, se utilizaron 12 como control los cuales se asperjaron con acaricida Difocol [1,1-Bis (chlorophenyl) -2,2,2 –trichloroethanol], y se utilizaron dos para extraer especímenes y tomarles fotos en microscopio electrónico. Los muestreos se realizaron durante 12 semanas. Al igual que en los ensayos anteriores los parámetros utilizados durante la investigación fueron: 1) ruptura de dominancia apical (presencia o ausencia de ramificaciones), 2) deformación de las hojas y 3) cantidad de ácaros presentes en las yemas axilares.

3.4.2 Ácaros *Neocalacarus mangiferae* en árboles de seis a siete meses de edad, sin podar (ensayo seis).

De un total de 48 árboles, se utilizaron 12 como control, los cuales se asperjaron con Difocol y se utilizó uno para extraer especímenes y tomarle foto en el microscopio

electrónico. Los muestreos se realizaron durante 24 semanas. Al igual que en los ensayos anteriores los parámetros utilizados durante la investigación fueron los mismos que en el ensayo cinco.

4. Aislamiento e identificación de hongos asociados a la sintomatología.

Se utilizó tejido de hojas y tallos de la planta para determinar la presencia de hongos. Se tomaron muestras de tejido vegetativo de árboles en cada uno de los ensayos previamente mencionados. El material vegetativo se desinfestó superficialmente con alcohol etílico 70%, hipoclorito de sodio (0.05%), por un minuto y se lavó con agua destilada estéril. El tejido vegetal se transfirió a medio de cultivo con agar de papa y dextrosa (PDA) acidulado con ácido láctico al 25% y a medio selectivo de Peptona con PCNB. Los cultivos obtenidos se incubaron en placas Petri (área de 64 cm.) a una temperatura de 25° C por un periodo de 21 días.

Uno de los hongos se identificó a nivel de género mediante claves taxonómicas y fotos tomadas en microscopio electrónico, mientras otros dos aislados se enviaron a identificar a CABI Bioscience UK. La primera muestra estuvo compuesta por una placa Petri con hongo aislado de material vegetativo de los árboles de seis a siete meses podados y la segunda muestra por una placa Petri con hongo aislado de material vegetativo de árboles del vivero de la Estación Experimental Agrícola, infestados con *A. mangiferae*. Se realizaron pruebas de patogenicidad para determinar si existe relación con los síntomas observados.

4.1 Pruebas de patogenicidad

Se realizaron pruebas de patogenicidad con dos hongos diferentes aislados de tejidos de árboles de mangó con síntomas de SMM. Se asperjaron seis grupos de árboles (cinco árboles por tratamiento). Los tratamientos fueron los siguientes:

Tratamiento uno: Árboles de mango sin herida + agua destilada estéril (control)

Tratamiento dos: Árboles de mango + heridas + agua destilada estéril (control)

Tratamiento tres: Árboles de mango sin herida + *Pestalotia sp.*

Tratamiento cuatro: Árboles de mango + heridas + *Pestalotia sp.*

Tratamiento cinco: Árboles de mango sin herida + *Fusarium sp.*

Tratamiento seis: Árboles de mango + heridas + *Fusarium sp.*

Las heridas se realizaron en el área del ápice y se asperjaron con una solución que contenía conidias del hongo correspondiente a una concentración de 1×10^6 conidias / ml de solución. Las heridas se realizaron con un alfiler de metal (tamaño triple cero) flameado. Se realizaron aproximadamente 25 heridas en forma de puntadas por cada árbol.

Todos los árboles se cubrieron con bolsas de polietileno transparentes (33 x 76 cm.) utilizadas como cámara húmeda durante un periodo de 72 horas. Para determinar la concentración de conidias se lavó una placa Petri (tamaño 64 cm) en 10 ml. de agua destilada estéril y se le añadió una gota de “Tween 20”. Para realizar el conteo de conidias se colocó una gota del concentrado (lavado del cultivo en agua destilada estéril) en un hemacitómetro de 0.1 mm. de profundidad (“Brigth – Line Hemacytometer”). Una vez determinada la concentración de conidias deseada, se colocaron en 10 tubos de

ensayo con dos mililitros de solución cada uno y se asperjaron en los árboles mediante el uso de un atomizador. El mismo procedimiento se siguió para ambos hongos y se tomaron observaciones durante 12 semanas. Todas las pruebas se repitieron en dos ocasiones. Estas pruebas de patogenicidad se realizaron en el invernadero localizado en el Edificio Piñero del Recinto Universitario de Mayagüez.

5. Ácaros observados durante los muestreos en los ensayos de tesis y durante varias inspecciones al vivero de la Estación Experimental Agrícola.

Durante todo el proceso de muestreo se colectaron especímenes en los ensayos de tesis con el propósito de identificar posibles depredadores. Los especímenes se colocaron en alcohol 70% y se observaron bajo el microscopio electrónico y bajo un microscopio de luz.

Además se realizaron varias inspecciones en el área de producción de patrones de mangó de la Estación Experimental Agrícola. Se pudieron observar otros síntomas de malformación y se colectaron otros ácaros, los cuales pudieran estar asociados con los síntomas observados. Finalmente se aisló material vegetativo para determinar e identificar hongos asociados a los síntomas.

RESULTADOS

1. Pruebas para determinar presencia de fitoplasmas

Las 11 pruebas de PCR realizadas por los laboratorios de Agdia Inc. para detectar presencia de fitoplasmas resultaron negativas, en dos ocasiones por separado.

2. Pruebas para determinar presencia de partículas virales

Las 18 pruebas de PCR para detectar presencia de partículas virales también resultaron negativas, en dos ocasiones por separado. (Apéndice 1).

Estas pruebas de PCR permitieron descartar los grupos de fitoplasmas y virus antes mencionados como posibles agentes causales de los síntomas observados. Sin embargo, hay que señalar que aún cuando todas las pruebas de PCR resultaron negativas no podemos descartar que no hallan partículas virales en el tejido, ya que recientemente se han identificado nuevos grupos de virus (eg. crinivirus) los cuales no se analizaron mediante estas pruebas.

3. Identificación de los ácaros observados en los árboles de mangó.

3.1 Identificación de ácaros observados en hojas deformes.

Los ácaros observados en las hojas de los árboles de mangó se identificaron como *Polyphagotarsonemus latus* (Banks), (Acarina; Tarsonemidae). Éstos ácaros se encontraban en el haz y en el envés de las hojas jóvenes de mangó (hojas de coloración rojiza). En las figuras 3 y 4 se observan las diferentes etapas del ciclo de vida de *P. latus*.

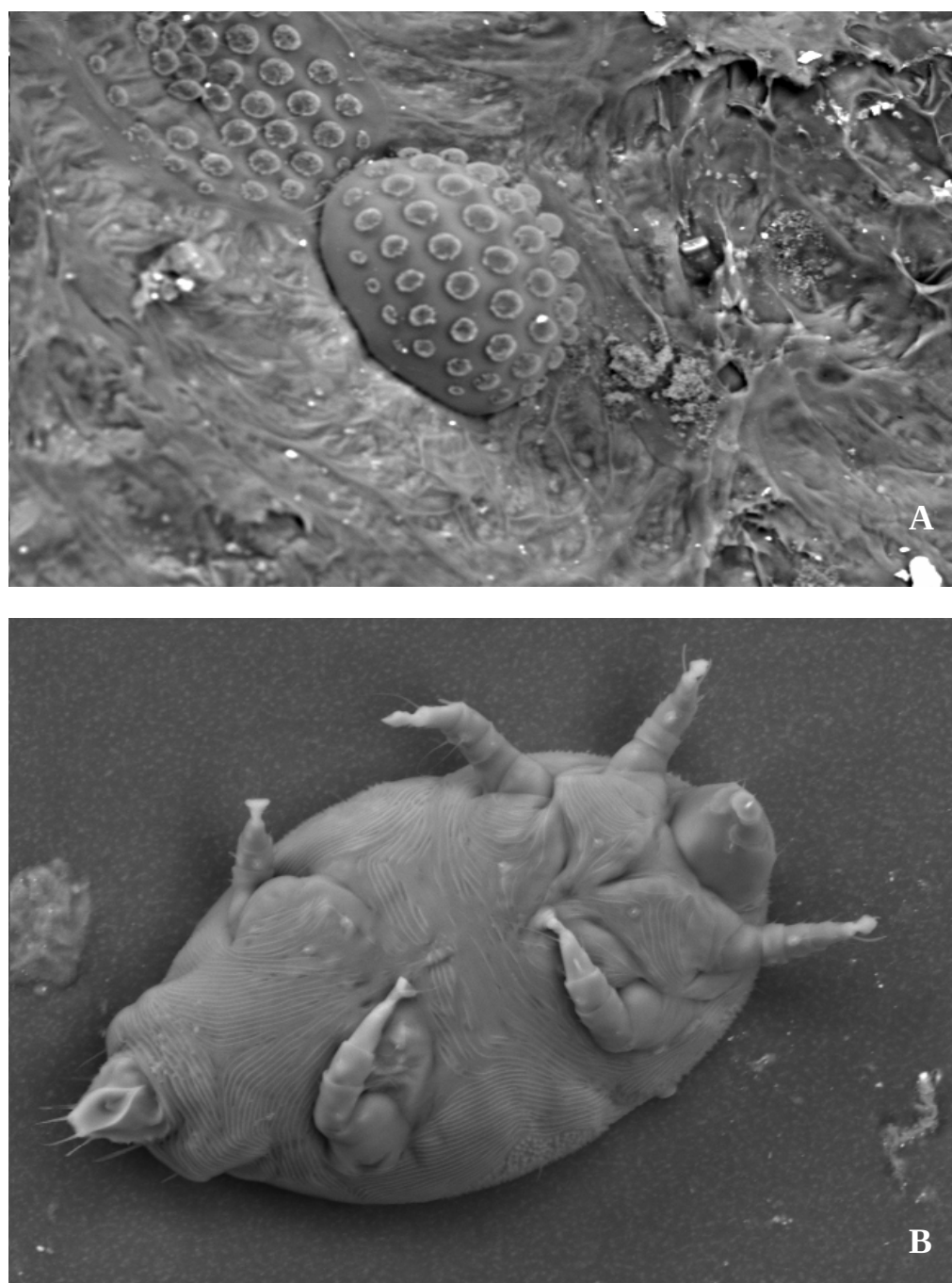


Figura 3. Etapas del ciclo de vida de *Polyphagotarsonemus latus*. a) huevo, b) ninfa.

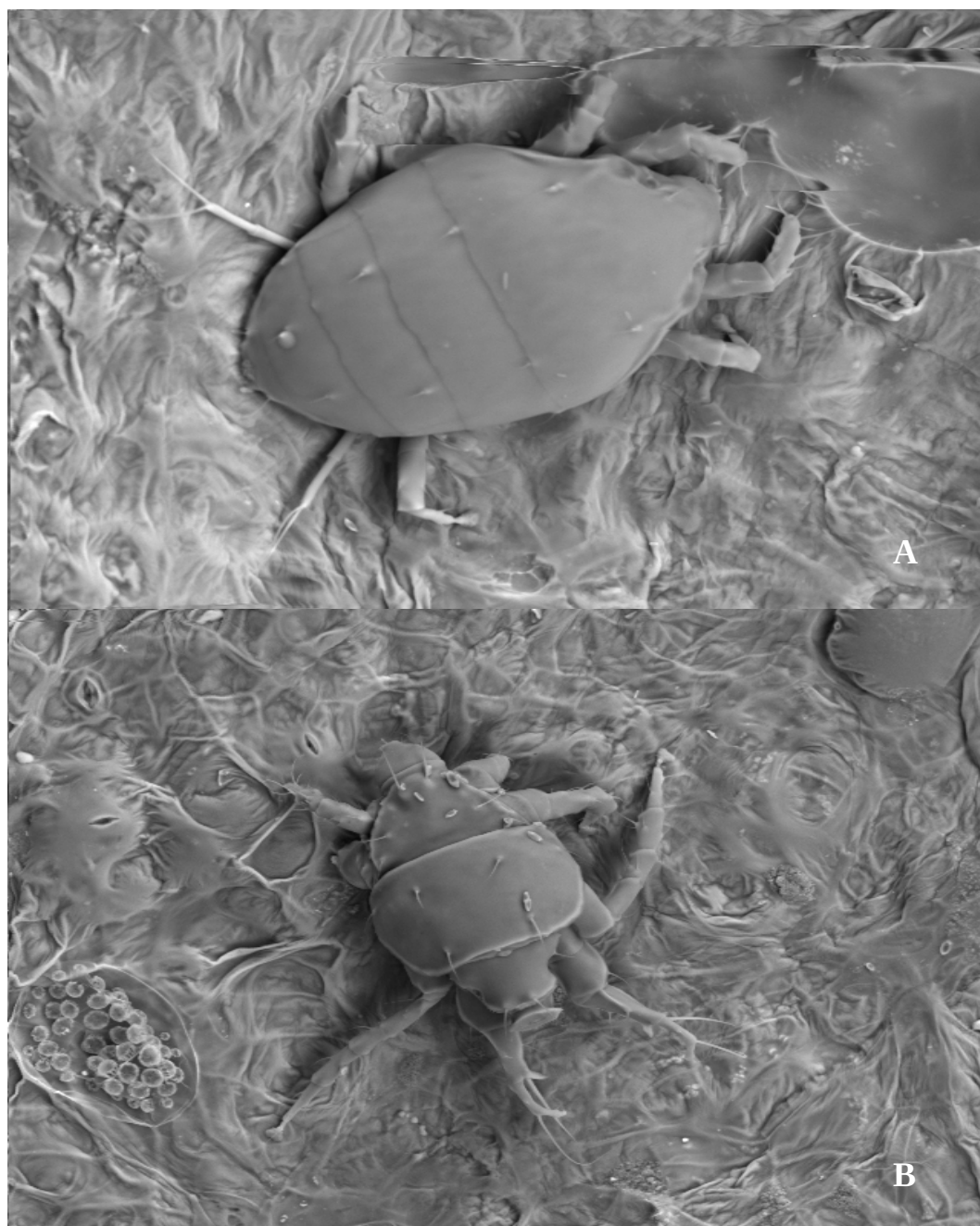


Figura 4. Adulto de *Polyphagotarsonemus latus*. a) hembra, b) macho.

