

**Departamento de Investigación y Extensión
de la Caña de Azúcar
– DIECA –**



**PROTOCOLO PARA:
Entrega, Manejo y Uso de
Productos Biológicos por
Parte de Usuarios de la
Agroindustria Azucarera
Costarricense**

**Jose Daniel Salazar Blanco
Erick Chavarría Soto
Marco Chaves Solera**

**Grecia, Alajuela,
COSTA RICA**

Febrero 2011

Presentación

La promoción, disposición y empleo racional y utilitario de los recursos biológicos como insumos para incrementar la producción agrícola, ha constituido en el caso particular de la agroindustria azucarera costarricense, una iniciativa que se ha venido mejorando, incentivando e incrementando con el paso tiempo y, podría asegurarse, es hoy día una tecnología que esta posicionada y consolidada en el campo cañero.

El uso de Biocontroladores y el empleo de Semilla Mejorada de alta calidad fitosanitaria y pureza genética, son solo algunas de las alternativas viables y factibles de ejecutar actualmente por parte del agricultor nacional para contribuir con el manejo y control efectivo de plagas e incremento de la productividad en el cultivo de la caña de azúcar; incorporando adicionalmente, un manejo sostenible de los recursos que aseguran un empleo eficiente y rentable de los mismos.

Con estas acciones de corte técnico e institucional, se ha logrado contribuir de manera sustantiva y positiva al manejo sostenible de las plantaciones comerciales de caña destinadas a la fabricación de azúcar en Costa Rica, incidiendo sobre la biodiversidad y la salud pública, al reducir y eliminar el uso alternativo de inconvenientes tecnologías contaminantes y degradantes.

En materia de tecnología agrícola en el campo azucarero, se operan desde hace muchos años programas en varias áreas importantes del quehacer productivo, entre las que destacan el Control Biológico de Plagas empleando como agentes los hongos entomopatógenos y los parasitoides (avispa). También se desarrolla un amplio y visionario Programa de Mejoramiento Genético orientado a la importación y fabricación de variedades nacionales de caña (Sigla LAICA), el cual vincula la fitosanidad de las plantaciones comerciales mediante la limpieza de clones por medio del cultivo de tejidos por métodos *in vitro*, a partir de los cuales se establecen posteriormente semilleros básicos para multiplicar material vegetativo de calidad y ponerlo a disposición del sector productor.

Con el objeto de optimizar su empleo y maximizar el potencial de control de los productos biológicos generados por DIECA, en el presente caso hongos entomopatógenos, parasitoides y plantas de caña reproducidas mediante la técnica del cultivo de tejidos *in vitro*, se formula el presente Protocolo. El mismo pretende regular, ordenar y orientar lo concerniente a la “Entrega, Manejo y Uso de los Productos Biológicos” por parte de los usuarios y beneficiarios nacionales; esto es, productores de caña pertenecientes al sector azucarero. Resulta imperativo y necesario asegurar la efectividad de los productos biológicos no sólo por razones técnicas, sino también económicas virtud de su alto valor unitario.

El documento pretende ser apenas una guía técnica dirigida a productores de caña beneficiados con la iniciativa institucional promovida por LAICA, al igual que para técnicos, investigadores y extensionistas vinculados con los productos biológicos, interesados en difundir prácticas agrícolas efectivas y más amigables con el ambiente.

Con esta nueva publicación, la agroindustria azucarera costarricense da un paso más en su incesante esfuerzo por contribuir de manera significativa y ostensible al mejoramiento de la producción sostenible de caña y azúcar.

