

Presencia de *Thielaviopsis paradoxa* De Seynes Höhn en el tubo digestivo de *Rhynchophorus palmarum* Linneo (Coleoptera: Curculionidae)

Dercy Parra, Franklin Morillo, Pedro Sánchez, José Pineda, Jerónimo Guerra

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Estación Experimental del Estado Miranda. Calle El Placer, Caucagua. Zona Postal 1246. Edo. Miranda. Venezuela. Telefax: (0234) 6621219. E-mail: fonaiapmiranda@cantv.net, mi_dir@inia.gov.ve.

Resumen

PARRA D, MORILLO F, SÁNCHEZ P, PINEDA J, GUERRA J 2003. Presencia de *Thielaviopsis paradoxa* De Seynes Höhn en el tubo digestivo de *Rhynchophorus palmarum* Linneo (Coleoptera: Curculionidae). Entomotropica 18(1):49-55.

Con el objetivo de registrar la presencia del hongo *Thielaviopsis paradoxa* De Seynes Höhn, agente causal del “exudado del tallo del cocotero”, en el tubo digestivo de *Rhynchophorus palmarum* L., y discutir la función que desempeña este insecto en la transmisión de la enfermedad, se realizó un estudio microbiológico del tubo digestivo en su estadio adulto. Para ello se realizaron colectas de especímenes en cuatro zonas del Estado Miranda. Las capturas se efectuaron mediante trampas inocuas con feromona y tejidos vegetales como atrayentes. Veinte insectos adultos por cada zona, fueron anestesiados a 5 °C durante 15 minutos, se desinfectaron en soluciones de dicofol (0,5 %) e hipoclorito de sodio (3 %) y se disectaron bajo un microscopio estereoscópico en agua destilada estéril. El tubo digestivo fue extraído y seccionado en estomodeo, mesentero y proctodeo. Cada sección fue sembrada en papa glucosa agar acidificado (PGAA), para la determinación de hongos. En el medio de cultivo, se obtuvieron colonias de *Thielaviopsis paradoxa* en 45 % de los individuos procesados. Se comprobó la patogenicidad del hongo en plantas de cocotero. Este estudio evidencia la posible actividad de *R. palmarum* como potencial vector de *T. paradoxa* en plantaciones comerciales de coco y otras palmas.

Palabras clave adicionales: Exudado del tallo del cocotero, insecto vector de hongos, transmisión de enfermedades fúngicas.

Abstract

PARRA D, MORILLO F, SÁNCHEZ P, PINEDA J, GUERRA J 2003. Presence of *Thielaviopsis paradoxa* De Seynes Höhn in the alimentary canal of *Rhynchophorus palmarum* Linneo (Coleoptera: Curculionidae). Entomotropica 18(1):49-55.

In order to know the role of *R. palmarum* in the transmission of the fungus *Thielaviopsis paradoxa*, causal agent of the “bleeding coconut stem”, a microbiological study of the alimentary canal of this insect was carried out. Adult specimens were collected from four areas of Miranda state, using innocuous traps with pheromone and host volatiles as attractive. Twenty insects from each area were anesthetized by refrigeration at 5 °C for 15 minutes, and then disinfected in dicofol (0.5%) and sodium hypochlorite (3%) solutions, respectively. Immediately, they were dissected in sterile distilled water, under a stereoscopic microscope. The alimentary canal was extracted and cut into fore-gut, mid-gut and hind-gut. Each section was cultivated in acidified potato glucose agar (APGA), for the determination of fungi. *T. paradoxa* was identified, in 45% of the processed specimens. The pathogenicity of the fungus was proven in young coconut plants. This study demonstrates the possible role of *R. palmarum* as a vector of *T. paradoxa* in commercial plantations of coconut and other palms.

Additional key words: Bleeding coconut stem, transmission of fungal diseases, vector of fungal pathogens.

