

Comunicación corta
USO DEL CEPILLO MECÁNICO PARA EL CONTEO DE POBLACIONES DE
***Steneotarsonemus spinki* SMILEY (ACARI: TARSONEMIDAE)¹**
Evelyn Itzel Quirós-McIntire*

*Dirección de Investigación Agrícola. Centro de Investigación de Recursos Genéticos.
Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá. IDIAP. Ciudad del Saber, Clayton, Panamá.
Correo electrónico: evelynitzel26@gmail.com

RESUMEN: El ácaro *Steneotarsonemus spinki* se encuentra en el interior de las vainas de las hojas de arroz. En base a la difícil localización y a la alta densidad poblacional, se hace necesario utilizar un método de extracción que facilite la estimación de sus poblaciones. Se realizó un experimento para demostrar la factibilidad del uso del cepillo mecánico de la Bio Quip Products, a través de la comparación de los niveles poblacionales estimados por el conteo directo al estéreo microscopio. La ausencia de diferencia estadística entre la media poblacional de *S. spinki* en el método de conteo directo con respecto al cepillo mecánico, indica que ambos métodos son igualmente confiables para estimar las poblaciones del fitófago. Además no se detectó diferencia significativa en la duración del tiempo invertido en efectuar los conteos entre ambos métodos. El método de extracción con el cepillo mecánico, puede realizarse por dos personas, una que extraiga los ácaros mediante el cepillo y la otra que pueda contar los ácaros en la placa Petri bajo el estéreo microscopio, lo que ayudaría a procesar más muestras en igual periodo de tiempo.

(Palabras clave: *Steneotarsonemus spinki*; método de extracción; conteo directo; cepillo mecánico)

THE MECHANICAL BRUSH FOR COUNTING POPULATIONS OF *Steneotarsonemus spinki*
SMILEY (ACARI: TARSONEMIDAE)

ABSTRACT: The mite *Steneotarsonemus spinki* is found inside the leaf sheaths of rice. Due to the difficult location and high population density that occur inside the leaf sheaths of rice, it is necessary to use an extraction method that facilitates the estimation of mite populations with less effort at the time of carrying it out. An experiment was conducted to demonstrate the efficient use of the mechanical brush from the Bio Quip Products, through comparison with population levels estimated by direct count method under the stereo microscope. The absence of statistical difference between the population mean of *S. spinki* in the direct count method with respect to the mechanical brush, indicates that both methods are equally reliable for estimating populations of this phytophagous. Furthermore, no significant difference was detected in the time spent in making the counts by both methods. The extraction method with the mechanical brush can be done by two persons, one to remove the mites using the brush and the other counting the mites in the Petri dish under the stereo microscope, what would help to process more samples in the same period of time.

(Key words: *Steneotarsonemus spinki*; extraction methods; direct counting; brushing machine)

¹Proyecto: Manejo Integrado del Complejo Ácaro-Hongo-Bacteria en el cultivo de arroz. Nuevo reto para arroceros centroamericanos. FONTAGRO-IDIAP. Panamá.

El ácaro *Steneotarsonemus spinki* Smiley (Acari: Tarsonemidae), se encuentra en el interior de las vainas de las hojas de arroz, formando grandes colonias de hasta 300 ácaros.cm²⁻¹ y los huevos son ovipositados en grupos formando grandes masas de hasta 160 (1,2).

En la mayoría de los trabajos realizados con *S. spinki*, han utilizado el método de conteo directo de las poblaciones bajo el estéreo microscopio (1,3,4). Sin embargo, existen otros métodos de conteos, que necesitan de un método de extracción previo, que está en dependencia de la muestra, del objetivo del estudio, la especie y su ubicación; entre otros elementos (5,6). El más conocido en el caso de los ácaros es el embudo de Berlesse (7,8,9). También se ha utilizado el lavado de hojas en agua templada con jabón y filtrada a través de tamices de luz de 0,4 y 0,5 mm y luego se pasan a placas Petri (10). En el caso de los ácaros del polvo se ha utilizado el método de flotación descrito por Hart y Fain (11). Para la remoción de *Panonychus ulmi* (Koch), en hojas de manzanos se utilizaron dos métodos de extracción, siendo el más eficiente el cepillo mecánico (12)

En base a la difícil localización de *S. spinki* y a su alta densidad poblacional, se hace necesario utilizar un método de extracción que posteriormente facilite el conteo de los ácaros. El presente trabajo tuvo como objetivo demostrar el uso eficiente del cepillo mecánico de la Bio Quip Products para realizar la estimación de la población del ácaro *S. spinki*.

