

**Dinámica poblacional, comportamiento y microorganismos asociados a
Raoiella indica Hirst (Acari: Tenuipalpidae)
en *Cocos nucifera* L. (Palmae)**

Por

Lesly M. Colón Sánchez

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos

para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

EN

PROTECCION DE CULTIVOS

DEPARTAMENTO DE CULTIVOS Y CIENCIAS AGROAMBIENTALES
UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGUEZ
2011

Aprobado por:

Edwin Abreu, M.S
Miembro, Comité Graduado

Fecha

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

Fecha

Jose C. V. Rodrigues, Ph.D.
Presidente, Comité Graduado

Fecha

Jeannette Santos, Ph.D.
Representante de Estudios Graduados

Fecha

Hipólito O'Farrill Nieves
Director Interino del Departamento

Fecha

ABSTRACT

Raoiella indica Hirst (Acari: Tenuipalpidae) was first observed affecting *Cocos nucifera* in Puerto Rico and the island municipality of Culebra in 2006. The adaptation of this mite is quickly in the island because have multiple host, including coconut palm and bananas. The plant leaf area development is negatively affected by the *R. indica* feeding behavior. This mite is considered the most important pest of the Tenuipalpidae family on both crops.

This study was divided into three chapters: (I) Population dynamics at the effect of abiotic factors and systemic acaricide, (II) mite population behavior on different plant species and (III) microorganisms associated with mite populations. These studies provide basic information on mite biology and interactions with the environment and other microorganism on the island and could provide insights to develop strategies to reduce the negative impact caused by *R. indica* on the host plant species.

RESUMEN

Raoiella indica Hirst (Acari: Tenuipalpidae) fue reportada por primera vez atacando *Cocos nucifera* en Puerto Rico y la isla municipio de Culebra en el 2006. La adaptación de este ácaro ocurre rápidamente en la Isla debido a sus múltiples hospederos, incluyendo la palma de coco común y guineos. El desarrollo del área foliar de estas plantas se ve afectado negativamente por la alimentación de *R. indica*. Este ácaro se considera la plaga más importante de la familia Tenuipalpidae para ambos cultivos.

Este estudio se dividió en tres capítulos: (I) En la Dinámica poblacional ante el Efecto de factores abióticos y de un acaricida sistémico; (II) Comportamiento de la población del ácaro en diferentes plantas; y (III) Microorganismos asociados a las poblaciones acarinas. Este estudio aporta información básica sobre la biología e interacciones del ácaro con el ambiente y otros microorganismos en la isla. Además, proporciona nuevos conocimientos para el desarrollo de estrategias encaminadas a reducir el impacto negativo causado por *R. indica* a sus hospederos.

A mí querido Dios por tener un plan maestro para mí vida;
A mis abuelos Fernando Arroyo y Natividad Ruíz por ser mi ejemplo y los
responsables de mi vocación;
A mi amado esposo Ángel A. Rodríguez por que eres mi apoyo incondicional;
A mi amada hija Ainara Lyan por ser mi primavera, le distes fuerza y sentido a
mi vida....

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a los proyectos H-427, Z-200, Z-220 y Z-46 del Departamento Federal de Agricultura por financiar este trabajo de investigación. También al Departamento de Recursos Naturales por permitirnos coleccionar palmas para poder llevar a cabo este experimento. Adicionalmente un agradecimiento al Departamento de Agricultura de Puerto Rico, en especial a la Agro. Aixa Ramírez Lluch y Agro. Shirley Cruz por colaborar y aportar grandemente en esta investigación. Muchas gracias al Laboratorio de Secuenciación de la Universidad de Puerto Rico en Río Piedras por su profesionalismo, en especial a Dania por ser eficiente y brindarme de su tiempo para el análisis de los resultados de las secuenciaciones. Un especial agradecimiento a mi consejero el Dr. Jose Carlos V. Rodriguez por brindarme y exponerme a valiosas oportunidades académicas que me sirvieron para desarrollar un pensamiento crítico y crecer profesionalmente. Además, gracias por creer en mí, apoyarme, por ser un maestro y fuente de admiración. Mi gratitud a los miembros del comité Dra. Lydia I. Rivera y Prof. Edwin Abreu por colaborar en la elaboración de este trabajo investigativo. También, agradezco a todos los empleados de la Estación Experimental Agrícola de Río Piedras, en especial a la Sra. Enid Lizardi por colaborar y dar palabras de aliento en el transcurso de este proyecto. Un especial agradecimiento al Dr. Carl Welbourn por brindarme de su valioso tiempo y enseñarme un poco del mundo de los ácaros. Gracias a la Sra. Jeannette Morales y María Pagán, secretarias del Departamento de Protección de Cultivos. Deseo agradecer a mis compañeros de laboratorio Shirley Cruz, José I. Marengo, Raisha Octaviani, Isis J. López y Alberto Galindo por que hemos aprendido, llorado y compartido nuestras alegrías e investigaciones. También le doy gracias a la Sra. Carmen Cruz Colón, M.L.S por la corrección de éste escrito.

Finalmente agradezco desde mi corazón a mi madre y padre, María M. Sánchez e Hiram Colón por haberme dado la vida y ser mi apoyo cada vez que me sentía a la deriva. También le doy gracias a Aracelys Castro y Miguel Rodríguez por ser parte de mi familia, brindarme sabios consejos y sobre todo su apoyo. A mi titi Awilda Arroyo, mis hermanas (Tania y Patricia), amigas (Natalia y Nadja), cuñados y sobrinos por ser mis ángeles alegres y porristas de tesis.

TABLA DE CONTENIDO

ABSTRACT.....	ii
RESUMEN.....	iii
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTOS.....	v
LISTA DE TABLAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
CAPÍTULO I: DINÁMICA POBLACIONAL DE <i>Raoiella indica</i> ANTE LA INFLUENCIA DE FACTORES ABIÓTICOS Y UN ACARICIDA SISTÉMICO.....	25
INTRODUCCIÓN.....	26
MATERIALES Y MÉTODOS	
1 Dispersión de <i>Raoiella indica</i> en plantas individuales en invernadero	
1.1 Establecer la relación entre las poblaciones de <i>Raoiella indica</i> con el número de ácaros atrapados en placas Petri.....	28
1.2 Efecto de la precipitación simulada (27mm) sobre la dinámica poblacional de <i>Raoiella indica</i> en <i>Cocos nucifera</i>	30
1.3 Efecto de precipitación simulada (45mm) sobre la dinámica poblacional de <i>Raoiella indica</i> en <i>Cocos nucifera</i>	34
1.4 Sobrevivencia de <i>Raoiella indica</i> Hirst en agua y condiciones secas.....	36
1.5 Efecto de acaricida sistémico sobre <i>Raoiella indica</i> Hirst.....	38
RESULTADOS.....	39
DISCUSIÓN.....	60
CONCLUSIONES.....	64
CAPÍTULO II: COMPORTAMIENTO DE COLONIZACIÓN DE <i>Raoiella indica</i> EN DIFERENTES PLANTAS MONOCOTILEDÓNEAS	65
INTRODUCCIÓN.....	66
MATERIALES Y MÉTODOS	
1 Comportamiento de colonización de <i>Raoiella indica</i>	68
RESULTADOS.....	70
DISCUSIÓN.....	75

CONCLUSIONES.....	77
CAPITULO III: MICROORGANISMOS ASOCIADOS A <i>RAOIELLA INDICA</i> HIRST.....	78
INTRODUCCIÓN.....	79
MATERIALES Y MÉTODOS	
1 Aislamiento y caracterización molecular de hongos asociados a <i>Raoiella indica</i> Hirst.....	81
1.1 Caracterización molecular de hongos.....	81
2 Aislamiento de Bacterias.....	83
2.1 Caracterización molecular de bacterias.....	84
3 Análisis de resultados de hongos y bacterias.....	85
RESULTADOS.....	86
DISCUSIÓN.....	94
CONCLUSIONES.....	97
RECOMENDACIONES.....	98
LITERATURA CITADA.....	99

Lista de Tablas

Tablas	Página
Tabla 1. Ciclo de vida y características generales de los estadios de <i>R. indica</i>	8
Tabla 2. Plantas hospederas de <i>R. indica</i> . Tomado de Rodrigues y Ramírez (2007).....	12
Tabla 3. Enfermedades y plagas de importancia económica que afectan a la palma de coco, <i>Cocos nucifera</i>	17
Tabla 4. Ventajas y desventajas de microorganismo potenciales para el desarrollo de control biológico (Van Der Geest et al., 2000).....	24
Tabla 5. Valores promedios de ácaros (<i>R. indica</i> Hirst) atrapados en cinta adhesiva colocada alrededor de la base de la palma de coco.....	54
Tabla 6. Valores promedio de las poblaciones de <i>Raoiella indica</i> Hirst en la segunda hoja más joven expandida para las diferentes dosis de Vydate L. (oxamyl) en diferentes tiempos.....	58
Tabla 7. Porcentaje de identidad utilizado para la identificación de los hongos aislados de <i>R. indica</i> de la Reserva Natural de Humacao, P. R.....	91
Tabla 8. Bacterias aisladas de <i>R. indica</i> Hirst e identificadas de la localidad de Río Piedras, San Juan e Isla de Mona.....	94

Lista de Figuras

Figuras	Página
Figura 1. Distribución de <i>R. indica</i> Hirst en el Caribe.....	4
Figura 2. Ilustración del dimorfismo sexual de <i>R. indica</i>	6
Figura 3. Ninfa (a), exuvia (b) y huevos (c) de <i>R. indica</i> en la parte abaxial del foliolo.....	7
Figura 4. Familias hospederas de <i>R. indica</i> Hirst.....	11
Figura 5. Sintomatología asociada a la alimentación de <i>R. indica</i> en palma de coco común en la Reserva natural de Humacao (A) e invernadero de la Estación Experimental Agrícola de Río Piedras, Jardín Botánico Sur, P.R. (B) . Amarillamiento en la superficie abaxial de la hoja de palma de coco (C)	20
Figura 6. Sintomatología asociada a la alimentación de <i>R. indica</i> en <i>Musa</i> sp. en la localidad de (A) Planta de <i>Musa</i> sp. con amarillamiento foliar. (B) Hoja de <i>Musa</i> sp. con síntomas de amarillamiento en el borde laminar en etapa temprana de daños y (C) síntomas avanzados de daños provocados por la alimentación de <i>R. indica</i> . Fotos: Dr. Jose C. V. Rodrigues.....	21
Figura 7. Representación del diseño experimental de dispersión de <i>R. indica</i> en plantas individuales en invernadero.....	29
Figura 8. Diagrama de la zona de lecturas del índice del contenido de clorofila y conductancia estomatal en la segunda hoja joven expandida (hoja marcada).....	31
Figura 9. Promedio anual de precipitación durante los años 1971 al 2000 en la isla de Puerto Rico.....	32
Figura 10. Dibujo esquemático del experimento donde se estudió el efecto de la precipitación simulada sobre la dinámica poblacional de <i>R. indica</i> en invernadero.....	33
Figura 11. Cinta adhesiva colocada alrededor de la base de la palma de coco con pegamento en la parte inferior de la misma.....	34
Figura 12. Representación esquemática de la localización de los puntos de evaluación en palma de coco.....	35
Figura 13. Diagrama secuencial del experimento de sobrevivencia.....	37
Figura 14. Cantidad de ácaros colectados en placas Petri pasados 12, 24, 48 y 72 horas.....	40
Figura 15. Variación poblacional de <i>R. indica</i> bajo riego por aspersión (27mm) y control (riego directo a la base de palma) (A).....	43

Figura 16. Lecturas de (A) área foliar (cm ²), (B) índice del contenido de clorofila y conductancia estomatal (C) en el tratamiento de riego por aspersión (27mm) y control (riego directo a la base de la palma).....	44
Figura 17. Número de ácaros en la zona de proyección en la hoja y los ácaros atrapados en placas trampa bajo esta proyección en el tratamiento de riego por aspersión (27mm) (A) y control (riego directo a la base de la palma) (B).....	45
Figura 18. Regresión lineal del número de ácaros en la zona de proyección en la hoja y los ácaros atrapados en placas trampa bajo esta proyección en el tratamiento de riego por aspersión (27mm) (A) y el control (riego directo a la base de la palma) (B).....	46
Figura 19. Variación poblacional de <i>R. indica</i> bajo riego por aspersión (45mm) y control (riego directo a la base de palma) (A).....	50
Figura 20. Número de ácaros en la zona de proyección en la hoja y los ácaros atrapados en placas trampa bajo esta proyección en el tratamiento de riego por aspersión (45mm) (A) y control (riego directo a la base de la palma) (B).....	51
Figura 21. Regresión lineal del número de ácaros en la zona de proyección en la hoja y los ácaros atrapados en placas trampa bajo esta proyección en el tratamiento de riego por aspersión (45 mm) (A) y el control (riego directo a la base de la palma) (B).....	52
Figura 22. Lecturas de (A) área foliar (cm ²), (B) índice del contenido de clorofila y conductancia estomatal (C) en el tratamiento de riego por aspersión (45mm) y control (riego directo a la base de la palma).....	53
Figura 23. Palmas de cocos al finalizar el experimento donde se aplicó 45 mm de riego por aspersión semanalmente.....	54
Figura 24. Desarrollo miceliar en <i>R. indica</i> (A) y ácaro deshidratado (B).....	55
Figura 25. Sobrevivencia de <i>R. indica</i> en diferentes ambientes: agua, seco y control (“arena de hoja de palma”) a una temperatura de 26.0°C.....	56
Figura 26. Lecturas de área foliar (cm ²) (A) , (B) índice del contenido de clorofila y conductancia estomatal (C) en los tratamiento de control, 1, 3 y 5 ml.....	59
Figura 27. Colonia de <i>R. indica</i> en la superficie abaxial de la hoja de palma de coco (izquierda) y alimentación a través de las estomas (derecha).....	67
Figura 28. Tipos de “arena” utilizados para observar el comportamiento de <i>R. indica</i> Hirst en diferentes superficies foliares.....	69
Figura 29 Comportamiento de <i>R. indica</i> Hirst en la superficie foliar de <i>Bambusa</i> sp. (A).....	71

Figura 30. Comportamiento de <i>R. indica</i> Hirst en la superficie abaxial o adaxial de <i>Cocos nucifera</i> (A) y <i>Musa</i> sp. (B).....	72
Figura 31. Comportamiento de <i>R. indica</i> Hirst en la superficie abaxial o adaxial de <i>Heliconia</i> sp. (A) y <i>Bambusa</i> sp. (B).....	73
Figura 32. Comportamiento de <i>R. indica</i> Hirst en la superficie abaxial o adaxial de <i>Dendrobium</i> sp. (A).....	74
Figura 33. Condiciones necesarias para la desnaturalización (A), hibridación (B), extensión (C) y extensión final (D) en el proceso de PCR para la amplificación de la región ITS de los hongos asociados a <i>R. indica</i> utilizando los cebadores ITS1 e ITS del ADNr.....	83
Figura 34. Condiciones necesarias para la desnaturalización (A), hibridación (B), extensión (C) y extensión final (D) en el proceso de PCR para la amplificación de la unidad 16S del ácido desoxirribonucleico ribosomal (rADN) de bacterias asociadas a <i>R. indica</i> utilizando los cebadores fd1 y rp2.....	85
Figura 35. Sintomatología observada en <i>R. indica</i> Hirst con hongos.....	87
Figura 36. Grupo de especies de hongos aislados de <i>R. indica</i> Hirst con sus características macroscópicas.....	88
Figura 37. Grupo de especies de hongos aislados de <i>R. indica</i> Hirst.....	89
Figura 38. Frecuencia (%) de hongos aislados de <i>R. indica</i> Hirst de la Reserva Natural de Humacao, P. R.....	90
Figura 39. Producto de la amplicación (500-750 pb) de la región ITS del ADNr con los cebadores ITS 1 e ITS 4 de los diferentes grupos de hongos aislados de <i>R. indica</i> Hirst.....	90
Figura 40. Producto de la amplicación (1,500 pb) de la unidad 16S del rADN utilizando los cebadores universales fd1 y rp2 de diferentes bacterias aisladas de <i>R. indica</i> Hirst.	92

Introducción

Raoiella indica (Hirst) (Acari: Tenuipalpidae), el ácaro rojo de las palmas (ARP), es una plaga fitófaga que se alimenta a través de las estomas de la hoja causando daño al tejido foliar. Se considera polífaga ya que se alimenta de múltiples hospederos dentro de las monocotiledóneas, observándose una predilección hacia las Arecaceae, principalmente la palma de cocos común (*Cocos nucifera* L). Los otros hospederos de importancia económica atacados por *R. indica* son Musaceae (plátanos y los guineos). Se ha observado mayor infestación en las musáceas cuando se desarrollan cerca de palmas de coco infestadas (Marengo et al., 2009). Esta situación coloca a los países productores de musáceas en alerta.

El archipiélago de Puerto Rico se encuentra en el Caribe entre las latitudes 18°00' y 18°30' norte y longitudes 66°15' y 68°00 oeste. Se incluyen las islas municipios de Vieques y Culebras, islitas (Mona, Desecheo, Caja de Muerto, Piñero, Culebrita y Palominos), cayos e islotes (López y Villanueva, 2006). En el 2006 se encontró a *R. indica* infestando las palmeras de la isla municipio de Culebra y la costa este de Puerto Rico (Rodrigues et al., 2007). Este ácaro se ha establecido rápidamente alrededor de la isla encontrándose en palmas de coco de localidades costeras, como los son: San Juan, Luquillo, Humacao, Santa Isabel, Juana Díaz, Mayagüez e Isabela (Cruz et al., 2008). La palma de cocos común protege el terreno contra la erosión, alberga vida silvestre, aporta al ingreso bruto de producción agrícola de la isla, y además es de uso ornamental y paisajístico ya que adorna naturalmente el litoral costero de la isla. Mientras que las musáceas (plátanos y guineos) ocupan los primeros lugares dentro de los farináceos. (Departamento de Agricultura, 2007).

Debido a la reciente invasión de ARP a la Isla, existe poca información de la dinámica poblacional, comportamiento y los microorganismos asociados a éste. Este estudio pretende documentar aspectos básicos de su biología con el interés de desarrollar estrategias para su control.

Es importante estudiar los factores envueltos en la dispersión y el establecimiento del ARP en Puerto Rico. Los microorganismos asociados a éste también son un factor importante, principalmente aquellos que muestren potencial biocontrolador. Estos podrían ser incluidos en el desarrollo y establecimiento de un programa de manejo integrado de plagas, ya que ésta plaga pone en riesgo el mercado local de las musáceas en la isla, además de afectar el establecimiento y desarrollo natural de las palmeras.

Revisión de literatura

Ácaro rojo de las palmas

El ácaro rojo de las palmas (ARP), fue descrito por Hirst en 1924, atacando los folíolos de las palmas en Coimbatore, India (Hirst, 1924). Luego, se reportó en Oriente Medio y Noreste de África, dispersándose exitosamente por el Caribe haciendo su primera aparición en la isla de Martinica (Flechtmann y Etienne, 2004). En el 2005, se reporta en las islas de Santa Lucía y Dominica (Kane et al., 2005). El primer reporte de *R. indica* en la isla de Puerto Rico y la isla municipio de Culebra ocurrió en el 2006 (Rodrigues et al., 2007). En el 2007 se reportó en Venezuela y en algunos condados de la Florida por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, siglas en inglés) /APHIS (Animal and Plant Health Inspection Service) (Vásquez et al., 2008). Los datos más recientes informan al ARP en Brasil (Navia et al., 2010) y en Cuba (De la Torre et al., 2010) (Figura 1). En Cuba, existe gran preocupación por la introducción ya que las palmeras decoran los jardines de numerosos hoteles y además afecta la palma nacional o palma real (*Roystonea regia*) con posibles consecuencias sociales y culturales (Rodríguez et al., 2007). El viento, las tormentas y los huracanes son factores que pueden facilitar la dispersión de *R. indica* hacia otras áreas (Welbourn, 2006).

El ARP se ha encontrado afectando especies de las familias: Arecaceae y Musaceae (Welbourn, 2006). En Puerto Rico *R. indica* se considera una especie invasiva con potencial dañino en los cultivos de plátano y guineos, los cuales son parte del grupo de las cosechas. Las cosechas son el segundo grupo que más contribuye al ingreso bruto agrícola aportando un 41% (Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2007).

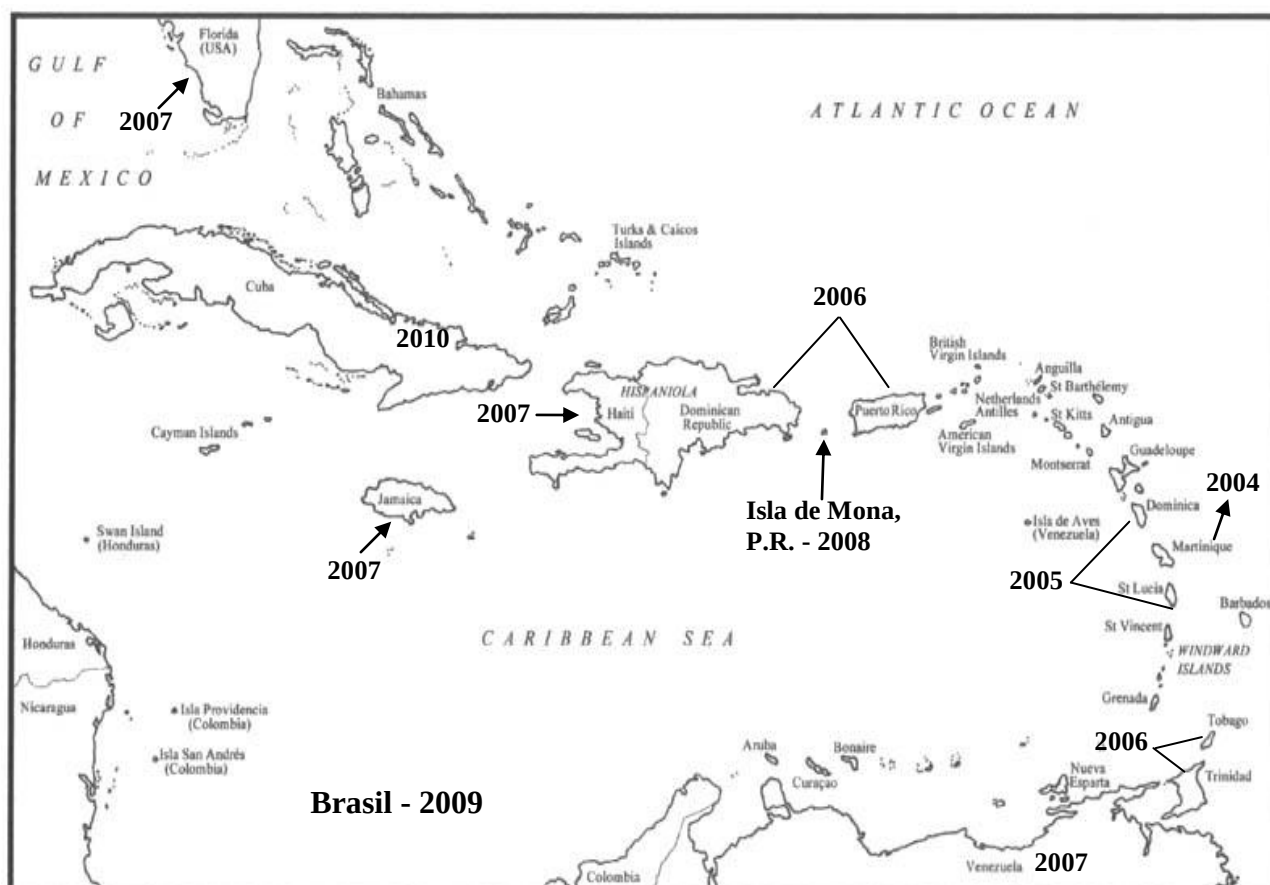


Figura 1. Distribución de *R. indica* Hirst por el Caribe.

Taxonomía y Morfología

El ácaro rojo de las palmas, pertenece al Filum: Arthropoda, Clase: Arachnida, Sub-clase: Acari, Orden: Prostigmata, Familia: Tenuipalpidae, Género: *Raoiella* y especie: *indica* (Hirst, 1924).

Entre las características generales de las especies de *Raoiella*, están: palpos con dos segmentos, el escudo propodosomal no está proyectado por encima del rostrum y tienen cuatro pares de setas histerosomales dorsosublaterales (Jeppson et al., 1975).

R. indica cuenta con dos pares de ojos simples en la región del propodosoma. Además, tiene 13 pares de setas dorsales alargadas con aspecto de barra y punta claviforme en la región del opistosoma. El idiosoma es de forma redondeada y los palpos están formados por dos segmentos (Mesa et al., 2009). El cuerpo no presenta estrías. La hembra es redonda y el escudo ventral anterior está ausente (Jeppson et al., 1975). Las hembras también presentan parchos oscuros en el cuerpo y miden aproximadamente 0.32 mm de largo (Sayed, 1942, citado por Peña et al. 2006). Existe dimorfismo sexual y se observa que los machos son de forma triangular y un poco más pequeños que las hembras (**Figura 2**).

Nombres comunes

Se mencionan diferentes nombres comunes en inglés, para *R. indica*, entre éstos se encuentra: “coconut red mite”, “red date palm mite”, “leaflet false spider mite”, “frond crimson mite” y “scarlet mite” (Peña et al. 2006). También existen nombres comunes en español, como por ejemplo: ácaro del coco, ácaro rojo del cocotero, falsa arañuela chata, ácaro rojo de las palmeras, ácaro carmesí y ácaro carmesí de la palma datilera (Rodríguez et al., 2007)

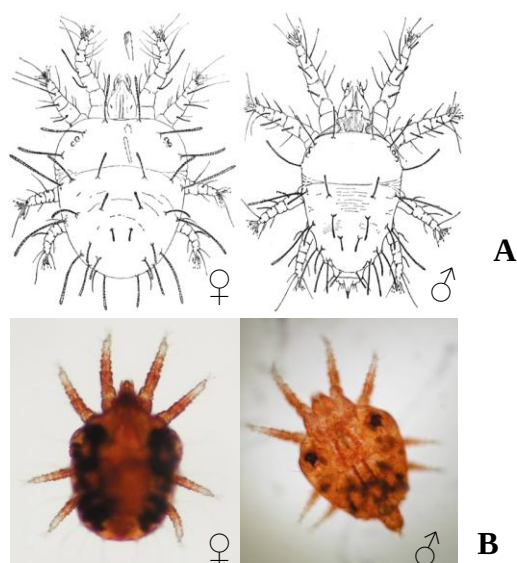


Figura 2. (A) Ilustración del dimorfismo sexual de *R. indica*. Tomado de Pritchard y Baker, 1955. (B) Fotos tomadas en el Laboratorio de Virología y Ciencias Moleculares, Estación Experimental Agrícola, Río Piedras.

Ciclo de vida

R. indica pasa por cinco estadios durante el transcurso de su ciclo de vida: huevo, larva, protoninfa, deuteroninfa y adulto (**Tabla 2**). Nagesha-Chandra et al., (1984) estudiaron el ciclo de vida de *R. indica*. El huevo es de textura lisa, coloración rosado-rojiza y esta pegado al envés de los foliolos. La larva es de color rojizo y movimiento lento y se alimenta de tejido foliar de tres a cinco días antes de enquistarse (Jeppson et al. 1975, Hoy et al., 2006). La protoninfa es de color rojizo y emerge con cuatro pares de patas y se alimenta de dos a cinco días antes de enquistar. La fase de enquistamiento tarda de uno a cuatro días antes de pasar a la fase de deuteroninfa (Hoy et al., 2006).

La deuteroninfa es de tamaño mayor que la protoninfa, demostrando una fase activa de 3.4 días y una fase de enquistamiento 2.67 días durante la reproducción sexual, eventualmente surge el adulto (Nagesha-Chandra et al., 1984).

El adulto es de mayor tamaño comparado con las dos etapas ninfales anteriores. El desarrollo de huevo hasta adulto dura 24.5 días y 20.6 en hembras y machos, respectivamente. La longevidad de las hembras fertilizadas es de 50.6 y 48.6 las no fertilizadas. El ciclo de vida de los machos es más corto que el de las hembras y dura 20.6 días (Nagesha-Chandra et al., 1984). Las hembras en condiciones de laboratorio pueden ovipositar entre uno a seis huevos, con un promedio de dos por día (Moutia, 1958) y un promedio 54 huevos durante su vida.

Apareamiento y Reproducción

El apareamiento del macho y la hembra en *R. indica* se da tan pronto emergen ya que están sexualmente maduros. El macho tiene ciclo de vida más corto que la hembra lo que le permite identificar a una hembra en la fase de enquistamiento en el estadio de deuteroninfa permaneciendo junto a ella para llevar a cabo la reproducción sexual. De esta reproducción se obtienen solo hembras. También presenta reproducción asexual partenogenética de tipo arrenotóquia donde las hembras colocan huevos no fecundados obteniendo solo machos (Nagesha-Chandra et al., 1984).



Figura 3. Ninfa (A), exuvia (B) y huevos (C) de *R. indica* en la parte abaxial del foliolo

Tabla 1. Ciclo de vida y características generales de los estadios de *R. indica*

^a Estadio	^b Producto de la reproducción		Características generales
	sexual	asexual	
Huevo • Periodo de incubación	8.0	7.3	100µm-largo y 80µm-ancho Ovoide y Blando Rojo-rosado “stipe” fino de 170-210µm en uno de los extremos
Larva • Fase activa • enquistamiento	3.5 1.91	2.7 1.70	135µm largo y 103µm ancho Tres pares de patas Rojo-naranja recién eclosionado
Protoninfa • Fase activa • enquistamiento	3.1 2.0	2.6 2.1	190µm largo y 135µm ancho Cuatro pares de patas Hembra-cuerpo ovoide con el opistoma ensanchado Macho-cuerpo mas estrecho en forma triangular
Deuteroninfa • Fase activa • enquistamiento	3.4 2.67	1.6 2.65	240-250µm largo 160-170µm ancho
Adulto Hembra • Fecundadas • No fecundadas Macho	Solo hembras 50.9 48.6	Solo machos 21.6	Hembra 298µm-largo 204µm- ancho Macho 224µm-largo 144µm-ancho Rojizo con marcas negras Más activo que las hembras

^a Se utilizó un rango de temperatura de 23.9-25.7°C y humedad relativa 59.85% para el estudio de los diferentes estadio de *R. indica*. Tomado de: Nagesha Chandra et al., 1984.

^b Promedio en días de cada estadio

Dinámica poblacional: Dispersión

El movimiento de los ácaros dentro de un hábitat es caminando de un lugar a otro en respuesta a la fuente alimenticia o al medio ambiente (Krantz, 2009). La dispersión dentro de la misma planta ocurre cuando hembras en etapa pre-reproductiva se mueven colonizando nuevos lugares en las plantas (Helle, 1962). La ausencia de alas en los ácaros dificulta su dispersión, obligándolos a utilizar otros factores para su movimiento (Krantz, 2009). Los ácaros también pueden dispersarse por medio de corrientes de aires, estrategia comúnmente utilizada por *Tetranychus urticae* Koch (Helle, 1962). Se ha demostrado que *Tetranychus pacificus* se dispersa a través del aire de árboles de almendra a árboles de algodón. Su dispersión ocurre cuando las poblaciones de ácaros son elevadas y el hospedero presenta stress hídrico o se ha aplicado acaricida (Grafton et al., 1991).