3.2 Identificación de ácaros observados en yemas axilares y pecíolos de las hojas de los árboles de mangó.

Otro ácaro identificado posteriormente lo fue *Neocalacarus mangiferae* (Channabasavanna), (Acarina; Eriophyidae). Los ácaros *N. mangiferae* se observaron en los pecíolos de las hojas y en las yemas axilares de los árboles de mangó. Éstos se identificaron por el Dr. Ronald Ochoa de USDA/ARS. Éste es el primer reporte de ésta especie de ácaro en el Caribe, (Apéndice 2). Los resultados de la identificación realizada a través del USDA se corroboró por: “Invertebrate Diagnostician Central Science Laboratory” en Londres, UK. (Apéndice 3). El ácaro *N. mangiferae* se describió por primera vez en la India en el año 1966, luego se reportó en Brazil en el 2000, en Australia en el 2002 y se encontró en Puerto Rico en el 2003. De acuerdo a la revisión de literatura, es muy poco lo que se conoce sobre la biología de este ácaro. En el caso particular de ésta investigación no se estudió el ciclo de vida de *N. mangiferae*.

En las figuras 5 y 6 podemos observar al adulto de *N. mangiferae* y algunas de sus características morfológicas. Entre sus características peculiares se puede mencionar las bandas de cera en forma longitudinal en la parte dorsal del cuerpo y el patrón de líneas en la parte superior de la concha prodorsal; características utilizadas para su identificación.

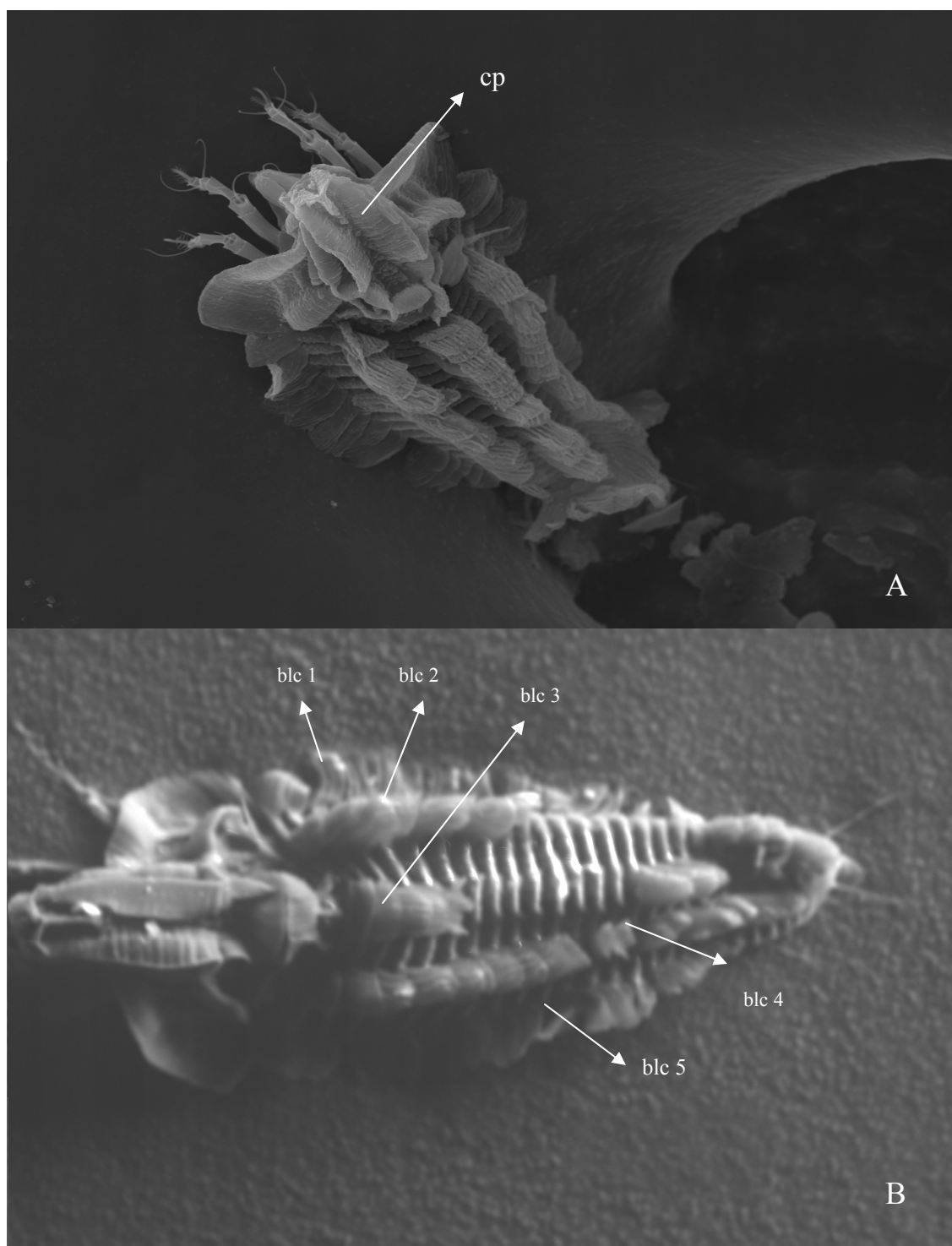


Figura 5. Parte dorsal del adulto de *Neocalacarus mangiferae*.
a) concha prodorsal (cp), b) cinco bandas longitudinales de cera (blc) en la parte dorsal del cuerpo.

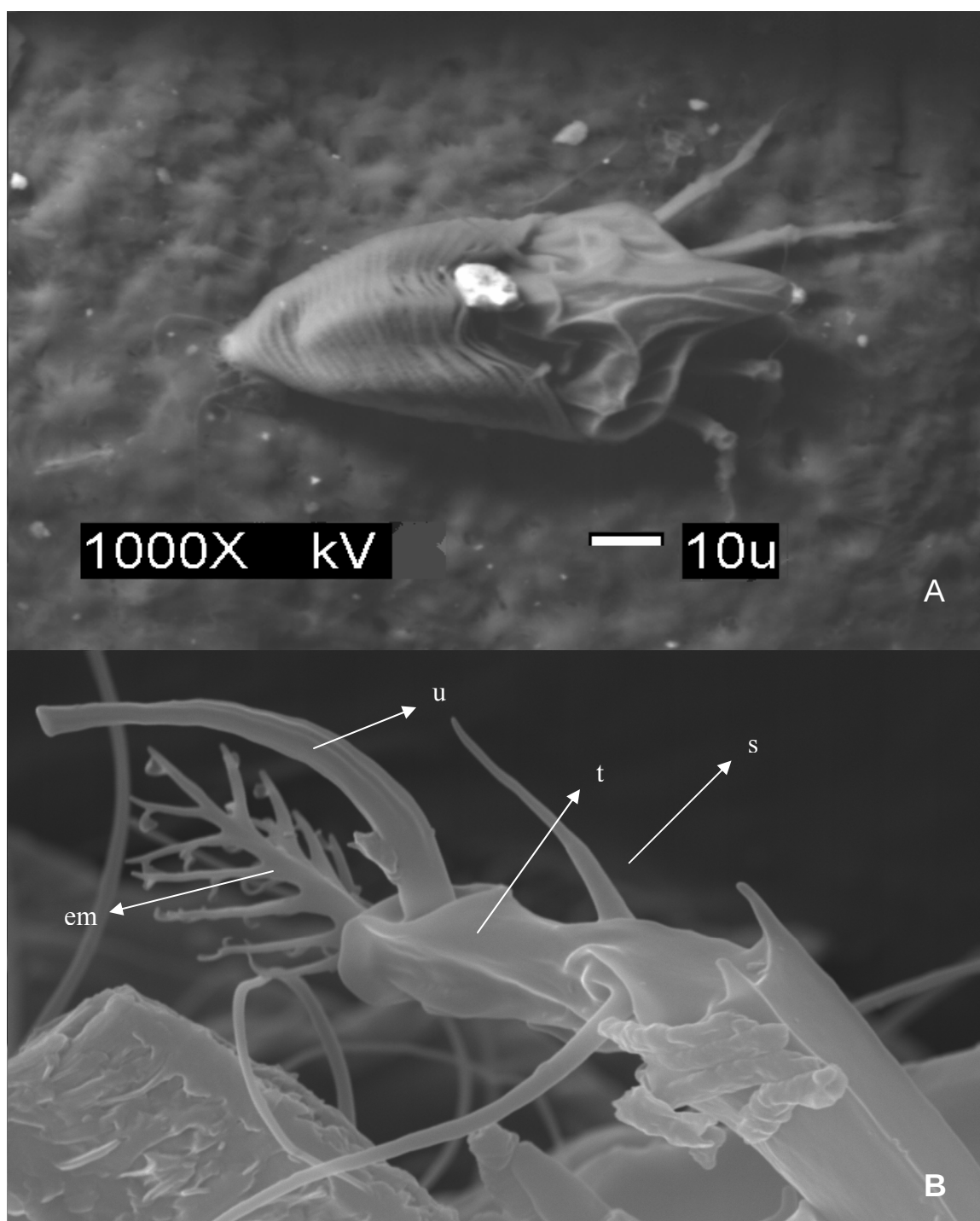


Figura 6. *Neocalacarus mangiferae*. a) adulto, b) estructuras de la pata: se observa el empodium (em) el cual tiene 6 radios a cada lado, el tarso (t), la uña (u) y las setas (s) de la pata I.

3.3 *Polyphagotarsonemus latus* como posible agente causal.

3.3.1 Árboles de seis a siete meses de germinados, inoculados con *P. latus* (ensayo uno).

En el ensayo uno, realizado con árboles de seis a siete meses de germinados (sin podar) las poblaciones de *P. latus* no se pudieron establecer como se esperaba. Luego de diez semanas de muestreo no se observaron daños asociados con la presencia del ácaro. Las poblaciones de ácaros disminuyeron semana tras semana hasta desaparecer por completo (ver Apéndice 4). El promedio de ácaros por árbol en el ensayo uno fue de: 2.8, 0.7, 1.7, 0.9, 0.3 y 0.2 durante las primeras seis semanas respectivamente. Luego de la sexta semana las poblaciones desaparecieron.

3.3.2 Árboles de seis a siete meses de germinados, podados e inoculados con *P. latus* (ensayo dos).

En el ensayo dos se podaron 48 árboles debido a que éstos tenían una altura que excedía la altura de los árboles utilizados en el primer ensayo. Las poblaciones de *P. latus* no se pudieron establecer como se esperaba, por lo que tampoco se observaron daños fisiológicos o alguna malformación vegetativa asociada con los ácaros. En el apéndice 5 se muestran las poblaciones de *P. latus* en el segundo ensayo. El promedio de ácaros por árbol en el ensayo dos fue de: 1.9, 2.1, 0.8, 1.7, 0.7, 0.9, 0.1 y 0.2 durante las primeras ocho semanas respectivamente. Al igual que en el ensayo anterior las poblaciones de ácaros disminuyeron hasta que desaparecer por completo al finalizar el muestreo (Fig. 7).

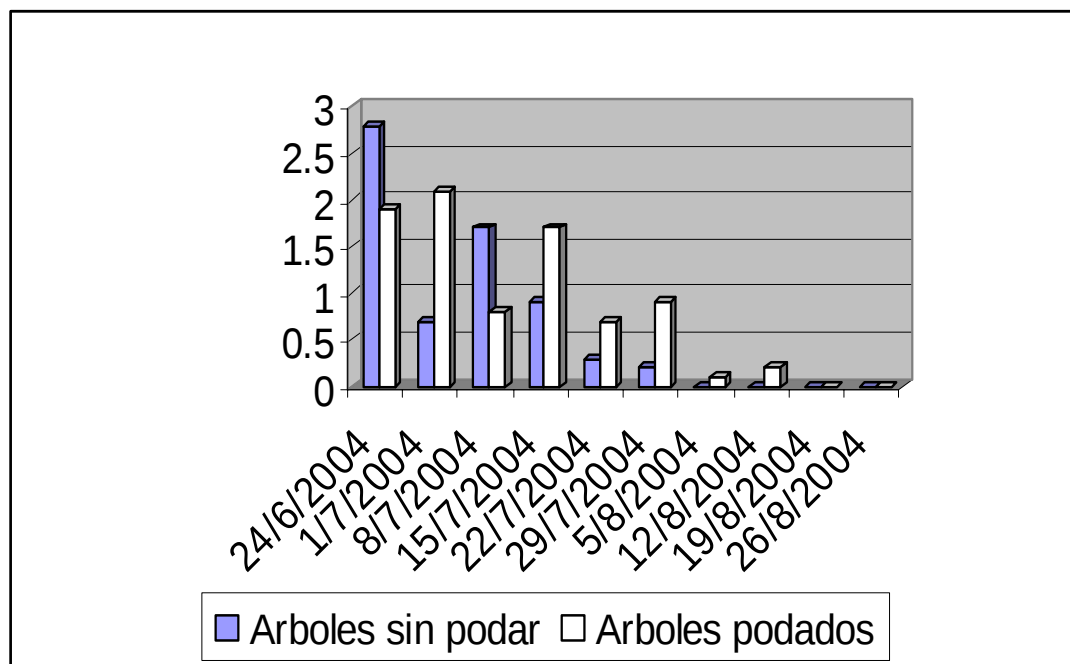


Figura 7. Promedio de *Polyphagotarsonemus latus* por árbol durante los muestreos en los ensayos uno y dos.

En el primer ensayo realizado con *P. latus* el promedio fluctuó entre 7.8 ácaros para el tratamiento dos (población inicial de 5 ácaros por árbol) y 4.6 ácaros para el tratamiento cuatro (población inicial de 20 ácaros) (Cuadro 1). En el segundo ensayo el promedio fluctuó entre 6.6 y 13.3 ácaros para los tratamientos dos al cuatro. En los árboles de los tratamientos uno (controles) no se detectaron ácaros.

Estos resultados concuerdan con la información brindada por Childers *et al.*, (2003), al mencionar que el ácaro *P. latus* solo puede alimentarse de tejido joven y tierno y no de tejido fisiológicamente maduro como es el caso del tejido de árboles de seis a siete meses. Las poblaciones solo se pudieron establecer en árboles con nuevos brotes, pero una vez las hojas de éstos nuevos brotes desarrollaron por completo alcanzando madurez fisiológica, las poblaciones disminuyeron.

Cuadro 1. Promedio de ácaros *Polyphagotarsonemus latus* por árbol en los tratamientos de los ensayos uno y dos.

Tratamientos	Promedio	
	Ensayo uno	Ensayo dos
T1(0 ácaros)	0.0	0.0
T2(5 ácaros)	7.8	6.6
T3(10 ácaros)	7.0	4.8
T4(20 ácaros)	4.6	13.3

3.3.3 Árboles de seis semanas de germinados, inoculados con *P. latus* (ensayo tres).