El ensayo se realizó en el Campo Experimental del Subcentro Pacífico Marciaga, en el corregimiento de El Coco del distrito de Penonomé, provincia de Coclé, República de Panamá perteneciente al Centro de Investigación Agropecuaria de Recursos Genéticos (CIARG), del Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP), en los meses de noviembre a diciembre de 2009.

Se utilizó la variedad precoz Idiap L7 del IDIAP. Los tratamientos a evaluarse fueron denominados: Método 1 (directo) y Método 2 (cepillo). Se establecieron en una parcela experimental de 10 m², cultivado bajo secano, sin controles de insectos y ácaros.

Los muestreos se realizaron en cinco fechas consecutivas, a partir de los 100 días después de la germinación. La muestra fue de 20 tallos, utilizando las vainas 2,3 y 4.

Descripción de los métodos utilizados

Método 1: Conteo directo de los ácaros en la vaina.

Se colectaron los tallos al azar en la parcela. En el laboratorio se eliminaron las hojas a la altura del ápice de las vainas. Se desprendieron las vainas una a una, dividiéndola en forma longitudinal en dos partes con un bisturí de punta, sobre una placa Petri de 100 mm de diámetro. Inmediatamente se contó los ácaros adultos bajo el estéreo microscopio.

Método 2: Conteo con el uso del cepillo mecánico de la Bio Quip Products.

Después de colectar los tallos y eliminar las hojas, las vainas se desprendieron y dividieron longitudinalmente. Las vainas fueron introducidas en los cepillos de cerda, y los ácaros se recogieron en una placa Petri de 100 mm de diámetro, con fondo azul cuadrículada a 1cm² aproximadamente. Las placas Petri se observaron bajo estéreo microscopio para el conteo de ácaros adultos. Después del cepillado, cada vaina fue observada bajo el estéreo microscopio para verificar que no quedaran ácaros en ella.

Para comparar la media de ácaros obtenida por cada método de conteo se realizó una prueba *t students* para muestras independientes. Se calculó el intervalo de confianza de la media con el fin de

identificar el rango de la densidad que puede ser detectada por un método y por otro en dependencia de los días de conteos.

No se encontraron diferencias significativas para la media poblacional de *S. spinki* por muestreo. La ausencia de diferencia estadística entre los métodos de conteo, significa que puede ser tan confiable el uso del cepillo mecánico para desprender los ácaros adultos y luego colectarlos en la placa Petri para observarlos bajo el estéreo microscopio, como el conteo directo de los ácaros sobre la vaina de la hoja de arroz (Tabla 1).

TABLA 1. Media poblacional de *Steneotarsonemus spinki* por muestreo y total en cada método de conteo./ *Steneotarsonemus spinki* population mean per sampling and total in each counting method

Muestreo	Método de conteo		T calculada
	Directo	Cepillo	
1	160,9±71,8	126,0±40,2	0,958 NS
2	292,4±119,5	205,3±56,6	1,489 NS
3	257,3±47,5	266,5±94,6	-0,196 NS
4	229,3±67,8	199,7±60,2	0,738 NS
5	238,5±119,3	148,0±52,9	1,567NS
Media	235,7±36,46	189,1±28,0	NS

En los muestreos de ácaros adultos de *S. spinki*, se observa que las poblaciones oscilaron de 160 a 292 ácaros por el método de conteo directo y entre 148 a 266 ácaros extraídos por el cepillo mecánico. Se observa que el promedio total de ácaros, en el método directo fue superior con 235,7 ácaros con respecto al método mecánico que alcanzó 189,1. Esto puede deberse a que las vainas se extraen al azar, por lo que existe una variación intrínseca y no a que el método de extracción dejó ácaros en las vainas. Todas las vainas pasadas por el cepillo mecánico fueron revisadas y no se presentaron restos de adultos, huevos o larvas.