Otra forma de dispersión presentada en los ácaros es mediante foresia, mecanismo donde éstos utilizan a otros animales como medio de transporte moviéndose hacia ambientes favorables para ambos. Los transportadores utilizados para este tipo de dispersión son principalmente aquellos que visitan constantemente hábitats similares o adyacentes a los visitados por los ácaros (Boggs y Gilbert, 1987; Krantz, 2009). *Proctolaelaps vandenbergi* (Ryke), un ácaro específico de las flores de *Lantana* spp., se dispersa de un lugar a otro utilizando lepidópteros (mariposas). Este se mueve rápidamente hacia la probosis de las mariposas cuando estas se alimentan (Boggs y Gilbert, 1987). Al presente se desconoce el modo de dispersión utilizado *R. indica*.

Existen varias hipótesis relacionadas con la dispersión de *R. indica*. Se mencionan las corrientes de aires, el transporte de material vegetal y la actividad humana en áreas turísticas como posibles agentes dispersores (Rodríguez et al., 2007; Welbourn, 2006).

Para movimientos a cortas distancias *R. indica* camina en las plantas, mientras que para largas distancias utilizan plantas, equipos y personas (Rodrigues y Ramírez (2007). No hay datos cuantitativos sobre el modo de dispersión de la especie.

Las poblaciones de *R. indica* abundan en el campo entre los meses de septiembre a marzo en Mauritius. Durante eventos de lluvia fuertes en los meses de noviembre a enero las poblaciones del ARP declinan (Moutia, 1958). La población de *R. indica* aumenta con la disminución de la humedad relativa, altas temperaturas y los días largos (fotoperiodo) (Nagesha-Chandra et al., 1984 citado por Rodríguez et al., 2007). En un estudio sobre la influencia de factores abióticos sobre la incidencia de *R. indica* en palmas de cocos en Bengala demostró que solamente la temperatura tuvo relación positiva con las poblaciones del ácaro (Sakar et al., 1989).

R. indica es una especie exótica y se requiere de nuevas investigaciones encaminadas a estudiar los factores que favorecen la dispersión y colonización de diferentes hospederos. Esta plaga se ha distribuido favorablemente alrededor de la isla de Puerto Rico pero existe muy poca información que permita esclarecer estos eventos.

Un estudio realizado alrededor de la isla de Puerto Rico, se observó la diferencia en la cantidad de ácaros de *R. indica* colectados en palmas de coco (Cruz et al., 2008). Localidades con diferentes régimen pluviométricos presentaron distintos valores para los mismos. Esta investigación se utilizará como referencia para analizar el efecto de la precipitación en la dispersión de *R. indica*.

Hospederos

R. indica es una especie invasiva con la capacidad de adaptarse rápidamente en un ambiente natural nuevo. Éste cuenta con una amplia gama de hospederos (ver **Tabla 2**), facilitando su colonización en diversos ambientes. Este ácaro se han observado afectando ornamentales, varias especies de palmas y musáceas (**Figura 4**), pero tiene preferencia por las arecaceas con más de 13 especies hospederas (Hoy et al., 2006; Rodríguez et al., (2007). Los hospederos de *R. indica* más importantes que se le dará mayor énfasis en este estudio son *Cocos nucifera* y *Musa* sp.

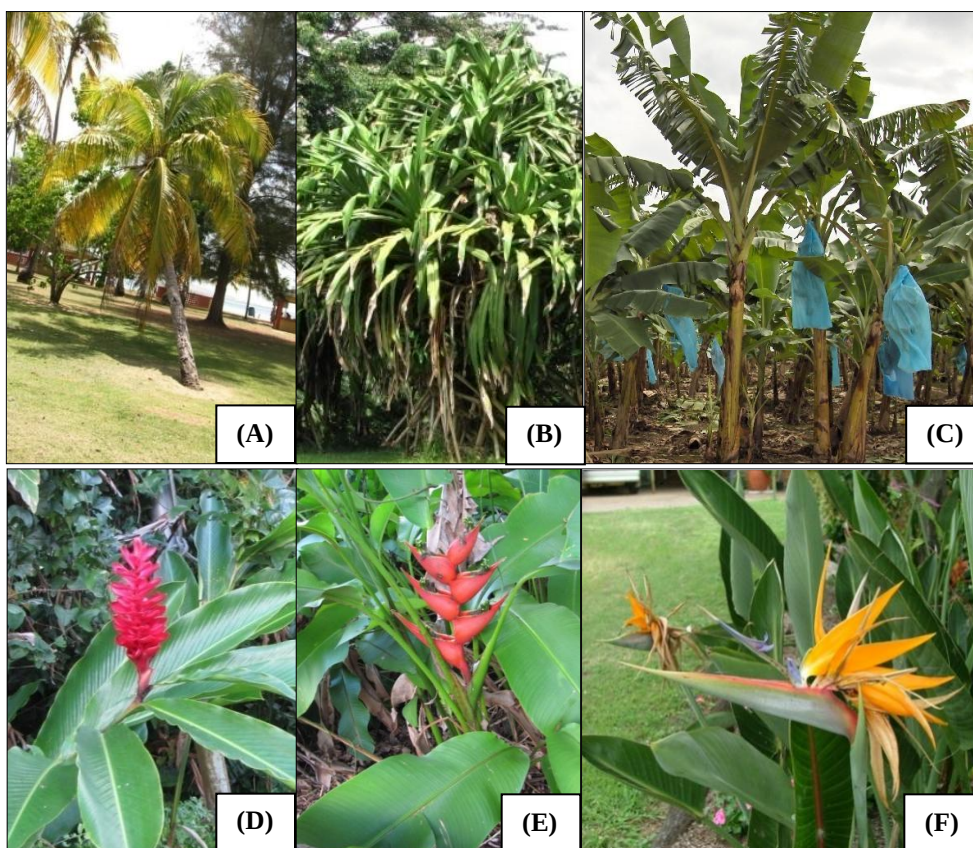


Figura 4. Familias hospederas de *R. indica* Hirst. **(A)** Arecaceae, **(B)** Pandanaceae **(C)** Musaceae, **(D)** Zingiberaceae, **(E)** Heliconiaceae y **(F)** Strelitziaceae

Tabla 2. Plantas hospederas de *R. indica* ^a

Familia Botánica	Nombre científico	Nombre común
Areaceae	<i>Acoelorrhaphe wrightii</i> H. Wendl. <i>Aiphanes</i> spp <i>Areca catechu</i> L. <i>Areca</i> spp. <i>Bactris plumeriana</i> Mart. <i>Caryota mitis</i> Lour. <i>Chamaedorea</i> spp. <i>Cocos nucifera</i> L. <i>Dictyosperma album</i> (Bory) Scheff. <i>Dypsis decaryi</i> (Jum.) Beentje & J. Dransf. <i>Dypsis lutescens</i> (H. Wendl.) Beentje & J. Dransf. <i>Licuala grandis</i> H. Wendl. <i>Livistona chinensis</i> R. Br. <i>Phoenix canariensis</i> Hort. Ex Chabaud <i>Phoenix dactylifera</i> L. <i>Phoenix reclinata</i> Jacq. <i>Pritchardia pacifica</i> Seem. & H. Wendl. <i>Pseudophoenix sargentii</i> H. Wendl. in Sarg <i>Pseudophoenix vinifera</i> (Mart.) Becc. <i>Ptychosperma elegans</i> (R.Br.)Blume <i>Ptychosperma macarthurii</i> H. Wendl. <i>Rhapis excelsa</i> Henry ex Rehder <i>Roystonea borinquena</i> O. F. Cook <i>Syagrus romanzoffiana</i> (Cham.) Glassman <i>Syagrus schizophylla</i> (Mart.) Glassman <i>Veitchia merrillii</i> (Becc.) H. E. Moore <i>Washingtonia robusta</i> H. Wendl.	Palmeto, Paurotis Palma coyor, Ruffle Palma catechu Palma areca Coco macaco, Palma melocotón Palma cola de pez Palma enana Palma de coco Palma princesa Palma triangular, Palma plateada Palma areca venezolana Palma licuala Palma abanico chino Palma datil de Canarias, Palma piña Palma de datil plateada Palma de Senegal reclinata Palma pritchardia “Buccaneer palm” “Cacheo, katié” Palma princesa falsa, Palma solitaria, Palma macarthur, Palma Manila Palma rafis, Palma bamboo Palma real Palma cocos plumosa Palma cocos Arikury Palma adonidia Palma Washingtonia
Heliconiaceae	<i>Heliconia bihai</i> L. <i>Heliconia caribaea</i> Lam. <i>Heliconia psittacorum</i> L.f. <i>Heliconia rostrata</i> Ruiz & Pavon	Langosta Caribea amarilla Cotorrita, Heliconia de sabana Langosta, rostrata
Musaceae	<i>Musa acuminata</i> Colla <i>Musa balbisiana</i> <i>Musa corniculata</i> Lour. <i>Musa sapientum</i> L. <i>Musa uranoscopus</i> Lour. <i>Musa x paradisiaca</i> L.	Guineo Guineo silvestre Guineo rojo Guineo Guineo ornamental rojo Plátano
Pandanaceae	<i>Pandanus utilis</i> Bory	Pandano
Strelitziaceae	<i>Ravenala madagascariensis</i> J. F. Gmel <i>Strelitzia reginae</i> (Banks)	Palma de viajero Ave del paraíso
Zingiberaceae	<i>Alpinia purpurata</i> K. Schum. <i>Etlingera elatior</i> (Jack) R. M. Sm.	Jengibre rojo Jengibre de antorcha

^aTomado de Rodrigues y Ramírez (2007)

***Cocos nucifera* L. (Familia: Arecaceae)**

La Familia Arecaceae alberga el mayor número de plantas hospederas de *R. indica*, como por ejemplo: *Roystonea borinquena* (Palma Real), *Veitchia merrilli* (Palma Adonidia), *Washingtonia robusta* (Palma Washingtonia) y *Cocos nucifera* (Palma de coco) (Rodrigues y Ramírez, 2007). La literatura señala la palma de coco como la principal hospedera de *R. indica* en ambientes naturales. Esta planta se utiliza para describir los síntomas presentados en el área foliar causados por la alimentación del ácaro (Hirst, 1924; Jeppson et al., 1975; Kane y Ochoa, 2006; Moutia, 1958; Rodrigues et al., 2007; Rodrigues y Ramírez, 2007; Sakar y Somchoudhury, 1989).

La palma de coco representa uno de los cultivos más importantes para el desarrollo de una sociedad por sus diversos usos. El fruto como sus foliolos tienen diversos usos, como por ejemplo: se utilizan como envases para orquídeas en jardines, construcción de hogares, sombreros y canastas como artesanías, jardinería y utensilios domésticos en la industria manufacturera (Dransfield y Cooke, 1999). En Indonesia es de consumo nacional y es exportado por Filipinas como aceite, copra (endospermo seco donde expulsa el aceite) y fruta deshidratada (consumo directo) (Rivera et al., 1999). Además, en la industria alimentaria y cosmética se utiliza el aceite extraído del fruto maduro en la fabricación de mantequilla, champúes, bronceadores, cremas para la piel y cabello. El uso alimentario más conocido es el consumo del agua de coco, que contiene un elevado número de sales minerales, vitaminas y carbohidratos. Uno de sus atributos más reconocido es su utilización en la Segunda Guerra Mundial como sustituto de suero al ser una bebida isotónica con los mismos electrolitos que la sangre (Ovallares et al., 2002).

El coco en Puerto Rico ocupa el octavo lugar dentro de los frutales de importancia económica. Para el año 2005-2006 hubo una producción de 4,105 millares, aportando \$879 mil dólares al ingreso bruto agrícola. Para el año fiscal 2007-2008 la aportación al ingreso bruto agrícola aumentó \$1.5 millones aproximadamente. Este aumento se debió al que el precio del millar aumentó de \$214.12 a \$416.91, mientras que la producción del fruto disminuyó a 3,415 millares (Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2007). No se tienen datos sobre la aportación de las diferentes especies de palmas a la industria de ornamentales.

Plagas y enfermedades en *Cocos nucifera* L.

Las plagas y enfermedades de las palmas tienen un impacto negativo en la calidad y rendimiento del cultivo (Chan y Elevitch 2006 citado por Mauro-Herrera et al., 2006). Existe un amplio rango de plagas y enfermedades que interfieren en el desarrollo de la planta, como por ejemplo: infestación por virus, viroides y fitoplasmas (Agrios, 2005; Chan y Elevitch, 2006). También son atacadas por hongos que reducen el crecimiento de la planta y afectan su follaje (Elliot et al., 2004), protozoarios flagelados (Dollet, 2001), bacterias (Mejía et al., 2004), nemátodos (Griffith, 1987) y artrópodos.

Entre las enfermedades que afectan la palma de coco están: el amarillamiento letal del cocotero causado por un fitoplasma e identificado por primera vez en Jamaica (Eden-Green, 1982). En Filipinas se identificó la enfermedad *Cadang-cadang* causada por el viroide CCCvd (Hanold y Randles, 1989). Otra enfermedad que afecta el área foliar de las palmas es la causada por el oomiceto *Phytophthora palmivora*, conocida como la pudrición de los brotes (Sharpies, 1922). En Hawaii se describió otra especie, *P. katsurae* causante de la pudrición del corazón de la palmera (Chan y Elevitch, 2006) (**Tabla 1**).

También los insectos que son plaga tienen consecuencias devastadoras en las plantaciones de palmas de cocos. Los escarabajos atacan los puntos de crecimiento de las palmas causando torseduras y en casos severos la muerte. También las orugas de los lepidópteros son potenciales en el deterioro de las palmeras (Dransfield y Cooke, 1999) (**Tabla 3**). Las larvas de *Homaledra sabalella* (Lepidoptera: Coleophoridae) conocido como el “oruga tejedora de las palmas” se alimenta de las superficies de las frondas dejando el área de las venas intactas causando posteriormente la muerte de la hoja. Esta especie se ha reportado en la Florida y Puerto Rico (Howard y Abreu, 2007).

Otra plaga que se encuentra comúnmente causando daño a la familia Arecaceae son los ácaros. La alimentación de los ácaros afectan a las plantas al romper el tejido epidermal y remover el contenido celular. Además, pueden inyectar reguladores de crecimiento, toxinas o transmitir enfermedades virales. Los ácaros también pueden ser dispersadores de enfermedades causadas por hongos. Estos están limitados a una sola área por no poseer alas para su dispersión siendo un factor importante en el incremento de los índices de la enfermedad (Jeppson et al., 1975).

Uno de los ácaros que se ha encontrado afectando la palma de coco es el eriófido del cocotero, *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae), reportado en México en 1965 (Keifer, 1965 citado por Navia et al., 2005) y confinándose en Puerto Rico en 1986 (Medina y Abreu, 1986) y en Florida, E.U. (Howard et al., 1990). La sintomatología observada en los frutos de coco son: cicatrices y malformaciones con caída prematura. Estos síntomas se observaron tanto en viveros como en su estado natural (Howard y Abreu, 2007).

Recientemente se ha reportado en el Caribe el ácaro, *R. indica* causando graves problemas en el desarrollo y establecimiento de nuevas palmas. No se conoce si la alimentación de *R. indica* esta relacionada con otras enfermedades o posee un rol de dispersador.

Tabla 3. Enfermedades y plagas de importancia económica que afectan a la palma de coco, *Cocos nucifera*.

Enfermedades	Nombre en inglés	Nombre en español	Organismo	Localidad	Referencia
	Basal stem rot	Pudrición basal	<i>Ganoderma lucidum</i>	India	Vijayan y Natarajan (1972)
	Bud rot	Pudrición de la yema Pudrición del cogollo de la palma	<i>Phytophthora palmivora</i>	Gran Caymán Florida India	Menon, y Pandalai (1958) Sharpies (1922) Butler (1906)
	Bipolaris leaf blight	Tizón de las hojas	<i>Bipolaris incurvata</i>	India Islas Andaman Jamaica Australia Filipinas	Rao (1988) Farr et al., (1989) Uchida y Aragaki (1991)
	Cadang-cadang	Enfermedad de cadang-cadang	<i>Coconut cadang-cadang viroide</i>	Filipinas	Hanold y Randles, (1989)
	Lethal yellowing	Amarillamiento letal	<i>Phytoplasma</i>	Jamaica Guatemala Puerto Rico	Eden-Green, (1982) Mejía et. al., (2004) Rodrigues, et al., (2010) (en prensa)
	Red ring disease	Anillo rojo del cocotero	<i>Bursaphelenchus cocophilus</i> (<i>Rhadinaphelenchus cocophilus</i>)	Trinidad Ecuador Salvador Panamá Colombia Ecuador Venezuela Guyana Brasil Granada y Republica Dominicana	Griffith (1987) Blair (1967)
	Root rot	Pudrición de la raíz	<i>Phytophthora arecae</i>	India Filipinas Puerto Rico	Ploetz y Mitchell (1989)

Tabla 3. Continuación

	Nombre en inglés	Nombre en español	Organismo	Localidad	Referencia
Plagas	Red palm mite	Ácaro rojo de la palma	<i>R. indica</i>	India Martinica Santa Lucía y Dominica Guadalupe y San Martín Puerto Rico Haití y Jamaica Florida, E. U. Venezuela Brasil	Hirst (1924) Flechtmann y Etienne (2004) Kane et al., (2005) Etienne y Flechtmann (2006) Rodrigues et al., (2007) Welbourn (2007) Vásquez et al., (2008) Navia et al., (2010)
	Coconut mite	Eriófido del cocotero	<i>Aceria guerreronis</i>	Florida, E.U. Puerto Rico	Howard et al., (1990) Medina y Abreu, (1986)
	Palm leaf skeletonizer	Oruga tejedora de las palmas	<i>Homaledra sabalella</i>	Puerto Rico Florida	Howard y Abreu, (2007)
	American palm cixiid	Cixíido americano de las palmas Saltón de las palmas	<i>Myndus crudus</i>	Jamaica	Howard (2006)
	Banana moth	Taladro de la palmera	<i>Opogona sacchari</i>	Hawái	Nelson y Wright (2005)
	Coconut white fly	Mosca blanca del cocotero	<i>Aleurodicus pulvinatus</i>	Caribe, Centro y Sur América	Moses et. al., (2001)
	Rhinoceros beetle	Escarabajo rinoceronte del cocotero	<i>Strategus oblongus</i>	Puerto Rico	Martorell, 1976

Síntomas relacionados con la alimentación de *R. indica* en *Cocos nucifera*

En la isla de Mauritius, las palmeras más jóvenes presentan daños severos durante el verano, éstas presentan un color amarillento, causado por la combinación de la alimentación del *R. indica* y la temporada seca (Jeppson et al. 1975). La sintomatología presentada en hojas de palmas de coco en Puerto Rico se describe con el comienzo de un punto amarillo pálido en la parte abaxial de la superficie de la hoja que se va agrandando con el tiempo. Según se desarrollan los síntomas en los foliolos, estos se van deteriorando por ambos lados causando el desecamiento de las puntas y obteniendo un color marrón cobrizo (Rodrigues et al. 2007).

En el campo la sintomatología provocada por el ataque de *R. indica* en hojas de palma de coco puede ser confundido con síntomas de deficiencias nutricionales y otras enfermedades (Rodrigues y Ramírez, 2007). La enfermedad llamada “el amarillamiento letal del cocotero” provocada por un fitoplasma, presenta síntomas de clorosis en las hojas y en los comienzos de la enfermedad se puede observar la inflorescencia distorsionada. Además, las flores masculinas pueden cambiar de color crema, amarillo o anaranjado a un color café, confundiéndolo con los síntomas provocados por el ácaro. La forma de distinguir entre ambas sintomatología es observando la presencia de ácaros en la superficie abaxial de las hojas (Peña et al., 2006).

***Musa* sp. (Familia: Musaceae)**

Dentro de la familia de las Musáceas se encuentran los plátanos y los guineos, estos son cultivos sembrados comúnmente en los trópicos, incluyendo Puerto Rico (Irizarry et al., 1995). Estos cultivos son considerados dos de los más importantes mundialmente, al ser parte de la dieta alimenticia de los países tropicales (Valerio et al., 2002). En Puerto Rico, el plátano y los guineos ocupan el primero y segundo lugar dentro de los farináceos de importancia económica, respectivamente.

Para el año fiscal 2007-2008 los farináceos aportaron una cifra preliminar de \$99, 985 millones al ingreso bruto agrícola, donde el plátano y la banana aportaron en conjunto \$94,971 millones (Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2007).

Síntomas relacionados a la alimentación de *R. indica* en *Musa sp.*

En las musáceas la sintomatología provocada por la alimentación de *R. indica* se manifiesta de forma diferente comparada con la presentada en *C. nucifera*. Las hojas de banana presentan amarillez y el borde comienza a secarse hasta que muere. La pérdida de hojas en la planta provoca disminución en su desarrollo provocando pérdidas económicas (Rodrigues et al. 2007) (**Figura 6**).

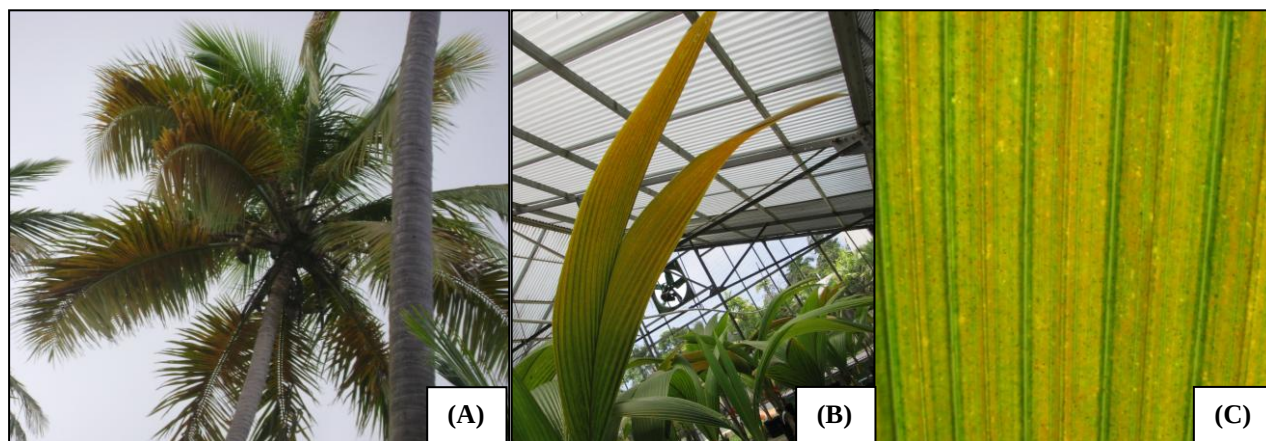


Figura 5. Sintomatología asociada a la alimentación de *R. indica* en palma de coco en la Reserva natural de Humacao **(A)** e invernadero de la Estación Experimental Agrícola de Río Piedras, Jardín Botánico Sur, P.R. **(B)**. Amarillamiento en la superficie abaxial de la hoja de palma de coco**(C)**.

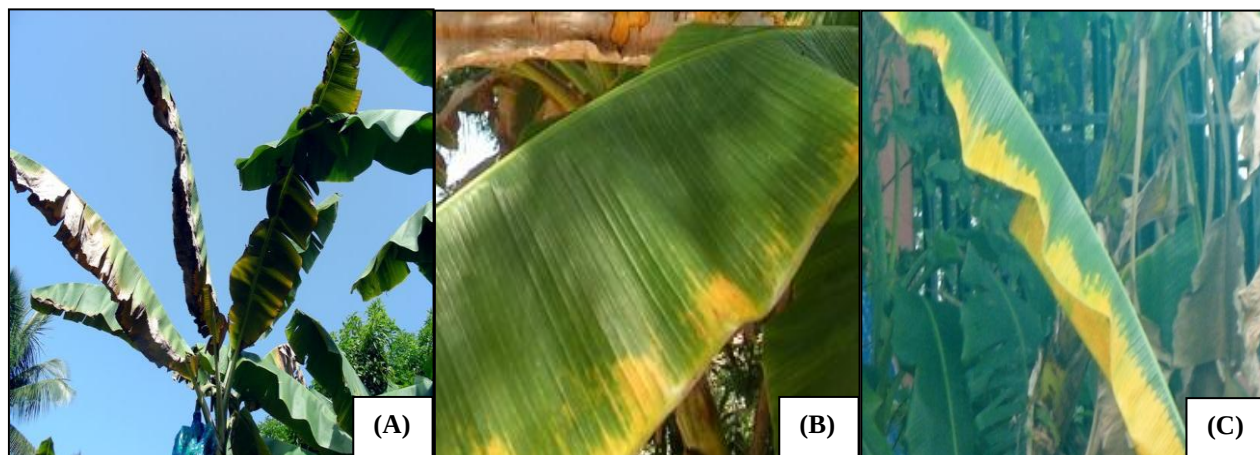


Figura 6. Sintomatología asociada a la alimentación de *R. indica* en *Musa* sp. **(A)** Planta de *Musa* sp. con amarillamiento foliar. **(B)** Hoja de *Musa* sp. con síntomas de amarillamiento en el borde laminar en etapa temprana de daños y **(C)** síntomas avanzados de daños provocados por la alimentación de *R. indica*. Fotos: Dr. Jose C. V. Rodrigues.

Enemigos naturales

Los enemigos naturales son utilizados para el control de insectos y ácaros, estos incluyen parasitoides (común en insectos), depredadores y microorganismos (Hajek, 2002). En India se ha reportado importantes depredadores potenciales de *R. indica*, donde éste se describió por primera vez. Entre estos se encuentran *Stethorus keralicus* Kapur (Coleoptera: Coccinellidae) y *Amblyseius channabasavanni* (Parasitiforme: Phytoseiidae). Donde las hembras del depredador *A. channabasavanni* son efectivas consumiendo huevos y hembras de *R. indica* (Daniel et al. 1981). En Mauritius se observó a *Typhlodromus (Amblyseius) caudatus* Berlese depredando solo huevos. Las ninfas y los adultos de éste pueden consumir un promedio de 10.6 huevos por día (493 huevos durante su ciclo de vida activo) (Moutia, 1958).

En Puerto Rico se ha encontrado con mayor frecuencia a *Amblyseius largoensis* Muma (Acari: Phytoseiidae) asociado a *R. indica*. La depredación de *A. largoensis* se corroboró extrayendo el ADN de éste. Luego se utilizaron cebadores específicos para la amplificación del ADN mitocondrial de *R. indica* (Cruz et al., 2008).

Una desventaja de algunos depredadores es que estos pueden desaparecer una vez la población de los ácaros fitófagos disminuye siendo este un periodo corto de control (Walzer et al., 1999). Por esta razón, es necesario encontrar diversos enemigos naturales autóctonos como medida de control efectiva y viable de los ácaros (Rosas-Acevedo y Sampedro, 2006).

Otros candidatos que se pueden utilizar como enemigos naturales son los microorganismos, como por ejemplo: virus, bacterias y hongos (**Tabla 4**) (Van Der Greest et al., 2000). La infestación por virus y bacterias en los ácaros ocurre cuando estos son ingeridos durante su alimentación, mientras que los hongos pueden penetrar a través de la cutícula del hospedero (Hajek, 2002).

Los hongos prometen un mayor éxito en el control de ácaros ya son enemigos naturales y poseen características positivas para su desarrollo como bioacaricidas. Los hongos más destacados como patógenos de ácaros y ácaro-específicos son: *Hirsutella thompsonii* (para eriófidos) y *Neozygites floridana* (para tetránquidos) (Chandler et al., 2000). Una característica que presenta *R. indica* es que habita en la zona abaxial de las hojas donde se encuentran las estomas creando un ambiente saturado de humedad que puede favorecer el crecimiento de hongos biocontroladores.

El daño en Puerto Rico y en el Caribe causado por *R. indica* ha ido en aumento, lo que hace necesaria la búsqueda de enemigos naturales que reduzcan las poblaciones de esta plaga para evitar daños económicos significativos. También, ofrece una alternativa para el uso indiscriminado de plaguicidas que podría provocar resistencia en los ácaros.

Se ha observado resistencia a tratamientos químicos en 17 especies de ácaros de la Superfamilia: Tetranychoida y seis especies con resistencia a múltiples plaguicidas (Cranham y Helle, 1985 citado por Chandler et al., 2000).

En un estudio realizado alrededor de la isla de Puerto Rico se destacaron zonas que presentaron menor número de individuos de *R. indica* en hojas de palma de coco como: Isabela, Río Piedras y Mayagüez (Cruz et al., 2008). Estas observaciones establecen una base para especular que existen microorganismos que evitan que estas poblaciones alcancen grandes densidades poblacionales. Esto provee una avenida para la búsqueda de microorganismos biocontroladores asociados a *R. indica*.

Tabla 4. Ventajas y desventajas de microorganismo potenciales para el desarrollo de control biológico (Van Der Geest, et al., 2000)

Enfermedades en los ácaros y su utilización como biocontroladores		
Microorganismo	Ventajas	Desventaja
Bacteria (toxina thuringensin)	Estable a altas temperaturas	Pocos reportes de efectos en ácaros Aparente no susceptibilidad en ácaros Instar jóvenes son los más susceptibles No es selectivo Afecta depredadores (Phytoseiido)
Virus	Reduce la población de ácaro rojo de los cítricos en E.U. Colección de ácaros infectados en el campo es fácil No necesita equipo especializado solo un succionador Bajo costo No afecta algunos Phytoseiido	Solo se puede cultivar en organismos vivos Costoso Campos pequeños Inactivación al estar expuesto a rayos solares
Hongos	Se puede utilizar la fase sexual y la fase asexual Se pueden encontrar en su ambiente natural Cultivo en masa	Necesitan humedad y temperaturas óptimas

CAPÍTULO 1. DINÁMICA POBLACIONAL DE *Raoiella indica* ANTE LA INFLUENCIA DE FACTORES ABIÓTICOS Y UN ACARICIDA SISTÉMICO

Introducción

R. indica Hirst fue descrito primeramente por Hirst en el 1924 en Coimbatore, India, éste se encontraba afectando los foliolos de las palmas de coco (Hirst, 1924). En el 2004 se publica el primer reporte de *R. indica* en el Caribe en la isla de Martinica (Flechtmann y Etienne, 2004). Luego continua dispersándose hacia las islas de Santa Lucía (2005), Dominica (2005), Puerto Rico (2006), Florida, E.U. (2007), Venezuela (2008) y Brasil (2010) (Kane et al., 2005; Rodrigues et al., 2007; Vásquez et al., 2008 y Navia et al., 2010).

R. indica (Hirst) (Acari: Tenuipalpidae) es un ácaro polífago que se alimenta a través de las estomas causando daños al tejido foliar de plantas monocotiledóneas. Se ha observado afectando principalmente la palma de cocos común (*Cocos nucifera* L) y Musaceas (plátanos y los guineos) (Welbourn, 2006).