Ing. Agr. Marco Chaves Solera, Msc
Gerente DIECA-LAICA

Índice

	Página
Presentación	2
Índice	3
Controladores Biológicos	
- Introducción	4
- Objetivo General	4
- Objetivos Específicos	4
- Control Biológico de Plagas	4
- Entrega de Controladores Biológicos	5
- Condiciones de Uso y Manejo	7
- Apéndice	9
Plántulas <i>in vitro</i> reproducidas por Cultivo de Tejidos	
- Introducción	15
- Objetivo General	15
- Objetivos Específicos	15
- Distribución Teórica de la Producción de Plántulas	15
- Asignación Real de Plántulas	16
- Determinación de las Necesidades de Semilla	17
- Selección y Recolección del Material Vegetal para Reproducción	18
- Recolección del Material Vegetal en el Campo para Reproducción	18
- Entrega del Almácigo <i>in vitro</i> al Usuario Final	19

Controladores Biológicos

Introducción

En fiel cumplimiento de los fines y principios que han históricamente orientado y conducido la reproducción masiva y la entrega en forma justa y equitativa de los productos biológicos reproducidos por LAICA por medio de DIECA; así como por la naturaleza sensible y las características físicas y biológicas altamente perecible de los mismos, se considera sano, prudente y necesario formular y disponer el presente Protocolo, cuyo objetivo general y objetivos específicos son los siguientes:

Objetivo General:

Establecer un mecanismo ágil, dinámico y efectivo que regule la entrega, el manejo y el uso de los controladores biológicos reproducidos por LAICA, destinados al control de plagas en el sector cañero-azucarero nacional.

Objetivos Específicos:

1. Definir, establecer y regular los mecanismos y procedimientos de distribución, entrega y uso de los productos biológicos generados por DIECA a los usuarios del sector azucarero nacional.
2. Establecer las disposiciones y los criterios técnicos necesarios aplicar para la entrega y uso recomendable y óptimo de los productos biológicos.
3. Indicar las condiciones básicas de manejo (almacenamiento, transporte y uso) de los productos biológicos asignados.

Se entiende por productos biológicos todos aquellos organismos vivos reproducidos por medio de procedimientos controlados de laboratorio, para ser utilizados en la actividad productiva de la caña de azúcar, en aplicaciones agrícolas de acuerdo a sus potenciales y funciones específicas. En lo específico comprende al grupo de organismos empleados para el combate de plagas como son los hongos entomopatógenos y los parasitoides (avispas); también incluye a las plantas de caña reproducidas vegetativamente por medio de la técnica del cultivo de tejidos *in vitro* para el establecimiento de semilleros básicos de caña.

Control Biológico de Plagas

Todos los años el órgano técnico vinculado con la materia entomológica formula oportunamente la propuesta institucional para proceder con la “Asignación y distribución de controladores biológicos”, dentro de los principios de necesidad, razonabilidad, justicia y equidad procurados satisfacer en este caso, como un mecanismo de información y orientación para la correcta y acertada toma de decisiones por parte del Comité Asesor de DIECA.

Dicha propuesta valora, estima y determina dentro de las capacidades reales y potenciales disponibles, la cantidad de hongos entomopatógenos y parasitoides que serán entregados a los usuarios beneficiarios del sector azucarero costarricense.

La determinación de la cantidad por reproducir y distribuir se establece con base en una serie de indicadores y escenarios propuestos específicamente para cada uno de los ingenios, con fundamento en sus antecedentes y situación actual y, en el caso de los Productores Independientes, por región productora siguiendo los mismos criterios anteriores. Dicha estimación considera e integra en términos generales los antecedentes y registros históricos de varios años, razones técnicas vinculadas y las estimaciones expresadas por los usuarios basadas en muestreos y monitoreos de campo para el año particular en análisis. Dicho criterio está además avalado al más alto nivel por las autoridades azucareras.

Las estimaciones anuales de producción favorecen y permiten un manejo programado y estructurado de la operación de los laboratorios, en concordancia con los compromisos adquiridos con los beneficiarios y la necesidad de disponer los organismos biológicos requeridos en las diferentes épocas del año para las plagas recurrentes; además de otras plagas que surgen ocasionalmente o de manera inesperada afectando las plantaciones comerciales de caña de azúcar.