Introducción

Las plantas de la familia Palmae (Aracaceae), son las hospederas naturales más comunes del “picudo del cocotero” *Rhynchophorus palmarum* Linneo (1758), donde se alimenta y cumple su ciclo de vida. Según Griffith (1987), los adultos se encuentran frecuentemente en el área de la corona y las hembras hacen perforaciones en la zona más blanda de la región internodal, para alimentarse y depositar los huevos. Los adultos de este insecto están señalados como los principales vectores del nematodo *Bursaphelenchus*

cocophilus (Cobb) Baujard (Gerber y Giblin 1990), organismo causal de la enfermedad “anillo rojo”. Este nematodo es un fitoparásito obligado (Griffith 1987) que requiere de agentes voladores para lograr una efectiva dispersión, puede ser transportado internamente o sobre el exoesqueleto de los adultos, siendo incapaz de penetrar tejidos vegetales y colonizar plantas sanas (Griffith 1968).

La sintomatología descrita en palmas afectadas con “anillo rojo”, producto de la asociación insecto-

CUADRO 1. Número de Individuos de *Rhynchophorus palmarum*, con presencia de *Thielaviopsis paradoxa* en el tubo digestivo.

	Tapipa	Río Negro	Localidad		Total	Parámetros*	
			Taca. Lag.	Cúpira		χ^2	P
Infectados	12	7	8	9	36	2,83	0,419
No infectados	8	13	12	11	44		
Total	20	20	20	20	80	-	-

*gl=3, a=0,05.

CUADRO 2. Número de Individuos de *Rhynchophorus palmarum*, con presencia de *Thielaviopsis paradoxa* en cada parte del tubo digestivo.

Localidad	Parte del tubo digestivo evaluado			Total	Parámetros*		
	Estomodeo	Mesenterico	Proctodeo		χ^2	P	
Tapipa							
Infectados	10	5	9	24	2,92	0,233	
No infectados	10	15	11	36			
Río negro							
Infectados	7	1	2	10	7,44	0,024	
No infectados	13	19	18	50			
Tacarigua de la Laguna							
Infectados	8	4	2	14	5,22	0,074	
No infectados	12	16	18	46			
Cúpira							
Infectados	7	1	6	14	5,78	0,056	
No infectados	13	19	14	46			
Total							
Infectados	32	11	19	-	14,66	0,001	
No infectados	48	69	61				

*gl=2, a=0,05.

nematodo, es similar a otras enfermedades de las palmas, causadas por otros agentes patógenos. Por ello se asume la existencia de un complejo sistema fitosanitario, que actúa según la heterogeneidad de las relaciones ecológicas establecidas entre el huésped-parásito-microorganismo y las particularidades del medio. En el caso de la marchitez y muerte de las palmeras, muchos de los trabajos conceden mayor importancia a la relación entre *B. cocophilus* y *R. palmarum*. Sin embargo, en ninguno de esos casos se discute la posible adquisición, presencia y transporte de otros microorganismos fitopatógenos en el tubo digestivo del insecto. En este trabajo se aporta información relacionada con la presencia del hongo *Thielaviopsis paradoxa* De Seynes Höhn, causante de la enfermedad "exudado del tallo del cocotero", en el

tubo digestivo de *R. palmarum* y se discute el carácter de vector potencial del referido insecto.

Materiales y Métodos

Área de Estudio. Se seleccionaron cuatro áreas de muestreo, pertenecientes al Estado Miranda, Venezuela. Estas fueron: (1) Cúpira, lat 10°09'59"N, long 65°32'22"W, a una altitud de 3 msnm, (2) Tacarigua de la Laguna, lat 10°19'25"N, long 65°54'48"W, altitud 10 msnm, (3) Tapipa, lat 10°13'14"N, long 66°17'58"W, altitud 20 msnm, (4) Río Negro, lat 10°29'16"N, long 66°05'44"W, y 84 msnm. Las localidades 1 y 2, corresponden al biotipo bosque seco tropical, las áreas 3 y 4, corresponden al biotipo bosque húmedo tropical, según las zonas de vida de Holdridge (Ewel et al. 1976).

Cuadro 3. Número de Individuos de *Rhynchophorus palmarum*, con presencia de *Thielaviopsis paradoxa* en el tubo digestivo y diferenciados por sexo.

Sexo	Infectado	No infectado	Total	Parámetros*	
				χ^2	P
Macho	21	19	40		
Hembra	15	25	40	1,82	0,178
Total	36	44	80		

*gl=1, $\alpha=0,05$.