Los factores envueltos en la dispersión de *R. indica* todavía no están esclarecidos. Rodrigues y Ramírez (2007) mencionan que puede dispersarse caminando, a través de plantas y equipos infectados, y la actividad humana. El viento, las tormentas y los huracanes son posibles factores envueltos en la dispersión hacia grandes y nuevas áreas (Welbourn, 2006). Otros autores especulan que las lluvias fuertes declinan las poblaciones de *R. indica*, mientras que la humedad relativa, temperaturas altas y el fotoperiodo pueden incrementarlas (Moutia, 1958; NageshaChandra y ChannaBasavanna, 1984). Los estudios realizados sobre la relación de la temperatura, humedad relativa y precipitación en las poblaciones de *R. indica* indicaron que solamente la temperatura demostró tener importancia (Sakar y Somchoudhury, 1989). Es necesario realizar nuevos estudios que permitan esclarecer los factores que afecten la dispersión de este ácaro.

Para entender la dinámica poblacional de *R. indica* en un ambiente tropical fue necesario estudiar y evaluar diferentes factores abióticos, como la precipitación, temperatura y humedad relativa que podrían influir en el desarrollo y establecimiento de ésta.

El propósito de este estudio fue observar la dinámica poblacional de los *R. indica* en las hojas de palmas de coco (*Cocos nucifera* L.) en invernadero y determinar si estos se dispersan desde hojas infectadas hacia estratos inferiores, si son afectados por la precipitación o por la aplicación de un acaricida sistémico. También se calculó el índice de sobrevivencia de *R. indica* en ambientes de seco y de saturación de humedad en estudios de laboratorios.

Materiales y Métodos

1 Dispersión de *Raoiella indica* en plantas individuales en invernadero

1.1 Establecer la relación entre las poblaciones de *Raoiella indica* con el número de ácaros atrapados en placas Petri

Se establecieron 18 palmas (especie) infectadas con *R. indica*, colectadas en la Reserva Natural de Humacao en los invernaderos localizados en la Estación Experimental Agrícola de Río Piedras, San Juan, P. R. Estas fueron sembradas en tiestos de 20 litros con un sustrato comercial (Sun Gro Sunchine® mix #2). Cada palma tenía una altura aproximada de un metro y de dos a tres hojas verdes expandidas. Luego se colocaron cuatro placas Petri (90 x 15mm) con jabón (para reducir la tensión que provoca la superficie del agua) debajo de la hoja marcada (hoja con posición más accesible, evitando solapamiento con otras hojas) de cada una de las palmas. Se trazó el área de proyección de las placas en la hoja marcada como infectada. En esta área se marcaron 10 puntos al azar y se contó el número de ácaros, utilizando un lente de mano de magnificación 10x. Cada punto equivale a 1.7 cm² de área de observación. Las lecturas poblacionales se realizaron antes de colocar las placas Petri (**Figura 7**). La contabilización del número de ácaros atrapados en las placas se realizó a las 12, 24, 48 y 72 horas, con un estereoscopio en el laboratorio. El riego se realizó directo a la base de la palma para evitar perturbación en la población

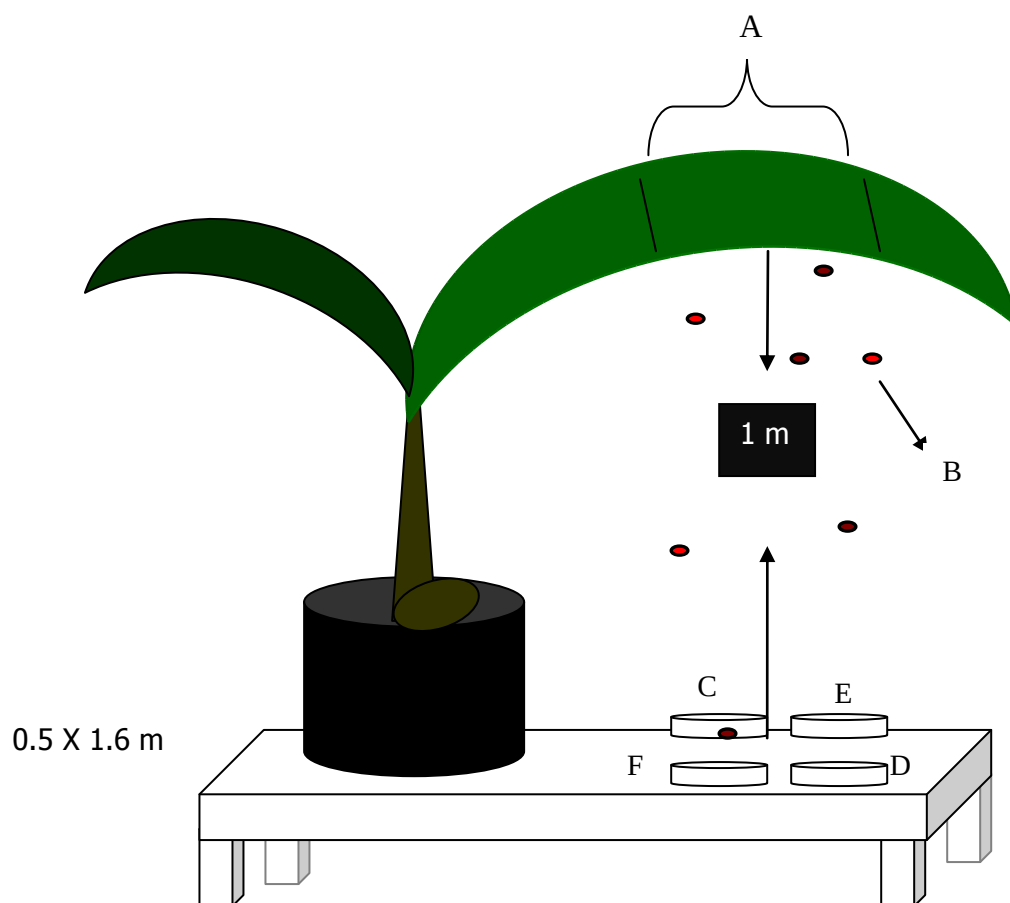


Figura 7. Representación del diseño experimental de dispersión de *R. indica* en plantas individuales en invernadero. (A) Zona de proyección, (B) dispersión de los ácaros e intervalos de tiempo donde se removieron las placas (C) 12 horas, (D) 24 horas, (E) 48 horas y (F) 72 horas

1.2 Efecto de la precipitación simulada (27mm) sobre la dinámica poblacional de *Raoiella indica* en *Cocos nucifera*

Se utilizaron 10 palmas de coco común infectadas por cada tratamiento (precipitación y no precipitación) para un total de 20 palmas. Se utilizaron palmas adicionales como barrera central para evitar el movimiento del agua causada por eventuales corrientes de aire hacia el otro tratamiento. Estas fueron colectadas, sembradas y abonadas (osmocote® 14-14-14) previamente. Las palmas tenían un arreglo alterno para evitar solapamiento entre ellas, recibiendo la misma cantidad de agua y humedad. También, se colocaron 16 palmas barrera alrededor de cada tratamiento. Se asperjó 27 mm de agua semanalmente en días alternados (lunes, miércoles y viernes) en uno de los tratamientos y en el otro tratamiento se aplicó riego directamente a la base de la palma (control) en los mismos intervalos de tiempo (**Figura 10**). La cantidad de agua aplicada a las palmas se calculó a base del promedio anual de precipitación (1,300 mm/anuales) que recibe la isla de Puerto Rico. Dato suministrado por: La Administración Nacional Oceánica y Atmosférica (siglas en ingles: NOAA) y Servicio Nacional del Tiempo (siglas en inglés: NWS) (**Figura 10**). Se utilizaron dos pluviómetros (True-Chek®) para colectar y medir el agua asperjada. Cada palma tenía aproximadamente de cuatro a seis hojas expandidas. Se seleccionaron y rotularon dos hojas por cada palma. Una de las hojas era la segunda más joven expandida en donde se realizaron 10 lecturas al azar con un lente 10 X a lo largo de la hoja para contabilizar los ácaros. La otra hoja se escogió de acuerdo a su posición (más accesible) donde se colocó debajo una placa Petri (150 x 25mm) con agua y jabón. Luego se marcó en la hoja la zona de proyección de las placas. En ésta zona de proyección también se realizaron 10 lecturas al azar con un lente 10 X.

Las placas se colocaron de viernes a lunes (72 horas) donde no se aplicaba ningún tipo de riego para que las poblaciones de los ácaros no fueran perturbadas. Después de 72 horas las placas Petri fueron removidas y bajo estereoscopio se contabilizó el número de ácaros atrapados.

Se realizaron lecturas de conductancia (Leaf porometer SC-1, Decagon) e índice del contenido de clorofila (Chlorophyll concentration meter - CCM 200-Apogee) en la segunda hoja joven expandida (hoja marcada) (**Figura 8**). Las lecturas de clorofila se realizaron en cinco puntos marcados hacia lo ancho de la hoja y las lecturas de conductancia se realizaron junto a estas. Las lecturas se realizaron entre los 30 a 35 cm de la hoja, comenzando desde la punta.

Además, se evaluó el área foliar total de la planta al principio y final del experimento. Las lecturas de las poblaciones se realizaron mensualmente por un periodo de cuatro meses. Las lecturas de humedad relativa y temperatura se tomaron antes y después de aplicar el riego por aspersión.

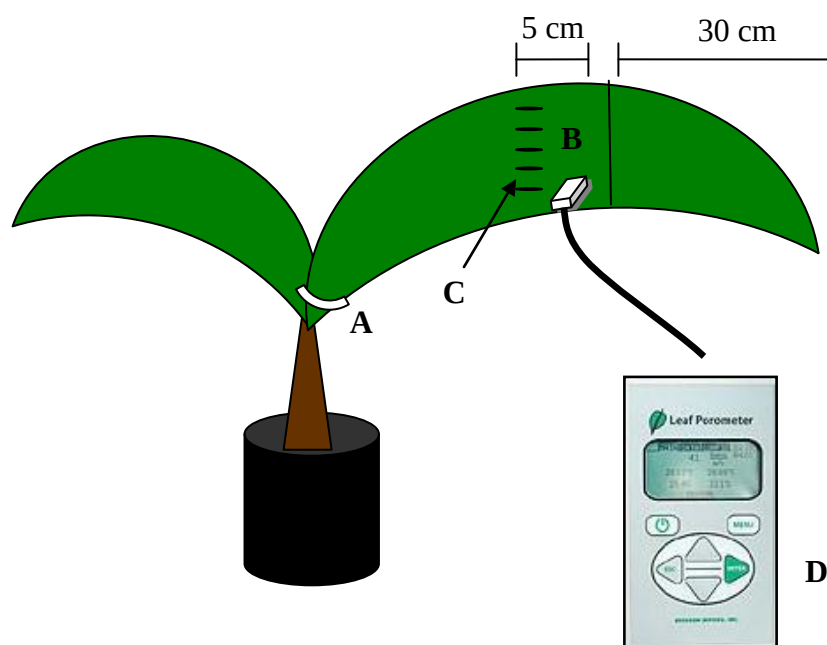


Figura 8. Diagrama de la zona de lecturas del índice del contenido de clorofila y conductancia estomatal en la segunda hoja joven expandida (hoja marcada). Hoja joven expandida (**A**). Zona de lectuas (**B**). Puntos marcados para las lecturas del índice de clorofila (**C**). Equipo utilizado para lectura de índice de conductancia (**D**).

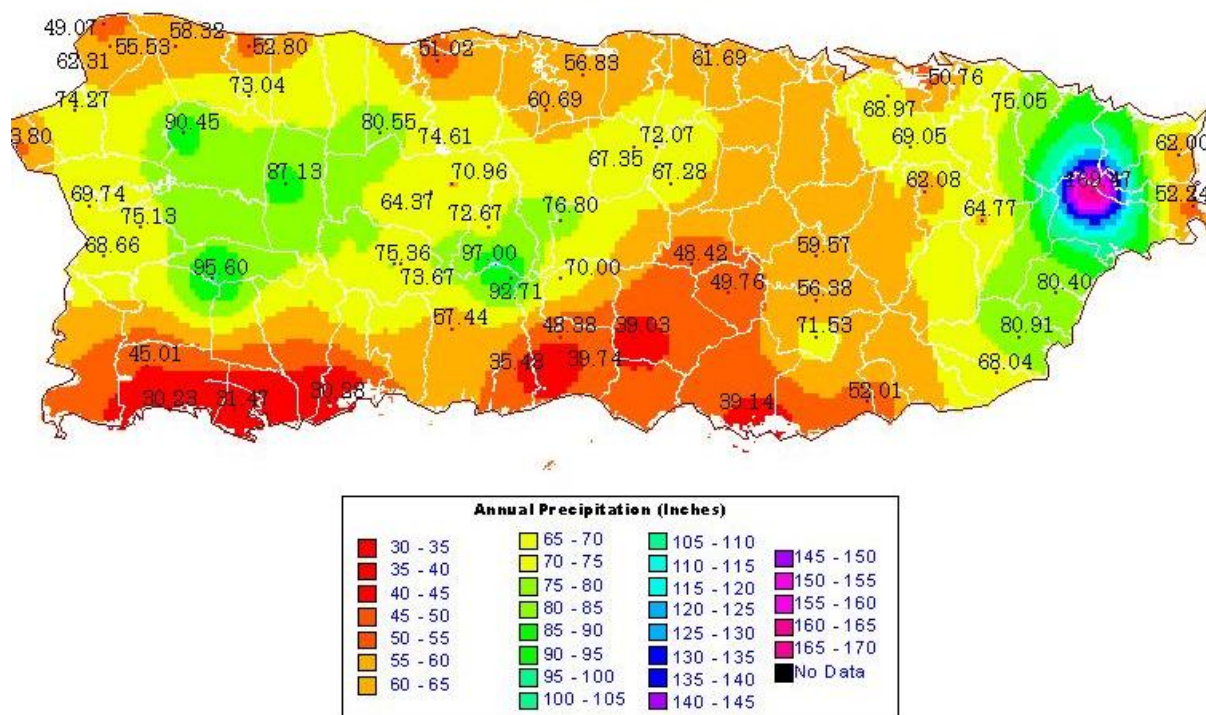


Figura 9. Promedio anual de precipitación durante los años 1971 al 2000 en la isla de Puerto Rico. http://www.srh.noaa.gov/sju/climo/annual/pr_mean_annual_pcp.jpg. (Revisado: febrero/ 2009)

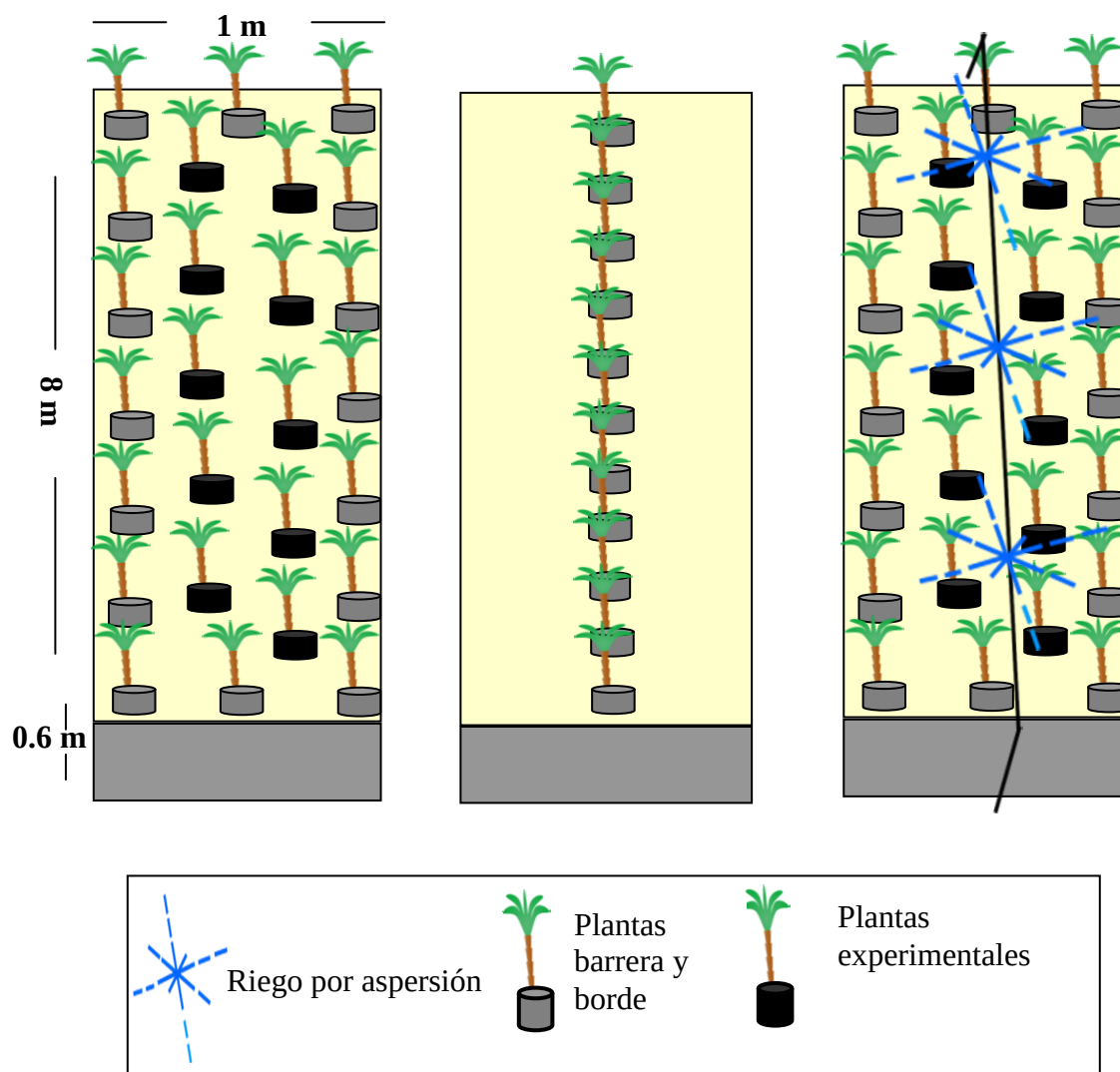


Figura 10. Dibujo esquemático del experimento del efecto de la precipitación simulada sobre la dinámica poblacional de *R. indica* en invernadero. Tratamiento de riego por aspersión (derecha) y riego directo a la base de la palma (izquierda) como control.

1.3 Efecto de precipitación simulada (45mm) sobre la dinámica poblacional de *Raoiella indica* en *Cocos nucifera*

Se utilizó la metodología descrita en la sección 1.2 modificando el volumen de aspersión aumentando la frecuencia de la aplicación. El riego se realizó de lunes a viernes con un volumen de 9mm/diarios para un total de 45mm/semanales. A las palmas control se le aplicó riego directo a la base de la palma (**Figura 11**).

El movimiento y dispersión de *R. indica* a través de la palma se estudió colocando una cinta adhesiva con pegamento en ambos lados alrededor de la base cada palma. Además se aplicó pegamento (Pestick™) en el área superior de la cinta adhesiva a cinco plantas de cada tratamiento y en las otras cinco palmas se colocó el pegamento en el área inferior de la cinta adhesiva (**Figura 12**), interceptando el movimiento de los ácaros en ambas direcciones. Las cintas adhesivas se removieron a las 72 horas de ser colocadas. Luego, se transportaron al laboratorio y se contabilizó la cantidad de ácaros capturados en la cinta adhesiva utilizando un estereoscopio.



Figura 11. Cinta adhesiva colocada alrededor de la base de la palma de coco con pegamento en la parte inferior de la misma.

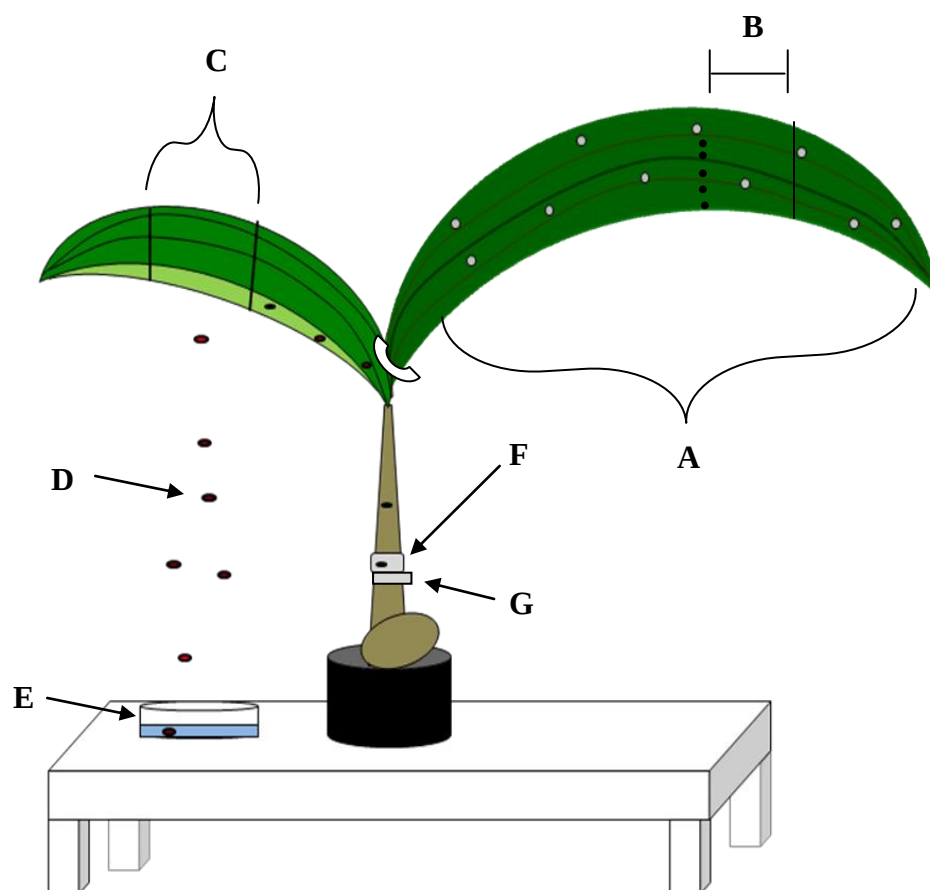


Figura 12. Representación esquemática de la localización de los puntos de evaluación en palma de coco. **(A)** Segunda hoja joven expandida (hoja marcada) donde se realizan 10 lecturas al azar con lente 10 x. **(B)** zona entre 30 a 35cm para lecturas de clorofila y conductancia, **(C)** zona de proyección, **(D)** caída libre de ácaros, **(E)** placas trampa, **(F)** cinta adhesiva alrededor de la base de la palma y **(G)** pegamento colocado debajo o sobre la cinta adhesiva.

1.4 Supervivencia de *Raoiella indica* Hirst en agua y condiciones secas

Para determinar el índice de supervivencia de *R. indica* en condiciones húmedas o secas, se realizó un experimento con dos tratamientos: sin agua (condiciones secas) y con agua. En ambos tratamientos se prepararon 30 tubos de plástico de 1.5 ml con 50 ácaros de hembras adultas por tubo (**Figura 13**). La selección de los ácaros provenientes de la misma colonia se realizó por medio de un estereoscopio. Estos fueron colocados con un pincel con la punta humedecida con cuidado para evitar daños a los ácaros. Para el tratamiento de condiciones secas se colocaron los ácaros en los tubos solamente. En el tratamiento en condiciones de humedad se añadieron 1.5 ml de agua destilada estéril por tubo cubriendo los ácaros. Para el control se prepararon “arenas” con hojas de palma de coco. Todos los tratamientos se mantuvieron en una incubadora a 26.0°C, realizando lecturas a las 24, 48, 72, 96, 144 y 192 horas. Cada tratamiento tenía 5 replicas. Los ácaros contabilizados se descartaron teniendo siempre otras 5 replicas para las próximas lecturas. Para la contabilización de los ácaros se utilizó una placa Petri con papel de filtro en el fondo y un kimwipes®, encima de éste se vertió la muestra. Los ácaros que quedaban pegados de los tubos se removían con delicadeza para no provocar daños. Alrededor de la muestra se trazó un círculo con un marcador y se dividió en cuatro cuadrantes que facilitaron la lectura de los ácaros vivos. Sobre la muestra se colocó una lámpara externa utilizada para estereoscopio (Techniquip F01-150- 150W Fiber Optic Illuminator) de 5 a 10 minutos provocando una reacción de movimiento en los ácaros facilitando la identificación de los vivos y su contabilización.

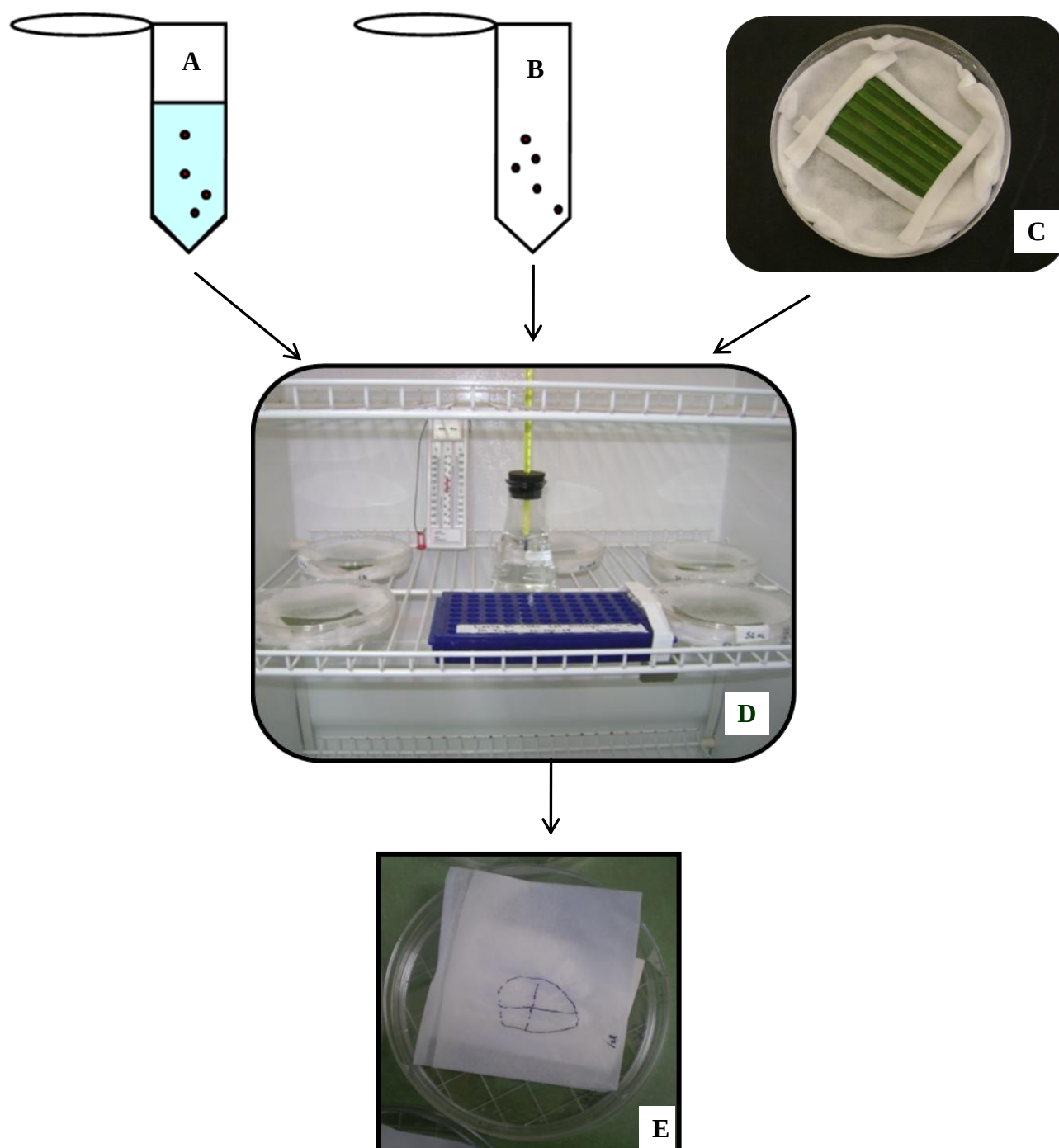


Figura 13. Diagrama secuencial del experimento de sobrevivencia. Los ácaros se colocaron en tubos plásticos de 1.5 ml y se sometieron a dos tratamientos donde se calculó el índice de sobrevivencia en agua (A) y condiciones secas (B). Se prepararon “arenas” de palma de coco como control (C). Los tratamientos fueron mantenidos en una incubadora a 26°C (D). Se realizaron lecturas de los ácaros colocándolos sobre papel de filtro en diferentes intervalos de tiempo

1.5 Efecto de acaricida sistémico sobre *Raoiella indica* Hirst

Se evaluaron tres diferentes dosis de un acaricida sistémico (oxamyl-Vydate L. ®) con el propósito de observar su efecto sobre la dinámica poblacional de *R. indica*. Este experimento se llevó a cabo en el invernadero de la Estación Experimental Agrícola de Río Piedras. Se utilizaron 24 palmas (6 palmas por tratamiento) con alturas similares e infectadas con el ácaro. Las palmas fueron sembradas en tiestos de 20 litros con un sustrato comercial (Sun Gro Sunchine® mix #2) y abonadas previamente (osmocote®). Las dosis del acaricida utilizado fueron: 1, 3 y 5 ml, éste fue aplicado cerca de la rizosfera utilizando una pipeta. Luego de ser aplicado el acaricida se cubrió con el sustrato porque éste no es fotoestable. Las palmas controles no fueron tratadas con acaricida, solo se le aplicó agua. Las poblaciones de *R. indica* fueron monitoreados en la segunda hoja nueva expandida (hoja marcada) con un lente de mano (10x) semanalmente, por un periodo de tres meses y medio. Se realizaron lecturas de conductancia (Decagon – SC-1), índice de clorofila (Apogee - CCM 200) (en tres tiempos) y área foliar (al comienzo y al final del experimento) para evaluar daños. El diseño del experimento fue uno en bloque completo al azar con seis repeticiones por tratamiento.

Resultados

1.1 Relación entre las poblaciones de *Raoiella indica* Hirst en hojas infectadas con el número de ácaros atrapados en placas Petri

Los ácaros de *R. indica* se desplazan cayendo desde hojas infectadas hasta estratos inferiores. Los datos demostraron tener diferencia significativa ($p < 0.05$, ANOVA; Tukey's HSD) entre los tiempos de la colectada de las placas (**Figura 14**). No se observó diferencia entre las medias de 48 y 72 horas, según la prueba de Tukey. El tiempo en donde se pudo capturar la mayor cantidad de ácaros fue a las 72 horas y los datos demostraron tener una varianza menor en comparación con las 48 horas. Este dato se utilizó para observar dispersión en experimentos posteriores. Además se estableció mediante un análisis de regresión lineal la relación entre las poblaciones de *R. indica* en la zona de proyección de la hoja y el número de ácaros colectadas en las placas trampa donde no demostraron tener significancia ($p < 0.05$, ANOVA; Tukey's HSD) (**Figura 15**). Los datos muestran que los ácaros caen independientemente de la cantidad de ácaros que haya en hojas infectadas.