En ésta ocasión se utilizaron árboles de tan solo seis semanas de germinados. Luego de ocho semanas de muestreo se observa que de un total de 48 árboles, 34 estuvieron infestados con ácaros, lo que equivale a 70.8% de árboles infestados. De los 34 árboles infestados 18 presentaron hojas deformes, diez presentaron defoliación en un 50% o más, y cuatro desarrollaron brotes laterales, para un porcentaje de daño de 52.9, 29.4 y 11.8, respectivamente.

No hubo un patrón de crecimiento poblacional definido al comparar un tratamiento con otro. Éste comportamiento pudo haber estado influenciado por el crecimiento de los árboles. El crecimiento de los árboles no es continuo, lo que pudo haber causado que las poblaciones fluctuaran dependiendo del desarrollo de los nuevos brotes. También podemos observar que en el T1 (control) se infestó uno de los árboles alcanzando poblaciones altas entre la quinta y la séptima semana (Fig. 8). Se contabilizaron un total de 1732 ácaros en los cuatro tratamientos (Fig. 9).

Se encontró que no hubo diferencia significativa entre los tratamientos con población inicial de 5 ácaros/árbol (T2), 10 ácaros/árbol (T3) y 20 ácaros/árbol (T4). Hubo diferencia significativa con respecto al control (T1) y los tratamientos T2, T3 y T4 (Fig. 9).

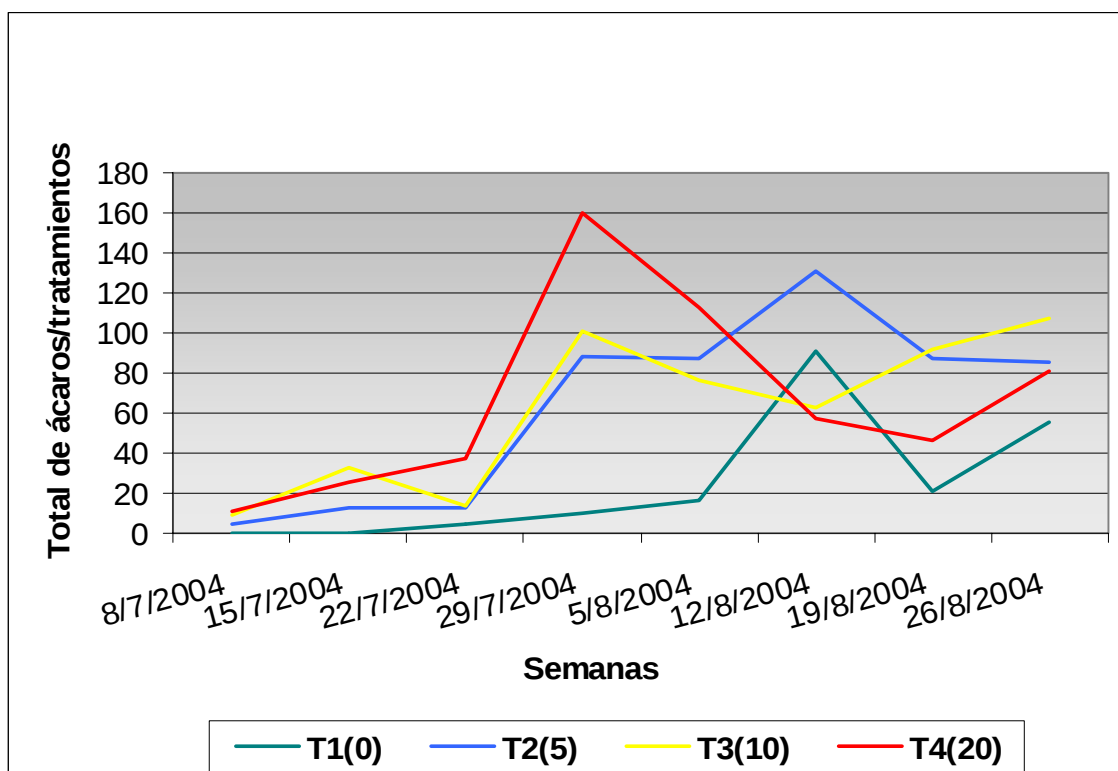


Figura 8. Dinámica poblacional de *Polyphagotarsonemus latus* en los tratamientos, durante ocho semanas de muestreos, en árboles de seis semanas de germinados.

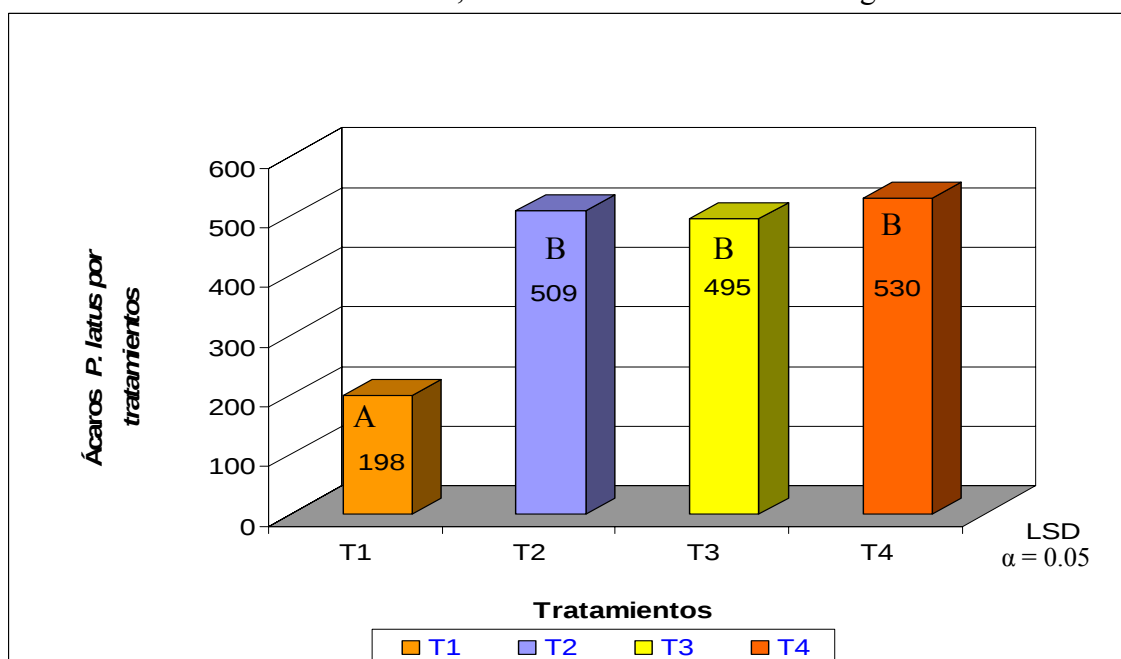


Figura 9. Total de ácaros de la especie *Polyphagotarsonemus latus* por tratamientos en árboles de seis semanas de edad durante ocho semanas de muestreos (ensayo tres).

T1(5 ácaros/árbol), T2 (10 ácaros/árbol), T3 (20 ácaros/árbol), T4 (0 ácaros /árbol).

El promedio semanal de ácaros para cada tratamiento durante las ocho semanas de muestreo fue de 24.8, 63.6, 61.9 y 66.3 para los tratamientos T1, T2, T3 y T4 respectivamente. Éstos resultados indican que los daños causados por las poblaciones de *P. latus* no responden necesariamente a una cantidad inicial de ácaros y si a la etapa fisiológica en que se encuentren los árboles.

Se tomaron muestras de material vegetativo para detectar la presencia de hongos, pero no se aislaron hongos asociados con los síntomas observados. Debido a que no se encontraron partículas virales, fitoplasmas y hongos en los árboles con hojas deformes y con defoliación podemos establecer que los síntomas están directamente relacionados con la presencia del ácaro *P. latus* en los árboles. En el apéndice 6 podemos observar los conteos poblacionales de ácaros *P. latus* para cada árbol de los diferentes tratamientos durante todo el muestreo en el ensayo tres.

3.3.4 Árboles de dos semanas de germinados, inoculados con *P. latus* (ensayo cuatro).

Se utilizaron árboles de solo dos semanas de germinados aproximadamente. De un total de 48 árboles de dos semanas de edad, se inocularon 36 y se infestó uno de los controles). De los 37 árboles infestados (77.1% de árboles infestados), 23 presentaron hojas deformes, 13 presentaron defoliación en un 50% o más y cinco desarrollaron brotes laterales para un porcentaje de daño de 62.2, 35.1 y 13.5, respectivamente. En los árboles del tratamiento T1 (control), se infestó uno de los árboles con *P. latus* y se observaron hojas deformes en el mismo.

Al igual que en el ensayo anterior observamos que tampoco hubo un aumento poblacional definido entre los diferentes tratamientos (Fig. 10). Se contabilizaron un total

de 1555 ácaros en los cuatro tratamientos (Fig. 11). También podemos observar que, al igual que en el ensayo anterior, tampoco hubo diferencia significativa entre los tratamientos T2 (5 ácaros/árbol), T3 (10 ácaros/árbol) y T4 (20 ácaros/árbol) y si entre los tratamientos T2, T3, T4 y el control (T1). El promedio semanal de ácaros para cada tratamiento fue de 16.8, 62.5, 53.8 y 61.4 para los tratamientos T1, T2, T3 y T4, respectivamente (Ver Apéndice 7).

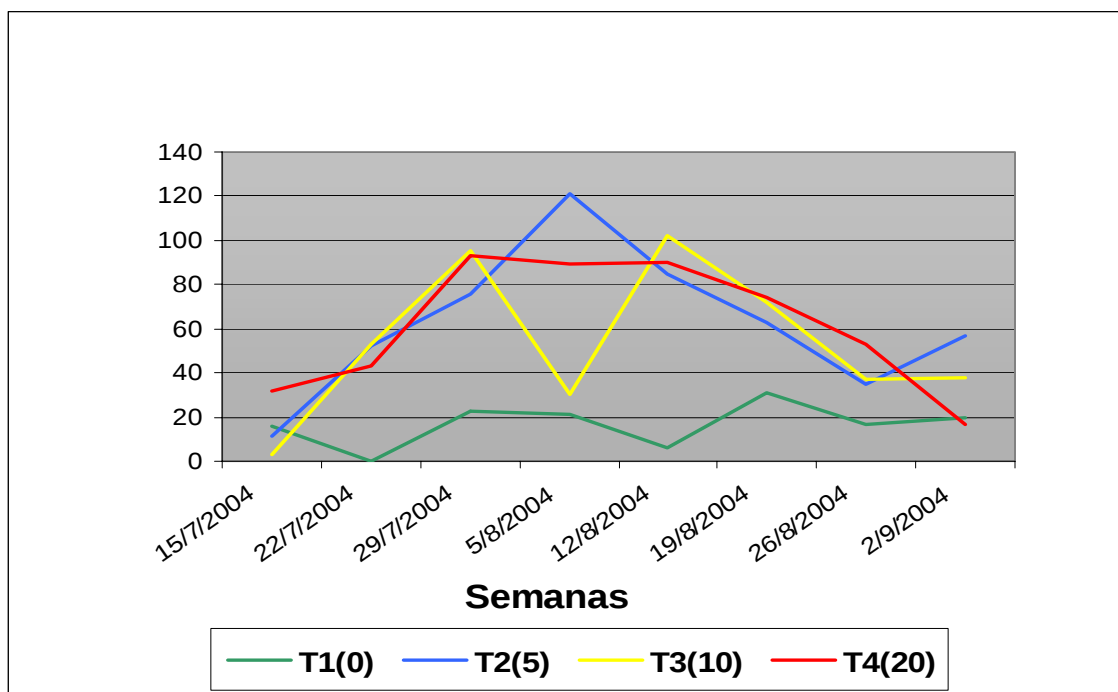


Figura 10. Dinámica poblacional de *Polyphagotarsonemus latus* por tratamientos durante los muestreos en árboles de dos semanas de edad (ensayo cuatro).

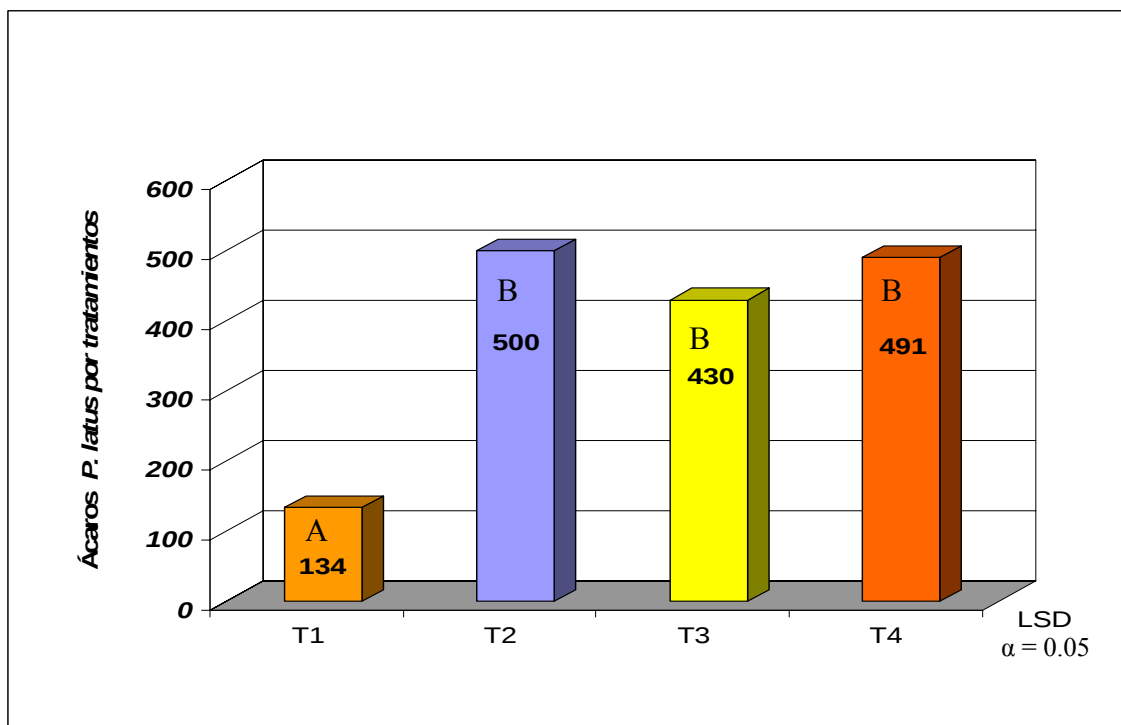


Figura 11. Total de ácaros *Polyphagotarsonemus latus* por tratamientos durante las ocho semanas de muestreos en los árboles de dos semanas de edad (cuarto ensayo).

T1(5 ácaros/árbol), T2 (10 ácaros/árbol), T3 (20 ácaros/árbol), T4 (0 ácaros /árbol).