Muestreo de *R. palmarum*. Se colectaron 20 insectos adultos vivos (10 machos y 10 hembras), en cada localidad, mediante la metodología descrita por Hernández et al. 1992. Los insectos fueron transportados en cámaras térmicas al laboratorio de Entomología de la Estación Experimental del Edo. Miranda, donde se mantuvieron en un cuarto experimental, bajo condiciones de $25,5 \pm 3,4$ °C y $75 \pm 10\%$ de humedad relativa. Cada insecto fue colocado individualmente en un recipiente de polietileno de 350 ml de capacidad y fue sometido a 48 horas de ayuno.

Proceso de disección de los insectos. Luego del ayuno, los insectos fueron transportados al Laboratorio de Fitopatología, donde se aletargaron introduciéndolos en un refrigerador a 5 °C, durante 15 minutos. Los insectos se desinfectaron externamente por inmersión durante cinco minutos en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 3% en agua estéril y cinco minutos en solución de dicofol (ACARIN Ò), al 0,5%. Las disecciones se realizaron con la ayuda de una lupa binocular estereoscópica NIKON modelo SMZ con un aumento entre 10 y 40X. Para ello, se introdujo cada insecto en un recipiente con agua bidestilada estéril. Se procedió a desprender inicialmente los élitros y las alas membranosas, posteriormente se realizaron cortes dorsolaterales del tórax y abdomen, para finalizar con un corte de la región cefálica y separación de la cabeza. Una vez extraído el tubo digestivo, se procedió a seccionarlo en sus tres partes principales: estomodeo, mesentero y proctodeo (Sánchez et al. 2000). Cada parte fue colocada individualmente en una cápsula de Petri estéril y en una cámara de flujo laminar, se realizó la siembra en medio de cultivo. Cada parte del tubo digestivo fue seccionado en diez trozos de aproximadamente 2 mm cada uno, obteniéndose 30 secciones de tubo digestivo por cada insecto. Las

secciones fueron sembradas en el medio de cultivo papa glucosa agar, acidificado con ácido láctico (PGAA), para favorecer el crecimiento del hongo. Las cápsulas fueron colocadas en una incubadora LAB LINE en condiciones de oscuridad total y a 25 °C. Cada 24 horas se evaluaron las cápsulas, durante un período de 8 días. Las colonias de hongos fueron purificadas en PGAA y preservadas en tubos de ensayo con papa dextrosa agar (PDA) inclinado. Se realizaron preparados microscópicos con lactofucsina y se observaron en un microscopio óptico compuesto NIKON en aumentos de 10X, 40X y 100X, para la caracterización de las estructuras del hongo y su identificación taxonómica (Morgan-Jones 1967).

Prueba de Patogenicidad. Para la comprobación de la patogenicidad del hongo se seleccionó una cepa de *T. paradoxa* obtenida del mesentero de un macho de la localidad de Cúpira. Con la misma se procedió a inocular plantas de cocotero (*Cocos nucifera* L.) de año y medio de edad, mantenidas en bolsas de polietileno negro en condiciones de vivero. Se utilizaron colonias del hongo de 6 días de edad, cultivadas en PDA. Se emplearon dos métodos de inoculación, uno con discos de agar con crecimiento del hongo, colocados entre la vaina de la última hoja y el tallo. El otro se realizó mediante inyección de 5 ml de una suspensión de conidios de *T. paradoxa* de 10^6 esporas/ml, en el tallo. Se inocularon diez plantas por cada método. Se utilizaron diez plantas como testigo, a cinco se les colocó entre la vaina de la última hoja y el tallo un disco de PDA y a otras cinco se les inyectó 5 ml de agua destilada estéril en el tallo. Todas las plantas fueron cubiertas con una bolsa de polietileno negro hasta 20 cm por encima del cuello, durante 24 horas para asegurar la penetración y colonización del hongo en los tejidos de las plantas. Las plantas que manifestaron síntomas fueron procesadas para realizar reaislamientos.