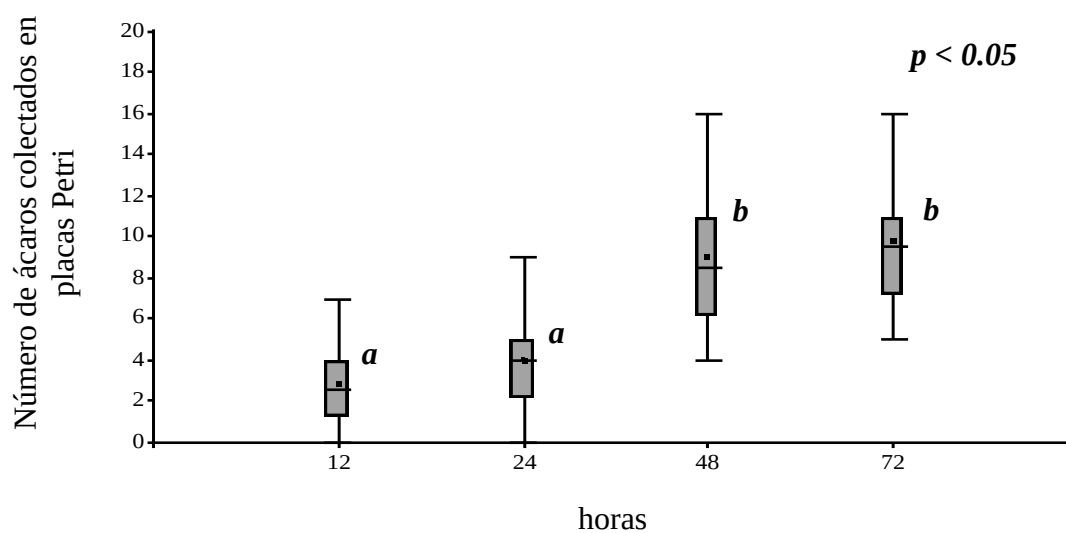


Figura 14. Cantidad de ácaros colectados en placas Petri pasados 12, 24, 48 y 72 horas. En el gráfico de cajas (*Box-Plot*) la longitud de la caja indica el rango intercuartil (50% de los datos centrales), dividido longitudinalmente por la mediana y el cuadro dentro de la caja representa el promedio. Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0.05$, ANOVA, Tukey's HSD).

1.2 Efecto de precipitación simulada (27 mm/semana) sobre la dinámica poblacional de *Raoiella indica* Hirst en *Cocos nucifera*

Al establecer que *R. indica* puede dispersarse cayendo desde hojas infectadas, era de gran interés saber el efecto que puedan tener los factores ambientales sobre las poblaciones y la influencia en este tipo de dispersión. En el tratamiento donde se aplicó riego por aspersión, simulando lluvias de ambiente sub-tropical como el de Puerto Rico (1,300mm de lluvia anuales), los datos no demostraron tener diferencia significativa entre éste y el control (riego directo a la base de la palma) ($p < 0.05$). Pero en el análisis de los datos se encontraron diferencia significativa a $p < 0.05$ (ANOVA, Tukey) entre las lecturas del tratamiento donde se aplicó el riego por aspersión (**Figura 14**).

En el tratamiento de riego por aspersión las densidades poblaciones fueron variables. En el mes de abril hubo un incremento de un 50%, disminuyó en el mes de mayo y volvió a incrementar en el mes de junio. En el control la población de *R. indica* también aumentó en el mes de junio. El mes de junio fue el más alto en temperatura con un promedio de 29.3°C y una humedad relativa de 70% en el invernadero (**Figura 15**). Además se observó movimiento de ácaros a través de los peciolos de las hojas. En el análisis de los datos sobre la fisiología de las plantas, no hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) en conductancia estomatal, índice del contenido de clorofila y área foliar. Se observó el daño provocado por *R. indica* en donde las hojas se van tornando amarillas, luego amarillentas doradas con el comienzo de la desecación de las puntas de las hojas hasta causar la muerte de las hoja (**Figura 16**). También se colocaron placas Petri con agua y jabón debajo de hojas infectadas para capturar los ácaros.

En el control (riego directo a la base de la palma) se observó un aumento simultáneo en las poblaciones de ácaros en la zona de proyección y los atrapados en las placas (**Figura 17**). También se realizó una prueba de regresión lineal para observar la relación entre las poblaciones de los ácaros en la zona de proyección y los atrapados en placas, donde se demuestra tener una relación positiva ($p < 0.05$) en ambos tratamientos. Demostrando que en el control (riego directo a la base de la palma) se obtienen menos ácaros en las placas ($p = 0.0008$; $r^2 = 0.26$) comparado con el tratamiento de riego por aspersión ($p = .0026$; $r^2 = 0.23$) (**Figura 18**). Observando que el tratamiento está interfiriendo sobre la dinámica de las poblaciones de los ácaros.

Es interesante destacar que durante la contabilización de los ácaros atrapados en las placas Petri se observó a *R. indica* muy activo moviendo sus patas y algunos flotaban luego de una semana de estar en agua con jabón, mientras que *Amblyseius largoensis* (Muma) (Acari: Phytoseiidae) a las 72 horas de ser colectado en las placas estaban todos muertos. Esta observación nos ilustra la viabilidad de *R. indica* en ambientes saturados de agua y humedad, implicando que esta característica de sobrevivencia es un factor positivo en su dispersión, no así con su depredador.

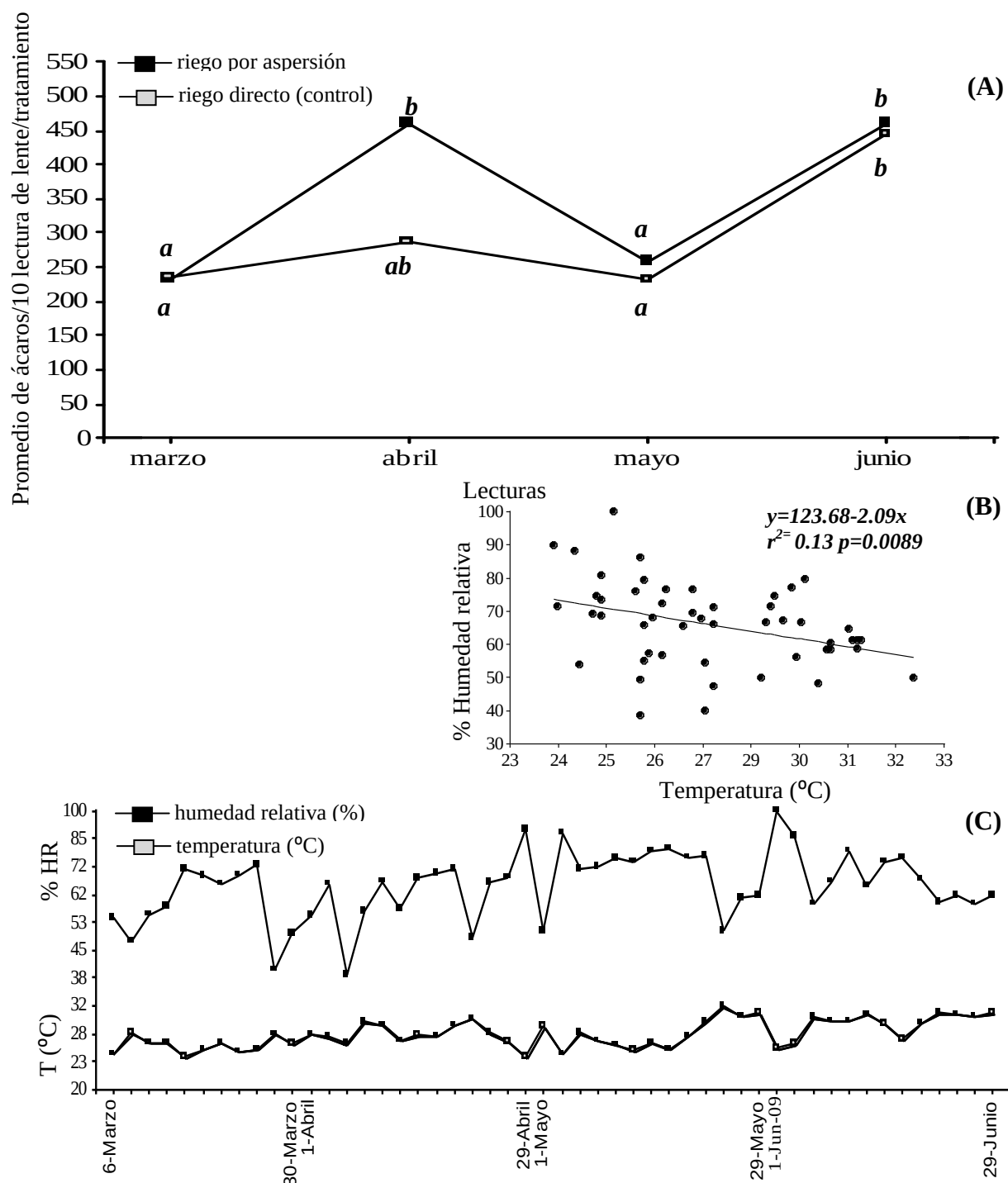


Figura 15. Variación poblacional de *R. indica* bajo riego por aspersión (27mm) y control (riego directo a la base de palma) **(A)**. Los datos indican diferencia significativa entre las lecturas en cada tratamiento. Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0.05$; ANOVA, Tukey's HSD). Datos indican relación lineal entre temperatura y humedad en análisis de regresión ($p < 0.05$) **(B)**. Lecturas de temperatura (°C) y humedad relativa (%) fueron tomadas durante el experimento **(C)**.

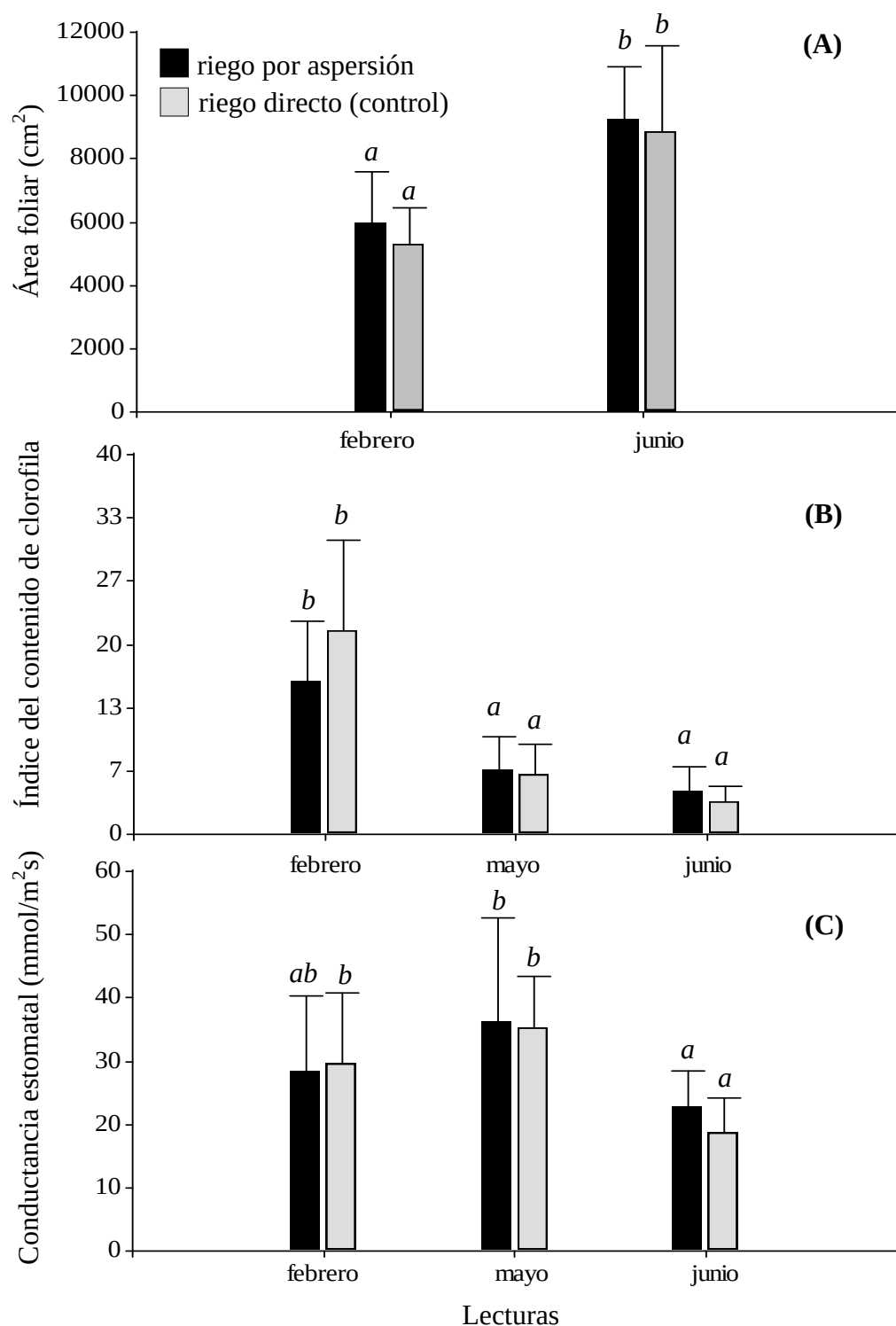


Figura 16. Lecturas de **(A)** área foliar (cm²), **(B)** índice del contenido de clorofila y conductancia estomatal **(C)** en el tratamiento de riego por aspersión (27mm) y control (riego directo a la base de la palma). Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$; ANOVA, Tukey's HSD) entre lecturas.

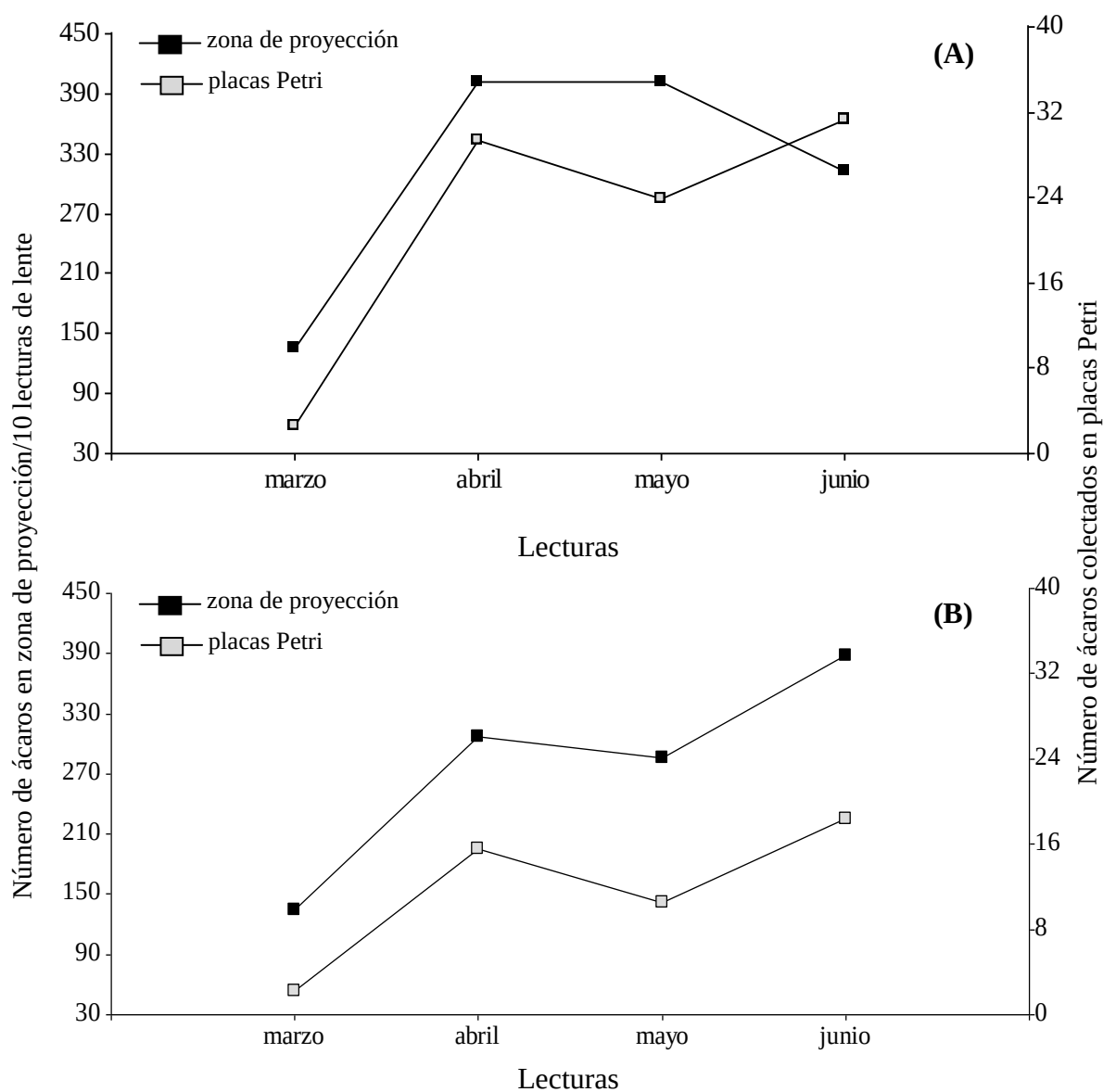


Figura 17. Número de ácaros en la zona de proyección en la hoja y los ácaros atrapados en placas trampa bajo esta proyección en el tratamiento de riego por aspersión (27mm) **(A)** y control (riego directo a la base de la palma) **(B)**.

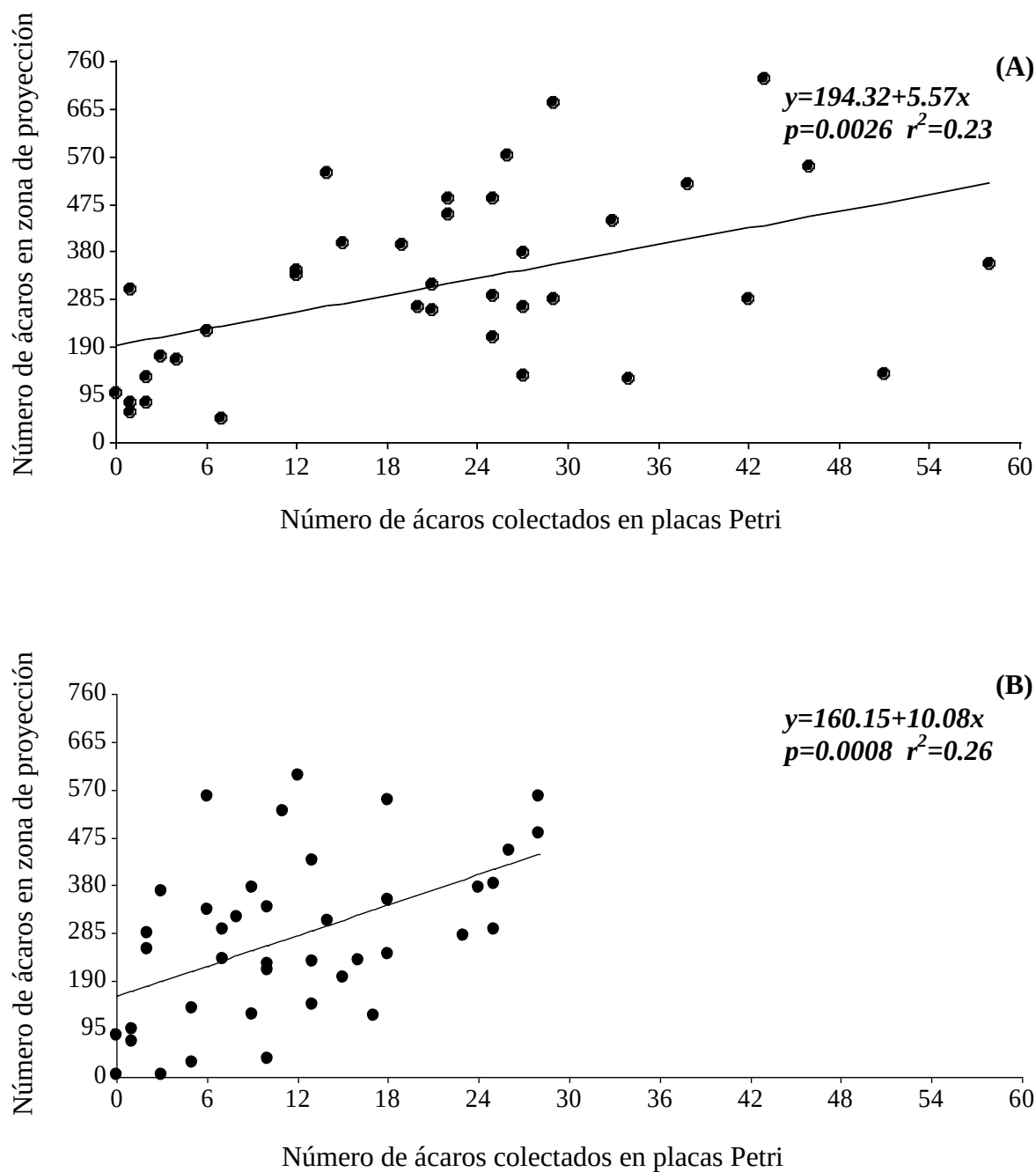


Figura 18. Regresión lineal del número de ácaros en la zona de proyección en la hoja y los ácaros atrapados en placas trampa bajo esta proyección en el tratamiento de riego por aspersión (27mm) **(A)** y el control (riego directo a la base de la palma) **(B)**.

1.3 Efecto de la precipitación simulada (45mm/semana) sobre la dinámica poblacional de *Raoiella indica* Hirst en *Cocos nucifera*

Luego de observar la dinámica poblaciones *R. indica* después de asperjar 27mm de agua, se decidió aumentar la frecuencia y la cantidad de agua para observar que pasaba con la población. Durante cuatro meses (julio, agosto, septiembre y octubre) se asperjaron 45mm de agua sobre las palmas. Los datos indicaron que las poblaciones de ácaros se comportaron diferentes entre los tratamiento (**Figura 19**), además de observarse una diferencia significativa entre las lecturas ($p<0.05$; $r^2=0.37$; ANOVA). En el control se observó un mayor número de ácaros en el mes de septiembre, disminuyendo posteriormente en el mes de octubre (finalización del experimento). En cambio, en el tratamiento de riego por aspersión los datos no mostraron aumento significativo en las poblaciones del ácaro en los meses de agosto y septiembre, disminuyendo significativamente en el mes de octubre al igual que el control. La disminución en las poblaciones de *R. indica* en el mes de octubre en el control como en el tratamiento pudo ser provocado por eventos diferentes. En el control el agotamiento de recursos y la reducción de la capacidad de las plantas en sostener las poblaciones del ácaro pudieron ser los factores limitantes para su desarrollo. Mientras que en el tratamiento de riego por aspersión se observaron primeramente a los ácaros con coloración oscura y deformes. Luego, se observaron cadáveres necrotizados de *R. indica* así como del depredador *A. largoensis*.

Los datos del área foliar mostraron diferencias significativas ($p<0.05$; ANOVA, Tukey) entre los tratamientos al finalizar el experimento (octubre). En el control los valores del total de área foliar disminuyeron mostrando hojas muertas, mientras en el tratamiento de riego por aspersión aumentaron teniendo mas hojas verdes sin presentar el daño provocado por la alimentación del ácaro (**Figura 23**).

Se realizaron lecturas de conductancia estomatal demostrando diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$), donde las lecturas más bajas fueron en el control (riego directo) (**Figura 22**). El índice del contenido de clorofila no mostró tener diferencias significativas entre el control y el tratamiento. Las lecturas de temperatura en el mes de septiembre mostraron ser más bajas (28.9°C) comparadas con los meses de julio (30.2°C), agosto (29.4) y octubre (29.1°), mientras que el porcentaje de humedad relativa fue más alto en el mes de septiembre (**Figura 19**).

Se colocaron placas Petri con agua y jabón en el control y el tratamiento (riego por aspersión) debajo de hojas infectadas para atrapar los ácaros que se desplazaban, igual que en el experimento donde se aplicó 27mm de agua semanalmente. En el control se observó disminución en la población del ácaro en la zona de proyección y los atrapados en las placas Petri. En el tratamiento de riego por aspersión durante el mes de julio los datos mostraron más ácaros capturados en las placas Petri, independientemente de la población en la zona de proyección. Sin embargo, las lecturas del mes de septiembre mostraron lo contrario (**Figura 20**). En análisis de regresión lineal se relacionó la cantidad de ácaros en la zona de proyección con los atrapados en placas Petri, donde el control demostró tener relación lineal positiva ($p = 0.0006$ y $r^2 = 0.36$). Mientras que el tratamiento de riego por aspersión no demostró relación ($p = 0.5453$) (**Figura 21**). Según los datos, se interpreta que el ambiente está siendo perturbado evitando que los ácaros se desplacen desde hojas infestadas hasta las placas Petri en contraste con el control. Estos datos coinciden con lo observado, donde los ácaros se encuentran muertos en la hoja infestada evitando que estos se desplacen hasta las placas Petri. También se observó movimiento de los ácaros a través de los peciolo de las palmas. Para documentar esta observación se colocó cinta adhesiva alrededor de la base de la palma con pegamento (arriba o abajo) en ambos tratamientos.

Los datos de los ácaros atrapados en la cinta adhesiva fueron transformados (SQRT+1) y no demostraron tener diferencias significativas entre tratamientos ($p= 0.5342$; ANOVA, Tukey), pero provee información del movimientos de los ácaros entre las hojas de las palma (**Tabla 5**). Este comportamiento ayuda a *R. indica* a colonizar nuevas hojas cuando los recursos alimenticios están agotándose, encontrando a éste ácaro en cualquier etapa de crecimiento de las hojas.

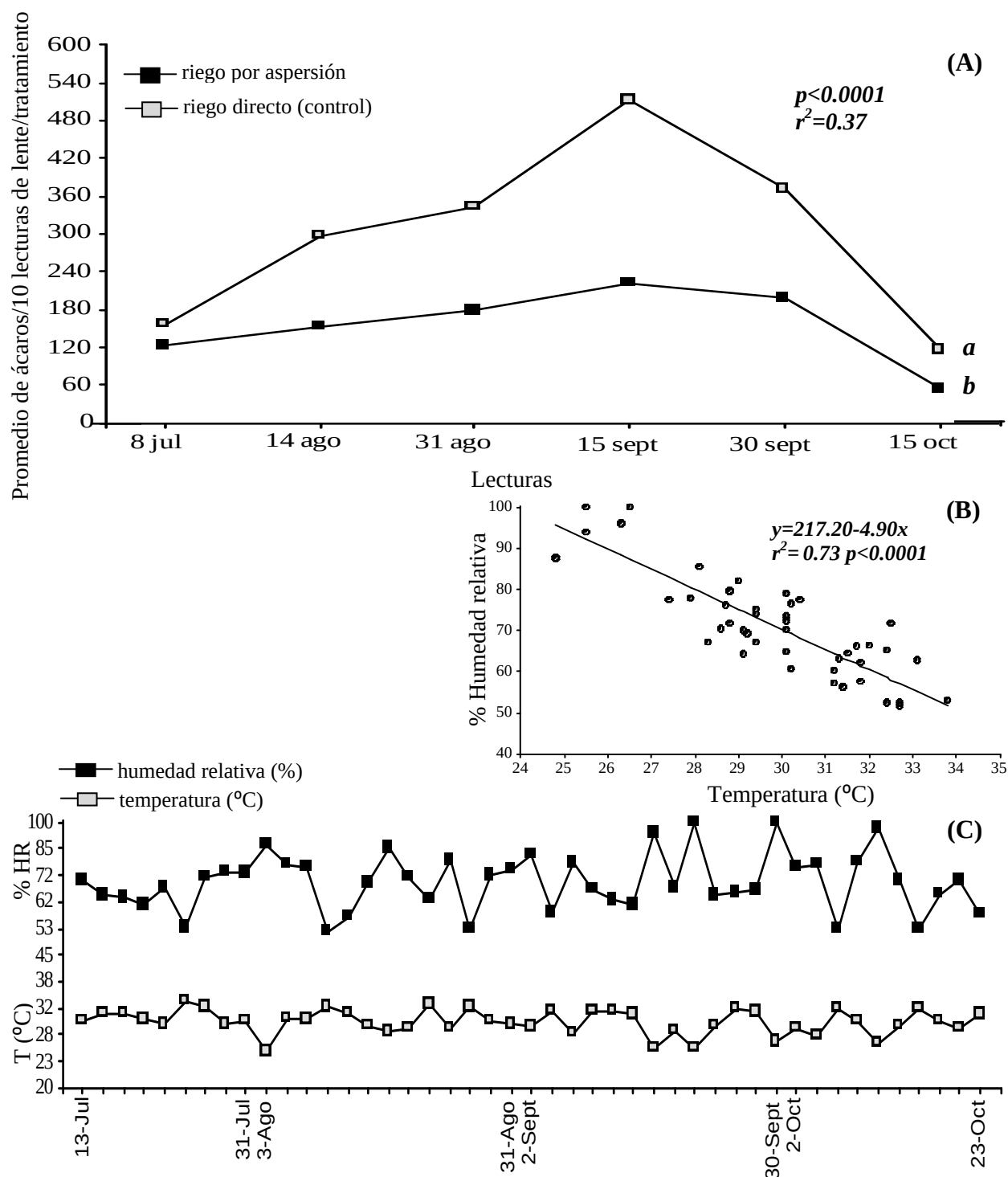


Figura 19. Variación poblacional de *R. indica* bajo riego por aspersión (45mm) y control (riego directo a la base de palma) **(A)**. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.0001$; ANOVA, Tukey's HSD). Datos indican relación lineal entre temperatura y humedad en análisis de regresión ($p < 0.0001$) **(B)**. Lecturas de temperatura (°C) y humedad relativa (%) fueron tomadas durante el experimento **(C)**.