De acuerdo al tiempo invertido en la observación y conteo de los individuos por cada método, no se detectó diferencia significativa en la duración de los conteos en minutos (Tabla 2). El tiempo registrado consideró el proceso completo de cada método. Para el caso del cepillo, el tiempo suma la manipulación de las vainas, el cepillado y el conteo, todo esto realizado por la misma persona, en ambos métodos. Es conocido que la manipulación de muestras para un conteo directo es muy laborioso y dependiendo del tamaño de la misma se debe dejar almacenada en refrigeración para ser procesadas posteriormente (13). Este es un método muy útil si el estudio involucra lectura directa en campo con lupas como método no destructivo, para detectar presencia de ácaros en las hojas, como por ejemplo en los estudios de dinámica de *Tetranychus urticae* Koch en *Musa acuminata* Colla (14), en estudios de distribución de *T. turkestanii* Ugarov y Nikolski en las hojas del maíz (10), estudios de comportamiento alimenticio y producción de daños de *T. urticae* y *T. turkestanii* en plantas de judías (15) o conteo de huevos y formas móviles de *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot en folíolos de rosas (16).

Aunque no hay diferencias significativas en el tiempo invertido para realizar los conteos, se observa que en los muestreos 1,2 y 5, el tiempo es mayor en el conteo directo con estéreo microscopio, lo cual puede deberse a que en la vaina se encuentran masas de huevos, larvas y adultos agrupados, que dificultan la diferenciación rápida de cada fase de desarrollo. Es importante considerar que en el conteo directo de los ácaros sobre la hoja, debe ser manipulada por la misma persona y hacerlo con eficiencia debido a que puede ocurrir deshidratación del material vegetal. En muchas ocasiones las muestras

deben ser conservadas bajo refrigeración (5), pero en dependencia del tipo de muestra se conserva una población que brinde una buena predicción del nivel poblacional de la plaga (17).

TABLA 2. Tiempo invertido, en minutos, por muestreos y total en cada método de conteo./ *Time taken, in minutes, by sampling and total in each counting method*

Muestreo	Método de conteo		T calculada
	Directo	Cepillo	
1	6,9±1,3	6,0±0,9	1,30 NS
2	6,9±1,9	6,1±0,5	0,92 NS
3	5,7±0,6	6,2±0,7	-1,19 NS
4	5,5±0,8	5,5±0,7	0 NS
5	6,3±1,5	5,0±0,9	1,16 NS
Media	6,24±0,53	5,77±0,32	NS

Este método se vuelve más eficiente y ventajoso y se puede manifestar en ahorro de tiempo, cuando se hace el muestreo por presencia-ausencia, que es adecuado en poblaciones que muestran una fuerte agregación como los ácaros. Es un método muy utilizado cuando se desarrollan programas de control integrado de plagas (6).

En este experimento, la manipulación de los tallos, extracción de los ácaros en el cepillo y el conteo fue realizado por la misma persona, que para el caso del método directo. Para el manejo de un alto volumen de muestras, la etapa de extracción con el cepillo mecánico, puede realizarse por varias personas y la persona con experiencia, puede dedicarse solo a contar los ácaros recogidos en las placas Petri bajo el estereoscopio, lo que ayudaría a procesar más muestras en el tiempo. Sobre todo cuando se cuenta con un tiempo restringido, para la toma de muestras y de posibles respuestas a un problema. A esta ventaja hay que agregar que es conocido que se pueden conservar ácaros en placas Petri con gotas de glicerol en refrigeración, sin que se afecte el nivel de la población (13). El cepillo mecánico ha sido utilizado para la extracción de otros ácaros adultos, y ha sido comparado con el método de agitación en una solución de hidróxido de potasio (KOH), el cual no presentó diferencias significativas para el caso de los ácaros adultos (12).

En el caso específico de *S. spinki*, que se encuentra en la vaina de la hoja de la planta de arroz, siendo esta vaina envolvente al tallo, puede ocurrir un rápido enrollamiento de la vaina al transcurrir el tiempo. En dependencia de los estudios que se deseen hacer, como el conteo de la estructura de la población y la dinámica poblacional que involucre años de estudio, parece ser factible el uso de placas Petri para la lectura ya que pueden separarse las masas de huevos y larvas inactivas y tener un mejor conteo. Con la utilización de placas Petri con fondo oscuro o azul, se observan mejor los individuos, los cuales tienden a ser traslúcidos. El método de conteo a utilizar en un experimento, además de proporcionar la información deseada debe tratar de ser preciso, exacto y con la simplificación suficiente para poder ser práctico en campo. Debe ser poco laborioso y permitir que el conteo sea postergable, conservando la densidad y estructuras de la población de la muestra en laboratorio.

A partir de los resultados obtenidos en este estudio, se demostró que el uso del cepillo mecánico es una opción adecuada para la estimación de las poblaciones de *S. spinki* en el cultivo del arroz.