Los datos referidos a: (1) número de individuos infectados y no infectados con *T. paradoxa*, con respecto al sitio de colecta, (2) número de individuos infectados con relación al tipo de intestino (datos de todos los sitios de colecta unidos y separados) y (3) número de individuos infectados con respecto al sexo, fueron analizados mediante la prueba de Ji-cuadrado (χ^2) en tablas de contingencia. Los datos de patogenicidad fueron procesados a través de la prueba de Fisher, para muestras pequeñas (Wiedenhöfer 1993). Los análisis se realizaron con el programa estadístico computarizado SAS (SAS Institute 1985).

CUADRO 4. Resultados de la prueba de patogenicidad del hongo *Thielaviopsis paradoxa* en plantas de cocotero, de 1,5 años de edad.

Método de inoculación	n ^a	Plantas afectadas a los 12 días ^b	Plantas muertas a los 60 días
Disco de agar	10	2	10
Inyección	10	10	10
Testigo disco de agar ^c	5	0	0
Testigo inyección ^c	5	0	0

^a Total de plantas inoculadas en cada método, ^b Prueba de Fisher ($\alpha = 0,05$), ^c Plantas testigo.

Resultados y Discusión

Los aislamientos realizados de las diferentes partes del intestino de los insectos evidenciaron 60% de colonias de crecimiento radial uniforme, al principio grises, con abundante micelio aéreo flocoso. A los tres días de edad, el centro de la colonia se tornaba gris verdoso, hasta alcanzar completamente esta coloración en 10 días. Microscópicamente, el hongo presentó conidioforos hialinos a marrón pálido, elongados, en forma de botella, ahusados hacia el ápice, de pared delgada y septados, de 38,5 a 154 mm de largo. Conidios hialinos a marrón claro, producidos endógenamente en cadenas, de forma cilíndrica a elipsoidal de 7-24,5 x 3,5-7 mm. Clamidoporas lisas con doble pared, formadas en cadenas fuertemente coloreadas de marrón y de 10,5-24,5 x 7-12,5 mm. Estos caracteres permitieron identificar al hongo como *T. paradoxa*, anamorfo del hongo *Ceratocystis paradoxa* (Dade) Moreau (Morgan-Jones 1967, Suleman et al. 2001), patógeno causante de la enfermedad de las palmas conocida como "broma" o "exudado del tallo" (FUSAGRI-FONCOPAL 1976).

Treinta y seis de los 80 especímenes de *R. palmarum* procesados (45%), presentaron el hongo *T. paradoxa* en su tubo digestivo. La mayor frecuencia se observó en los ejemplares colectados en la localidad de Tapipa, seguido por la localidad de Cúpira y Tacarigua de la Laguna y en menor frecuencia en la localidad de Río Negro. En el Cuadro 1, se muestra el número de individuos infectados según el sitio de colecta y los resultados de la prueba estadística realizada. Se puede observar que no existen diferencias significativas ($\chi^2 = 2,83$; $P = 0,419$; $gl = 3$) entre individuos infectados y no infectados con respecto a la localidad, sin embargo, se observaron diferencias significativas entre los individuos infectados con respecto a la parte del intestino donde se encontró el hongo (Cuadro 2)

($\chi^2 = 14,66$; $P = 0,001$; $gl = 3$). Del análisis de los datos dentro de cada localidad, como muestras independientes, se encontraron diferencias significativas en Río Negro ($\chi^2 = 7,44$; $P = 0,024$; $gl = 2$) (Cuadro 2). A pesar de registrarse con mayor frecuencia el hongo en el intestino de los individuos macho (Cuadro 3), este análisis no mostró diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2 = 1,82$; $P = 0,178$; $gl = 1$) entre sexos.