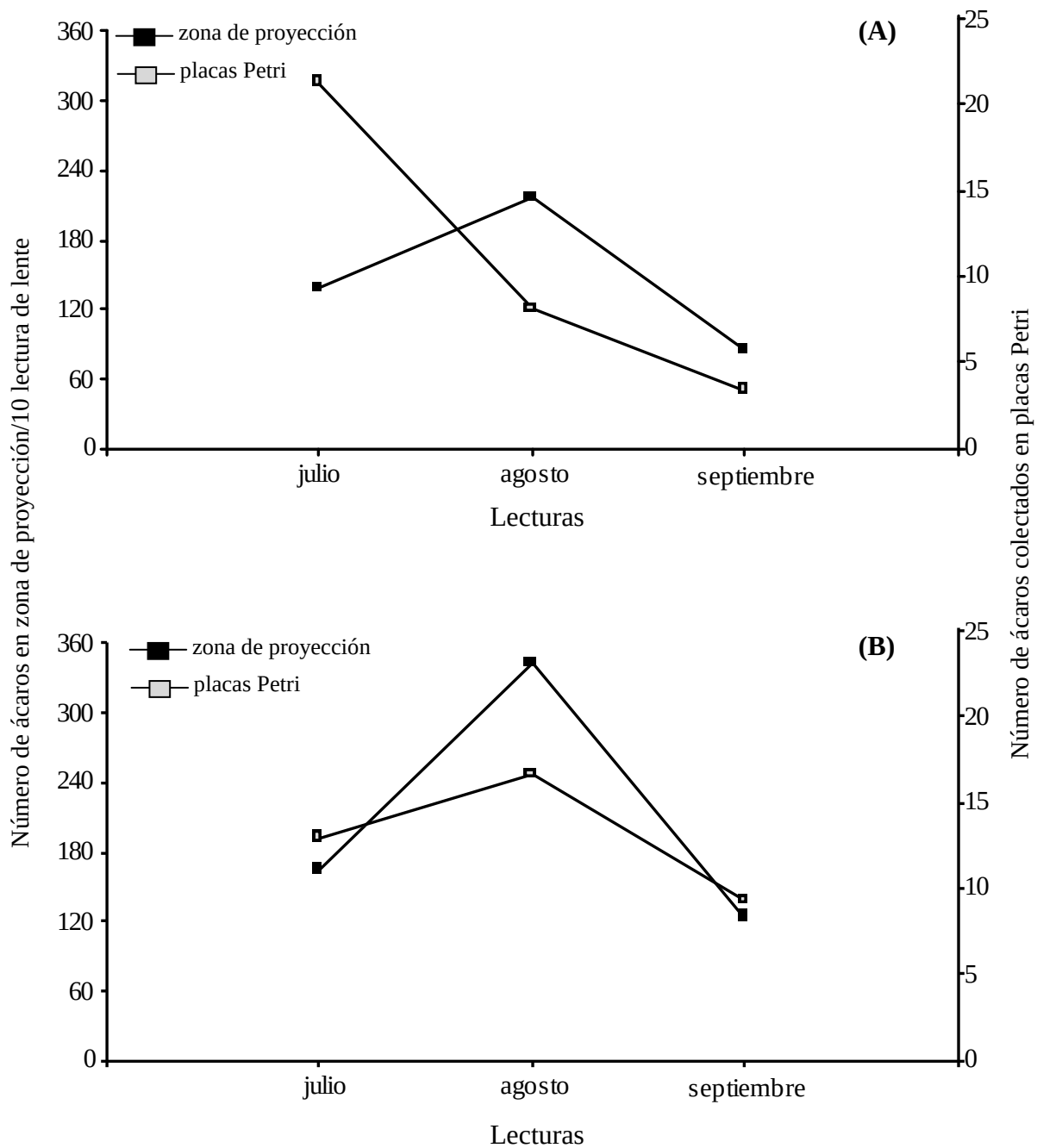


Figura 20. Número de ácaros en la zona de proyección en la hoja y los ácaros atrapados en placas trampa bajo esta proyección en el tratamiento de riego por aspersión (45mm) **(A)** y riego directo a la base de la palma (control) **(B)**.

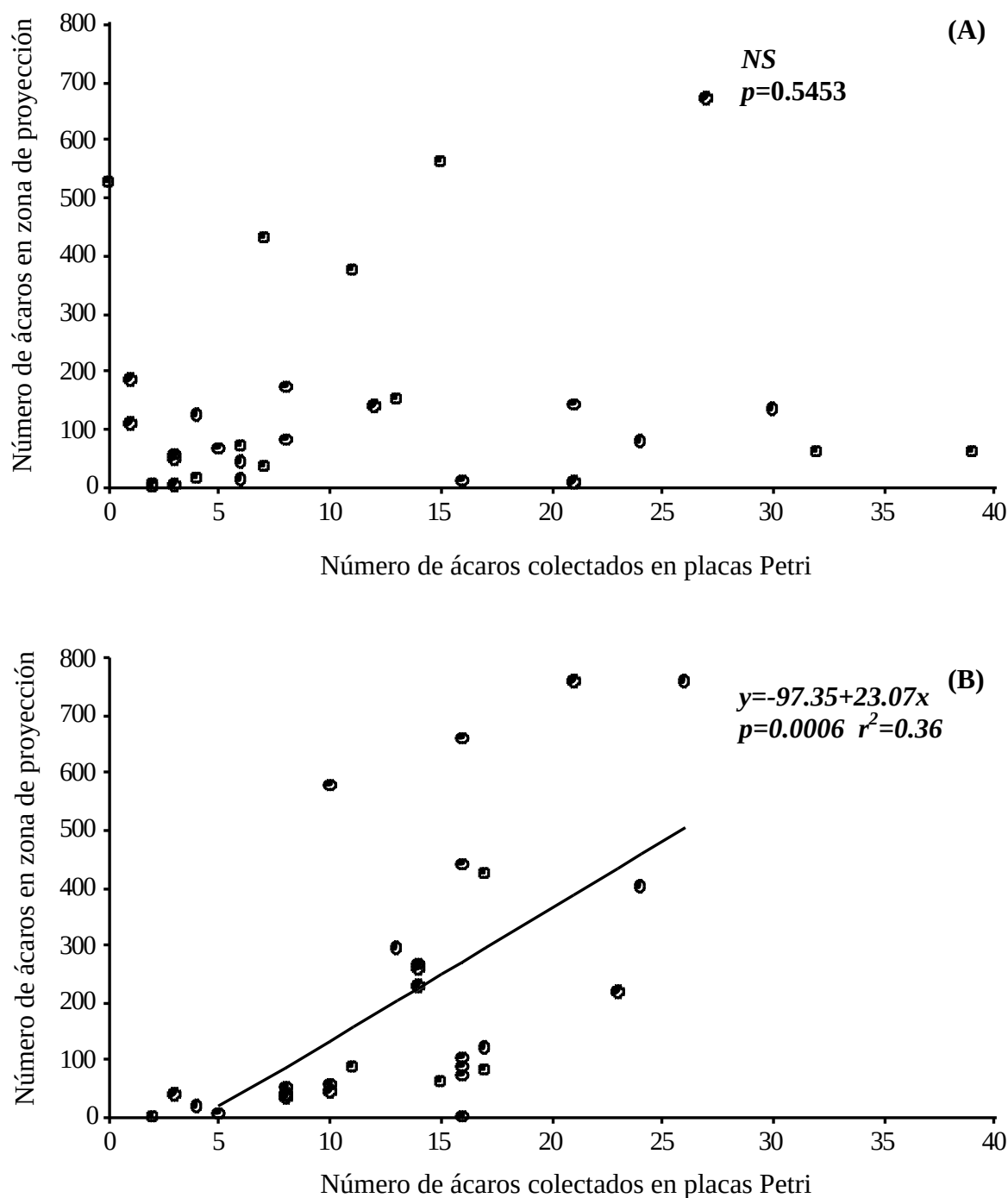


Figura 21. Regresión lineal del número de ácaros en la zona de proyección en la hoja y los ácaros atrapados en placas trampa bajo esta proyección en el tratamiento de riego por aspersión (45 mm) **(A)** y el control (riego directo a la base de la palma) **(B)**.

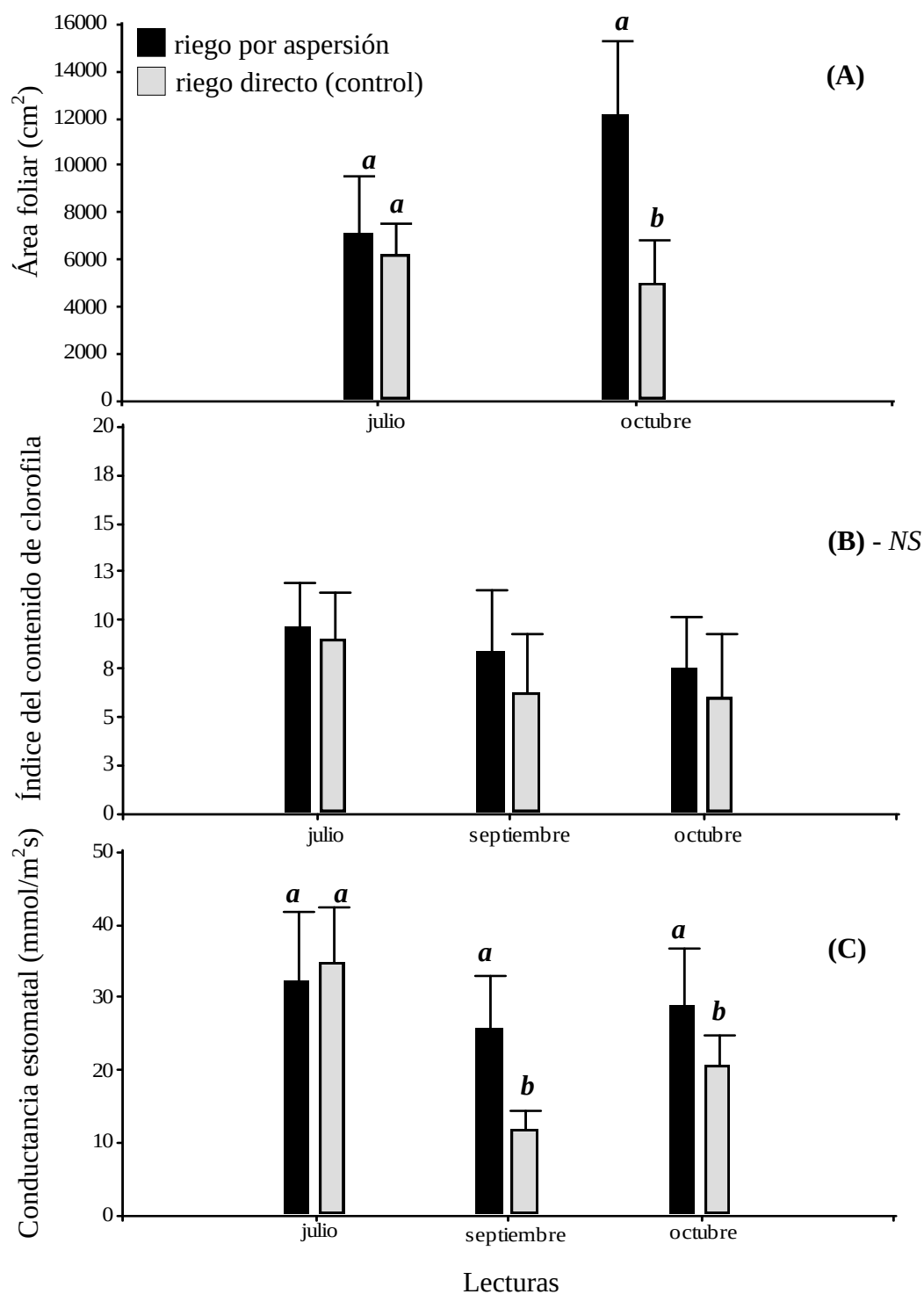


Figura 22. Lecturas de (A) área foliar (cm²), (B) índice del contenido de clorofila y conductancia estomatal (C) en el tratamiento de riego por aspersión (45mm) y control (riego directo a la base de la palma). Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos ($p < 0.05$; Tukey's, HDS).



Figura 23. Palmas de cocos al finalizar el experimento donde se aplicó 45 mm de riego por aspersión semanalmente (izquierda) y el control (riego directo a la base de la palma) (derecha).

Tabla 5. Valores promedios de ácaros (*R. indica* Hirst) atrapados en cinta adhesiva colocada alrededor de la base de la palma de coco

Tratamiento ^a	Variables ^b (movimiento de los ácaros)	Promedio de ácaros ^c atrapados
Riego por aspersión	Hacia arriba	30 (± 32.23)
	Hacia abajo	18 (± 21.46)
Riego directo (Control)	Hacia arriba	3 (± 1.48)
	Hacia abajo	21 (± 36.80)

^a Se aplicó 45 mm de agua semanalmente por medio de riego por aspersión como tratamiento, mientras que en control se aplicó riego directamente a la base de la planta.

^b Se colocó cinta adhesiva alrededor de la base de la planta con pegamento en el extremo contrario de donde se contabilizó el número de ácaros con movimiento de abajo hacia arriba o viceversa.

^c Los datos no mostraron diferencia significativa ($p < 0.05$; Anova, Tukey). Símbolo $\pm$ indica desviación estándar de los resultados. Los datos son un promedio de 5 replicas.

1.4 Supervivencia de *Raoiella indica* Hirst en agua y condiciones secas

En estudio de laboratorio se analizó la supervivencia de *R. indica* en diferentes ambientes: agua, seco y el control (arena a base de hoja de palma). Esta información puede explicar lo que puede estar sucediendo en invernadero y ambientes naturales. Se determinó el índice de supervivencia de *R. indica* a 1, 4, 10, 16, 19 y 22 días a 26°C. A los 16 días se observó en el control (“arena” con hoja de palma de coco) una supervivencia de 72%, en los tubos con agua 10% y tratamiento seco no había ningún ácaro vivo. Hubo diferencias significativas ($p < 0.0001$; ANOVA, Tukey) entre los tratamientos a las 144 horas (6 días) (**Figura 25**). El ensayo de supervivencia en agua se extendió hasta las 528 horas (22) días, ya que los ácaros permanecían hasta este periodo. Estos se observaban blandos, deformes, con movimiento limitado y desarrollo micelial sobre ellos. Sin embargo, a los 6 días en el tratamiento seco los ácaros se observaban muertos, deshidratados y pétreos (**Figura 24**).

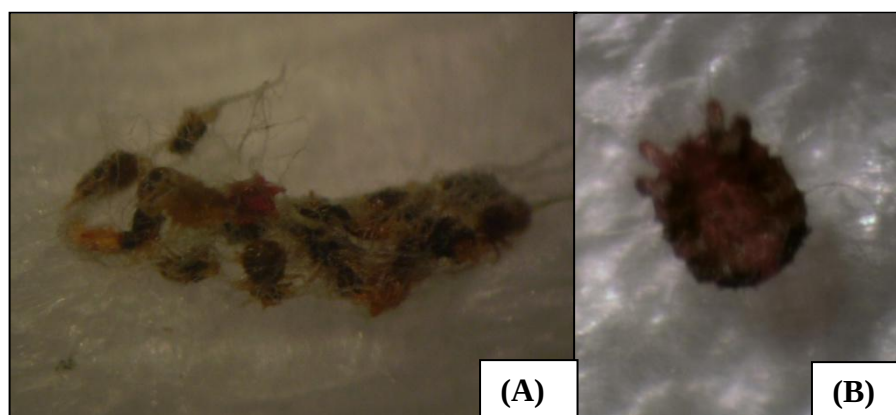


Figura 24. Desarrollo micelial (A) y ácaro deshidratado (B)

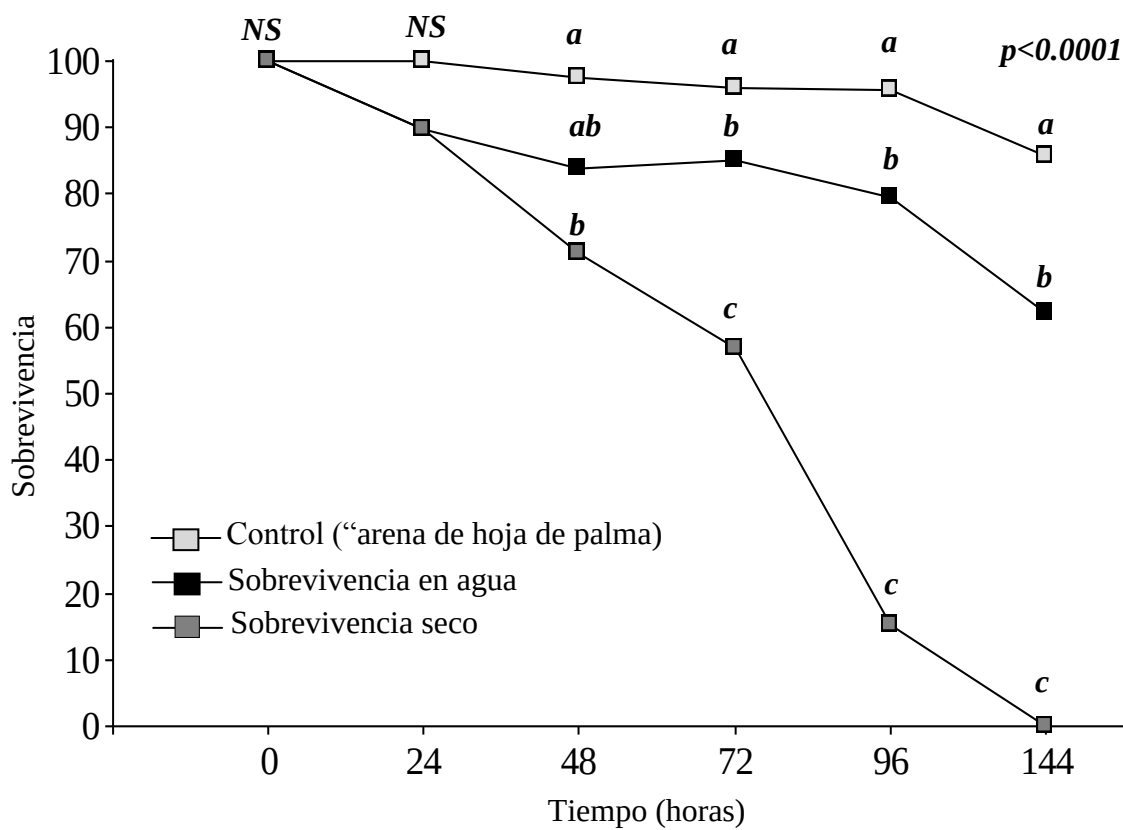


Figura 25. Sobrevivencia de *R. indica* en diferentes ambientes: agua, seco y control ("arena de hoja de palma") a una temperatura de 26 °C. Los datos son un promedio de cinco replicas. Letras distintas indican diferencia significativa entre tratamientos ($p < 0.05$; ANOVA, Tukey).

1.5 Efecto de acaricida sistémico sobre *Raoiella indica* Hirst

Los datos muestran la interacción entre el tratamiento y el tiempo de lectura ($p=0.0367$; ANOVA, Tukey) (**Tabla 6**). A los 28 días se observó una reducción intensa en la densidad de la población de los ácaros, donde se aplicaron los tres tratamientos. Sin embargo, las poblaciones siguieron incrementando en el control. A los 80 días las dosis evaluadas no ejercían control sobre las poblaciones, éstas comenzaron a incrementarse. La dosis de 5 ml mantuvo las poblaciones bajas durante todo el experimento comparado con los otros tratamientos. Donde se aplicaron los tratamientos se observaron los cadáveres de los ácaros necróticos y arrugados.

La fisiología de las plantas reflejó un aumento en el área foliar al finalizar el experimento donde se aplicaron los tratamientos comparados con el control. Hubo diferencia significativa entre las lecturas ($p<0.0001$; ANOVA, Tukey). Los datos sobre el índice del contenido de clorofila en el control demostraron una reducción significativa ($p<0.05$; ANOVA, Tukey) entre lecturas (**Figura 26**). La conductancia estomatal presentaron diferencias significativas ($p<0.05$) entre los tratamientos, según la prueba Tukey. El tratamiento de 5ml mostró mayor conductancia estomatal al final del experimento.

Tabla 6. Valores promedio de las poblaciones de *Raoiella indica* Hirst en la segunda hoja mas joven expandida para las diferentes dosis de Vydate L. (oxamyl) en diferentes tiempos.

variable ^a	Tratamiento (ml) ^b				<i>p</i> -valor ^c
Tiempo (días)	Control	1	3	5	
0*	65 (40)Aa	64 (34)Aa	65 (30)Aa	66 (31)Aab	0.9990
7*	198 (240)Aab	147 (96)Aab	154 (50)A	97 (73)Aab	0.6267
14	267 (224)Aab	149 (115)ABab	72 (45)BCa	13 (17)Cab	0.0013
21	337 (211)Aab	121 (115)Ba	60 (44)BCa	7 (9)Ca	0.0001
28	369 (233)Aab	93 (108)Ba	65 (68)Ba	1 (2)Ba	<0.0001
35	317 (225)Aab	134 (172)ABa	101 (140)ABa	2 (4)Ba	0.0033
80	429 (274)Ab	196 (154)ABab	132 (137)ABab	80 (117) Bab	0.0070
87*	389 (215)Aab	324 (185)Aab	222 (135)Aab	129 (166)Aab	0.0575
94*	310 (90)Aab	297 (172)Aab	261 (129)Ab	134 (204)Aab	0.0654
101	338 (62)Aab	445 (241)Ab	323 (121)Ab	118 (130) Bab	0.0046
108*	378 (118)Aab	505 (294)Ab	336 (110)Ab	207 (240)Ab	0.0886

^a Se contabilizaron las poblaciones de *R. indica* en diferentes periodos de tiempo para cada tratamiento.

^b Se aplicaron tres diferentes dosis (control, 1ml, 3ml y 5 ml) de Vydate L. en la rizosfera de las palmas de cocos. Letras mayúsculas distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos (columna); letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre las lecturas (filas) ($p < 0.05$; ANOVA, Tukey). Datos originales fueron transformados $\text{SQRT}(n+1)$. Los datos son un promedio de seis replicas.

^c Valor de *p* muestran las diferencias de las medias entre columnas

* Datos no muestran diferencias significativas en filas ($p < 0.05$).

(#) Indica desviación estándar de los datos.

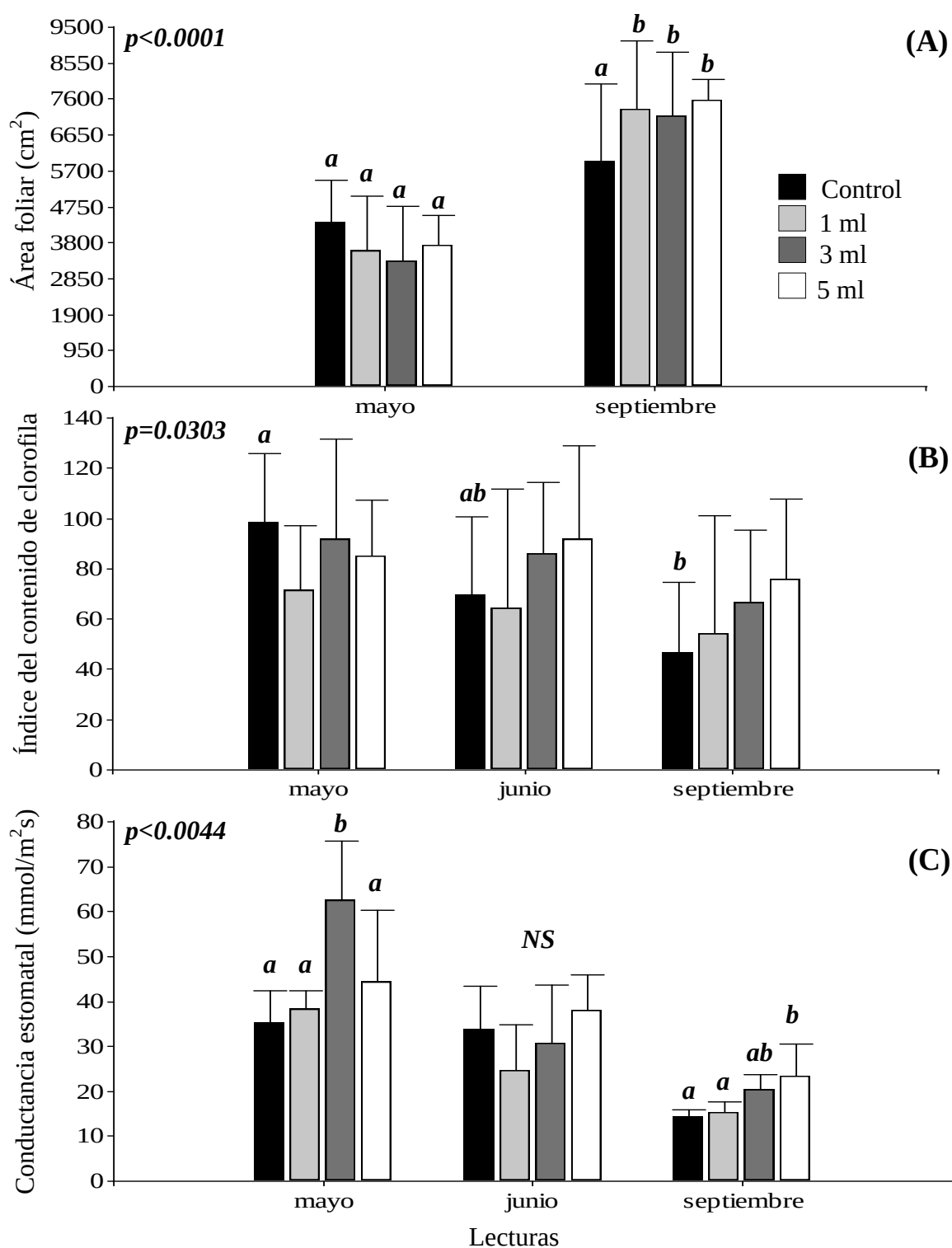


Figura 26. Lecturas de área foliar (cm²) (A), (B) índice del contenido de clorofila y conductancia estomatal (C) en los tratamiento de control, 1 ml, 3ml y 5ml. Letras distintas en área foliar e índice del contenido de clorofila indican diferencia significativa entre lecturas ($p < 0.05$; Tukey's, HDS). Datos no indican diferencia significativa entre tratamientos. En conductancia estomatal letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos ($p < 0.05$; Tukey's, HDS). (NS) indica datos no significativos.

Discusión

Uno de los resultados más relevantes de este estudio fue describir las formas *R. indica* utiliza para dispersarse donde se desplaza de hojas infectadas hacia estratos inferiores de vegetación o el suelo. No se observó relación directa entre las poblaciones de hojas infectadas con la cantidad de ácaros capturado en las placas Petri descrito en el experimento 1.1. Esto puede explicar lo que ocurre en ambientes naturales donde *R. indica* infecta a una amplia gama de hospederos. En un estudio realizado por Marengo et al. (2009) describe como palmas de cocos infectadas afectan a otras plantas que crecen cerca y bajo de estas. Una característica que favorece a esta plaga a establecerse es la reproducción asexual por partenogénesis de tipo arrenotóquia, donde solo una hembra puede establecer una nueva colonia.

Las densidades poblacionales de *R. indica* no mostraron diferencias significativas entre el tratamiento de riego por aspersión (27mm agua/ semana) y el control. Esto nos da una idea de que cuando ocurren precipitaciones promedio de 108 mm/mensuales en ambientes naturales podemos encontrar a *R. indica* alimentándose del área foliar de las palmas de coco. En cuanto a las diferentes variables de crecimiento evaluadas para medir los daños provocados a la fisiología de las palmas por el ácaro, como lo son: la conductancia estomatal, área foliar e índice del contenido de clorofila de las palmas tratadas mostraron similitud con las control. El área foliar aumento al finalizar el experimento en ambos tratamientos pero disminuyendo el índice de contenido de clorofila y la conductancia estomatal, esto se debió al daño provocado por la alimentación de los ácaros a las estomas de las hojas de palma.

Otros ácaros como *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) que habitan en la superficie abaxial del área foliar de diferentes plantas causando daños a nivel celular, reduciendo el contenido de clorofila y el índice fotosintético mediante su alimentación (Park y Lee, 2002). Esto sustenta lo observado en las hojas de palma de coco donde las poblaciones de *R. indica* reducen el contenido de clorofila.

Las densidades poblacionales de *R. indica* en la zona de proyección de hojas infectadas mostraron estadísticamente tener relación con los ácaros atrapados en placas Petri, donde en el control las poblaciones de ácaros en la zona de proyección y los atrapados en las placas aumentaban y disminuían simultáneamente. Los datos demuestran que donde se aplicó el riego por aspersión se atraparon más ácaros en las placas Petri aunque la población haya disminuido en la zona de proyección. Esto pudiera indicar que la perturbación de la precipitación es un factor que ayuda a que los ácaros se dispersen a estratos inferiores en ambientes naturales.

En el segundo experimento donde se aplicaron 45mm de riego por aspersión semanales, las poblaciones disminuyeron al finalizar el experimento, teniendo en cuenta que donde se aplicó riego por aspersión las poblaciones se mantuvieron más bajas que el control durante el experimento. Visualmente los ácaros se observaban enfermos, cuerpo deforme, algunos con crecimiento micelial y coloración rojiza oscura hasta tornarse necróticos en donde se aplicó el tratamiento de aspersión. También las lecturas de área foliar y conductancia estomatal mostraron ser mayor en las plantas asperjadas en comparación al control (riego directo a la base de la palma), manteniéndose estas más verdes y sin presentar la sintomatología provocada por la alimentación de los ácaros.

En el tratamiento donde se aplicó riego directo a la base de la palma (control) las poblaciones aumentaron en los primeros tres meses, luego comenzó a descender. También el área foliar fue afectada al presentar un pobre desarrollo vegetativo y mortandad de hojas provocado por la alimentación de los ácaros. Las poblaciones en ambos tratamientos disminuyeron al final del experimento pero por eventos diferentes, en donde se aplicó el tratamiento de riego por aspersión los ácaros se vieron afectados por factores externos, mientras que en el control fue provocado por escases de recursos alimentarios. Al evaluar el número de ácaros en la zona de proyección con los atrapados en las placas Petri en el tratamiento de riego por aspersión no se encontró relación entre ambos. Esta relación pudo haber sido afectada por los ácaros muertos pegados a las hojas de palma de coco que no pudieron caer en las placas. Los datos demuestran que la aspersión fue un factor que afectó la dispersión de los ácaros.

Existen pocos estudios sobre la dinámica poblacional de *R. indica* y los efectos de factores abióticos como: la temperatura, humedad relativa y precipitación. En ambiente naturales las poblaciones de *R. indica* disminuyen cuando ocurren eventos de precipitación fuertes (Moutia, 1958). Esta información coincide con lo encontrado en nuestros experimentos pero no explica lo que ocurre directamente a la población. También, Sakar y Somchoudhury (1989) realizó un experimento donde se estudió el efecto de la precipitación, humedad relativa y temperatura sobre la incidencia de *R. indica*, donde la temperatura fue el factor abiótico que mostró tener relación con las dinámica poblacional del ácaro. Esto contradice lo observado por Moutia en el 1958, en donde menciona que eventos fuertes de precipitación declinan las poblaciones de *R. indica*, al igual que lo encontrado en estos experimentos. No existe mucha información sobre la influencia de factores abióticos sobre las poblaciones de *R. indica*.

Otro hallazgo importante durante esta investigación es que se pudo comprobar que el factor precipitación no es el causante directo de la mortandad de los ácaros, pero si influye. Los resultados del experimento de índice de sobrevivencia de *R. indica*, indican que sobrevive en ambientes de saturación de humedad. Se sustenta lo encontrado en el experimento de simulación de lluvia en donde existen posibles factores externos, como microorganismos, involucrados en la mortandad de este ácaro. Por otro lado, el ácaro es bastante susceptible a desecación.

Otro factor influyente en la dinámica poblacional de los ácaros es la aplicación de plaguicidas que afecten directamente sus poblaciones. Este estudio donde los datos indicaron susceptibilidad de *R. indica* al insecticida sistémico Vydate L. (oxamyl), perteneciente a la familia química de los carbamatos. Las densidades poblacionales de *R. indica* disminuyeron dramáticamente en las plantas que fueron tratadas. Se sabe que la alimentación de *R. indica* afecta el área foliar de las palmas de coco. Sin embargo, todas las plantas de palma de coco utilizadas en este estudio mostraron mayor área foliar a la finalizar el mismo. El índice de clorofila y la conductancia estomatal fueron afectadas por la alimentación de las altas densidades poblacionales del ácaro en las plantas no tratadas.