REFERENCIAS

1. Ramos M, Gómez C, Cabrera RI. Presencia de *Steneotarsonemus spinki* (Acari: Tarsonemidae) en cuatro variedades de arroz en la República Dominicana. *Rev Protección Veg.* 2001;16(1):6-9.

2. Rodríguez H, Chico R, Louis JL, Hernández JL. Comportamiento poblacional de *Steneotarsonemus spinki* Smiley (Acari: Tarsonemidae) en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). TEMAS de Ciencia y Tecnología. 2009;13(39):55-66.
3. Fernández A, Solórzano E, Miranda I. Mecanismo de defensa en variedades de arroz infestadas con *Steneotarsonemus spinki*. Rev Protección Veg. 2006;21(1):43-50.
4. Fernández A, Miranda I. Contenido de compuestos fenólicos y actividad amonio liasa en variedades de arroz con diferentes grados de susceptibilidad a *Steneotarsonemus spinki*. Rev Protección Veg. 2006;21(2):95-100.
5. Pérez-Moreno I, Moraza ML. Método de muestreo secuencial-enumerativo y binomial para *Calepitrimerus vitis* (Napela, 1905) (Acari: Eriophyidae). Bol San Veg Plagas. 1996;22:179-187.
6. González-Zamora, JE, García-Marí F, Ribeiro A, Saquís I, Masiello L, Orensa S. Métodos de muestreos binomial y secuencial para *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) y *Amblyseus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) en fresón. Bol San Veg Plagas. 1993;119:559-586.
7. Pérez-Otero R, Mansilla-Vázquez P, López-Villarreal MJ. Primer inventario de ácaros fitoseídos sobre cultivos hortícolas en la comarca de O. Salnés (Pontevedra). Bol San Veg Plagas. 2005;31:343-350.
8. De La Iglesia L, Santiago Y, Moreno CM, Pérez A, Peláez H, Prado N de, et al. Ácaros fitoseídos (Acari: Phytoseiidae) asociados a frutales de pepita y viñedos del Bierzo (León). Bol San Veg Plagas. 2007;33:3-14.
9. Escudero LA, Ferragut F. Abundancia y dinámica estacional de las poblaciones de tetránquidos y fitoseídos en los cultivos hortícolas valencianos (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae). Bol San Veg Plagas. 1999;25:347-362.
10. Iraola VM, Moraza ML, Biurrun R. Acariosis del maíz en Navarra. Ecología de *Tetranychus turkestanii* Ugarov y Nikolski. Bol San Veg Plagas. 1998;24:609-620.
11. Villanueva E, Wong PA, Yengle MA, Yoshida I, Ysmodes Y, Vílchez F, et al. Prevalencia de ácaros del polvo en habitaciones de la comunidad “7 de octubre” de El Agustino, Lima. Octubre 2002. Revista Peruana de Epidemiología. 2003;11(1):1-6.
12. Williams MA. Techniques for removal of *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae) from samples of apple leaves. J Aust Ent Soc. 1987;26:331-334.
13. Almaguel L. Morfología, taxonomía y diagnóstico fitosanitario de ácaros de importancia agrícolas. Curso introductorio de acarología aplicada. Memorias. Ciudad de La Habana, 2004; 83p.
14. Lorenzo-Fernández JM, Prenes-Ayala C, Lorenzo-Bethancourth CD. Seguimiento de la dinámica poblacional de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) en *Musa acuminata* Colla. Subgrupo Cavendish cv. Pequeña enana, al aire libre. Bol San Veg Plagas. 2002;28:461-467.
15. Soler-Salcedo E, Rodrigo E, Ferragut F. Colonización, comportamiento alimenticio y producción de daños en arañas rojas *Tetranychus urticae* y *Tetranychus turkestanii*. (Acari: Tetranychidae). Bol San Veg Plagas. 2006;32:523-534.
16. Carvalho Franca S de, De Vis R. Control biológico de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) con *Phytoseilus persimilis* Athais-Henriot (Acari: Phytoseiidae) en rosa en la Sabana de Bogotá. Revista Colombiana de Entomología. 1996;22(3):153:157.
17. Costa-Comelles J, Vercher R, Soto A. Estudios sobre muestreo de la puesta invernal del ácaro rojo *Panonychus ulmi* (Koch) en ramas de manzano. Bol San Veg Plagas. 1992;18:87-99.

(Recibido 25-1-10; Aceptado 19-3-2010)