Para todos los casos, las partes de intestino que mayormente evidenciaron la presencia del hongo fueron el estomodeo y el proctodeo, mientras que la menor frecuencia se observó en el mesentero. La menor frecuencia de individuos de *R. palmarum* infectados con *T. paradoxa* en el mesentero, podría estar influenciado por los procesos de secreción y absorción que ocurren en el intestino medio (Wigglesworth 1972). En *Aedes* sp. (Diptera: Culicidae), se han señalado incrementos de la actividad de proteasas en el intestino medio después de la alimentación, así como en *Tenebrio* sp. (Coleoptera: Tenebrionidae), donde la actividad de proteasas depende de la inyección de hemolinfa en esta zona (Fisk y Shambaugh, y Dadd, citados por Wigglesworth 1972). En algunos Heteroptera, se ha observado la presencia de bacterias simbiotas en los ciegos gástricos (intestino medio) que tienen por función inhibir el desarrollo de bacterias extrañas y otros microorganismos (Snodgrass 1993). En *R. palmarum*, el ventrículo anterior (mesentero) está cubierto externamente por gran cantidad de pequeños y uniformes divertículos que se corresponden con los ciegos gástricos (Sánchez et al. 2000). Estas evidencias y analogías nos conducen a suponer que en el mesentero de *R. palmarum* pueda ocurrir una situación similar. Así, podríamos asumir que la actividad enzimática en el mesentero, unida a la presencia de



FIGURA 1. Síntomas presentes en plantas de cocotero inoculadas por el método de inyección con *Thielaviopsis paradoxa*, a los 34 días.

bacterias asociadas al mismo, podría limitar la acumulación de esporas de *T. paradoxa* en esa parte del intestino.

La viabilidad y virulencia de las esporas de *T. paradoxa*, encontradas en el intestino de *R. palmarum*, fue comprobada mediante la prueba de patogenicidad realizada en plantas de cocotero. El 100% de las plantas inoculadas con *T. paradoxa*, por el método de inyección, manifestaron los primeros síntomas a los 12 días (Cuadro 4), mientras que tres de las plantas inoculadas (30%) con el método del disco, manifestaron los primeros síntomas a los 15 días.

La infección inicial se manifestó como una mancha parda ovalada, de consistencia seca, bordeada de un halo amarillo, ubicada en el lugar donde se colocó el inóculo. Internamente, los tejidos se mostraron afectados, avanzando con rapidez la pudrición causada por el hongo. A los dos meses, esta pudrición alcanzó la hoja bandera provocando el doblez y quiebre de la misma a nivel del cuello, finalmente causó la muerte total de las plantas. Al desplegar las hojas aún envainadas, se pudo observar el crecimiento profuso de micelio gris, característico del hongo (Figura 1). Todos los reaislamientos efectuados del tejido enfermo, confirmaron la asociación de *T. paradoxa* con los síntomas descritos, comprobándose así la patogenicidad del hongo en plantas de cocotero. El 100% de las plantas inoculadas por ambos métodos, murieron luego

de dos meses, lo que demuestra la agresividad de *T. paradoxa*, en plantas de cocotero. Las plantas testigo no exhibieron síntoma alguno durante el desarrollo del experimento.

El hecho de encontrar al hongo dentro del tubo digestivo del insecto, luego de las desinfecciones externas del exoesqueleto, indican un importante nivel de asociación entre ambos organismos. Norris (1979), indicó la relación mutualista que se establece entre diversos géneros de hongos y coleópteros de la tribu Xyleborini, señalando que estos insectos poseen estructuras especializadas en el aparato digestivo donde albergan estos hongos, denominadas mycangios. Se conocen importantes asociaciones entre coleópteros y hongos como en el caso del complejo *Xyleborus ferrugineus* (F) y *Ceratocystis fimbriata* Ellis Holts, en cacao (Sánchez y Capriles de Reyes 1979). La presente investigación indica que podríamos estar en presencia de otro caso de asociación mutualista como la mencionada o de la función de *R. palmarum* como vector de *T. paradoxa*, como agente dispersor de la enfermedad.

Numerosas investigaciones han sustentado las relaciones existentes entre insectos y hongos patógenos de plantas (Windels et al. 1976, Shortt et al. 1982, Stoner 1992, Lee et al. 1993, Louis et al. 1996, Dillard et al. 1998), donde el hongo es transportado en el tubo digestivo del insecto, siendo el mecanismo más efectivo de transmisión durante la alimentación.