En el ensayo tres y en el ensayo cuatro los árboles estuvieron infestados con ácaros por aproximadamente ocho semanas, tiempo suficiente para que los árboles fuesen afectados por varias generaciones de ácaros. Se observó un porcentaje de hojas deformes, defoliación y desarrollo de brotes laterales mayor de 50, 25, y 10% respectivamente en ambos ensayos (ver Cuadro 2). En el ensayo tres se observó un promedio mínimo de 44.8, 77.3 y 119.3 ácaros para causar deformación en las hojas, defoliación y desarrollo de brotes laterales respectivamente. En el ensayo cuatro se observó un promedio mínimo de 30.0, 76.5 y 88.5 ácaros para causar deformación en las hojas, defoliación y desarrollo de brotes laterales, respectivamente (ver Cuadro 3).

De acuerdo a los resultados de los ensayos realizados con *P. latus*, los daños están relacionados con poblaciones altas de ácaros. Las poblaciones están relacionadas con la etapa fisiológica de los árboles (ver Cuadro 4).

Cuadro 2. Porcentaje del daño, causados por *Polyphagotarsonemus latus* en los árboles de seis y dos semanas de germinados.

Síntomas Observados	Árboles de seis semanas de germinados (ensayo 3)		Árboles de dos semanas de germinados (ensayo 4)	
	Árboles con Síntomas	% de daño ¹	Árboles con Síntomas	% de daño ¹
Hojas deformes	18	52.9	23	62.2
Defoliación	10	29.4	13	35.1
Brotes laterales	4	11.8	5	13.5

¹El % de daño está basado en la cantidad de árboles infestados por ensayo. En el ensayo 3 se infestaron 34 árboles. En el ensayo 4 se infestaron 37 árboles.

Cuadro 3. Daños observados en los ensayos número tres y número cuatro en relación a la cantidad mínima de ácaros contabilizados en cada árbol en los diferentes tratamientos.

Ensayo 3	Síntomas		
	Hojas Deformes	Defoliación	Brotes Laterales
	Ácaros	Ácaros	Ácaros
T1(0 ácaros)	69	69	129
T2(5 ácaros)	41	80	118
T3(10 ácaros)	52	81	108
T4(20 ácaros)	17	79	122
Promedio	44.8	77.3	119.3

Ensayo 4	Síntomas		
	Hojas Deformes	Defoliación	Brotes Laterales
	Ácaros	Ácaros	Ácaros
T1(0 ácaros)	36	98	98
T2(5 ácaros)	27	101	101
T3(10 ácaros)	26	53	81
T4(20 ácaros)	31	54	74
Promedio	30.0	76.5	88.5

Cuadro 4. Promedio de *Polyphagotarsonemus latus* por tratamientos en los cuatro ensayos realizados.

Tratamientos	Promedio			
	Ensayo uno	Ensayo dos	Ensayo tres	Ensayo cuatro
T1(0 ácaros)	0.0	0.0	24.8	16.8
T2(5 ácaros)	7.8	6.6	63.6	62.5
T3(10 ácaros)	7.0	4.8	61.9	53.8
T4(20 ácaros)	4.6	13.3	66.3	61.4

Ensayo uno: árboles de seis a siete meses de edad, sin podar.

Ensayo dos: árboles de seis a siete meses de edad, podados.

Ensayo tres: árboles de seis semanas de germinados.

Ensayo cuatro: árboles de dos semanas de germinados.

Estas deformaciones pueden deberse a toxinas inyectadas por los ácaros durante el proceso de alimentación, según menciona Childers *et al.*, (2003), lo que eventualmente causa defoliación, . De acuerdo a las observaciones realizadas durante esta investigación, si la infestación persiste luego de la defoliación, los ácaros se alimentan de hojas que aun no han comenzado a desarrollarse, o del área del ápice. El hospedero pudiera estar desarrollando brotes laterales en respuesta a que no se pueden desarrollar hojas nuevas.

Los daños causados por *P. latus* en los ensayos realizados tanto en árboles de seis semanas de edad (ensayo tres) como en los árboles de dos semanas de edad (ensayo cuatro) fueron hojas deformes, defoliación y desarrollo de brotes laterales (Figs. 12 y 13). Además de los daños observados no se aislaron hongos de los tejidos de los árboles infestados con ácaros en ninguno de éstos ensayos, lo que indica que los síntomas observados en los árboles de dos y seis semanas de germinados están directamente relacionados con *P. latus*.



Figura 12. Daño causado por *Polyphagotarsonemus latus* en árboles de dos y seis semanas de edad. a y b) daño en las hojas, c) árbol con hojas severamente deformes y d) defoliación parcial del árbol.



Figura 13. Otros daños causado por *Polyphagotarsonemus latus* en árboles de dos y seis semanas de edad. a) defoliación de 50% del árbol y b) desarrollo de brotes laterales.

Estos daños observados en los ensayos realizados con *P. latus* no son iguales a los daños descritos y asociados con el SMM. Los daños asociados a *P. latus* envuelven deformación foliar y defoliación, mientras que los daños asociados al SMM envuelven la presencia de hongos y desarrollo de yemas axilares. Además, entre los síntomas del SMM no se menciona la deformación de hojas. Los resultados presentan síntomas diferentes a los que se describen en el caso de malformación vegetativa del mangó. Los diferentes síntomas observados a través de diferentes estudios es una de las causas que dificulta la identificación de los agentes causales del síndrome de malformación. En las Figs. 14 y 15 podemos observar una comparación de diferentes fotos con diferentes síntomas o daños típicos de malformación.



Figura 14. Síntomas asociados al síndrome de malformación del mangó durante ésta investigación. a) hojas deformes, b) defoliación.



Figura 15. Comparación de diferentes síntomas asociados con el síndrome de malformación del mangó en varios países. a) inflorescencia de mangó normal, b) inflorescencia de mangó con síntomas típicos de malformación en Israel, (fotos por Stanley Freeman), c y d) árboles con malformación vegetativa en Juana Díaz, P. R., e) árboles con malformación vegetativa en Venezuela, (foto por Doreste S. E.).

3.4 Ensayos realizados con *Neocalacarus mangiferae*.

3.4.1 Ácaros *Neocalacarus mangiferae* en árboles de seis a siete meses podados (ensayo cinco).

Luego de diez semanas de muestreos en los árboles infestados originalmente con *P. latus* (árboles de seis a siete meses podados) y una vez desaparecieron sus poblaciones, se encontró un nuevo ácaro identificado como *N. mangiferae*. Se realizaron muestreos en los mismos 48 árboles durante un periodo de 12 semanas. Los muestreos se realizaron en el área de los nudos. Las poblaciones promedio de *N. mangiferae* durante el muestreo fluctuaron entre 1.3 y 12.4 ácaros por árbol (Fig. 16). En los árboles infestados con *N. mangiferae* se observó lo siguiente: (1) no hubo deformación de las hojas, (2) no se observó defoliación de los árboles, (3) se observó muerte descendente de los ápices, (4) desarrollo frecuente de brotes laterales. De los 35 árboles infestados, 15 desarrollaron brotes laterales, lo que representa un 42.9% de árboles con brotes laterales. Hubo un promedio de 57.5 ácaros por árbol durante el muestreo.

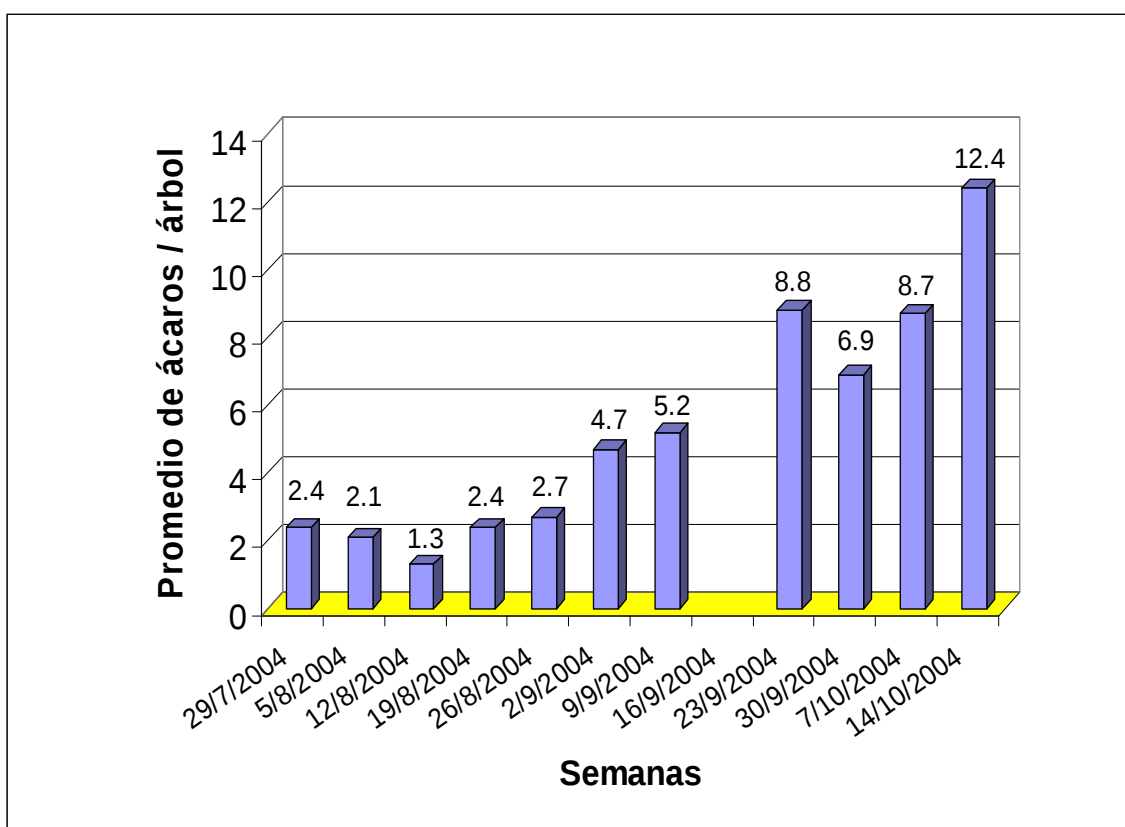


Figura 16. Dinámica poblacional de *Neocalacarus mangiferae* en árboles podados de seis a siete meses de germinados (ensayo cinco). Promedio de ácaros por árbol durante 12 semanas en árboles podados.

3.4.2 Ácaros *N. mangiferae* en árboles de seis a siete meses de edad, sin podar (ensayo seis).

A partir de la quinta semana después que comienzan los muestreos en el ensayo cinco (árboles podados) se observan los ácaros de la especie *N. mangiferae* en los árboles sin podar, siendo éstos los mismos árboles que se utilizaron durante el ensayo uno. De los 48 árboles, se asperjaron 12 (control) con Difocol y con Kelthane, y se utilizó uno para extraer ácaros para identificación, los 35 árboles restantes se mantuvieron infestados con los ácaros.

Debido a que no se observaron daños asociados con MV en los árboles durante los muestreos el conteo se extendió durante 12 semanas adicionales. Luego de seis meses de muestreos del ácaro de la especie *N. mangiferae*, no se observó desarrollo de brotes laterales ni muerte descendente de los ápices en ninguno de los árboles; como se observó en el ensayo con los árboles podados. En la dinámica poblacional de *N. mangiferae* durante los muestreos, se observó un promedio de 66.2 ácaros por árbol durante las primeras 12 semanas y 97.7 durante todos los muestreos (24 semanas) (Fig. 17).