Entrega de Controladores Biológicos.

Para dicho fin se seguirá el procedimiento siguiente:

1. La entrega de hongos entomopatógenos y parasitoides (avispa) a los usuarios del sector azucarero nacional, se realizará condicionada a la presentación previa por parte del interesado o técnicos responsables de la zona (DIECA, Ingenio) de un monitoreo o muestreo de campo (cuando la metodología exista), de la condición en que se encuentra la plaga en el lugar (umbrales de población cuando sean conocidos). Dicho documento contendrá la información básica que permita el registro y la interpretación de la necesidad real de establecer estrategias de “*prevención y combate de plagas*”, entre las cuales está el uso de controladores biológicos.
2. Debe tenerse muy presente que en buena parte de los casos los organismos de control biológico son apenas una herramienta más del manejo y control efectivo de las plagas.
3. Es responsabilidad del usuario la realización y presentación oportuna y correcta de los monitoreos solicitados, cuya realización puede ser apoyada y orientada por DIECA.
4. El beneficiario deberá nombrar un plaguero que será debidamente capacitado por el personal del Programa de Plagas y Control Biológico de DIECA, para aplicar de forma correcta las diferentes metodologías establecidas para el manejo de plagas.

5. En caso de que el usuario no conozca la metodología empleada para determinar los umbrales de población establecidos para ejercer control, se ofrecerá la capacitación necesaria por parte de los técnicos especializados del Programa de Plagas y Control Biológico de DIECA.
6. Es responsabilidad exclusiva del beneficiario recabar y enviar oportunamente la información solicitada a DIECA, donde justifique plenamente las necesidades o demandas de productos biológicos, de acuerdo y en concordancia con los criterios técnicos emitidos por el Programa de Plagas y Control Biológico.
7. Por razones protocolarias de orden y control, es para DIECA fundamental que el usuario brinde la información solicitada referente a: ubicación de la finca, área (has) presuntamente afectada, área aplicada, cantidad de producto usado por lote, variedad de caña sembrada, algunos aspectos importantes sobre el manejo de plantaciones que se consideren necesarios, registros de muestreos de las plagas presentes y persona responsable o contacto en la finca.
8. La cantidad de producto biológico por entregar será concordante con el área que técnicamente se demuestre según criterios técnicos vigentes (umbrales, niveles críticos, etc.), tiene la necesidad y razonabilidad económica de recibir las aplicaciones.
9. El número de aplicaciones de los organismos de control biológico requeridos, así como la frecuencia de uso se recomendará según los criterios técnicos que involucran indicadores de población, daño y manejo adecuado de la finca.
10. Debe darse un término de tiempo prudencial entre el momento en que se realizó el monitoreo y el reporte realizado a DIECA, el cual no deberá ser superior a dos semanas. Queda claro que este requisito resulta determinante para la entrega del producto biológico solicitado, tal como fuera acordado por las autoridades de LAICA.
11. De la misma manera, DIECA entregará oportunamente, según la disponibilidad de producto y los compromisos previos adquiridos que deba cumplir, los organismos de control biológico requerido y solicitado.
12. La entrega y aplicación de los productos biológicos en el campo está condicionada y se realizará cuando técnicamente las poblaciones plaga alcancen los niveles críticos establecidos como de impacto productivo y económico.
13. Queda a consideración y criterio del equipo técnico de especialistas de DIECA la entrega de organismos de control biológico cuando se compruebe, que el manejo de la plantación no ha sido técnicamente el adecuado y necesario, no se hayan seguido las recomendaciones previas de manejo de la plaga y prevención de la infestación, o se suponga poca efectividad de los productos en caso que el usuario no siga las recomendaciones de uso del controlador biológico. Se debe tener presente que el valor unitario del producto es alto.