Conocemos que *R. palmarum* cumple su ciclo de vida en las plantas y realiza todas sus funciones dentro del hospedero (Sánchez et al. 1993), cuando llega a estado adulto emigra. Ambos sexos, tienen una rápida dispersión, se ha registrado una velocidad de vuelo de 6,1 m/s (Hagley 1965) y una tasa de movimiento espacial en plantaciones de cocotero de 1,6 Km en 24 h. En Venezuela este insecto se encuentra ampliamente distribuido en todo el territorio nacional, en áreas explotadas comercialmente con cocotero y palma africana, como también en zonas no intervenidas donde habitan palmas silvestres y otras especies hospederas (Sánchez y Cerda 1993, Sánchez et al. 1993).

Es probable que este patrón de movilidad determine la presencia del hongo en los individuos independientemente de las localidades evaluadas. La transmisión del hongo podría ser realizada al alimentarse el insecto de plantas enfermas y luego de plantas sanas, pudiendo expulsar el patógeno, a través de regurgitados o de sus excretas en los tejidos internos de la planta. *T. paradoxa* puede causar pudrición del cogollo y muerte regresiva de la planta, síntomas que comúnmente son asociados con infecciones del nematodo *B. cocophilus* (Morales y Chinchilla 1990).

No obstante, muchas plantas que muestran estos síntomas, no presentan nematodos en sus tejidos.

Los resultados obtenidos en esta investigación indican que *R. palmarum* podría ser vector de patógenos de palmas como *T. paradoxa*, que en muchos casos pueden ser los responsables de la sintomatología atribuida a la enfermedad “anillo rojo del cocotero”.

En muchas plantaciones de cocotero de Venezuela, el “exudado del tallo” es la enfermedad más frecuente que afecta plantas jóvenes y adultas. Sin embargo sus síntomas avanzan con relativa lentitud y los árboles pueden seguir viviendo durante varios años, por lo cual se le ha restado importancia (FUSAGRI-FONCOPAL 1976). Usualmente, *T. paradoxa* es señalada como un patógeno débil de las palmas. Sin embargo, condiciones como el estrés hídrico y elevado potencial osmótico, podrían exacerbar las potencialidades del hongo como patógeno (Suleman et al. 2001).

Comúnmente el “exudado del tallo” se ha asociado a perforaciones de coleópteros de la familia Scolytidae, por lo general esta enfermedad se localiza en la parte baja del tronco, de donde puede ascender hasta ocupar todo el tallo (FUSAGRI-FONCOPAL 1976). La transmisión del hongo en el cogollo de las plantas a través de *R. palmarum* podría ser en el ápice, causando la muerte de todos los tejidos del área de la corona hasta la yema terminal, posteriormente ocurriría el secado progresivo del estípite con dirección basal.

Se desconoce el diagnóstico real de la enfermedad “exudado del tallo” en las plantaciones de coco y palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq) en Venezuela. Tampoco existen estadísticas relativas a las pérdidas de plantas por esta causa. A la luz de la presente investigación se recomienda emprender nuevos estudios que clarifiquen la importancia de la enfermedad “exudado del tallo”, más aún cuando en el país se programa el desarrollo de extensas áreas a ser cultivadas con palma aceitera, hospedera de *R. palmarum* y *T. paradoxa*.