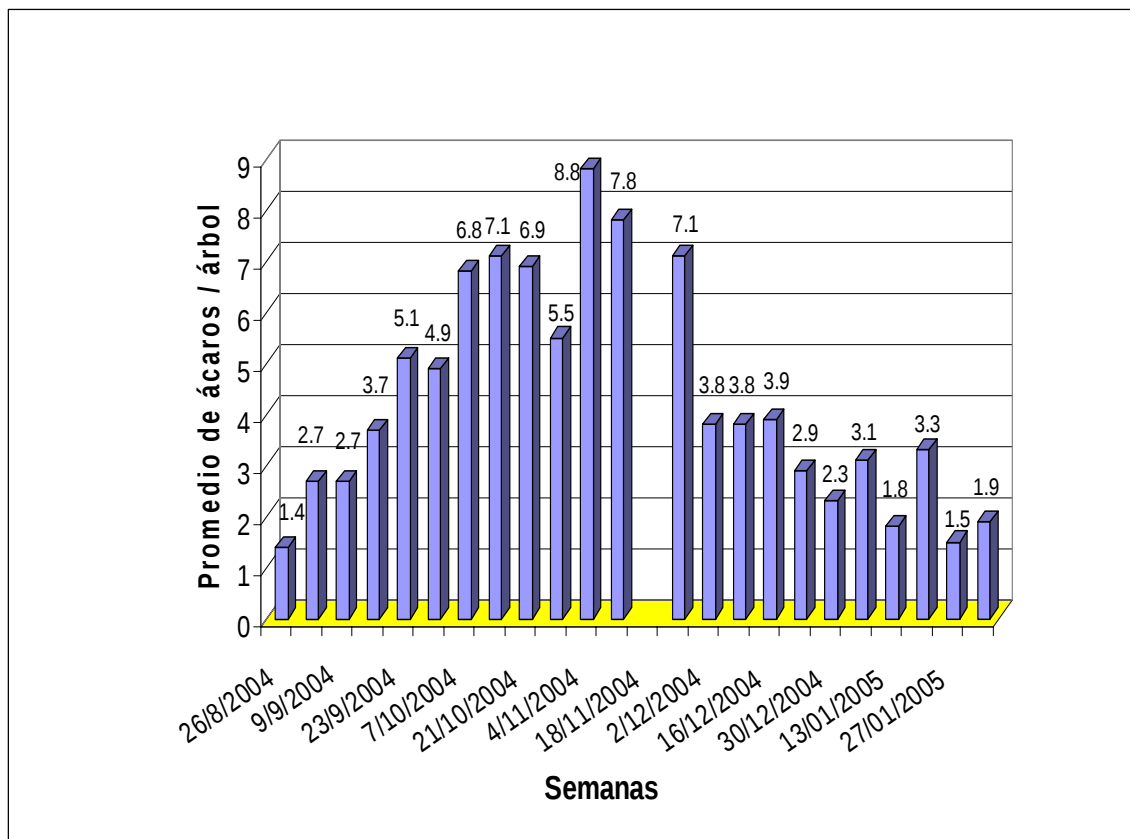
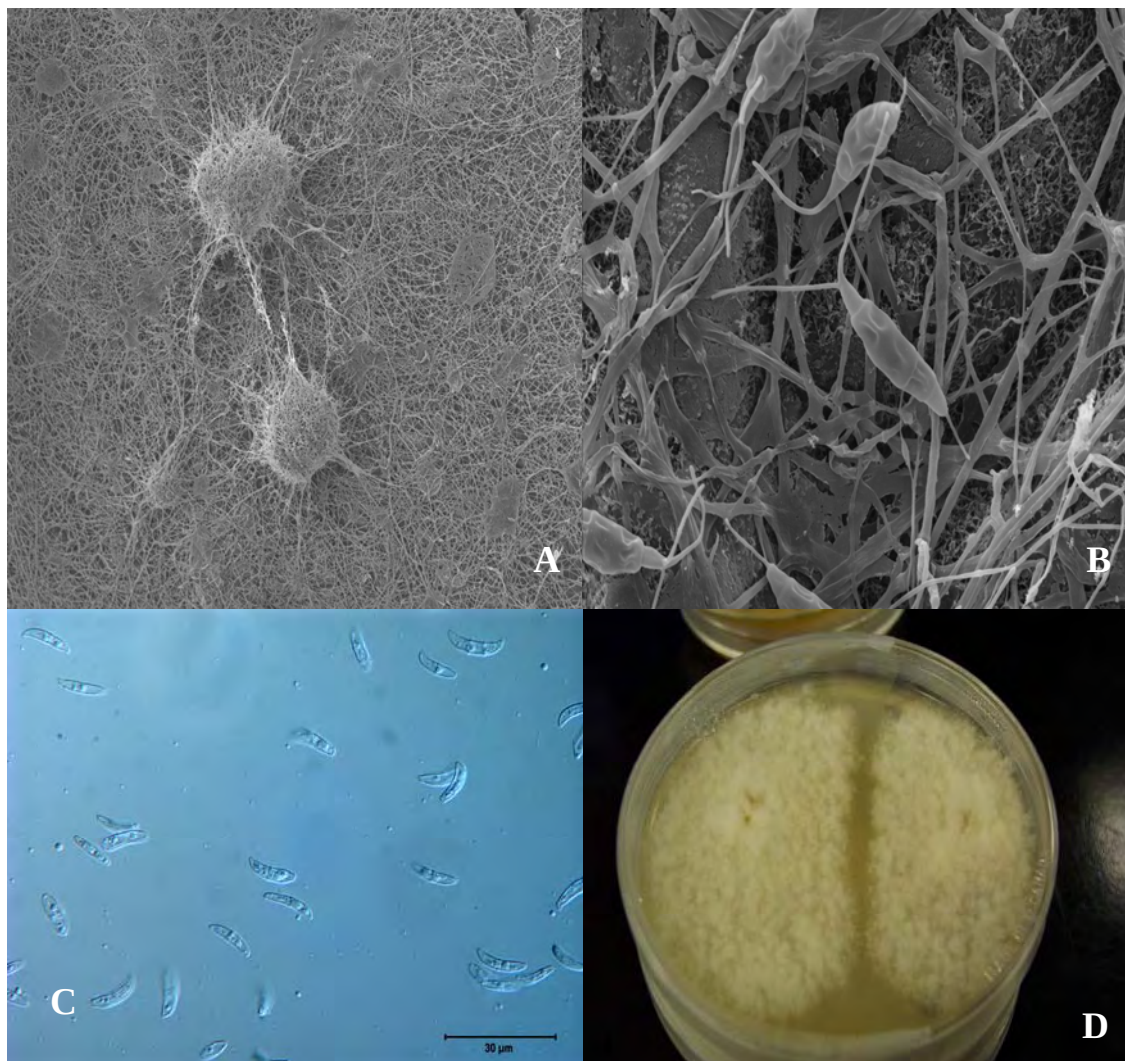


Figura 17. Dinámica poblacional de *Neocalacarus mangiferae* en árboles sin podar de seis a siete meses de germinados. Promedio de ácaros por árbol durante 24 semanas.

4. Aislamiento e identificación de hongos asociados con la sintomatología.

En los ensayos realizados con *P. latus* en árboles de mangó de seis a siete meses podados y sin podar (ensayo uno y dos) y en árboles de dos y seis semanas de germinados (ensayos tres y cuatro) se analizaron muestras de tejido vegetativo y no se identificaron hongos asociados con los síntomas observados.

En los ensayos realizados con *N. mangiferae* se tomaron muestras de los ápices que presentaban muerte descendiente (árboles podados) y de los ápices que no mostraban daño aparente (árboles sin podar). Se aislaron dos hongos asociados al tejido infectado de los árboles podados: *Pestalotia sp.* y *Fusarium lateritium* Ness: *Gibberella baccata* (Wallr.) Sacc (ver apéndice 8). En el ensayo realizado con árboles sin podar (ensayo seis) no se aislaron hongos del tejido de éstos. En la figura 18 se pueden observar acérvulos y conidias de *Pestalotia sp.* y conidias de *Fusarium lateritium* aislados de árboles de seis a siete meses podados (quinto ensayo). La presencia de estos hongos en el tejido malformado nos indica una posible relación de estos hongos con los síntomas observados.



Figuras 18. Hongos aislados de tejido vegetativo de árboles podados e infestados con *Neocalacarus mangiferae*. a) acérvulos del hongo *Pestalotia* sp. sobre una hoja de clavel, b) micelio con conidias de *Pestalotia* sp., c) conidias del hongo *Fusarium lateritium* sobre un montaje en laminilla, d) crecimiento de *Fusarium lateritium* en medio de cultivo Peptona PCNB.

Se observaron diferentes etapas de daño en los árboles infestados con el ácaro de la especie *N. mangiferae* y con el hongo *F. lateritium* o *Pestalotia sp.* La cantidad de brotes laterales fluctuó entre dos y ocho brotes por árbol (Fig. 19).

Basado en los resultados del ensayo de los árboles sin podar, podemos observar que en los árboles que se encontraba el ácaro *N. mangiferae* y de los cuales no se aislaron hongos, tampoco se observaron síntomas de malformación, lo que indica que el ácaro en ausencia del hongo no produce daño aparente a los árboles. La evidencia indica que los síntomas de malformación podrían causarse por la presencia de un hongo. Según el Dr. P. F. Cannon, quien identificó las muestras, el hongo *F. lateritium* se ha asociado con canchales o síntomas de muerte descendente, especialmente en hospederos bajo estrés. El hongo puede estar invadiendo los tejidos vegetativos mediante heridas causadas durante el proceso de poda, aunque no se descarta que las heridas causadas por los ácaros puedan también ayudar o acelerar el proceso de infestación, además de que los ácaros pueden estar actuando como agentes diseminadores de patógenos.

Estos resultados guardan relación con los artículos publicados por Návía & Flechtman, (2000), y por Knihinicki & Boczek, (2002). Ambos artículos mencionaron que no se han reportado daños fisiológicos asociados con *N. mangiferae*. La presencia de *F. lateritium* en árboles de seis a siete meses podados, puede estar causando los síntomas típicos de malformación ya que el hongo *Fusarium* secreta gran cantidad de micotoxinas en la parte de la planta infectada, (Ghosal *et al.*, 1979).



Figuras 19. Daños observados en árboles podados e infectados con *Fusarium lateritium* y *Neocalacarus mangiferae*. a) desarrollo de brotes laterales, b) área necrótica en el ápice, c) muerte descendente del ápice.

Trabajos previos realizados por: Rondón *et al.*, (1984), Pernexny y Ploetz (1988), Freeman, *et. al.*, (1999), Britz, *et al.*, (2002) atribuyeron la causa de la malformación al efecto causado por *Fusarium spp.* y no a la presencia de los ácaros. Sin embargo todos atribuyeron el síndrome de malformación a diferentes especies de *Fusarium*: *F. decemcellulare*, *F. subglutinans* (*F. mangiferae*), *F. sterilihyphosum* y una nueva especie no descrita que se ha aislado únicamente del tejido deforme de mangó en el sur de África. Esta falta de evidencia con relación a la especie del hongo permite que todavía exista incertidumbre con relación al agente causal de la malformación. En cuanto a *Pestalotia sp.*, ninguno de los árboles inoculados presentó algún tipo de síntoma asociado al SMM.

4.1 Pruebas de patogenicidad

Una vez aislados los hongos asociados con la malformación del mangó se realizaron diferentes pruebas para determinar la posible relación de éstos con los síntomas observados. En la prueba donde se asperjaron árboles, con y sin heridas mecánicas, con agua destilada estéril (tratamiento control) no se observaron cambios fisiológicos relacionados con los síntomas. En la prueba donde se utilizaron árboles con y sin herida, asperjados con *Pestalotia sp.*, tampoco se observaron síntomas relacionados con la malformación. En los árboles sin heridas mecánicas inoculados con *F. lateritium* no se observaron cambios asociados con malformación. Sin embargo, en los árboles con heridas, que se inocularon con *F. lateritium*, se observaron pequeños brotes laterales. Luego de tres meses de observación los brotes laterales se desarrollaron incompletamente. (Fig. 20).



Figura 20. Desarrollo de brotes laterales en árboles con heridas mecánicas inoculados con *Fusarium lateritium*. a) brote en yema axilar, b) brote en la base del tallo.

A pesar de que los brotes no se desarrollaron por completo en los árboles con heridas mecánicas, asperjados con *F. lateritium*, se observaron áreas necróticas en los ápices de éstos árboles. Se colocaron varios árboles bajo un estereoscopio para observar éstas áreas necróticas. Se observó el desarrollo de pequeños cancos (ver sección 5.). Se observaron cancos en diferentes árboles con heridas mecánicas asperjados con *F. lateritium* (Fig. 21). Se aisló material vegetativo de los árboles con cancos y se reaisló el hongo de la especie *F. lateritium*, inoculado anteriormente.

De acuerdo a éstas observaciones, *F. lateritium* es patógeno a los árboles de mangó y necesita algún tipo de heridas para penetrar el tejido ya sean heridas mecánicas o heridas causadas por ácaros. Aunque no se observó desarrollos de brotes laterales con la misma intensidad que en los árboles utilizados en los diferentes ensayos, se observaron cancos. El hongo de la especie *F. lateritium* causa ambos síntomas: cancos y muerte descendente de los ápices. Es posible que no se haya observado muerte descendente debido a que el tejido vegetativo de los árboles utilizados durante las pruebas de patogenicidad era fisiológicamente más maduro que el tejido vegetativo de los árboles podados. Durante los ensayos se observó muerte descendente en los brotes nuevos de los árboles podados y no así en los árboles no podados y fisiológicamente más maduros.

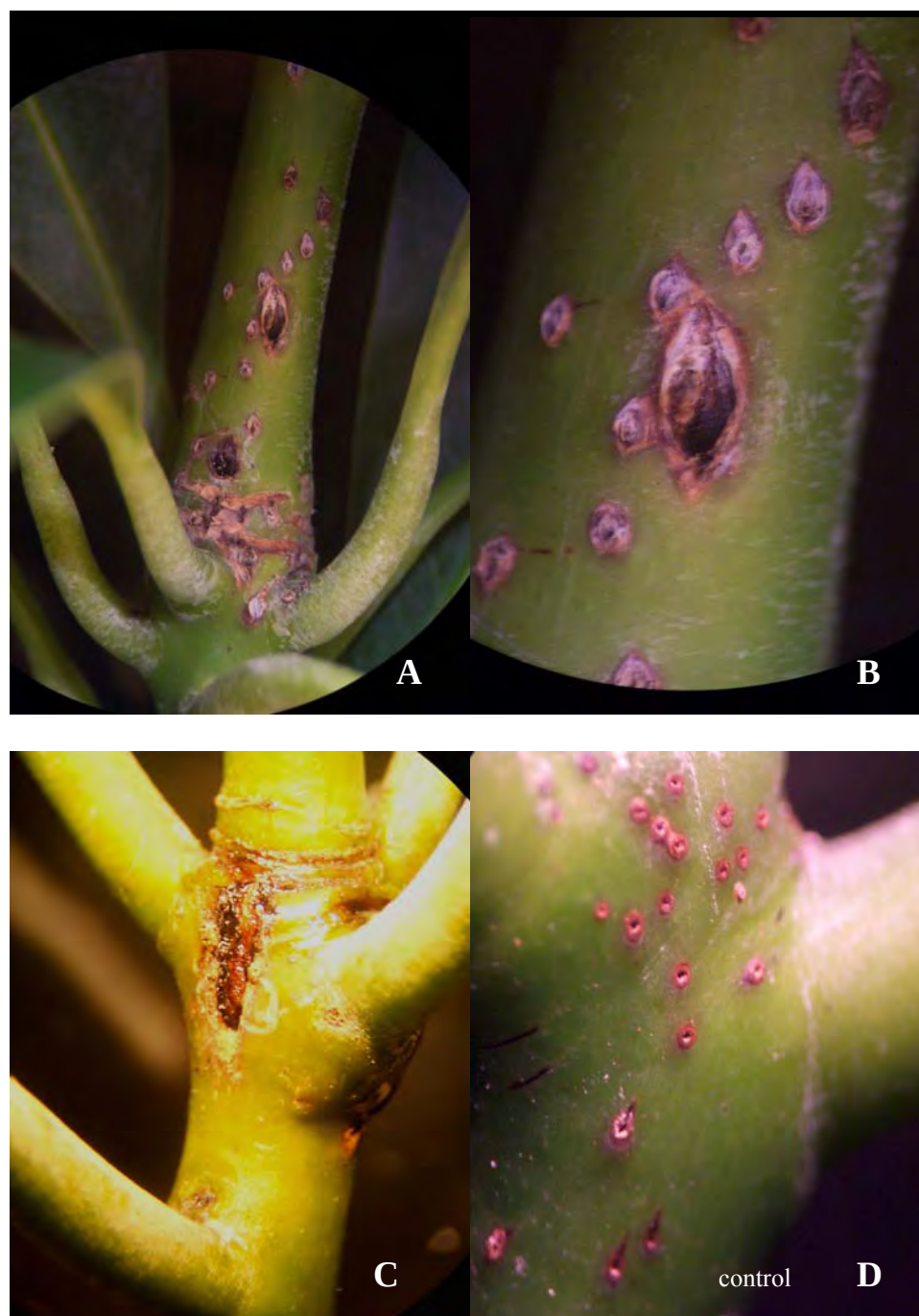


Figura 21. Cancros observados en árboles utilizados durante las pruebas de patogenicidad. a), b) y c) árboles con heridas mecánicas inoculados con *Fusarium lateritium*, d) árboles con heridas mecánicas asperjados con agua destilada estéril, (control).