La utilización de productos químicos en plantas de regiones tropicales y subtropicales para el control de ácaros debe de ser estudiados para poder ser incluidos en un programa de manejo integrado de plagas. Las regiones tropicales y subtropicales no tienen cambios estacionales drásticos, favoreciendo el crecimiento continuo de poblaciones de ácaros (Jeppson, et al., 1975).

Conclusiones

1. Una forma de dispersión de *R. indica* es cayendo desde la zona abaxial de hojas infectadas hacia el suelo.
2. El factor precipitación juega un rol importante en la dispersión de los ácaros por que ayuda a que estos se desplacen a estratos inferiores y con la ayuda del viento podría llegar a lugares adyacentes y distantes.
3. De acuerdo con lo obtenido en estudio de invernadero, lluvias promedio de 1,300mm (simuladas) anuales no afectan la dinámica poblacional de *R. indica* pero es perturbada su dispersión.
4. Lluvias promedio de 2,300mm (simuladas) provocan indirectamente la disminución de las poblaciones de *R. indica* posiblemente al activarse microorganismos patógenos de ácaros por el aumento en humedad.
5. En estudio de laboratorio *R. indica* es afectada por ambientes extremos de sequía, mientras que ambientes húmedos favorecen su sobrevivencia.
6. Los factores ambientales, como la precipitación y la humedad pudieran ser un elemento clave para la activación de microorganismos patógenos de ácaro.
7. La dosis de 3 y 5ml del acaricida sistémico Vydate L. (oxamyl) mostraron mayor control de las poblaciones de *R. indica* a los 21 días de su aplicación. Resurgiendo las mismas a los 80 días de aplicación. Este producto no está registrado para ser utilizado en palmas. Es utilizados en *Musas* sp. (guineos y plátanos) solamente en Puerto Rico para el control de nematodos e insectos barrenadores.
8. Las plantas tratadas con Vydate L. (oxamyl) mostraron mayor contenido de clorofila y conductancia estomatal.

CAPITULO II. COMPORTAMIENTO DE COLONIZACION DE *Raoiella indica* EN DIFERENTES PLANTAS MONOCOTILEDÓNEAS

Introducción

Luego de conocer una de las formas de dispersión de *R. indica* y la superficie donde ocurre su alimentación en las hojas de palma de coco (hospedero principal), surgen nuevas hipótesis sobre su comportamiento en plantas hospederas y no hospederas durante su dispersión. Los ácaros no pueden controlar sobre que plantas van a caer mientras se dispersan y pueden llegar a una planta no hospedera teniendo como opción volver a dispersarse o morir (Skorack, et al. 2007). La morfología de las superficies de las hojas juega un rol importante en la interacción entre las plagas y las plantas que las reciben durante su dispersión. La superficie lisa de las hojas de palma ayudan a *R. indica* a establecerse y colonizar este hospedero sin encontrar barreras que lo impidan. Algunas plantas cuentan con barreras naturales, como las tricomas, que ayudan a detener el ataque de ácaros fitófagos (Van den Boom et al., 2003). No se han encontrado estudios relacionados sobre el efecto de tricomas en hojas de nuevas plantas en el comportamiento de colonización de *R. indica*.

La habilidad de los ácaros en encontrar la superficie donde se lleva a cabo su alimentación también es importante al momento de invadir y colonizar nuevas plantas hospederas. La posición de la superficie foliar donde los ácaros se alimentan pudiera ser un determinante en la rapidez en que ocurra la infestación. La preferencia de los ácaros por las diferentes superficies foliares de las plantas es independiente a la familia taxonómica a la que pertenezcan. El ácaro, *Oligonychus ilicis*, lleva a cabo su alimentación en la superficie adaxial de las hojas de *Coffea arabica*, dañando el tejido epidermal y los cloroplastos al introducir su estilete (Fahl et al., 2007). Mientras, *Tetranychus* spp. se alimenta en la superficie abaxial de las hojas de algodón, dañando el área donde ocurre mayor fotosíntesis (Reddall et al., 2004), ambos ácaros de la familia Tetranychidae.

Ácaros de la familia Tenuipalpidae, como por ejemplo: *Brevipalpus phoenicis* y *B. obovatus* comúnmente se observa alimentándose en la zona abaxial, cerca de las venas centrales de las hojas de cítricos (Hatznikolis, 1987; Childers, 1994). *R. indica* tiene preferencia por la superficie abaxial de las hojas utilizando las aberturas estomatales para su alimentación dañando el tejido del mesófilo (Kane et al., 2005). Además, *R. indica* deposita sus huevos en esta superficie en las hojas de palma coco (Moutia, 1958; Jeppson et al., 1975) (**Figura 27**).

Este capítulo trata acerca del comportamiento de *R. indica* sobre las superficies foliares de diferentes plantas monocotiledóneas hospederas (*Cocos nucifera*, *Musa* sp. y *Heliconia* sp.) y no hospederas (*Bambusa* sp. y *Dendrobium* sp.). Además se evaluó el tiempo que tarda *R. indica* en encontrar el área de alimentación e infestación en las hojas de estas.

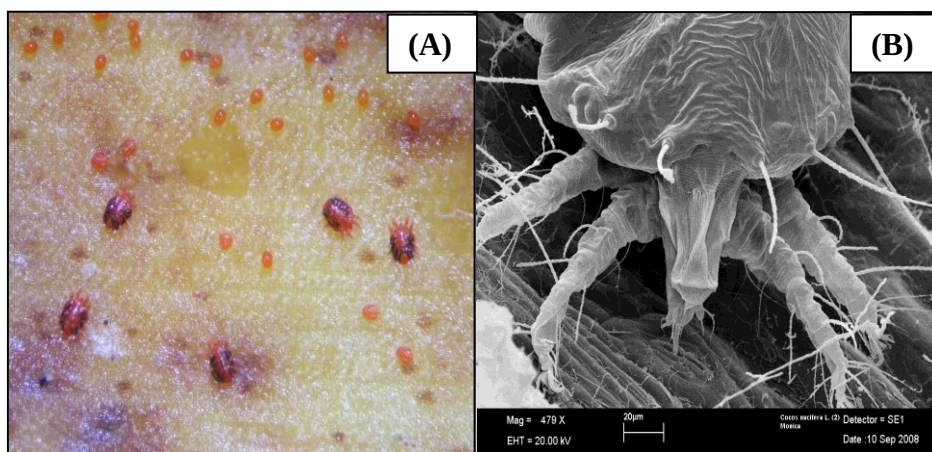


Figura 27. Colonia de *R. indica* en la superficie abaxial de la hoja de palma de coco (**A**) y alimentación a través de las estomas (**B**). Fotos: Dr. J C V. Rodrigues y M. L. Rossi.

Materiales y Métodos

1 Comportamiento de colonización de *Raoiella indica*

Se realizó un experimento para observar el comportamiento de *R. indica* en las diferentes superficies foliares de cinco plantas monocotiledóneas: *C. nucifera* (coco común), *Musa* sp. var. valery (banana), *Heliconia* sp., *Bambusa* sp. (bambú) y *Dendrobium* sp. (orquídea) en el laboratorio de virología y ciencias moleculares de la Estación Experimental Agrícola de Río Piedras. El área experimental contó con una iluminación de 1196.94 lx, humedad relativa de 38.9% y 24.8°C de temperatura. Para cada planta se realizaron dos tratamientos superficie adaxial y abaxial (zona de las estomas) colocadas hacia arriba. El experimento contó con tres replicas por tratamiento. Para las plantas de *C. nucifera*, *Heliconia* sp. *Dendrobium* sp. y *Bambusa* sp. se prepararon “arenas” en placas Petri esterilizadas (150 x 25mm Falcon® polystyrene) colocando paños de algodón (Webril® Fiberweb™) humedecidos con agua destilada estéril en su interior (**Figura 28-A**). Sobre el paño se colocó en cada extremo columnas de cinco laminillas para dar altura a la muestra facilitando el movimiento natural de los ácaros. Encima de las columnas se colocaron tiras de algodón. Luego, se situó un pedazo de 10 cm de hoja de cada planta en el centro de las estribas, colocando otra tira de algodón sobre los extremos dejando un espacio de aproximadamente 6.5 cm para el experimento. El pedazo de hoja de *C. nucifera* se obtuvo de plantas localizadas en el invernadero. La hoja de *Musa* sp. es más susceptible a pérdida de agua y turgencia que las otras plantas utilizadas, por esta razón, se utilizó otro tipo de “arena” pero con las mismas dimensiones del área experimental que se utilizaron para las otras plantas. La hoja de guineo se utilizó sin ser cortada de la planta, diseñando tres arenas con columnas de laminillas y trozos de algodón en ambas superficies de la hoja (**Figura 28-B**).

Para trabajar la superficie abaxial de la hoja de *Musa* sp. sin ser cortada de la planta se invirtió cuidadosamente. Después, se colocó una gota de agua destilada estéril en el centro de cada hoja. Se colocaron 50 hembras adultas en la gota de agua utilizando un pincel fino y un estereoscopio. Luego, se removi6 la gota de agua con un papel absorbente evitando remover a los ácaros y se comenzó a tomar el tiempo. Las lecturas se realizaron en intervalos de 10 minutos durante un periodo de 50 minutos. En hojas de *Musa* sp., *Heliconia* sp., *Bambusa* sp. y *Dendrobium* sp. se extendió el tiempo de lectura a 1372 minutos. Se contabilizó el número ácaros en cada superficie utilizando un estereoscopio.

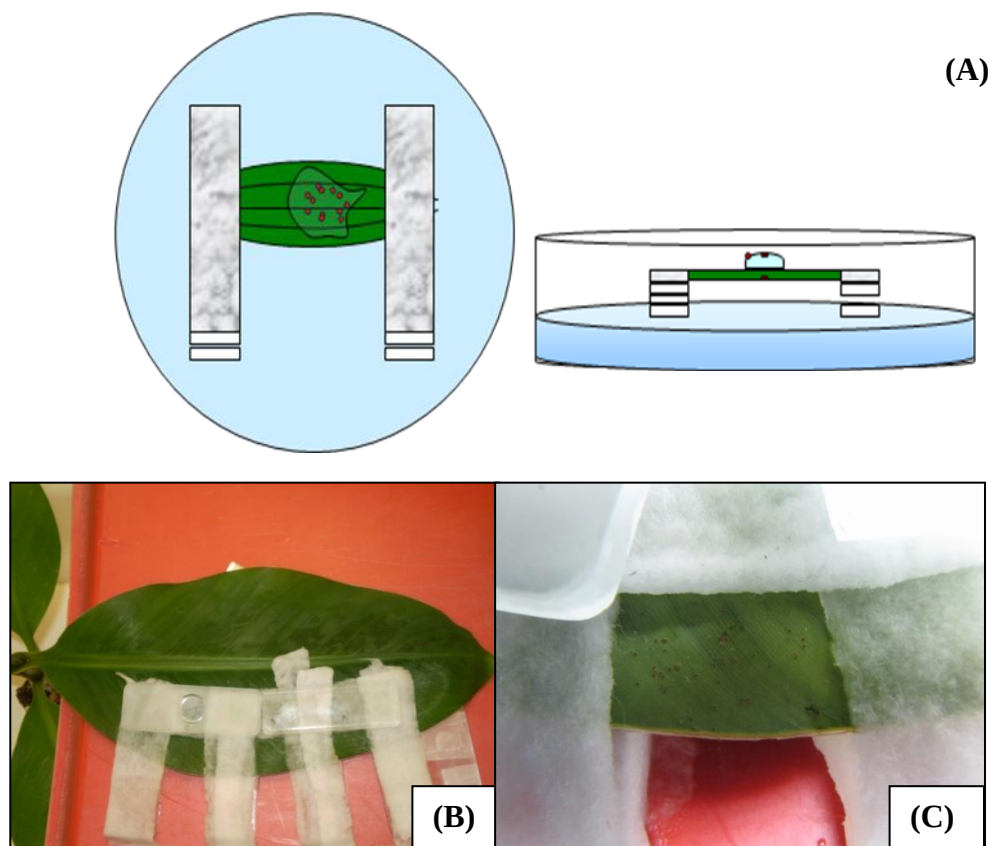


Figura 28. Tipos de “arena” utilizados para observar el comportamiento de *R. indica* Hirst en diferentes superficies foliares (A). Planta de *Musa* sp. mostrando tres “arenas” (B) y los ácaros sobre la superficie adaxial (C).

Resultados

Los datos mostraron tener diferencia significativa en la interacción entre lecturas (tiempo), planta y tratamiento ($p=0.0023$). En arenas de hojas de palma de coco (principal hospedero) los datos indicaron diferencia significativa entre la cantidad de ácaros en la superficie adaxial y abaxial a los 30 minutos ($p=0.0148$; ANOVA, Tukey) (**Figura 29-A**). En la superficie adaxial se observó a *R. indica* moviéndose rápidamente sin alimentarse. Sin embargo, en la superficie abaxial se observaban alimentándose y tranquilos. También, se observó algunos “ácaros exploradores” migrando hacia la superficie adaxial regresando posteriormente. El comportamiento de *R. indica* en *C. nucifera* se utilizó de referencia para ser comparado con otras plantas hospederas y no hospederas utilizadas en este experimento. El comportamiento de *R. indica* en hojas de *Musa* sp. (hospedero) fue diferente, estos se mantuvieron más tiempo (50 minutos) en ambas superficies. Luego, la cantidad de ácaros disminuyó en la superficie adaxial a los 863 minutos, mostrando diferencia significativa hasta los 1372 minutos ($p<0.05$) (**Figura 29-B**). Cuando se colocaron en la superficie abaxial se observaban alimentándose y tranquilos, moviendo su primer par de patas (delanteras). En arenas de hojas de *Heliconia* sp. (hospedero), los ácaros mostraron un comportamiento parecido a cuando estaban en las superficies de las hojas de palma de coco mostrando diferencia significativa entre lo número de ácaros en las dos superficies de la hoja a los 40 minutos hasta los 1372 minutos ($p=0.0225$) (**Figura 31-A**).

El comportamiento de *R. indica* en las superficies de la hojas de *Bambusa* sp. (planta no hospedera), demostró una disminución significativa en el número de ácaros en la superficie adaxial a los 40 minutos solamente ($p=0.0206$) (**Figura 31-B**).

En ambas superficies (adaxial y abaxial) de hojas de *Bambusa* sp. se observó a los ácaros inquietos moviendo sus patas rápidamente. Luego de los 1372 minutos los ácaros estaban muertos con sus patas extendidas. El comportamiento y muerte puede haber sido provocado por la presencia de tricomas en las superficies foliares evitando el movimiento y la alimentación del mismo (**Figura 29**). Mientras que en arenas de hojas de *Dendrobium* sp. los datos indicaron disminución significativa desde los 20 hasta los 1372 minutos ($p<0.05$) en la superficie adaxial. Estos se observaban tranquilos y mostraban un comportamiento parecido cuando estaban frente a las superficies de *C. nucifera* (**Figura 32**).

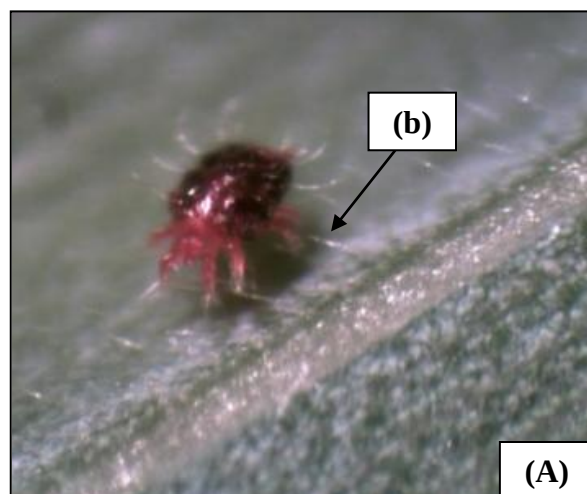


Figura 29. *R. indica* Hirst en la superficie foliar de *Bambusa* sp. **(A)**. Tricomas en la superficie de la hoja de *Bambusa* sp. **(b)**.

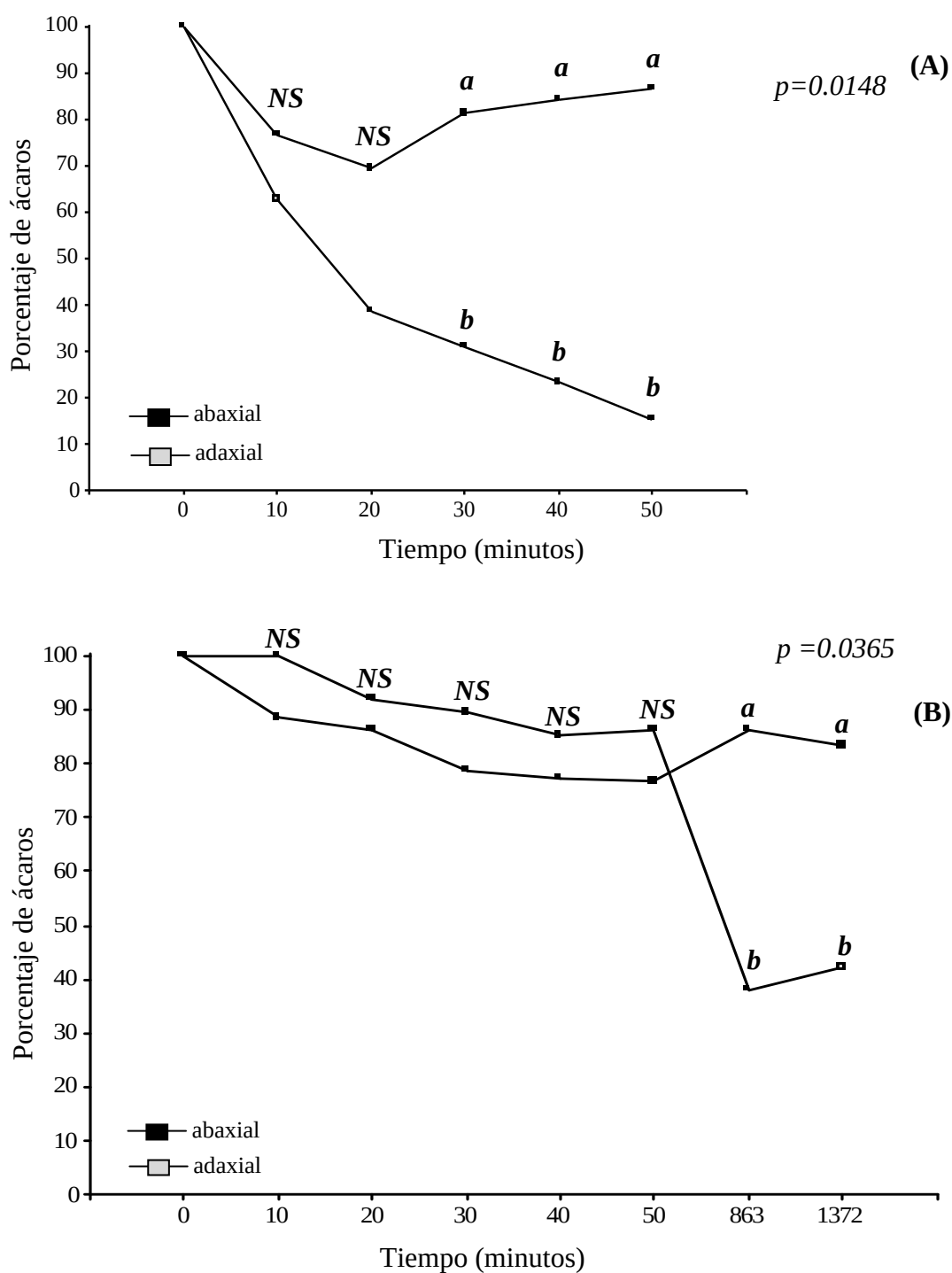


Figura 30. Comportamiento de *R. indica* Hirst en la superficie abaxial o adaxial de *Cocos nucifera* (A) y *Musa* sp. (B). El experimento se extendió por 22 h en *Musa* sp. Datos originales se transformaron a porcentajes (%). Los datos son un promedio de tres replicas. Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos a través del tiempo ($p < 0.05$; ANOVA, Tukey)

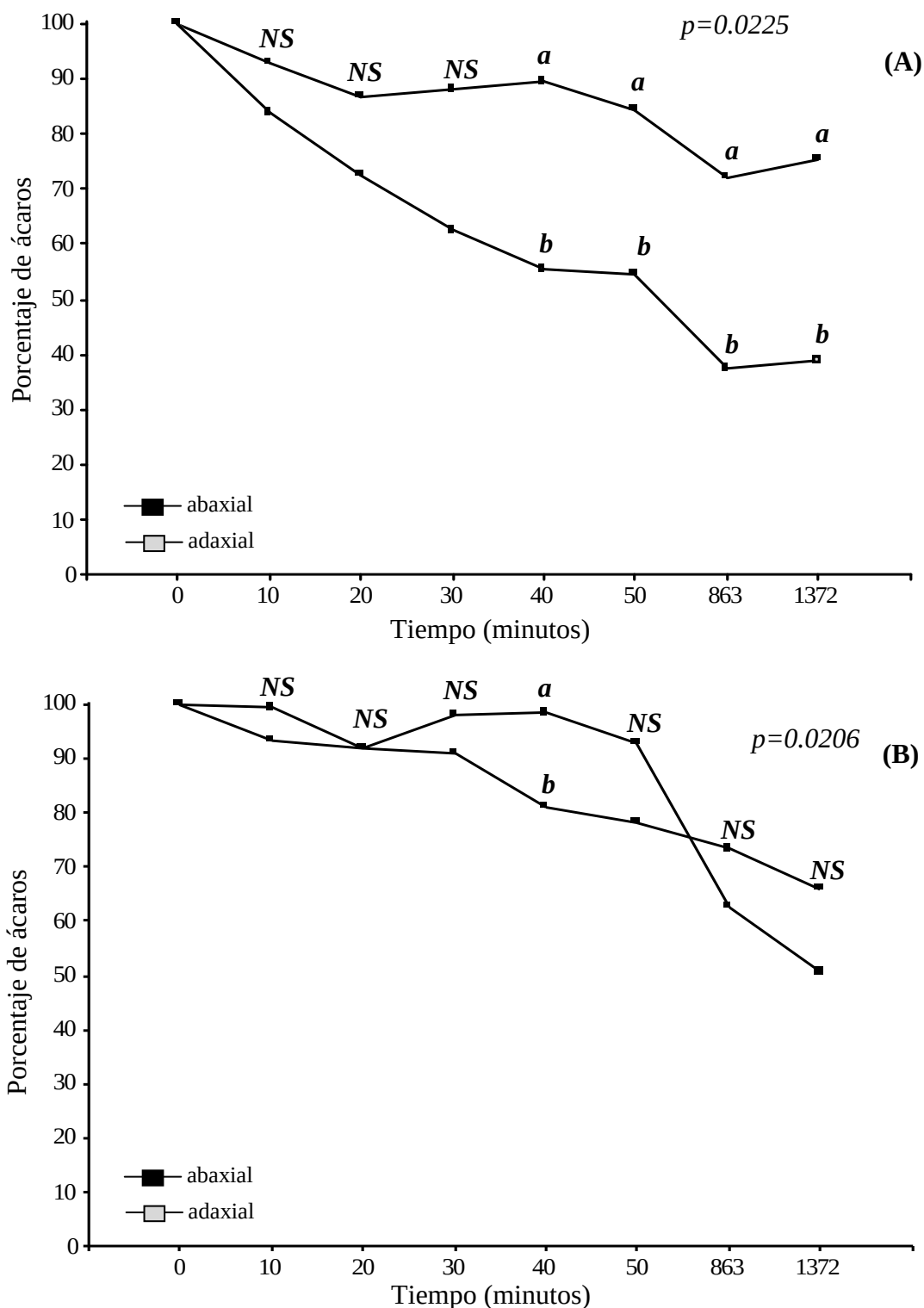


Figura 31. Comportamiento de *R. indica* Hirst en la superficie abaxial o adaxial de *Heliconia* sp. (A) y *Bambusa* sp. (B). El experimento se extendió por 22 h en ambas plantas. Datos originales se transformaron a porcentajes (%). Los datos son un promedio de tres replicas. Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos a través del tiempo ($p < 0.05$; ANOVA, Tukey)

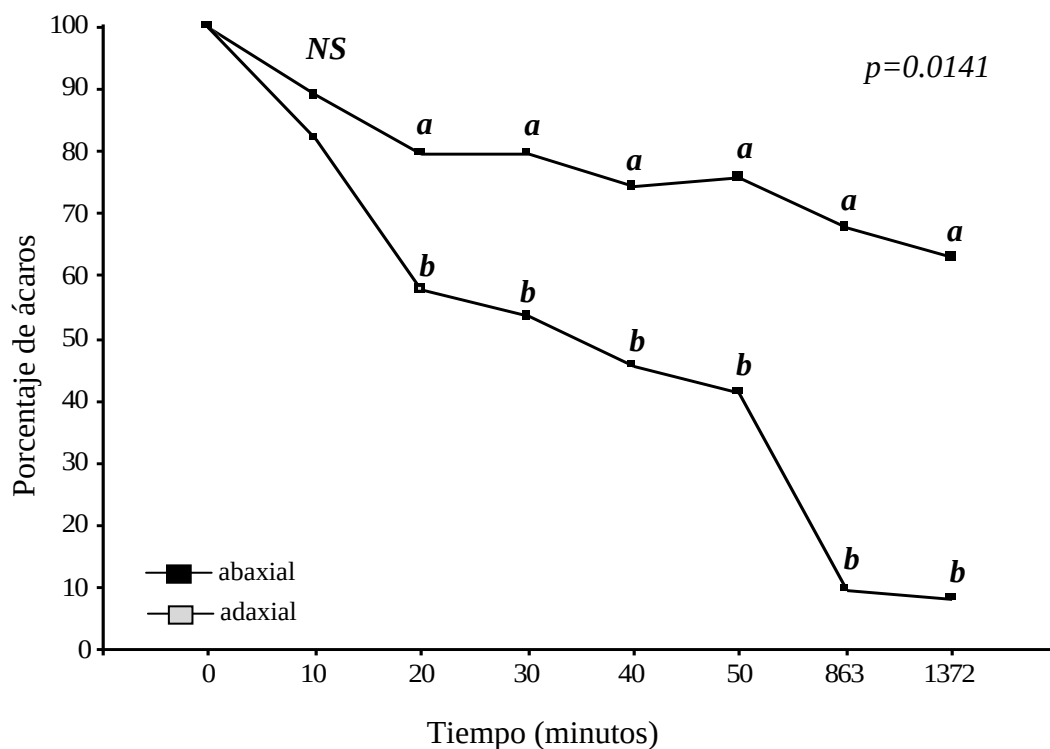


Figura 32. Comportamiento de *R. indica* Hirst en la superficie abaxial o adaxial de *Dendrobium* sp. (A). El experimento se extendió por 22 h. Datos originales se transformaron a porcentajes (%). Los datos son un promedio de tres replicas. Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos a través del tiempo ($p < 0.05$; ANOVA, Tukey)

Discusión

Este estudio aclara el comportamiento de *R. indica* Hirst cuando está en contacto por primera vez con plantas hospederas y no hospederas. En las arenas de: *C. nucifera*, *Musa* sp., *Heliconia* sp. y *Dendrobium* sp. se pudo observar la preferencia de *R. indica* por la superficie abaxial donde permanecieron por mayor tiempo. En esta superficie también se encuentra la mayor cantidad de estomas comparado con la superficie adaxial (Martin y Glover, 2007) y está asociada al lugar de alimentación de *R. indica* donde daña el tejido del mesófilo (Kane et al., 2005). *R. indica* pudo identificar la superficie abaxial de las diferentes plantas utilizadas en el estudio pero tuvo variación en el tiempo en que reconoció que estaba en lugar opuesto de las estomas (superficie adaxial). En *C. nucifera*, los ácaros se mostraron más activos dispersándose por toda la superficie adaxial en contraste con *Musa* sp. y *Heliconia* sp. (hospederos). Sin embargo, en la planta no hospedera, *Dendrobium* sp., el comportamiento de *R. indica* fue similar al de su hospedero principal.

La morfología y los mecanismos de defensa de las superficies foliares de las plantas son otros factores que influyen en el comportamiento de colonización de *R. indica*. En este estudio no se encontró relación entre la preferencia de las superficies foliares de *Bambusa* sp. y el comportamiento de *R. indica*. Estos tuvieron dificultad en llegar a las superficies foliares al encontrarse con las tricomas, provocando posteriormente su muerte.

En estudios realizados por Patterson, et al., (1974) mencionan la resistencia a *Tetranychus urticae* Kock (Acari:Tetranychidae) en diferentes especies de *Nicotiana* por la presencia de tricomas, atrapándolos y causándoles la muerte por deshidratación. Esto concuerda con lo encontrados en el estudio del comportamiento de *R. indica* en las superficies foliares de *Bambusa* sp.

Estos hallazgos ayudan a comprender el comportamiento de *R. indica* cuando está en contacto por primera vez con diferentes plantas luego de su dispersión presentando un perfil del comportamiento del ácaro luego de encontrarse con la planta hospedera.

Conclusiones

1. *R. indica* Hirst responde de manera diferenciada a la superficie abaxial (estomas) de plantas hospederas y no hospederas
2. Permanece en el área de las estomas (superficie abaxial) al mantenerse en esta superficie luego de 22 horas, a diferencia de su reacción en la superficie adaxial.
3. Las barreras naturales de las plantas (i.e. tricomas) interfieren en la colonización y sobrevivencia de ésta especie.

CAPÍTULO III. MICROORGANISMOS ASOCIADOS A *Raoiella indica*
(ACARI: TENUIPALPIDAE)

Introducción

Los microorganismos juegan un rol importante en la historia de los artrópodos en su carácter de endosimbiontes, patógenos y controladores biológicos. Diferentes estudios sobre los efectos de endosimbiontes en artrópodos mencionan alteraciones en la reproducción de su hospedero, como por ejemplo: incompatibilidad citoplasmática, partenogénesis y fecundidad (Novelli et al., 2005). *Brevipalpus phoenicis* Geijskes (Acari: Tenuipalpidae), vector de la leprosis de los cítricos, posee reproducción partenogénica de tipo telitoquia (progenie femenina). Se encontró en la etapa de huevo, la presencia de bacterias endosimbiontes (*Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides*) generando la feminización de los machos (Weeks et al., 2001). Este sistema reproductivo es una gran ventaja para los ácaros de importancia económica, debido a que se necesita solo de una hembra para su éxito en la colonización de nuevos hospederos o nuevos ambientes.

Los estudios de patógenos en ácaros presentan dos vertientes: el control de enfermedades que ocurren naturalmente que afectan a ácaros beneficiosos y el control de ácaros plaga (Poinar y Poinar, 1998). Por esta razón, podemos encontrar microorganismos que son patógenos de otros que son beneficiosos al agroambiente. Los patógenos pueden alterar la fisiología, morfología y comportamiento de sus hospederos. En *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae), depredador especializado en las especies de *Tetranychus*, se identificó la bacteria patógena *Acaricomes phytoseiulis*. Ésta bacteria provoca cambios morfológicos (ácaros más pequeños) y baja fecundidad en *P. persimilis* en su ambiente natural, afectando su función como biocontrolador (Gols et al., 2007).