Referencias

- DILLARD HR, COBB AC, LAMBOY JS. 1998. Transmission of *Alternaria brassicicola* to cabbage by flea beetles (*Phyllotreta cruciferae*). Plant Dis 82 (2): 153-157.
- EWEL J, MADRIZ A, TOSI JA. 1976. Zonas de vida de Venezuela. Memoria explicativa sobre mapas ecológicos. Caracas: Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 270 p.
- FENWICK DW. 1962. The entomological aspects of red ring disease. J Agric Soc Trinidad and Tobago 62(2): 265-281.
- [FUSAGRI-FONCOPAL] Fundacion Servicio para el Agricultor-Fondo para el Desarrollo del Coco, la Copra y la Palma Africana. 1976. Coco. Caracas: FUSAGRI-FONCOPAL. Serie A 40. 93 p.
- GERBER K, GIBLIN R. 1990. Association of the red ring nematode and other nematodes species with the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* L. J Nemat 22: 143-149.
- GRIFFITH R. 1968. The relationship between the red ring nematode and the palm weevil. J Agric Soc Trinidad and Tobago 68(3): 342-356.
- GRIFFITH R. 1987. Red ring disease of coconut palm. Plant Dis 71(2): 193-196.
- HERNÁNDEZ JV, CERDA H, JAFFÉ K, SÁNCHEZ P. 1992. Localización hospedera, actividad diaria y optimización de la captura del picudo del cocotero *Rhynchophorus palmarum* L., mediante trampas inócuas. Agron Trop 42(3-4): 211-226.
- HAGLEY E. 1965. On the life history and habits of the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* L. Ann Entomol Soc Am 58(1): 22-28.
- LEE FN, TUGWELL NP, FANNAH SJ, WEIDEMANN GJ. 1993. Role of fungi vectored by rice stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) in discoloration of rice kernels. J Econ Entomol 86(2): 549-556.
- LOUIS C, GIRARD M, KUHL G, LOPEZ-FERBER M. 1996. Persistence of *Botrytis cinerea* in its vector *Drosophila melanogaster*. Phytopathology 86(9): 934-939.
- MORALES JL, CHINCHILLA C. 1990. Picudo de la palma y enfermedad del anillo rojo/hoja pequeña en una plantación comercial en Costa Rica. Turrialba 40: 478-485.
- MORGAN-JONES C. 1967. CMI descriptions of pathogenic Fungi and Bacteria. N° 143. Commonwealth Agricultural Bureaux.
- NORRIS DM. 1979. The Mutualistic Fungi of Xyleborini beetles. In: Batra, editor. Insect-fungus symbiosis, Nutrition, Mutualism and commensalism. New Jersey: Allanheld, Osmum, Montclair. p 53-63
- SÁNCHEZ P, CAPRILES DE REYES L. 1979. Insectos asociados al cultivo del cacao en Venezuela. Maracay: Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Boletín Técnico 11. 56 p.
- SÁNCHEZ P, CERDA H. 1993. El complejo *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae)-*Bursaphelenchus cocophilus* (Coob) (Tylenchida: Aphelenchoididae), en palmeras. Bol Entom Venez 8(1): 1-18.
- SÁNCHEZ P, JAFFÉ K, HERNÁNDEZ JV, CERDA H. 1993. Biología y comportamiento del picudo del cocotero *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae). Bol Entom Venez 8(1): 83-93.

- SÁNCHEZ P, SÁNCHEZ F, CAETANO F. 2000. El tubo digestivo en adultos de *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae): Morfología y ultraestructura. Bol Entomol Venez 15(2): 195-216.
- SHORTT BJ, SINCLAIR JB, HELM CG, JEFFORDS MR, KOGAN M. 1982. Soybean seed quality losses associated with bean leaf and *Alternaria tenuissima*. Phytopathology 72(6): 615-618.
- SNODGRASS R. 1993. Principles of insect morphology. New York: Mc Graw-Hill. 667 p.
- STONER KA. 1992. Density of imported cabbageworms (Lepidoptera: Pieridae), cabbage aphids (Homoptera: Aphididae), and flea beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) on glossy and Trichome-bearing lines of *Brassica oleracea*. J Econ Entomol 85(3): 1023-1030.
- SAS, Institute. 1985. The SAS System for Windows 3.95. Release 6.08. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- SULEMAN P, AL-MUSALLAM A, MENEZEZ CAA. 2001. The effect of solute potential and water stress on black scorch caused by *Chalara paradoxa* and *Chalara raidicola* on date palms. Plant Dis 85(1): 80-83.
- WIEDENHÖFER H. 1993. Pruebas no paramétricas para las ciencias agropecuarias. Muestras pequeñas. Maracay: Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Serie A. 132 p.
- WIGGLESWORTH VB. 1972. The principles of insect physiology. London: Chapman and Hall. 827 p.
- WINDELS CE, WINDELS MB, KOMMEDAHL T. 1976. Association of *Fusarium* species with picnic beetles on corn ears. Phytopathology 66(3): 328-331.

Recibido: 24-v-2002

Aceptado: 21-xi-2002

Correcciones devueltas por el autor: 04-ii-2003