5. Ácaros y otros síntomas observados durante los muestreos en los ensayos de tesis y durante varias inspecciones al vivero de la Estación Experimental Agrícola.

En el ensayo realizado con *N. mangiferae* en árboles de seis a siete meses sin podar (ensayo seis), aunque no se observaron síntomas asociados con el síndrome de malformación, aproximadamente el 10% de los árboles mostraban canchales en la parte media y en la parte baja de los tallos y en los pecíolos de las hojas. (Fig. 22).

En los ensayos de tesis se observaron otros ácaros durante el tiempo de muestreo, entre los cuales se encuentran: 1) *Tetranychus* sp. (Acarina: Tetranychidae), 2) ácaros de la familia Bdellidae (no se identificó la especie), 3) *Tegonotus mangiferae* (Acarina: Eriophyidae), 4) *Cheyletus ornatus* (Acarina: Cheyletidae). Todos estos ácaros se observaron esporádicamente. No se realizaron estudios para determinar el efecto de éstos en los árboles debido a que las poblaciones eran muy bajas, aunque no se descarta que algunos de ellos actúen como posibles depredadores, (Fig 23).



Figura 22. Síntomas observados en árboles, sin podar, de seis a siete meses de edad. a), b) y c) cancos en área de los tallos, d) y e) cancos en área de los pecíolos de las hojas en árboles sin podar.



Figura 23. Especies ácaros observados durante la investigación.
a) *Tetranychus* sp, b) ácaro de la familia Bdellidae, c) *Cheyletus ornatos*.

En la etapa final de esta investigación, en el área del vivero de la Estación Experimental Agrícola en Juana Díaz se observaron ácaros de la especie *A. mangiferae* (Eriophyidae) en árboles con brotes laterales. Se encontraba bien protegido entre las hojas inmaduras o en proceso de desarrollo; lo que concuerda con la información publicada por Dorestes, (1984), donde éste señala que la malformación de las inflorescencias y el superbrotamiento de las yemas es un problema relacionado con el ácaro *E. mangiferae*. Éste ácaro vive bien protegido dentro de las yemas terminales y preferentemente dentro de las hojas jóvenes en formación más internas. Su alimentación ocasiona la muerte del tejido joven y no permite que las yemas se desarrollen normalmente, por esta razón, las ramitas terminales van quedando desnudas y sin hojas.

Se aisló material vegetativo del área de los ápices de éstos árboles para determinar la presencia de hongos asociados a éstos nuevos síntomas en los árboles del vivero. Se aisló un hongo el cual se envió a identificar en conjunto con las muestras anteriores. El hongo aislado en éstos árboles del vivero fue identificado como *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc.: *Giberella intricans* Wollenw. Según Dr. P. F. Cannon (quien identificó la muestra). El hongo *F. equiseti* usualmente no es un patógeno agresivo, pero puede causar pudriciones o formar parte de enfermedades en conjunto con otros organismos.

Sin embargo, los síntomas observados son muy similares a los observados por primera vez en el vivero de la Estación Experimental Agrícola en Juana Díaz durante el verano de 2003. Las figuras 24 y 25 nos muestran varias características morfológicas de *A. mangiferae*, así como daños en los árboles. Éstos daños podrían estar directamente relacionados con la presencia del ácaro en los tejidos, específicamente si se relacionan a la posibilidad de que éste proporcione portal de infección a *Fusarium equiseti*.

En el área de producción de patrones para injertos de la estación experimental en Juana Díaz, no se realizaron ensayos para determinar la dinámica poblacional de *A. mangiferae*. Tampoco se determinó la relación entre los ácaros, *F. equiseti* y los síntomas observados.

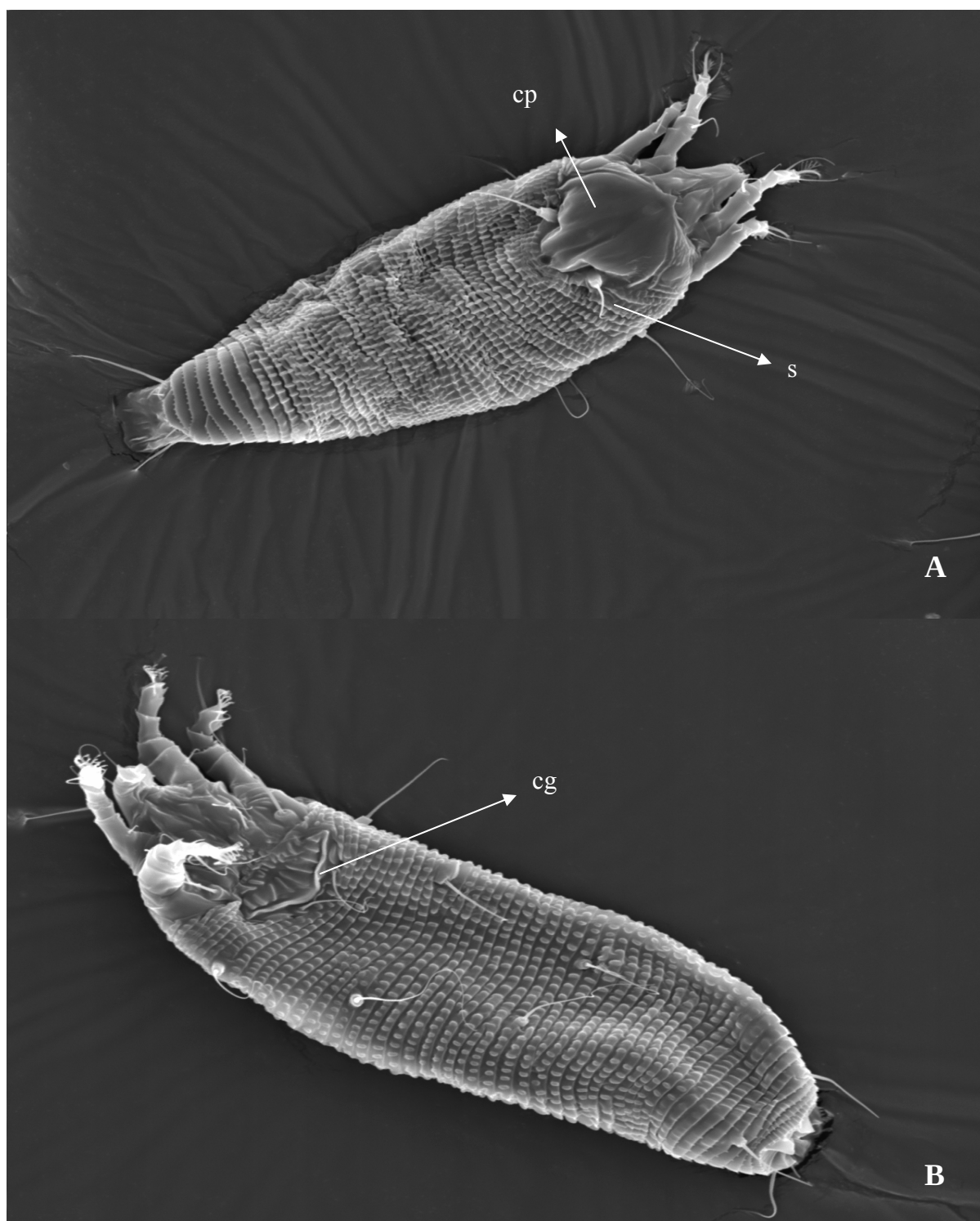


Figura 24. *Aceria mangiferae* en árboles de mangó en el vivero de la Estación Experimental Agrícola en Juana Díaz. a) concha prodorsal (cp) y las setas (s) orientadas hacia atrás, b) parte ventral y la concha genital (cg) característica de esta especie.



Figura 25. Síntomas observados en árboles de mangó infestados con *Aceria mangiferae*.

CONCLUSIONES

Al comparar los ensayos realizados con el ácaro *P. latus* con los ensayos realizados con el ácaro *N. mangiferae* podemos observar dos tipos diferentes de malformación vegetativa y diferentes agentes causales asociados con la sintomatología. Una malformación está directamente relacionada con *P. latus* y causa malformación foliar, defoliación y desarrollo de brotes laterales. Las poblaciones de ácaros se mantuvieron durante más tiempo en los árboles de dos a seis semanas y no así en los de seis a siete meses de edad. Los resultados concuerdan con Childers *et al.*, (2003), ya que mencionan que *P. latus* solo puede alimentarse de tejido joven y tierno.

La segunda malformación está directamente relacionada con hongos o con la combinación de hongos y ácaros. Los síntomas relacionados con ésta segunda malformación son: desarrollo de brotes laterales y muerte descendente de los ápices. De acuerdo a los resultados de las pruebas de patogenicidad el hongo de la especie *F. lateritium* está directamente relacionado con los síntomas de malformación. Aunque no se han reportado daños asociados con *N. mangiferae*, éstos pueden actuar como agentes diseminadores de *F. lateritium*. Según Chakrabarti, D.K., *et al.*, (1997), las conidias del hongo permanecen adheridas en la superficie de los ácaros. Estos mismos autores mencionaron que se colocaron ácaros sobre un medio artificial de PDA donde se observó la trayectoria de las colonias del hongo a través del paso de los ácaros.

Para determinar con mayor certeza el efecto de *F. lateritium* en árboles con SSM hay que evaluar la función y el efecto de una sustancia producida por los árboles de

mangó, conocida como mangiferina (1,3,6,7-tetrahydroxyxanthone C2- β -D glucoside). La mangiferina es una sustancia anti-*Fusarium* que bloquea los vasos del xilema, dificultando el movimiento de patógenos. La mangiferina es producida en cantidades muy bajas en tejidos sanos, pero aumenta significativamente en tejido con SMM. El hongo en respuesta a la interacción con mangiferina pierde su habilidad de producir ácido fusárico. Ésto le causa pérdida en la habilidad de esporular en los vasos del xilema del mangó, (Chakrabarti,D.K. y S. Ghosal, 1989). Se requiere una cantidad balanceada de mangiferina y de las poblaciones de *Fusarium sp.* para que se puedan manifestar los síntomas, (Chakrabarti, D.K. y R. Kumar, 1998). De acuerdo a Chakrabarti, D.K., *et al.*, (1997), el aumento en producción de mangiferina reduce las poblaciones de ácaros y de *Fusarium sp.*

Como se menciona en la metodología, los árboles estuvieron separados a 0.33m de distancia aproximadamente unos de otros. Esta separación dificulta el movimiento de los ácaros entre los árboles. En el caso particular del vivero de la estación experimental los árboles se encuentran muy cerca unos de otros, situación que favorece el movimiento de los ácaros a las áreas más tiernas y jóvenes, causando un mayor porcentaje de daño.

Los síntomas de moteado observados inicialmente se observaron solo en los árboles de mangó que estuvieron infestados con *P. latus*. Luego de realizarles pruebas de PCR a las hojas con moteado, pruebas que resultaron negativas para la presencia de fitoplasmas y partículas virales, no se pudo relacionar éste síntoma con algún agente causal. El síntoma de moteado en las hojas queda sin resolverse luego de realizar esta investigación.

RECOMENDACIONES

Una vez realizada esta investigación, aún quedan ciertas interrogantes por contestar. Siendo ésta la primera vez que se reportan los ácaros *P. latus* y *N. mangiferae* en árboles de mangó en P.R., se desconoce su ciclo de vida bajo las condiciones climatológicas de la isla. El conocimiento sobre la biología de éstos ácaros es muy importante ya que nos ayuda a conocer mejor las diferentes etapas del ciclo de vida, lo que a su vez nos permite tomar mejores decisiones al momento de aplicar diferentes medidas de control. Entre las diferentes medidas de control se encuentra el control biológico. Basados en las diferentes especies observadas en los árboles durante esta investigación, se pueden realizar trabajos futuros dirigidos a evaluar su efecto y capacidad como posibles depredadores.

En las diferentes inspecciones realizadas en el área del vivero de la Estación Experimental Agrícola en Juana Díaz se detectó la presencia *A. mangiferae*. En los árboles donde se detectó el ácaro se observaron síntomas típicos de malformación. Estas observaciones en el área del vivero pueden dar paso a nuevas investigaciones para evaluar el efecto y la relación de *A. mangiferae* y *F. equiseti* con los síntomas observados.

Por otro lado, luego de realizar varias pruebas para detectar partículas virales y fitoplasmas, no se pudo esclarecer el agente causal del moteado en las hojas. La realización de diferentes técnicas de estudio bajo un microscopio electrónico de transmisión pudieran ayudar a detectar partículas o sustancias asociadas con el moteado en las hojas de mangó.

Diferentes estudios han reportado varias especies de *Fusarium* como las causantes del SMM. La realización de estudios, en los cuales se lleven a cabo pruebas con las especies de *Fusarium* reportadas como posibles causales de la malformación, ayudarían a esclarecer la etiología de la malformación del tejido vegetativo del mangó.

Finalmente, se pueden dirigir estudios enfocados a determinar los niveles de mangiferina y su efecto en árboles de mangó con síntomas de malformación. Investigaciones como ésta son de suma importancia ya que existe una gran variedad de estudios que relacionan los síntomas de malformación con los niveles de mangiferina en la planta. Incluso, autores como Chakrabarti, D.K. y S. Ghosal, (1989), Chakrabarti, D.K. y R. Kumar, (1998), mencionaron que la aplicación de mangiferina en forma de quelatos (mangiferin Zn^{2+} and mangiferin Cu^{2+}), es un método efectivo en el control del SMM.

LITERATURA CITADA

- Abreu, E., Medina-Gaud, S. y Maldonado-Capriles, J. 1987. New records of mites for Puerto Rico. Jour. Agric. Univ. of P.R. 70(4):399-402
- Boletín CCI: SIM. Perfil de Producto. No. 1. Septiembre 1998. <http://www.cci.org.co/publicaciones/Perfil%20de%20producto/perfilmango1.html>. 11/5/2003.
- Booth C. 1971. The genus *Fusarium*, pp.237. The Eastern Press Limited. London, England, United Kingdom.
- Britz, H., E. T. Steenkamp, T. A. Coutinho, B. D. Wingfield, W. F. O. Marasas y M. J. Wingfield. 2002. Two new species of *Fusarium* section *Liseola* associated with mango malformation. Mycologia 94(4):722-730.
- Chakrabarti, D.K. y S. Ghosal. 1989. The disease cycle of mango malformation induced by *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* and the curative effects of mangiferin-metal chelates. Journal of Phytopathology. (125): 238-246.
- Chakrabarti, D.K. and R. Kumar. 1998. Mango malformation : role of *Fusarium moniliforme* and mangiferin. Agricultural Reviews. 19(2): 126-136.
- Chakrabarti, D. K., R. Kumar, Kumud y S. Kumar. 1997. Interaction among *Fusarium moniliforme*, *Tyrolichus casei* and mangiferin as related to malformation of *Mangifera indica*. Tropical Agricultural. 74 (4): 317-320.
- Childers, C. C., C. W. McCoy, H. N. Nigg and P. A. Stansly. 2003. Florida citrus pest management guide: rust mites, spider mites and other phytophagous mites. http://edis.ifas.ufl.edu/Body_CG002. 09/10/2003.
- Das, G. C., D. P. Rao y P. C. Lenka. 1988. Studies on mango malformation in the mango clone, Chiratpudi. Acta Horticulturae 231:866-872.
- Doreste, S. E. 1984. Información sobre el eriófido del mango, *Eriophyes mangiferae* (Sayed) en Venezuela. Rev. Fac. Agron. (Maracay). 13(1-4):91-100.
- FAO Stat, 2004. <http://faostat.fao.org>
- Flechtman, C. H. W. 1983. Ácaros de importancia agrícola. pp.117-122. Livaria Nobel S. A. Sao Paulo, Brazil.
- Freeman, S., M. Maimon and Y. Pinkas. 1999. Use of GUS transformants of *Fusarium subglutinans* for determining etiology of Mango Malformation Disease. Phytopathology. 89(6):456-461.