Los hongos son los microorganismos más estudiados como patógenos de ácaros, debido a la fácil detección de micelio y esporas sobre estos (Poinar y Poinar, 1998). Otra característica positiva que presentan los hongos es el bajo costo y la fácil producción de conidias infectivas para el control de plagas. Los hongos entomopatogénicos proveen una alternativa viable para el control de plagas, ya que se pueden encontrar en diferentes condiciones ecológicas. Existen varios factores importantes en la utilización de hongos entomopatogénicos. Entre estos: la fácil dispersión de los propágulos infectivos hacia otros hospederos y la influencia de las condiciones ambientales (temperatura, humedad y luz ultravioleta) en la producción, sobrevivencia y germinación de esporas (Chandler et al., 2000; Hajek y Leger, 1994).

El hongo *Metarhizium anisopliae* variedad *acridum*, se evaluó como biocontrolador de *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae). Se encontró que a los ocho días después de su aplicación causó un 90% de mortalidad y una reducción en la producción de huevos (Magalhães et al., 2005). Otro estudio demostró la efectividad de *Bauveria bassiana*, *M. anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* en huevos de *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae). Los huevos infectados con *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* mostraron reducción en tamaño con una coloración de naranja a marrón. Los infectados con *M. anisopliae* mostraron coloración gris oscuro. Estos resultados se obtuvieron al mantener condiciones de alta humedad (Shi y Feng, 2004). El objetivo principal de este estudio fue reportar la frecuencia de microorganismos asociados a *R.indica* en tres diferentes regiones de Puerto Rico.

Materiales y Métodos

1 Aislamiento y caracterización molecular de hongos asociados a *Raoiella indica* Hirst

Se inspeccionaron con un lente de mano (10 x) las hojas de palma de coco establecidas en el invernadero de la Estación Experimental Agrícola de Río Piedras, provenientes de la Reserva Natural de Humacao buscando poblaciones de *R. indica* con algún tipo de sintomatología. Estas palmas fueron expuestas a riego aéreo de 45mm de agua semanales por un periodo de cuatro meses. Luego, se cortó la hoja de palma de coco infestada y se transportó al laboratorio. Los ácaros candidatos para el aislamiento de los microorganismos se seleccionaron mediante un estereoscopio. Las características utilizadas para la selección de los ácaros fueron: cambio de color (de rojo a marrón oscuro) en ácaros y huevos, deformidad y crecimiento micelial sobre ellos. Se colocaron cuatro ácaros con una punta de metal esterilizada en placas Petri 60 x15mm (Falcon®) en medio de cultivo de agar de papa y dextrosa (PDA-Difco) con 300 mg/L de sulfato de estreptomicina (Sigma, Chemicals) para suprimir el crecimiento de bacterias contaminantes en 50 replicas. Luego, se colocaron en incubadora a 26.5°C por cinco días. Estas se inspeccionaron visualmente cada dos días y se aislaron los hongos desarrollados sobre los ácaros. Los hongos se purificaron en medio de PDA. Las colonias de hongos se clasificaron según características macroscópicas tales como pigmentación en el medio de cultivo, color, margen y elevación de la colonia, para luego formar grupos morfológicos.

1.1 Caracterización molecular de hongos

Para la caracterización molecular de hongos asociados a *R. indica*, se utilizaron dos aislados de cada grupo (seis grupos en total) con características macroscópicas similares.

Se colocó 0.02 gr de micelio en tubos plásticos estériles de 1.5 ml para extracción de ADN utilizando el protocolo según descrito por Sambrook et al., (1989) modificando el proceso de maceración del micelio. Inicialmente se maceró el micelio de los hongos con 200 µl de amortiguador de fosfato, luego se añadió 200 µl del amortiguador de extracción siguiendo los pasos subsiguientes del protocolo. Se cuantificó la concentración de ácido desoxirribonucleico (ADN) con un nano-drop (The Thermo Scientific NanoDrop).

Se amplificó la región ITS1 e ITS2 (Internal Transcribed Spacer) del ácido desoxirribonucleico ribosomal (rDNA) por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (siglas en inglés, PCR) utilizando los cebadores ITS 1 (5'-CGT AAC AAG GTT TCC GTA GG-3') e ITS 4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') (Martin, com. pers.; White et al., 1990) obteniendo una región que varía en tamaño de 500-750 pb. Se utilizaron 25µl como volumen total de la reacción de PCR. Este volumen contenía 12.5µl Promega PCR Master Mix y 0.7 µl de cada cebador (25 µmol). El volumen de agua libre de nucleasa (Promega) y de ADN variaba según la concentración de este. Luego, la mezcla para el PCR se colocó en un termociclador (Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler) con las condiciones descritas por White et al. (1990) modificado (**Figura 33**).

Los productos del PCR se visualizaron mediante la utilización de bromuro de etidio en un gel de agarosa al 1% en un iluminador de rayos ultravioleta (GelDoc-It® Imaging System). El producto de la amplificación se purificó utilizando el kit comercial (GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit, Q-gene). El proceso de purificación de bandas es importante porque limpia el ADN de otras reacciones enzimáticas que pueden interferir en el proceso de secuenciación. La secuenciación determina el orden de las adenina, timina, citocina y guanina (nucleótidos) del ADN que servirá para la identificación de los hongos asociados a *R. indica*.

En la secuenciación se utilizaron los mismos cebadores (ITS1 e ITS4) que en la reacción de PCR, llevado a cabo en un secuenciador automático (Applied Biosystem) en el laboratorio de "Sequencing and Genotyping Facility", Universidad de Puerto Rico, Recinto de Río Piedras.

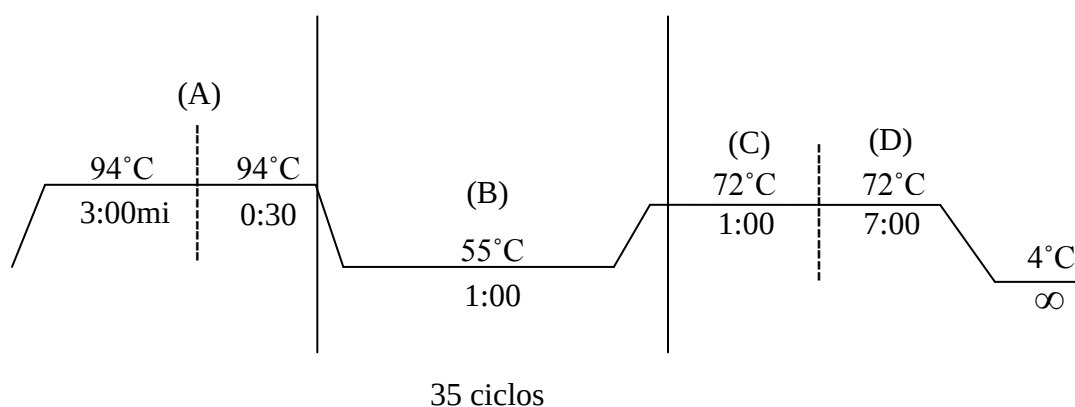


Figura 33. Condiciones necesarias para la desnaturalización (A), hibridación (B), extensión (C) y extensión final (D) en el proceso de PCR para la amplificación de la región ITS de los hongos asociados a *R. indica* utilizando los cebadores ITS1 e ITS del ADNr.

2 Aislamiento de Bacterias

Se seleccionaron 4 ácaros al azar de la hoja de palma de coco proveniente del Jardín Botánico de Río Piedras, San Juan y la isla de Mona. Se colocaron con una punta de metal esterilizada en placas Petri 60 x15mm (Falcon®) con medio de cultivo de agar de tripticasa y soya (TSA-Difco) al 5% enmendado con benomyl (Benlate 50 WP 100mg/L). Se realizaron 50 replicas por localidad. Luego, se incubaron a 26.5°C por cinco días, y se monitorearon cada dos días para evitar contaminación de las muestras. Se aislaron las bacterias con crecimiento sobre los ácaros, evitando bacterias contaminantes que desarrollaban en los medios de cultivo. Después de la purificación inicial se inspeccionaron las placas Petri nuevamente observando algún tipo de crecimiento secundario de interés.

2.1 Caracterización molecular de bacterias

Para la extracción de ADN se utilizó el protocolo descrito por Sambrook, et al., (1989). Se realizaron lecturas de concentración de ADN con un nano-drop (The Thermo Scientific NanoDrop). Luego de la extracción de ADN, se amplificó la unidad 16S del ácido desoxirribonucleico ribosomal (rADN) por medio de PCR utilizando los cebadores universales fd1 (5'- AGA GTT TGA TCC TGG CTG AG -3') y rp2 (5'- ACG GCT ACC TTG TTA CGA CTT -3') (Weisburg et al., 1991).

El volumen total de la reacción de PCR fue de 25µl. Este volumen contenía 12.5µl Promega PCR Master Mix y 0.7 µl de cada cebador (25 µmol). El volumen de agua libre de nucleasa (Promega) y de ADN variaba según la concentración de este. Luego la mezcla para el PCR se colocó en un termociclador (Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler) con las condiciones modificadas descritas por Weisburg et al., (1991) (**Figura 34**).

Los productos del PCR se visualizaron mediante la utilización de bromuro de etidio en un gel de agarosa al 1% en un iluminador de rayos ultravioleta (GelDoc-It® Imaging System). La banda producida en el producto de PCR es de aproximadamente 1,500 pb. El producto de la amplificación se purificó utilizando el kit comercial (GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit, Q-gene). En la secuenciación se utilizaron los mismos cebadores (fd1 y rp2) que en la reacción de PCR, llevado a cabo en un secuenciador automático (Applied Biosystem) en el laboratorio de "Sequencing and Genotyping Facility", Universidad de Puerto Rico, Recinto de Río Piedras.

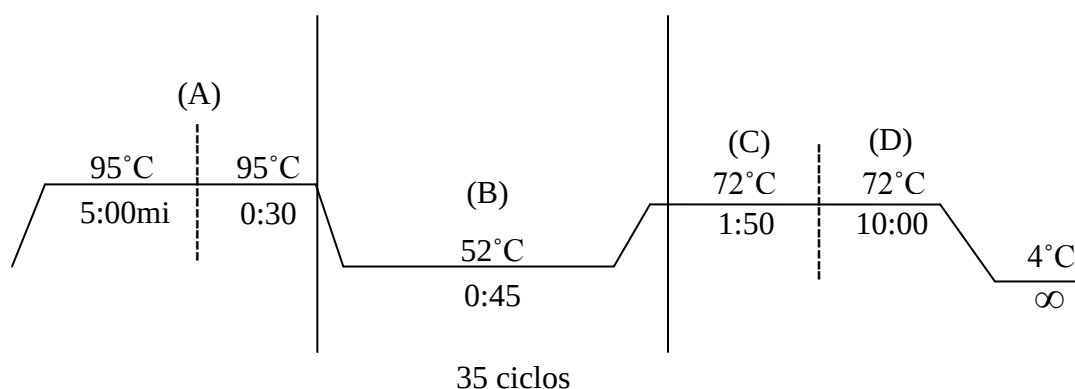


Figura 34. Condiciones necesarias para la desnaturalización (A), hibridación (B), extensión (C) y extensión final (D) en el proceso de PCR para la amplificación de la unidad 16S del ácido desoxirribonucleico ribosomal (rADN) de bacterias asociadas a *R. indica* utilizando los cebadores fd1 y rp2.

3 Análisis de resultados de hongos y bacterias

Las secuencias obtenidas se analizaron utilizando la bases de datos BLAST “National Center for Biotechnology Information website” [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>] y mediante el software ARB (Department of Microbiology, Technical University of Munich, Munich, Germany [<http://www.arb-home.de>]). Los nucleótidos obtenidos de la secuenciación se colocaron en el GenBank para comparar la homología con otras especies para complementar su identificación.

Resultados

Hongos

Los síntomas presentados en *R. indica*, como: cambio de color (de rojo a marrón oscuro) en ácaros y huevos, deformidad y crecimiento micelial sobre ellos fueron clave para la aislación de hongos (**Figura 35**). Un total de 200 ácaros fueron estudiados, donde se aislaron un total de 66 hongos obteniendo un éxito de aislación de un 33%. Estos 66 aislados de hongos se clasificaron según sus características macroscópicas separándose seis grupos diferentes (**Figura 36 y 37**). Para obtener la frecuencia de cada especie se utilizó el número de aislados de cada grupo y se dividió entre el total de hongos aislados. Los hongos identificados fueron: *Sp 01*^ψ, *Penicillium paxilli*, *Simplicillium* sp., *Lecanicillium lecanii*, *Fusarium* sp. e *Hirsutella thompsonii*. Los aislados *Sp 01* (53%) y *P. paxilli* (24%) ocurrieron en mayor frecuencia, siendo *H. thompsonii* el de menor frecuencia (2%) (**Figura 38**).

No se observaron diferencias entre los fragmentos de ADN amplificados mediante técnicas moleculares de los hongos estudiados, los cuales variaron entre 500 a 700 pares de bases (**Figura 39**). Esta región se secuenció y los nucleótidos obtenidos se compararon con el banco de datos del GenBank para determinar su homología con otras especies de hongos (máximo de identidad) y obtener su identificación (**Tabla 7**).

^ψ *Sp 01*. Esta siendo caracterizada y se estudia para la posibilidad de desarrollo de una patente

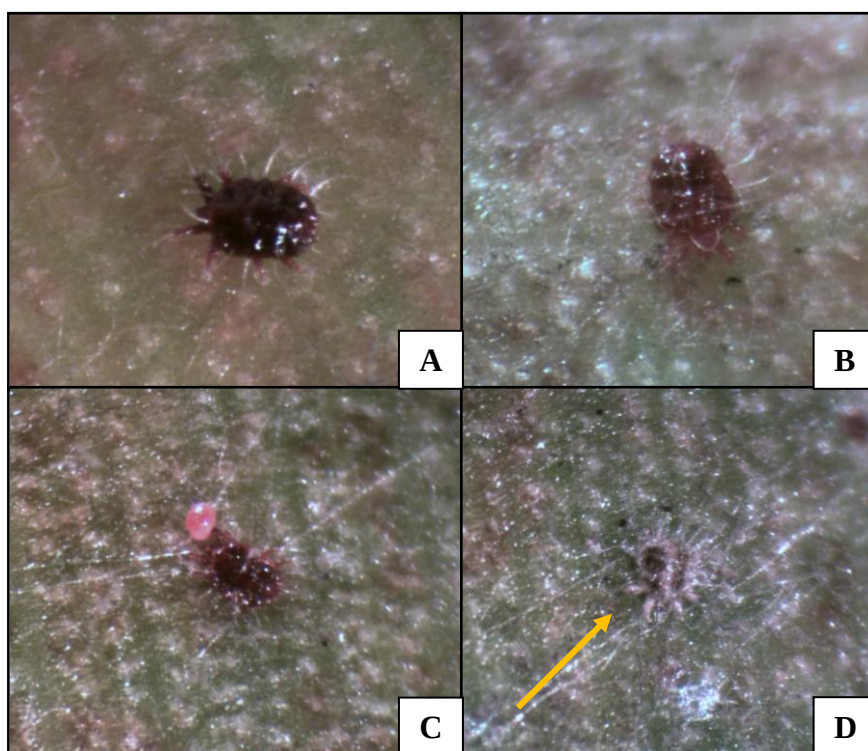


Figura 35. Sintomatología observada en *R. indica* infestados con hongos. Coloración oscura (**A**), desarrollo micelial (**B**), palidez en la coloración de huevos (**C**) y necrotización con abundante micelio sobre los ácaros marcado con una flecha (**D**). Fotos: Dr. Jose C. V. Rodrigues

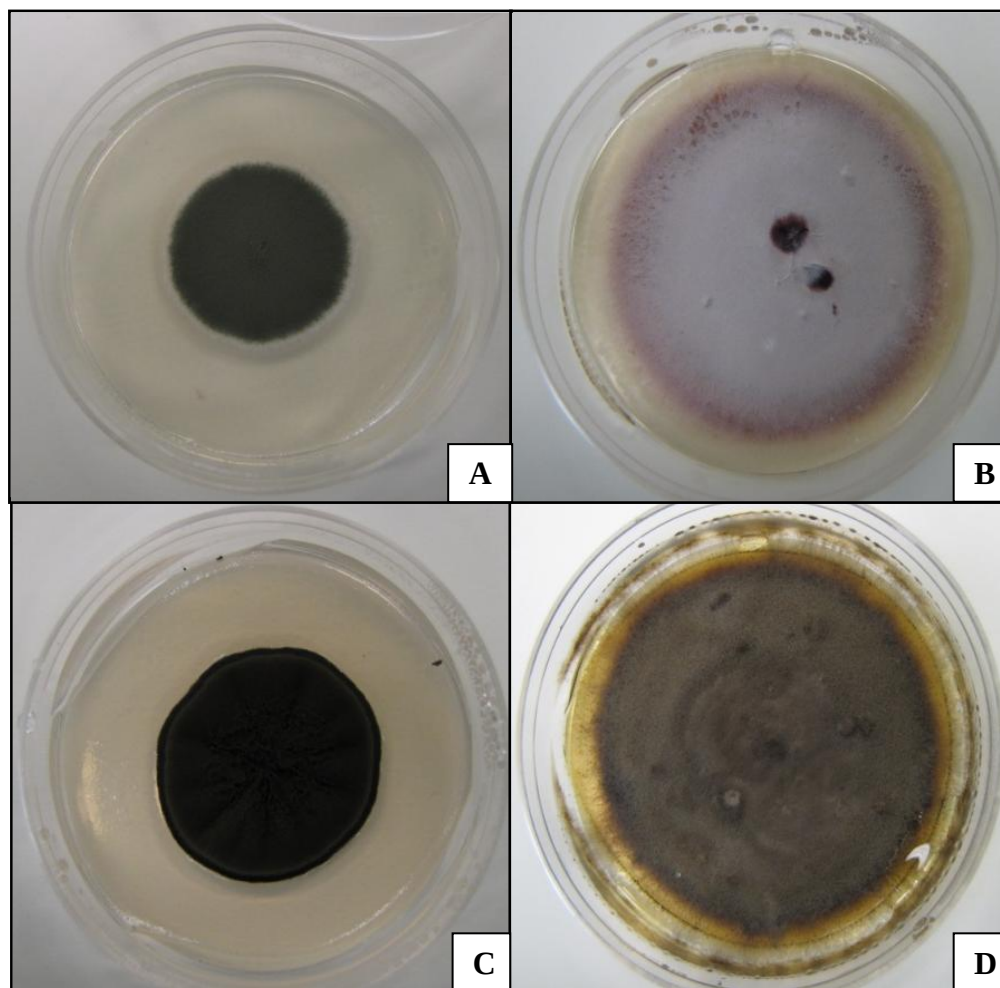


Figura 36. Grupo de especies de hongos aislados de *R. indica*. **(A)** *Penicillium paxilli*, **(B)** *Simplicillium* sp., **(C)** *Sp 01* y **(D)** *Sp 01-B* (C y D están unidos en un solo grupo morfológico).

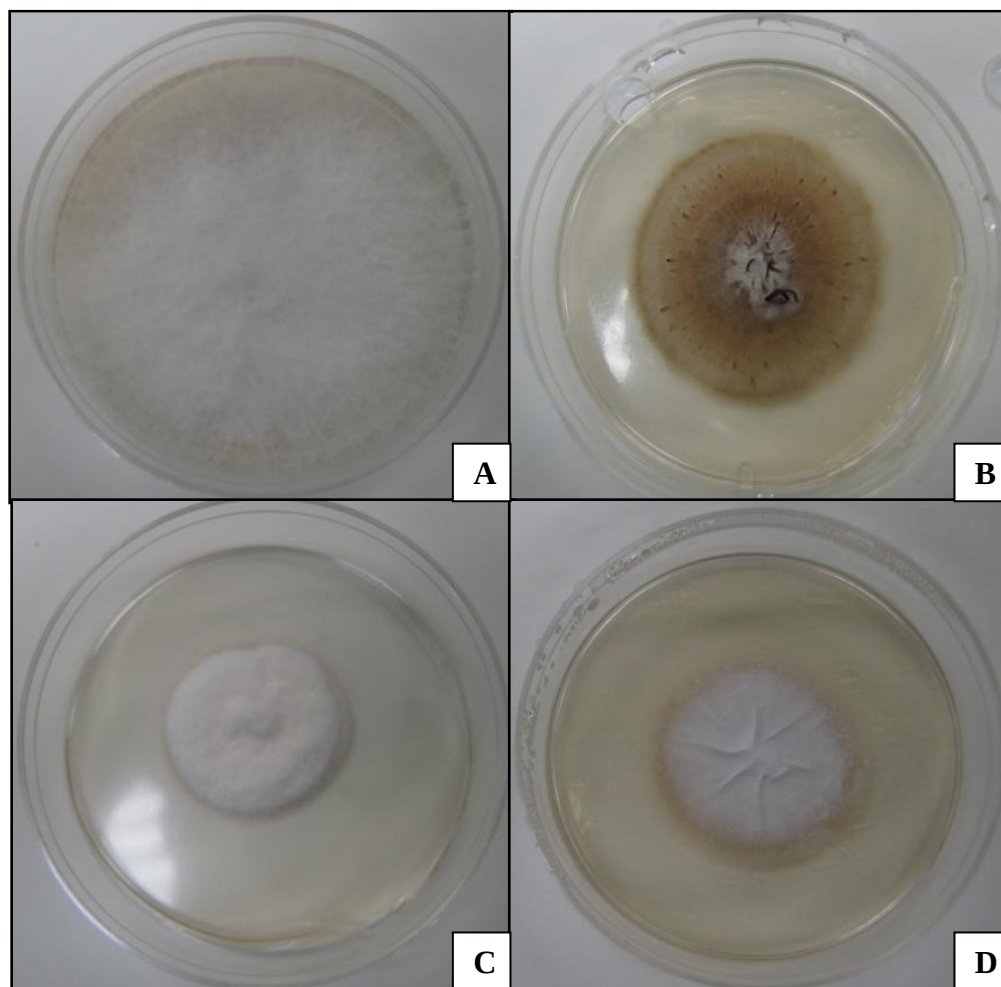


Figura 37. Grupo de especies de hongos aislados de *R. indica*. **(A)** *Fusarium* sp., **(B)** *Hirsutella thompsonii*, **(C)** *Acremonium* sp. y **(D)** *Lecanicillium lecanii*.

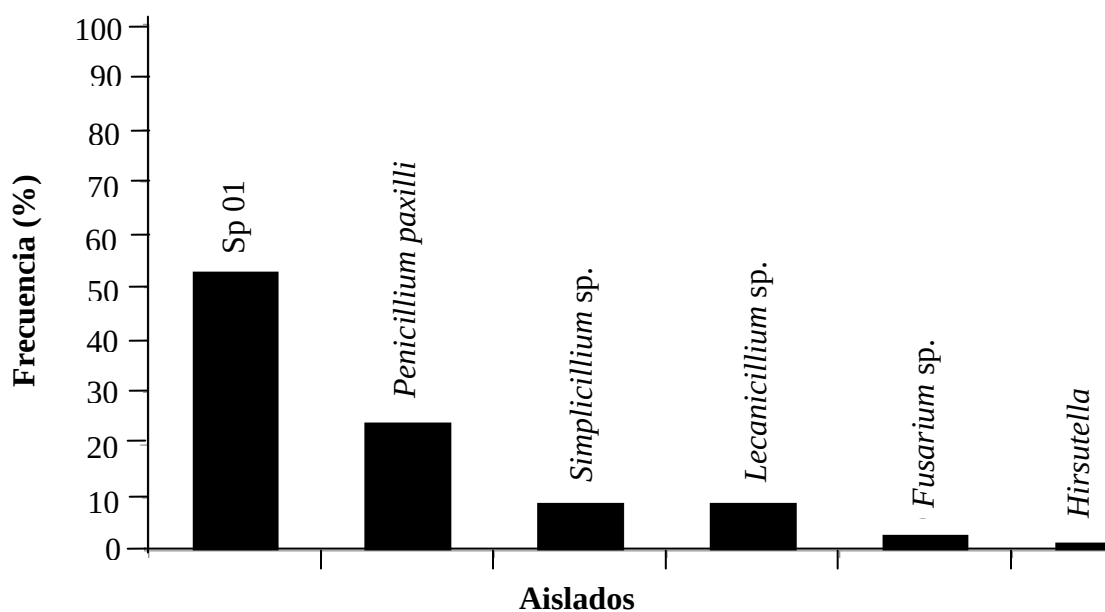


Figura 38. Frecuencia (%) de hongos aislados de *R. indica* Hirst de la Reserva Natural de Humacao, P. R.

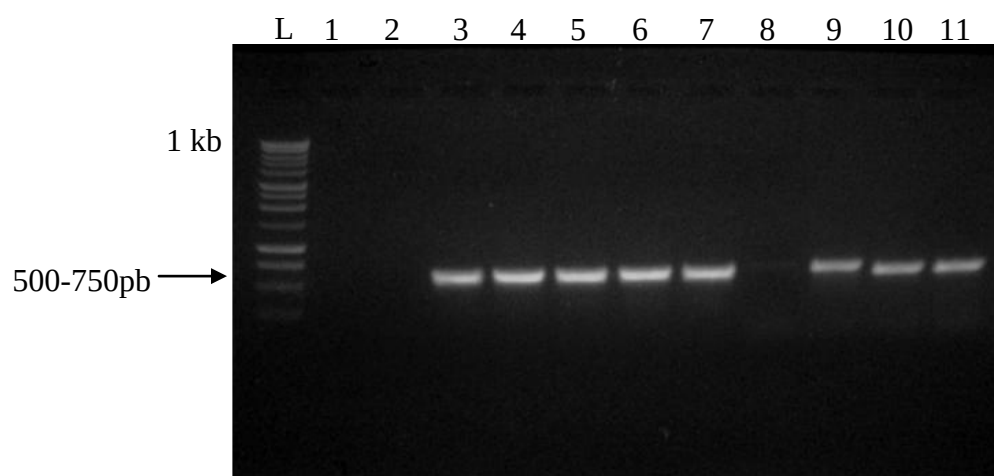


Figura 39. Producto de la amplificación (500-750 pb) de la región ITS del ADNr con los cebadores ITS 1 e ITS 4 de los diferentes grupos de hongos aislados de *R. indica* Hirst Fosa L, marcador 1kb; fosa 1-2, no ocurrió amplificación; fosa 3-7, SP 01; fosa 9, *Simplicillium sp.* y fosa 10-11, *Fusarium sp.*

Tabla 7. Porcentaje de identidad utilizado para la identificación de los hongos aislados de *R. indica* de la Reserva Natural de Humacao, P. R.

Orden	Especies identificadas	^aMáximo de identidad (%)	Número de acesión homologa
----	<i>Sp 01</i>	99	-----
<i>Moniliales</i>	<i>Penicillium paxilli</i>	98	-----
<i>Moniliales</i>	<i>Fusarium</i> sp.	99	HM590497
<i>Hypocreales</i>	<i>Simplicillium</i> sp.	99	FJ861375
<i>Hypocreales</i>	<i>Lecanicillium lecanii</i>	98	EF513007
<i>Hypocreales</i>	<i>Hirsutella thompsonii</i>	98	DQ345579

^a Proporción de alineamientos idénticos de nucleótidos utilizando BLAST “Basic Local Alignment Search Tool” de NCBI “National Center for Biotechnology Information” en http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi?CMD=Web&PAGE_TYPE=BlastHome.

Bacterias

Un total de 36 bacterias cultivables fueron aisladas de *R.indica*, y se identificaron molecularmente 14 cepas, utilizando la amplificación de la unidad 16S (rADN) obteniendo una región de aproximadamente 1,500 pb (**Figura 37**). No se observó diferencias entre los tamaños amplificados. La secuencia de nucleótidos obtenidos se colocaron en el GenBank para comparar la homología con otras especies (máximo de identidad) y obtener su identificación. Entre las especies de bacterias identificadas provenientes del Jardín Botánico están: *Microbacterium* sp., *Methylobacterium* sp., *Curtobacterium* sp., *Bacillus funiculus*, *Bacillus* sp. y *Staphylococcus epiderm*. También se identificaron *Bacillus* sp., *Aneurinibacillus* sp., *Streptomyces* sp., *Paenibacillus* sp., *Sporosarcina* sp., *Mycobacterium* sp., *Paracoccus* sp, y *Roseomonas* sp. provenientes de la Isla de Mona (**Tabla 8**). Las bacterias identificadas son diferentes en ambas localidades, excepto *Bacillus* sp. que está presente en ambos lugares y es la de mayor frecuencia encontrada.

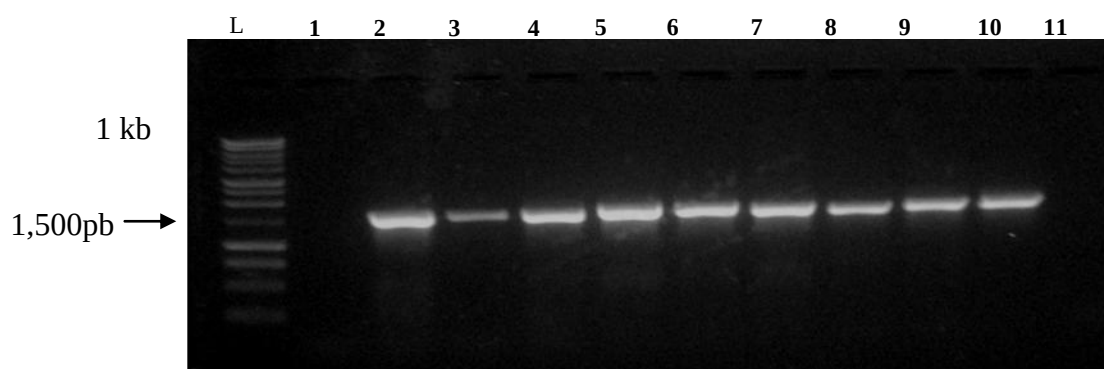


Figura 40. Producto de la amplificación (1,500 pb) de la unidad 16S del rADN utilizando los cebadores universales fd1 y rp2 de diferentes bacterias aisladas de *R. indica* Hirst. Fosa L, marcador 1kb; fosa 1, no ocurrió amplificación; fosa 2, *Microbacterium* sp.; fosa 4, *Methylobacterium* sp.; fosa 7, *Curtobacterium* sp.; fosa 8, *Methylobacterium* sp.; fosa 10, *Bacillus funiculus* y fosa 11 control negativo (solo cebador)

Tabla 8. Bacterias aisladas de *R. indica* Hirst e identificadas de la localidad de Río Piedras, San Juan e Isla de Mona

Especies identificadas	^a Máximo de identidad(%)	Número de acesión homologa	Origen de <i>R. Indica</i>	^b Bacterias aisladas
<i>Microbacterium</i> sp.	98	EU867300	Río Piedras, San Juan	1
<i>Methylobacterium</i> sp.	98	GU591546	Río Piedras, San Juan	3
<i>Curtobacterium</i> sp.	96	HM045826	Río Piedras, San Juan	1
<i>Bacillus funiculus</i>	97	AB271134	Río Piedras, San Juan	1
<i>Bacillus</i> sp.	99	AJ489384	Río Piedras, San Juan	2
<i>Staphylococcus epiderm</i>	100	-----	Río Piedras, San Juan	1
<i>Bacillus</i> sp.	98	HM222670	Isla de Mona	3
<i>Aneurinibacillus</i> sp.	96	FJ268961	Isla de Mona	1
<i>Streptomyces</i> sp.	97	HM241217	Isla de Mona	1
<i>Paenibacillus</i> sp.	96	FN556467	Isla de Mona	2
<i>Sporosarcina</i> sp	95	GQ392011	Isla de Mona	2
<i>Mycobacterium</i> sp.	100	-----	Isla de Mona	1
<i>Paracoccus</i> sp.	100	AY864654	Isla de Mona	1
<i>Roseomonas</i> sp.	100	AM489616	Isla de Mona	1

^a Proporción de alineamientos idénticos de nucleótidos utilizando BLAST “Basic Local Alignment Search Tool” de NCBI “National Center for Biotechnology Information” en http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi?CMD=Web&PAGE_TYPE=BlastHome

^b Cantidad de bacterias aisladas de *R. indica* Hirst

Discusión

Hongos

Los hongos asociados a la sintomatología presentada por *R. indica* en la localidad de Humacao, Puerto Rico fueron identificados como: *Penicillium paxilli*, *Fusarium* sp., *Simplicillium* sp. *Lecanicillium* (=Verticillium) *lecanii*, sp 01 e *Hirsutella thompsonii*. Las especies de *Fusarium*, *Simplicillium* sp., *Lecanicillium* (=Verticillium) *lecanii* e *Hirsutella thompsonii* han presentado características biocontroladoras sobre ácaros naturalmente o están relacionados a estos (Balazy et al., 2008; Chandler et al., 2000; Rachana et al., 2009; Van der Geest et al., 2002). Los patógenos pueden provocar cambios en la fisiología, morfología y el comportamiento de sus hospederos (Gols et al., 2007). Esto concuerda con lo observado en estudio de invernadero en donde los ácaros se observaban deformes y necróticos bajo la superficie abaxial de la hoja de palma de coco lo cual pudo haber sido provocado por estos microorganismos.