- García de la Rosa, J. 1996. La escoba de bruja del mangó, informe técnico. División Agrícola, Pfizer. Damas 120 Colonia San José Insurgentes, México D. F.
- Ghosal, S., D. K. Chakrabarti, K. Biswas and Y. Kumar. 1979. Toxic substances produced by *Fusarium*. X. concerninig the malformation disease of mango. *Experientia*. (35):1633-1634.
- Hayat, M. A. 1999. General methods for plant viruses. In: Principles and Techniques of Electron Microscopy: Biological Application, pp. 393-394. Cambridge University Press, New York, N.Y.
- Ing-Ming, L. 2003. Molecular-based methods for detection and identification of phytoplasmas. USDA, Agriculture Research Service, Molecular Plant Pathology Laboratory. www.uniud.it/phytoplasmas/pap/leex9630.Html. 10/31/2003.
- Ing-Ming, L., R.E. Davis, W.A. Sinclair, N.D. De Witt and M. Conti. 1993. Genetic relatedness of mycoplasma-like organisms detected in *Ulmus* spp. in the United States and Italy by means of DNA probes and polymerase chain reactions. *Phytopathology*. (83):829-833.
- Institute of Food and Agricultural Sciences. 2001. South Florida Vegetable Pest and Disease Hotline. <http://hchort.ifas.ufl.edu/PDH11302001.html>. noviembre 2001. 11/17/2003.
- Jeppson, L. R., H. H. Keifer y E. W. Baker. 1975. Mites Injurious to Economic Plants, pp.285-304. University of California Press. California, United States.
- Keifer, H. H., E. W. Baker, T. Kono, M. Delfinado and W. E. Styer. 1982. An illustrated guide to plant abnormalities caused by Eriophyid Mites in North America. pp.178. United States Department of Agriculture. Agriculture Handbook number 573.
- Knihinicki, D. K. and J. Boczek. 2002. New eriophyoid mites (Acari: Eriophyoidea) from Australia. *International journal of acarology*. 28(3):241-249.
- Kumar, J. y S. P. S., Beniwal. 1987. Vegetative and floral malformation: two symptoms of the same disease on mango. *FAO Plant Prot. Bull.* 35(1):21-23.
- Kumar, J., U. S. Singh and S.P.S. Beniwal. 1993. Mango malformation: one hundred years of research. *Ann. Rev. Phytopathol.* (31):217-232.
- Kummert, J. and G. Rufflard. 1997. A preliminary report on the detection of phytoplasmas by PCR. *Biochemica*. (1):19-22.
- Lamberts, M. and J. H. Crane. 1990. Tropical Fruits. <http://www.hort.purdue/newcrop/proceedings1990/V1-337.html>. 3/12/1997. 8/24/2003.

Lorenz, K. H., B. Schneider, U. Ahrens and E. Seemüller. 1995. Detection of apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and nonribosomal DNA. *Phytopathology*. (85):771-776.

Martin Kessing, J. L. and R. F. L. Mau. 2003. *Polyphagotarsonemus latus* (Banks). http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/p_latus.htm. agosto 2003.

Morton, J. F. 1987. Anacardiaceae. In: C. F. Dowling, Jr. (ed.). *Fruits of Warm Climates*. pp. 221-248. Media Incorporated. Greensboro, N. C., United States.

Návia, D. and C. H. W. Flechtmann. 2000. Eriophid mites (Acari: Prostigmata) from mango, *Mangifera indica* L., in Brazil. *International journal of acarology*. (26):73-80.

Noriega-Cantú D. H., D. Téliz, G. Mora-Aguilera, J. Rodríguez-Alcazar, E. Zavaleta-Mejía, G. Otero-Colinas y C. Lee Campbell. 1999. Epidemiology of Mango Malformation in Guerrero, México, with Traditional and Integrated Management. *Plant Disease*. 83 (3): 223-228.

Ochoa, R., H. Aguilar y C. Vargas. 1991. Ácaros fitófagos de América Central: Guía ilustrada. pp.5-19. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica.

Pernexny, K. and R. Ploetz. 1988. Some common diseases of mango in Florida. www.plantpath.ifas.ufl.edu/takextpub/FactSheets/pp0023.pdf. marzo 2000. 8/24/2003.

Rondón, A. G., R. Solórzano y M. Materán. 1984. Agallas o escobas de brujas del mango (*Mangifera indica* L.) en Venezuela. *Agronomía Tropical*. (33): 163-176.

Schaad, N. W., J. B. Jones and W. Chun. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. The American Phytopathological Society Press. St. Paul, Mn. pp. 306.

Singh, Z. y B. S. Dhillon. 1994. Metabolic changes associated with vegetative malformation of mango (*Mangifera indica* L.) *Tropical Agricultural*. (71): 320 - 322.

United States Department of Agriculture. 2002. Census of Agriculture 2002. <http://www.nass.usda.gov/census02/puertorico/cenpr02.txt>

APENDICE

Apendice 1. Resultado de pruebas para grupos de virus realizadas por Agdia Inc., Indiana, Estados Unidos.



Agdia Incorporated • 30380 County Road 6 • Elkhart, Indiana 46514 USA
1-800-622-4342 • 574-264-2014 • FAX 574-264-2153 • <http://www.agdia.com>

11-Jun-04
Nisael Nieves
P.O. Box 1797
Moca, PR 00676
PUERTO RICO

AGDIA TESTING SERVICES REPORT

Sample(s) received: 18-May-04

Activity: 2004051815

ReportNum: 1

One sample was tested for the presence of the following:

Begomovirus Group	BEGOMO (PCR)
Bromovirus Group	BROMO (PCR)
Carlavirus Group	CARLA (PCR)
Carmovirus Group	CARMO (PCR)
Closterovirus Group	CLOSTERO (PCR)
Comovirus Group	COMO (PCR)
Curtovirus Group	CURTO (PCR)
Dianthovirus Group	DIANTHO (PCR)
Fabavirus Group	FABA (PCR)
Ilarvirus Group	ILAR (PCR)
Luteovirus Group	LUTEO (PCR)
Nepovirus Group Test	NEPO (PCR)
PHYTOPLASMAS	Phytoplasma (PCR)
Potexvirus Group	POTEX (PCR)
Potyvirus Group	POTY (PCR)
Tobamovirus Group	TOBAMO (PCR)
Tombusvirus Group	TOMBUS (PCR)
Tospovirus Group	TOSPO (PCR)
Trichovirus Group	TRICHO (PCR)

The mango leaf sample tested negative for the following virus groups by PCR.

Begomovirus Group
Bromovirus Group
Carlavirus Group
Carmovirus Group
Closterovirus Group
Comovirus Group
Curtovirus Group
Dianthovirus Group
Fabavirus Group
Ilarvirus Group
Luteovirus Group
Nepovirus Group
Potexvirus Group
Potyvirus Group
Tobamovirus Group
Tombusvirus Group
Tospovirus Group
Trichovirus Group

The mango leaf sample tested negative for the presence of known Phytoplasmas. A positive result in the Phytoplasma Nested PCR Test could not be confirmed by Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) analysis.

Thank you for using Agdia Testing Services. Please contact us by phone: (574)264-2014 or by fax: (574)264-2153 if you have any questions or comments.

Sincerely,

John Rascoe
Testing Services

Apéndice 1. continuación. Resultados de las pruebas de grupos de virus y fitoplasmas por segunda ocasión.

 Agdia Incorporated • 30380 County Road 6 • Elkhart, Indiana 46514 USA
1-800-622-4342 • 574-264-2014 • FAX 574-264-2153 • <http://www.agdia.com>

11-Jun-04
Nisael Nieves
P.O. Box 1797
Moca, PR 00676
PUERTO RICO

AGDIA TESTING SERVICES REPORT
Sample(s) received: 18-May-04
One sample was tested for the presence of the following:

Activity: 2004051815
ReportNum: 1

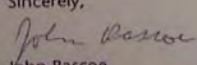
Begomovirus Group	BEGOMO (PCR)
Bromovirus Group	BROMO (PCR)
Carlavirus Group	CARLA (PCR)
Carmovirus Group	CARMO (PCR)
Closterovirus Group	CLOSTERO (PCR)
Comovirus Group	COMO (PCR)
Curtovirus Group	CURTO (PCR)
Dianthovirus Group	DIANTHO (PCR)
Fabavirus Group	FABA (PCR)
Ilarvirus Group	ILAR (PCR)
Luteovirus Group	LUTEO (PCR)
Nepovirus Group Test	NEPO (PCR)
PHYTOPLASMAS	Phytoplasma (PCR)
Potexvirus Group	POTEX (PCR)
Potyvirus Group	POTY (PCR)
Tobamovirus Group	TOBAMO (PCR)
Tombusvirus Group	TOMBUS (PCR)
Tospovirus Group	TOSPO (PCR)
Trichovirus Group	TRICHO (PCR)

The mango leaf sample tested negative for the following virus groups by PCR.

Begomovirus Group
Bromovirus Group
Carlavirus Group
Carmovirus Group
Closterovirus Group
Comovirus Group
Curtovirus Group
Dianthovirus Group
Fabavirus Group
Ilarvirus Group
Luteovirus Group
Nepovirus Group
Potexvirus Group
Potyvirus Group
Tobamovirus Group
Tombusvirus Group
Tospovirus Group
Trichovirus Group

The mango leaf sample tested negative for the presence of known Phytoplasmas. A positive result in the Phytoplasma Nested PCR Test could not be confirmed by Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) analysis.

Thank you for using Agdia Testing Services. Please contact us by phone: (574)264-2014 or by fax: (574)264-2153 if you have any questions or comments.

Sincerely,

John Rascoe
Testing Services

Apéndice 2.

Identificación de ácaros por USDA

Alex Segarra (PI)

From: Leyinska.wiscovitch@aphis.usda.gov
Sent: Wednesday, October 20, 2004 9:05 AM
To: asegarra@uprm.edu; john@uprm.edu
Subject: Re: Neocalacarus mangiferae (Acari: Eriophyidae) New to Puerto Rico

Attachments: pic10568.gif; Neocalacarus.jpg



pic10568.gif (6 KB) Neocalacarus.jpg
 (110 KB)

Good afternoon!

As requested, these are the ID results for the Acari you send us for identification. Please, contact Lionel if you need additional information. I know he will gladly assist you in any way possible.

Also, in the last e-mail (see below), you will find a telephone number for the specialist who identify the pest, Dr. Ochoa. Feel free to call him for additional details.

Let us know how we can be of assistance.

Leyinska

(Embedded image moved to file: pic10568.gif)
 ----- Forwarded by Leyinska Wiscovitch/PR/APHIS/USDA on 10/19/2004 04:03 PM -----

Lionel Pagan

To: Leyinska Wiscovitch/PR/APHIS/USDA@USDA,
 Norma Rosario/PR/APHIS/USDA@USDA
CC:
Subject: Re: Fwd: Neocalacarus mangiferae
 (Acari: Eriophyidae) New to Puerto Rico

10/19/2004
 12:20 PM

Dr. Ronald Ochoa wants me to send all field information and observations regarding this new find in Puerto Rico. Please let me know.

Lionel Pagan - PPQ Entomologist
 USDA-APHIS-PPQ, P.O. Box 37521
 Airport Station, San Juan, P.R. 00921
 tel. 787-253-4699 -- fax. 787-253-7837
 150 Central Sector, Bldg. C-2
 Warehouse No. 3
 Carolina, P.R. 00979

----- Forwarded by Lionel Pagan/PR/APHIS/USDA on 10/19/04 10:53 AM -----

Peter A

Touhey

To: "ronald ochoa"
 <rochoa@sel.barc.usda.gov>, Lionel Pagan/PR/APHIS/USDA@USDA
CC:
Subject: Re: Fwd: Neocalacarus mangiferae

10/18/04
 05:31 PM

1

Channabasavanna 1966. Univ. Agric. Sci. Hebbal, Bangalore, India, pp. 101-102.

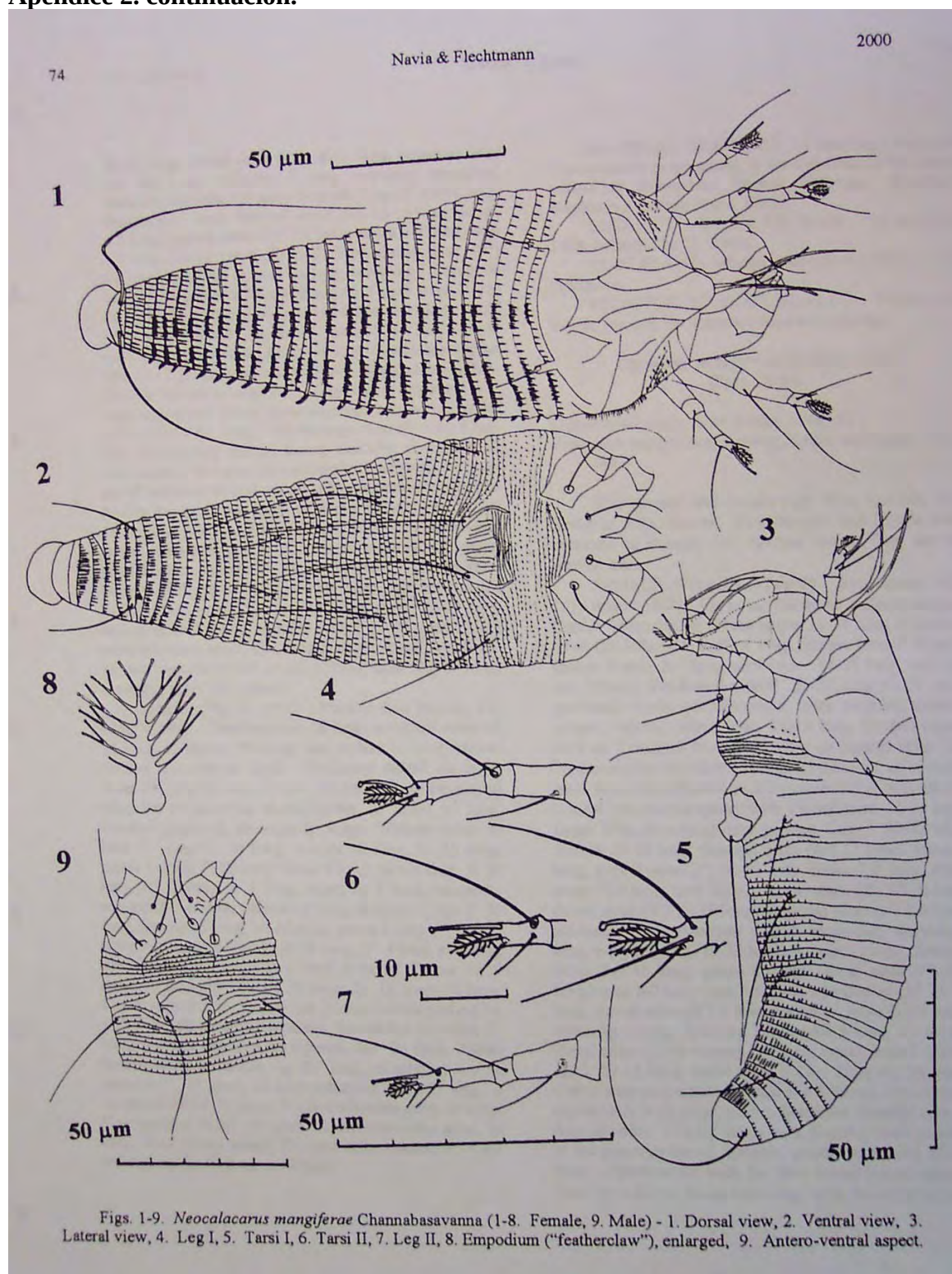
Amrine, J. W. 1996. Keys to the world genera of the Eriophyoidea (Acari: Prostigmata). Indira Publishing House, 186 pp.

Amrine, J.W. and T. A. Stasny. 1994. Catalog of the Eriophyoidea (Acarin Prostigmata) of the World. Indira Publishing House. 798 pp.

An illustration of the mite is attached.

(See attached file: Neocalacarus.jpg)

Apéndice 2. continuación.



Apéndice 3. Identificación de ácaros en “Invertebrate Diagnostician Central Science Laboratory” Sand Hutton York YO41 1LZ. UK.

Having thoroughly check the morphometrics of your specimens with the original description I can confirm that the preserved mites collected from *Spondias* spp. in Puerto Rico are in my opinion examples of *Neocalacarus mangiferae* Channabasavanna: Fam: Eriophyidae, the sole representative of this genus known at the present time.

This species was described in India in 1962 having been collected as a vagrant from the foliage of the common Mango (*Mangifera indica* L.). The original description states that this species does no apparent damage to the host. This species was also reported in Brazil in 2000 and Australia in 2002 also on Mango.

Your specimens are interesting as they represent both a new geographic record and more significantly *Spondias* is a new host record for this species, although both Mango and *Spondias* are as you know members of the plant family Anacardiaceae. To this end your find is worth publication particularly if the host can be accurately identified.

I hope that you find this information of some use, I am only sorry that it has taken so long to complete this identification, however accuracy is the most important consideration with such tasks.

Your specimens, the slides I have prepared in order to do the identification work and a covering letter will be sent back to you in due course and our invoice will follow thereafter.

If you have any addition questions regarding this identification please contact me directly.

Regards,
Joe

J C Ostojka-Starzewski Phone: +44 (0)1904 46 2213
Invertebrate Diagnostician GTN: 5129 2213
Central Science Laboratory Fax: +44 (0)1904 46 2250
Sand Hutton Email: J.Starzewski@csl.gov.uk
York YO41 1LZ. UK Web: <http://www.csl.gov.uk>

Apéndice 4. Poblaciones de *Polyphagotarsonemus latus* en árboles de 6 a 7 meses sin podar (ensayo #1) durante 8 semanas. (Hojas deformes = H. D.)

Ensayo	Tratamiento	Bloque	Replica	Ácaros	H. D.	Defoliación	Brotes
1	1	1	A	0	0	0	0
1	1	1	B	0	0	0	0
1	1	1	C	0	0	0	0
1	1	2	A	0	0	0	0
1	1	2	B	0	0	0	0
1	1	2	C	0	0	0	0
1	1	3	A	0	0	0	0
1	1	3	B	0	0	0	0
1	1	3	C	0	0	0	0
1	1	4	A	0	0	0	0
1	1	4	B	0	0	0	0
1	1	4	C	0	0	0	0
1	2	1	A	0	0	0	0
1	2	1	B	2	0	0	0
1	2	1	C	23	0	0	0
1	2	2	A	0	0	0	0
1	2	2	B	23	1	0	0
1	2	2	C	0	0	0	0
1	2	3	A	0	0	0	0
1	2	3	B	4	0	0	0
1	2	3	C	6	0	0	0
1	2	4	A	1	0	0	0
1	2	4	B	2	0	0	0
1	2	4	C	33	0	0	0
1	3	1	A	17	0	0	0
1	3	1	B	0	0	0	0
1	3	1	C	13	0	0	0
1	3	2	A	12	0	0	0
1	3	2	B	7	0	0	0
1	3	2	C	1	0	0	0
1	3	3	A	2	0	0	0
1	3	3	B	6	0	0	0
1	3	3	C	3	0	0	0
1	3	4	A	23	0	0	0
1	3	4	B	0	0	0	0
1	3	4	C	0	0	0	0
1	4	1	A	10	0	0	0
1	4	1	B	4	0	0	0
1	4	1	C	8	0	0	0
1	4	2	A	3	0	0	0
1	4	2	B	8	0	0	0
1	4	2	C	1	0	0	0
1	4	3	A	0	0	0	0
1	4	3	B	11	0	0	0
1	4	3	C	1	0	0	0
1	4	4	A	2	0	0	0
1	4	4	B	6	0	0	0
1	4	4	C	1	0	0	0

Apéndice 5. Poblaciones de *Polyphagotarsonemus latus* en árboles podados (ensayo 2) durante 8 semanas de muestreo. (Hojas deformes = H. D.)

Ensayo	Tratamiento	Bloque	Replica	Ácaros	H. D.	Defoliación	Brotes
2	1	1	A	0	0	0	0
2	1	1	B	0	0	0	0
2	1	1	C	0	0	0	0
2	1	2	A	0	0	0	0
2	1	2	B	0	0	0	0
2	1	2	C	0	0	0	0
2	1	3	A	0	0	0	0
2	1	3	B	0	0	0	0
2	1	3	C	0	0	0	0
2	1	4	A	0	0	0	0
2	1	4	B	0	0	0	0
2	1	4	C	0	0	0	0
2	2	1	A	1	0	0	0
2	2	1	B	16	0	0	0
2	2	1	C	5	0	0	0
2	2	2	A	0	0	0	0
2	2	2	B	17	0	0	0
2	2	2	C	1	0	0	0
2	2	3	A	0	0	0	0
2	2	3	B	14	0	0	0
2	2	3	C	4	0	0	0
2	2	4	A	0	0	0	0
2	2	4	B	0	0	0	0
2	2	4	C	21	0	0	0
2	3	1	A	7	0	0	0
2	3	1	B	7	0	0	0
2	3	1	C	0	0	0	0
2	3	2	A	1	0	0	0
2	3	2	B	0	0	0	0
2	3	2	C	13	0	0	0
2	3	3	A	1	0	0	0
2	3	3	B	0	0	0	0
2	3	3	C	3	0	0	0
2	3	4	A	3	0	0	0
2	3	4	B	3	0	0	0
2	3	4	C	20	0	0	0
2	4	1	A	0	0	0	0
2	4	1	B	12	0	0	0
2	4	1	C	26	0	0	0
2	4	2	A	3	0	0	0
2	4	2	B	0	0	0	0
2	4	2	C	30	0	0	0
2	4	3	A	8	0	0	0
2	4	3	B	7	0	0	0
2	4	3	C	15	0	0	0
2	4	4	A	8	0	0	0
2	4	4	B	28	0	0	0
2	4	4	C	22	0	0	0

Apéndice 6. Poblaciones de *Polyphagotarsonemus latus* en árboles de 6 semanas de germinados durante 8 semanas. H. D. = hojas deformes.

Ensayo	Tratamiento	Bloque	Replica	Ácaros	H. D.	Defoliación	Brotes
3	1	1	A	0	0	0	0
3	1	1	B	0	0	0	0
3	1	1	C	0	0	0	0
3	1	2	A	0	0	0	0
3	1	2	B	0	0	0	0
3	1	2	C	0	0	0	0
3	1	3	A	0	0	0	0
3	1	3	B	0	0	0	0
3	1	3	C	69	1	1	0
3	1	4	A	0	0	0	0
3	1	4	B	129	1	1	1
3	1	4	C	0	0	0	0
3	2	1	A	0	0	0	0
3	2	1	B	42	1	0	0
3	2	1	C	10	0	0	0
3	2	2	A	13	0	0	0
3	2	2	B	66	1	0	0
3	2	2	C	96	1	1	0
3	2	3	A	41	0	0	0
3	2	3	B	64	1	0	0
3	2	3	C	118	1	1	1
3	2	4	A	80	1	1	0
3	2	4	B	0	0	0	0
3	2	4	C	0	0	0	0
3	3	1	A	52	1	0	0
3	3	1	B	22	0	0	0
3	3	1	C	12	0	0	0
3	3	2	A	39	0	0	0
3	3	2	B	4	0	0	0
3	3	2	C	17	0	0	0
3	3	3	A	53	1	0	0
3	3	3	B	14	0	0	0
3	3	3	C	44	0	0	0
3	3	4	A	81	1	1	0
3	3	4	B	108	1	1	1
3	3	4	C	49	1	0	0
3	4	1	A	30	0	0	0
3	4	1	B	54	1	0	0
3	4	1	C	41	1	0	0
3	4	2	A	15	0	0	0
3	4	2	B	81	1	1	0
3	4	2	C	79	1	1	0
3	4	3	A	122	1	1	1
3	4	3	B	20	0	0	0
3	4	3	C	17	1	0	0
3	4	4	A	24	0	0	0
3	4	4	B	47	1	1	0
3	4	4	C	0	0	0	0

Apéndice 7. Poblaciones de *Polyphagotarsonemus latus* en árboles de 2 semanas de germinados durante 8 semanas. H. D. = hojas deformes.

Ensayo	Tratamiento	Bloque	Replica	Ácaros	H. D.	Defoliación	Brotes
4	1	1	A	0	0	0	0
4	1	1	B	0	0	0	0
4	1	1	C	0	0	0	0
4	1	2	A	36	1	0	0
4	1	2	B	0	0	0	0
4	1	2	C	0	0	0	0
4	1	3	A	0	0	0	0
4	1	3	B	0	0	0	0
4	1	3	C	0	0	0	0
4	1	4	A	0	0	0	0
4	1	4	B	0	0	0	0
4	1	4	C	98	1	1	1
4	2	1	A	14	0	0	0
4	2	1	B	14	0	0	0
4	2	1	C	38	1	0	0
4	2	2	A	101	1	1	1
4	2	2	B	36	1	0	0
4	2	2	C	35	1	0	0
4	2	3	A	18	0	0	0
4	2	3	B	15	0	0	0
4	2	3	C	27	0	0	0
4	2	4	A	45	1	0	0
4	2	4	B	37	1	0	0
4	2	4	C	120	1	1	1
4	3	1	A	21	0	0	0
4	3	1	B	31	1	0	0
4	3	1	C	56	1	1	0
4	3	2	A	81	1	1	1
4	3	2	B	14	0	0	0
4	3	2	C	27	1	0	0
4	3	3	A	26	0	0	0
4	3	3	B	21	0	0	0
4	3	3	C	68	1	1	0
4	3	4	A	32	1	0	0
4	3	4	B	53	1	1	0
4	3	4	C	0	0	0	0
4	4	1	A	4	0	0	0
4	4	1	B	26	0	0	0
4	4	1	C	3	0	0	0
4	4	2	A	74	1	1	1
4	4	2	B	67	1	1	0
4	4	2	C	49	0	0	0
4	4	3	A	7	0	0	0
4	4	3	B	58	1	1	0
4	4	3	C	54	1	1	0
4	4	4	A	63	1	1	0
4	4	4	B	64	1	1	0
4	4	4	C	31	1	0	0

Apéndice 8. Identificación de hongos aislados en árboles de mangó podados y en árboles del área de producción de patrones de mangó para injertos en la EEA.

 **CABI Bioscience**
A division of CAB International

Honorary Fellows:
Professor Henry J. Beker
Professor Stefan Buczacki
Dr Andrew Cockburn
Philippa David

Timothy Hutton
Dr Gabrielle Parsley
Professor Ian Swingle
The Rt Hon Lord Waldegrave
of North Hill

THE SCIENCE THE SEARCH THE SOLUTION

3 March 2005

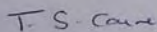
Our ref.: H29/05/YW5

Your ref.: fungi samples

Dear Dr Segarra,

In reply to your enquiry received on 14 February 2005, please find enclosed the Service's Identification Report on the material you submitted.

Yours sincerely,



Miss T.S. Caine,
Identification Service Manager

CABI BIOSCIENCE
IDENTIFICATION SERVICES

Report: H29/05/YW5

Your ref: fungi samples

Your number	IMI number	Identification and comments
sample 1	392993	Fusarium lateritium Nees. Teleomorph: <i>Gibberella baccata</i> (Wallr.) Sacc. This species is regarded as a weak pathogen, sometimes associated with cankers or dieback symptoms, especially on stressed host plants. This material has been discarded. Report from Dr P.F. Cannon.
sample 2	392994	Fusarium equiseti (Corda) Sacc. Teleomorph: <i>Gibberella intricans</i> Wollenw. This species is cosmopolitan in soils worldwide and has been isolated from a wide range of plant materials. It is not usually regarded as an aggressive pathogen, but may cause root, stem or post harvest fruit rots, or form part of disease complexes with other organisms. This material has been discarded. Report from Dr P.F. Cannon.