H. thomposonii (Hypocreales) es uno de los hongos más estudiado y utilizado con mayor frecuencia controlando poblaciones de ácaros clasificándolo como acaro-específico (McCoy, 1981 citado por Chandler et al., 2000). Comúnmente se relaciona a los ácaros de la familia Eriophidae y Tetranychidae. Aunque *R. indica* (Protismata: Tenuipalpidae) no pertenece a estas familias *H. thomposonii* fue aislado de éste, en menor frecuencia. *H. thomposonii* afecta a *Tetranychus cinnabarinus* (“carmine spider mite”) y *Eutetranychus orientalis* (“oriental spider mite”) ya que las hifas penetran a través de las patas del ácaro hasta llegar a la hemolinfa donde se desarrolla micelio (Gerson et al., 1979 citado por Gopal y Gupta, 2001). Emerge por las aberturas bucales, anales y genitales hasta cubrir todo el cuerpo.

En otro estudio evaluaron la efectividad de diferentes concentraciones de esporas de *H. thompsonii* comparadas con las de *Fusarium semitectum* sobre *Tetranychus neocaledonicus* (Andre) (Acarina: Tetranychidae), ambos demostraron control de estos a los seis días de su aplicación (Rachana et al., 2009).

Los hongos *Simplicillium* sp. y *Lecanicillium* (=Verticillium) *lecanii* (Hypocreales), identificados y asociados a *R. indica*, también han sido relacionados con otros ácaros. *Simplicillium* sp. se menciona en ácaros del orden Gamasida en detritos subcorticales. *Lecanicillium* (=Verticillium) *lecanii* en *Aceria phyllocoptes*, *Dendrolaelaps* sp. y algunos del orden Gamasida (gamásidos) y orden Oribatida (orbátidos) en bosques, hojarasca, hojas de plantas y detritos subcorticales (Balazy et al., 2008). En Inglaterra se descubrió que este hongo parasitaba al eriófido *Abacarus hystrix*, vector del “ryegrass mosaic virus” (Lewis et al., 1981 citado por McCoy, 1996). *Lecanicillium* (=Verticillium) *lecanii*, además de encontrarse asociado a los ácaros, también es reconocido como patógeno importante para áfidos, cochinillas y querezas (Hall, 1981 citado por McCoy, 1996). Balazy et al., (2008) mencionó que ocurre mayor incidencia del hongo *Lecanicillium* sp. cuando el factor humedad es favorable y hay presencia de áfidos y querezas.

No existen estudios relacionados sobre *Penicillium paxilli* asociado a los ácaros, es probable que la infección sea de origen ambiental o saprofítico. Se menciona que los hongos comienzan a crecer saprofíticamente cuando los hospederos mueren, diseminándose a través de los tejidos de éste (Ferron, 1978). Demirci y Denizhan (2010) mencionan a *Penicillium* spp. como un hongo aislado comúnmente sobre cadáveres de ácaros con función saprofítica o contaminante en el medio de cultivo.

Bacterias

Se encontraron y se identificaron las bacterias: *Microbacterium* sp., *Methylobacterium* sp., *Curtobacterium* sp., *Bacillus funiculus*, *Bacillus* sp., *Staphylococcus epiderm*, *Aneurinibacillus* sp., *Streptomyces* sp., *Paenibacillus* sp., *Sporosarcina* sp., *Mycobacterium* sp., *Paracoccus* sp. y *Roseomonas* sp. No se encontró asociación de estas bacterias con *R. indica* o a miembros de la familia Tenuipalpidae. Van der Geest et al., (2000) menciona que los ácaros aparentemente no son susceptibles a bacterias. Poinar y Poinar (1998) mencionaron que todavía no se han aislado bacterias específicas en ácaros; sin embargo, se han realizado estudios sobre bacterias asociadas a eriófidos y su posible patogenicidad. El eriófido del cocotero, *Aceria guerreronis* Keifer es una de las plagas más estudiada por la severidad de daño que provoca en los frutos de la palma de coco en países tropicales y la Florida, E.U. (Howard y Abreu, 2007). Se ha aislado naturalmente *Bacillus* spp. y actinomicetos de cadáveres no esterilizados de *A. guerreronis*. En pruebas de patogenicidad realizadas con *Bacillus* spp., se encontró que el control obtuvo el porcentaje de mortalidad más alto que el tratamiento donde fue aplicada la bacteria (Gopal et al., 2002). Van der Geest et al., (2000) menciona que la especie *Bacillus thuringensis* no es patógena de los artrópodos sino que la toxina thuringiensin producida por este es mortal para ellos. En otro estudio se diagnosticó la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* en el ácaro *Tetranychus urticae*, ésta se logró aislar bajo condiciones controladas de temperatura (30°C) y luz continua (Tomas et al., 1973 citado por Poinar y Poinar, 1998). Sin embargo, esta especie no fue identificada en nuestro estudio.

Conclusiones

1. La precipitación puede estar jugando un rol importante en la presencia de hongos en poblaciones de *R. indica*.
2. Se pudieron aislar e identificar mediante técnicas moleculares los hongos: *Penicillium paxilli*, *Fusarium* sp., *Simplicillium* sp., *Lecanicillium* (=Verticillium) *lecanii* e *Hirsutella thompsonii* de ácaros (*R. indica*) que presentaban sintomatología de necrosis e irregularidad en su cuerpo. Los ácaros estudiados son provenientes de palmas de la Reserva Natural de Humacao, P. R.
3. Los hongos *Fusarium* sp., *Simplicillium* sp., *Lecanicillium* (=Verticillium) *lecanii*, e *Hirsutella thompsonii* presentan asociación con ácaros. En este estudio se demostró por primera vez dicha asociación con *R. indica* Hirst.
4. Las bacterias *Microbacterium* sp., *Methylobacterium* sp., *Curtobacterium* sp., *Bacillus funiculus*, *Bacillus* sp., *Staphylococcus epiderm*, *Aneurinibacillus* sp., *Streptomyces* sp., *Paenibacillus* sp., *Sporosarcina* sp., *Mycobacterium* sp., *Paracoccus* sp. y *Roseomonas* sp. están asociadas con *R. indica* proveniente de palmas de coco de la Estación Experimental Agrícola de Rio Piedras, San Juan e isla de Mona.
5. La región del ITS (Internal Transcribed Spacer) y la unidad 16S del ácido desoxirribonucleico ribosomal (rADN) fueron herramientas útiles para la identificación molecular de hongos y bacterias respectivamente, ya que la amplificación de estas regiones ayudó a la identificación de los microorganismos.

Recomendaciones

Realizar estudios sobre:

1. La influencia de diferentes condiciones de humedad y temperatura sobre los microorganismos encontrados asociados a *R. indica*, para observar su comportamiento. Describir cual es momento en que se puede encontrar afectando a los ácaros en el medio ambiente.
2. Ampliar los estudios sobre la patogenicidad de los hongos y bacterias encontrados sobre *R. indica*.
3. La interacción de estos microorganismos y los depredadores de *R. indica*. Para observar el efecto sobre estos y determinar el índice de mortalidad de los depredadores.
4. La interacción entre controles químicos y los microorganismos encontrados asociados a *R. indica* para observar como los afecta.
5. El tipo de asociación presente entre *R. indica*, hongos y bacterias.

Literatura citada

- Agrios, G. 2005. Plant disease caused by Mollicutes: Phytoplasmas and Spiroplasma. En: Plant Pathology (5^t ed). Elsevier Academic Press, New York. 687- 690.
- Balazy, S, R. Mietkiewski, C. Tkaczuk, R. Wegensteiner y M. Wrzosek. 2008. Diversity of acaropathogenic fungi in Poland and other European countries. Experimen. Appl. Acarol. 46:53– 70.
- Blair, G. P. 1967. Studies on red ring disease on the coconut palm. Proce. Symp. Tropical Nematol, Univ. Puerto Rico. 89-106.
- Boggs, C. L. y L. E. Gilbert. 1987. Spatial and temporal distribution of *Lantana* mites phoretic on butterflies. Biotropica. 19(4): 301-305.
- Butler, E. J. 1906. Some diseases of palms. Agric. J. of India 1:299–310.
- Chan, E. y C. R. Elevitch. 2006. *Cocos nucifera* (coconut). Species profile for Pacific Island Agroforestry. 1-26.
- Chandler, D., G. Davidson, J. K. Pell, B. V. Ball, K. Shaw y K. D. Sunderland, 2000. Fungal biocontrol of Acari. Biocont. Sci. and Technol. 10: 357:384.
- Childers, 1994. Feeding injury to 'Robinson' tangerine leaves by *Brevipalpus* mites (Acari: Tenuipalpidae) in Florida and evaluation of chemical control on citrus. Florida Entomol. 77(2): 265-271.
- Cranham, J. E, Helle, W. 1985. Pesticide resistance in Tetranychidae. En: Hell W, Sabelis MW ed. World Crop Pests - Spider mites: Their Biology, Natural Enemies and Control, Volume 1B. Elsevier, Oxford.
- Cruz, S., J. I. Marengo, L. M. Colón, G.de Moraes, J. E. Peña y J. C. V. Rodrigues. 2008. Dinámica poblacional de *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) y se depredación por *Amblyseius largoensis* (Muma) (Acari: Phytoseiidae) en las palmas de coco en Puerto Rico. Reunión anual, Sociedad puertorriqueña de Ciencias Agrícolas. Aguadilla, 2008. p. 58.
- Daniel, M. 1981. Bionomics of the predaceous mite *Amblyseius channabasavanni* (Acari: Phytoseiidae), predaceous on the palm mite *Raoiella indica*. En: 1st Indian Symposium in Acarology (G. P. Channabasvanna, ed.). April 23-25, Bangalore, India. pp: 167-173

- De la Torre Santana, P., A. Suarez Gonzáles y A. I. González. 2010. Presencia del ácaro *Raoiella indica* Hist (Acari: Tenuipalpidae) en Cuba. *Revista Protección Vegetal*. 25 (1): 1-4
- Demirci, F. y E. Denizhan. 2010. *Paecilomyces lilacinus*, a potential biocontrol agent on apple rust mite *Aculus schlechtendali* and interaction with some fungicide in vitro. *Phytoparasitica*. 38: 125-132
- Departamento de Agricultura de Puerto Rico. 2007. Estadísticas Agrícolas. Ingreso bruto y neto agrícola de Puerto Rico 2007. Oficina de Estadísticas Agrícolas, San Juan, P.R. 8-14
- Dollet, M. 2001. Phloem-restricted trypanosomatids form a clearly characterised monophyletic group among trypanosomatids isolated from plants. *Int. J. for Parasitol.* 31: 459-467
- Dransfield, J. y D. Cooke. 1999. *Cocos nucifera*. *Curtis's Botanical Magazine*. 16 (1): 2-9.
- Eden-Green, S.J. 1982. Further studies on root symptoms in coconut palms affected by lethal yellowing disease in Jamaica. *Plant Pathol.* 31: 215-219.
- Elliott, M. L., T. K. Broschat, J. Y. Uchida y G. W. Simone. 2004. *Compendium of Ornamental Palm Diseases and Disorders*. St Paul, MN, USA: APS Press.
- Etienne, J. y C. H. W. Flechtmann. 2006. First record of *Raoiella indica* (Hirst, 1924)(Acari: Tenuipalpidae) in Guadalupe and Saint Martin. West Indies. *Internatio. J. of Acarol.* 32: 331-332
- Fahl, J. I., R. B. Queiroz, M. L. C. Carelli, M. A. Schiavinato, A. K. S. Prado y J. C. Souza. 2007. Alteration in leaf anatomy and physiology caused by the red mite (*Oligonychus ilicis*) in plants of *Coffea arabica*. *Brazilian J. Plant Physiol.* 19(1): 61- 68.
- Farr, D. F., G. F. Bills, G.P. Chamuris y A. Y. Rossman. 1989. *Fungi on Plants and Plant Products in the United States*. St Paul, MN, USA: APS Press. 340.
- Ferron, P. 1978. Biological control of insect pest by entomogenous fungi. *Ann. Rev. Entomol.* 23: 409-42.
- Flechtmann, C. H. W. y J. Etienne. 2004. The red palm mite, *Raoiella indica* Hirst, a threat to palm in the Americas (Acari: Prostigmata: Tenuipalpidae). *System. Appl. Acarol.* 9: 109-110.
- Gerson, U., R. Kenneth y T.I. Muttath. 1979. *Hirsutella thompsonii*, a fungal pathogen of mites. II. Host-pathogen interactions. *Ann. Appl. Biol.* 91: 29-40.

- Gols, R., C. Schütte, R. Stouthamer y M. Dicke. 2007. PCR-based identification of the pathogenic bacterium, *Acaricomes phytoseiulis*, in the biological control agent *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). Biol. Cont. 42: 316-325.
- Gopal, M. y A. Gupta. 2001. Has *Hirsutella thompsonii* the wherewithal to counter coconut eriophyd mite scourge?. Current Sci. 80(7): 831-836
- Gopal, M., A. Saleena y C. W. McCoy. 2002. Study of the microflora associated with coconut eriophyd mite as a preliminary step towards pathogens isolation. Current Sci. 82 (1): 22-24
- Grafton-Cardwell, E. E., J. Granett y S. M. Normington. 1991. Influence of dispersal from almonds on the population dynamics and acaricide resistance frequencies of spider mites infesting neighboring cotton. Experiment. Appl. Acarol. 10: 187-212
- Griffith, R. 1987. Red ring disease of coconut palm. Plant Disease. 71: 193-196.
- Hajek, A. 2002. Biological control of insect and mite. En: Pimentel, D. (Ed). Encyclopedia of pest management.. Marcel Dekker, NY. pp. 57-60
- Hajek, A. E. y R.J. St. Ledger. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. Ann. Rev. Entomol. 39: 293-322
- Hall, R. 1981. The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. In Burgues eds., Microbial control of pest and plant diseases. New York, USA. Academic Press. 483-498 pp.
- Hanold, D. y J. W. Randles. 1989. Cadang--Cadang--Like viroid in oil palm in the Solomon Islands. Plant Disease 73(2):183.
- Hatzinikolis, E. N. 1987. A Revision of Tenuipalpid mites of Greece (Acari: Tenuipalpidae). Entomologia Hellenica. 5: 47-60.
- Helle, W. 1962. Genetics of resistance to organophosphorus compounds and its relation to diapauses in *Tetranychus urticae* Koch (Acari). Tijdschr. P1. Ziekten. 63: 155-195
- Hirst, S. 1924. On some new species of red spider. Ann. Magazine Nat. Hist. 9(14): 522-527.
- Hoy, M. A., J. Peña y R. Nguyen. 2006. *Raoiella indica* Hirst (Arachnida: Acari: Tenuipalpidae). <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IN/IN71100.pdf> (Revisado: Agosto/2009)
- Howard, F. W. 2006. American Palm Cixiid, *Myndus crudus* Van Duzee (Insecta: Hemiptera: Auchenorrhyncha: Fulgoroidea:Cixiidae) <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IN/IN70400.pdf>. (Revisado: Agosto/2009)

- Howard, F. W. y E. Abreu. 2007. The palm leaf skeletonizer, *Homaledra sabalella* (Lepidoptera: Coleophoridae): Status and potential pest management options. Proc. Fla. State Hort. Soc. 120: 356-359.
- Howard, F. W., E. Abreu y H. A. Denmark. 1990. Geographical and seasonal distribution of the coconut mite, *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae), in Puerto Rico and Florida, USA. J. Agric. Univ. Puerto Rico. 74(3): 237-251.
- Howard, F. W., D. Moore, E. Abreu y S. Gallo. 2007. Ácaro del coco, *Aceria guerreronis* Keifer (Arácnidae: Acari: Eriophyidae). University of Florida (IFAS Extension). <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IN/IN74400.pdf> (Revisado: Agosto/2009)
- Irizarry, H., R. Montalvo y J. E. Chavarría. 1995. Situación económica y perspectivas en: Conjunto tecnológico para la producción de plátanos y guineos. Universidad de Puerto Rico. Recinto Universitario de Mayagüez. Colegio de Ciencias Agrícolas. Estación Experimental Agrícola, R. P., Puerto Rico. 5 p.
- Jeppson, L. R., H.H. Keifer y E. W. Baker. 1975. Tenuipalpidae Berlese. En: Mites Injurious to Economic Plants. Univ. Calif. Press. Berkeley. 280-281 pp.
- Kane, E. C. y R. Ochoa. 2006. Detection and identification of the red palm mite *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae). USDA-ARS. <http://www.sel.barc.usda.gov/acari/PDF/indicaGuide.pdf> (Revisado: Agosto/2009)
- Kane, E. C., R. Ochoa, G. Mathurin y E. F. Erbe. 2005. *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae): An island-hopping mite pest in the Caribbean. <http://www.sel.barc.usda.gov/acari/PDF/TrinidadHandout.pdf>. (Revisado: Agosto/2009)
- Keifer, H.H. 1965. Eriophyid studies B-14. Department of Agriculture, Bureau of Entomology. Sacramento, California. 7 p.
- Krantz, G. W. 2009. Habits and habitats-Dispersal. En: G. W. Krantz y D. E. Walter (ed.). A manual of acarology, 3ra ed. Texas Tech Univ. Press. Lubbock, Texas. 72-75 pp.
- Lopez, T y N. V. Villanueva. 2006. Ambiente físico y humano. En: Univ. Puerto Rico (ed.). Atlas ambiental de Puerto Rico. Imprelibros S. A., Colombia. 12-15pp
- Magalhães, B. P., J. C. V. Rodrigues, D. G. Boucias y C. C. Childers. 2005. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* to the false spider mite *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae). Florida Entomol. 88 (2): 195-198.

- Marengo, J., B. Irish y J.C.V. Rodrigues. 2009. Bananas plants are more readily infested by *R. indica* (Acari: Tenuipalpidae) when surrounded by infested coconut palms. Entomological Society of America, Ann. Meeting, Indianapolis (IN).
<http://esa.confex.com/esa/2009/webprogram/Paper43763.html> (Revisado: Febrero/2009)
- Martin, C. y B. J. Glover. 2007. Functional aspects of cell patterning in aerial epidermis. *Current Opinion Plant Biol.* 10: 70-82.
- Martorell, L. F. 1976. Annotated Food Plant Catalog of the Insects of Puerto Rico. Agric.Exprt. Station, Río Piedras, Puerto Rico. p. 303
- Mauro-Herrera, M., A. W. Meerow, J. W. Borrone, D.N. Kuhn, y R. J. Schnell. 2006. Ten informative markers developed from WRKY sequences in coconut (*Cocos nucifera*). *Molecular Ecology Notes.* (6): 904-906.
- McCoy, C. W. 1996. Pathogens of Eriophids mites. *En: Eriophyoid mites their biology, natural enemies and control*, Linquist E. E., M. W. Sabelis y J. Bruin (eds.). Elsevier, Amsterdam, p. 481-490.
- Medina, S. y E. Abreu. 1986. The coconut palm eriophyid mite, *Eriophyes guerreronis* (Keifer) in Puerto Rico (Acarina: Eriophyidae). *J. of Agric. Univ. of Puerto Rico.* 70(7): 223-224.
- Mejía, F., M. Palmieri, C. Oropeza, M. Doyle, N. Harrison, E. Aguilar, M. Narváez, R. Estrada y G. Ortiz. 2004. First report of coconut lethal yellowing disease in Guatemala. *Plant Pathol.* (53)800.
- Menon, K. P. y K. M. Pandalai. 1958. The coconut palm. Indian Central Coconut Committee, Ernakulum, India. 384 pp.
- Mesa, N., R. Ochoa, W. C. Welbourn, G. Evans y G. J. de Moraes. 2009. A catalog of the Tenuipalpidae (Acari) of the world with key to genera. *Zootaxa*, 2098. pp. 69, 105, 110-126.
- Moses T., F. Lopez, G. Pollard y R. Hector, 2001. Biological control of the coconut whitefly, *Aleurodicus pulvinatus*, in Nevis. *Biocontrol news information.* 22: 2 45-50.
- Moutia, L. A. 1958. Contribution to the study of some phytophagous acarina and their predators in Mauritius. *Bull. Entomol. Res.* 49 (1): 59-75.
- Nagesha-Chandra, B. K. N. y G. P. ChannaBasavanna. 1984. Development and ecology of *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) on coconut. *En: Chichester, E., and Horwood, (Eds) Acarology VI: 2.* Chichester, UK. 785-790 pp.

- Navia, D., J. de Moraes, A. L. Marsaro-Jr., M. G. Correa-Jr., F. Rodrigues y T. M. G. de Castro. 2010. Current status and distribution of *Raoiella indica* in Brazil. Internat. Congr. of Acarol. Recife, PE, Brazil. (en imprenta).
- Navia, D., J. de Moraes, G. Roderick y M. Navajas. 2005. The invasive coconut mite *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae): origin and invasion sources inferred from mitochondrial (16S) and nuclear (ITS) sequences. Bulletin of Entomological Research. 95: 505–516
- Nelson, S. y M. Wright. 2005. Banana Moth—A Potentially Fatal Pest of Pritchardia and Other Palms. Insect Pest. Cooperative Extension Service. Department of Plant and Environ. Protection Sci. <http://www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/IP-24.pdf>.
- Novelli, V. M., J. F. Astúa, G. Astúa-Monge, S. A. Carvalho, E. C. Locali, V. Rodrigues, F. Arrivabem, M. E. Hilf, T. R. Gottwald y M. A. Machado. 2005. Widespread occurrence of an endosymbiont bacterium in *Brevipalpus phoeniceus* populations from citrus in the southeastern region of Brazil. Proce. 16th. Conference of the Internat. Org. Citrus Virol, IOCV, Riverside 2005: 419-420
- Ovallares, J. F., L. León, Vielma, y A. L. Medina. 2002. Determinación del contenido de aminoácidos libres del agua de coco tierno por HPLC y revisión electrónica sobre la nueva tecnología para el envasado del agua de coco. Revista Facultad de Farmacia. 44: 7.
- Park, Y. L. y J. H. Lee. 2002. Leaf cell and tissue damage of Cucumber caused by Twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae). Journal of Economic Entomology. 95(5): 952-957.
- Patterson C.G., R. Thurston y J.G. Rodriguez. 1974. Twospotted spider mite resistance in *Nicotiana* species. J. Econ. Entomol. 67: 373–375.
- Peña, J. E., C. M. Mannion, F. W. Howard y M. A. Hoy. 2006. *Raoiella indica* (Prostigmata: Tenuipalpidae): The red palm mite: A potential invasive pest of palms and bananas and other tropical crops of Florida. Univ of Florida. IFAS Extension. <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IN/IN68100.pdf> (Revisado: Agosto/2009)
- Ploetz, R. C. y D.J. Mitchell. 1989. Root Rot of Bamboo palm caused by *Phytophthora arecae*. Plant Disease. 73:3 266-269.
- Poinar G. Jr. y R. Poinar. 1998. Parasites and pathogens of mite. Ann. Rev. Entomol. 43: 449-469.
- Pritchard, A. E. y W. Baker. 1958. The false spider mite (Acarina: Tenuipalpidae). Univ. of CA Publ. Entomol. 14 (3): 175-274.

- Rachana, R. R., M. Manunatha, M. I. Naik y S. Gayathridevi. 2009. Evaluation of fungal pathogens, *Fusarium semitectum* Berk. and Ravenel and *Hirsutella thompsonii* Fisher against red spider mite *Tetranychus neocaledonicus* (Andre) (Acarina: Tetranychidae). Karnataka J. Agric. Sci. 22(1): 210-212.
- Rao S. C. 1988. Leaf spot disease of coconut incited by *Bipolaris incurvata* (Bernad) Alcorn. Current Science 57: 674-5.
- Reddall, A., V. O. Sadras, L. J. Wilson y P. C. Gregg. 2004. Physiological response of cotton to two-spotted spider mite damage. Crop Science. 44: 835-846.
- Rivera, R., K. J. Edwards, J. H. A. Barker, G. M. Arnold, G. Ayad, T. Hodgkin y A. Karp. 1999. Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in *Cocos nucifera* L. Genome. 42: 668-675.
- Rodrigues, J. C. V., R. Ochoa y E. C. Kane. 2007. First report of *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) and its damage to coconut palms in Puerto Rico and Culebra Island. Intern. J. Acarol. 33(1):3-5.
- Rodrigues, J. C. V. y A. Ramírez. 2007. Nuevo ácaro rojo en las palmas, plátanos y guineos en Puerto Rico. *Raoiella indica*. Dept. Agric. Puerto Rico. Boletín CAPS: 001-2007.
- Rodríguez, H., A. Montoya y Ramos, 2007. *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae): Una amenaza para Cuba. Revista Protección Vegetal. 22(3): 142-153.
- Rosas-Acevedo, J. L. y L. Sampedro-Rosas. 2006. Variabilidad de cepas de *Hirsutella thompsonii*, a partir de ácaros fitófagos en tres sistemas terrestres del estado de Colima, México. Revista mexicana de biodiversidad. 77: 7-16.
- Sakar, P. K y A. K. Somchoudhury. 1989. Influence of major abiotic factors on the seasonal incidence of *Raoiella indica* and *Tetranychus fijiensis* on coconut. En: G.P. Channabasavanna y C. A. Viraktamath (ed.). Progress in Acarol. 2: 59-65.
- Sambrook J, Fritsch EF y Maniatis T. 1989. Molecular Cloning; A Laboratory Manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York
- Sayed, T. 1942. Contribution to the knowledge of acarina in Egypt: The genus *Raoiella* Hirst (Pseudotetranychinae:Tetranychidae). Bull. Soc. Fouad ler DEntomologie. 26: 81-91.
- Sharpies, A. 1922. Observations in Malaya on bud rot of coconuts. Ann. Bot. 36:55-70.

- Shi, W-B. y M-G. Feng. 2004. Lethal effect of *Bauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) with a description of a mite egg bioassay system. *Biol. Cont.* 30: 165-173.
- Skorack, A., L. Kuczyński y B. G. Rector. 2007. Divergent host acceptance behavior suggests host specialization in population of the polyphagous mite *Abacarus hystrix* (Acari: Prostigmata: Eriophyidae). *Environ. Entomol.* 36(4): 899-909.
- Uchida J. Y. y M. Aragaki. 1991. *Bipolaris* and *Exserohilum* leaf spots. In: Diseases and Disorders of Ornamental Palms, AR Chase and TK Broschat, eds. St Paul, MN, USA: APS Press, 55 pp.
- Valerio, R., H. Lindorf, y E. de García. 2002. Relación entre la anatomía foliar de variedades de *Musa* sp. y su comportamiento frente a la Sigatoka (amarilla y negra). XV Reunión Internacional de la Asociación para la Cooperación en la Investigación de Banano en el Caribe y la América Tropical. Cartagena de Indias. Colombia. 249-254 pp.
- Van den Boom, C. E., T. A. van Beek y M. Dicke. 2003. Differences among plant species in acceptance by the spider mite *Tetranychus urticae* Koch. *J. Appl. Entomol.* 127: 177-183.
- Van der Geest, L. P. S., G. J. de Moraes, D. Navia y M. R. Tanzini. 2002. New record of pathogenic fungi in mites (Arachnida: Acari) from Brazil. *Neotrop. Entomol.* 31(3): 493-495.
- Van Der Geest, L. P. S., S. L. Elliot, J. A. J. Breeuwer y E. A. M. Beerling. 2000. Disease of mites. *Experiment. Appl. Acarol.* 24: 497-560.
- Van Driesche, R., M. Hoddle y T. Center. 2007. Control de plagas y malezas por enemigos naturales. Tipos de control biológico, objetivos y agentes de control. 3-9 pp. http://www.fs.fed.us/foresthealth/technology/pdfs/VANDRIESCHE_CONTROL_Y_PLAGAS_WEB.pdf
- Vásquez, C., G. M. Quirós de, O. Aponte y D. M. Sandoval. 2008. First report of *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) in South America. *Neotrop. Entomol.* 37 (6): 739-740.
- Vijayan K. M. y S. Natarajan. 1972. Some observations on the coconut wilt disease of Tamil Nadu. *Coconut Bull.* 2 (12): 2-4.
- Walzer, A., P. Schausberger y P. Schausberger. 1999. Cannibalism and interspecific predation in the phytoseiid mites *Phytoseiulus persimilis* and *Neoseiulus californicus*: predation rates and effects on reproduction and juvenile development. *BioControl.* 43(4): 457-468.

- Weeks, A. E., F. Marec, J. A. J. Breeuwer. 2001. A mite species that consists entirely of haploid females. *Science*. 292: 2479-2482.
- Weisburg, W.G., S.M. Barns, D.A. Pelletier y D.J. Lane. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.* 173: 697-703.
- Welbourn, C. 2006. Pest Alert. Red palm mite *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae). <http://www.doacs.state.fl.us/pi/enpp/ento/r.indica.html>. (Revisado: Mayo/2008).
- Welbourn, C. 2007. Red palm mite *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae). Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of plant industry. <http://www.doacs.state.fl.us/pi/enpp/ento/r.indica.html>. (Revisado: Agosto/2009)
- White, T. J., T. Bruns, S. B. Lee y J. W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR protocols: a guide the methods and applications*. Eds.M.A. Innis, D.H. Gelgard, J.J. Snisky and T. J. White. Academic Press, N.Y. 315-322 pp.