14. La entrega del material biológico estará estrictamente condicionada a la situación de clima o edad fenológica del cultivo de caña.
15. Con las medidas anteriores se procura evitar que por deficiencias en el manejo de las plantaciones o falta de interés en ejecutar las recomendaciones formuladas, se genere un ambiente negativo y sin posibilidad de éxito hacia los productos de control biológico, lo va en detrimento directo de la iniciativa con pérdida económica importante del producto.
16. El usuario debe colaborar con los técnicos de DIECA en todo lo que le sea posible, ya sea personalmente o con colaboradores en la finca, para proceder con las actividades de muestreo de poblaciones de plaga y evaluación posterior de parasitismo.
17. La entrega del material biológico asignado se realizará de manera coordinada en la Estación Experimental de DIECA en Grecia en las fechas previstas y acordadas por las partes. El producto se podrá alternativamente entregar en fincas o lugares preestablecidos, según se considere la necesidad de realizar inspecciones o evaluaciones de campo, o exista coincidencia con una gira a la región de alguno de los técnicos de DIECA.
18. Para efectos de control, el usuario debe dar acuse de recibido del producto entregado según el talonario de registro que para esos fines existe y está operando.

Condiciones de Uso y Manejo.

1. Los controladores biológicos como cualquier otro producto, deben necesariamente cumplir durante el proceso de producción y almacenamiento con estándares de calidad predeterminados.
2. La dosis de aplicación de hongos entomopatógenos o de parasitoides (avispa) a utilizar, se establece y define por recomendación técnica del Programa de Plagas y Control Biológico de DIECA, de acuerdo con la naturaleza de la plaga, su condición en el campo y en concordancia con el agente biológico a utilizar para su control.
3. Al ser los organismos de control biológico seres vivos de muy alta sensibilidad y fragilidad, se les debe brindar por razones obvias condiciones adecuadas durante las fases de transporte, almacenamiento y uso en el campo, que permitan mantener activa la viabilidad y eficacia técnica del producto.
4. El beneficiario deberá asegurar, demostrar y garantizar fehacientemente que el transporte y el almacenamiento de los productos biológicos en la finca o el lugar de destino, se regirá por las condiciones técnicas establecidas por DIECA, con el objeto de evitar afección y deterioro de la calidad y viabilidad del producto.

5. El transporte debe realizarse en horas frescas del día, preferiblemente en hieleras, cajas con cobertores (manteados o afines) o permanecer protegido dentro de la cabina de los vehículos. Cuando se requiera virtud de la necesidad, DIECA proveerá hieleras con el fin exclusivo de facilitar el transporte, nunca de cubrir el almacenamiento del producto en fincas, razón por la cual, las mismas deben ser devueltas de manera inmediata en las mismas condiciones en que fueron entregadas. Si hubiere pérdida o deterioro, estas deberán ser repuestas por el usuario que causo el daño y/o la pérdida.
6. Los beneficiarios deberán tener en sus fincas un área, instalación y equipo debidamente acondicionada para fines de almacenamiento; recuérdese que por su naturaleza, no resulta conveniente mantener otros agroquímicos presentes en el lugar, particularmente fungicidas.
7. Durante las fases de transporte y aplicación se debe evitar dejar los vehículos o los organismos de control biológico bajo el efecto directo del sol, o sometidos a altas temperaturas pues ello afecta de manera directa su viabilidad.
8. El almacenaje debe realizarse en las condiciones que cada uno de los organismos biológicos requiere y se recomienda de acuerdo con su naturaleza y sus necesidades particulares. De manera general, los hongos entomopatógenos se deben almacenar dentro de un rango de temperatura de 4 a 9 °C hasta por 30 días, o entre 10 a 18 °C por un periodo máximo de 3 días. Los parasitoides (avispa) en estado de pupa se deben almacenar en temperaturas dentro del rango 4 a 10 °C por un periodo máximo de 6 días y, en su estado adulto, bajo esas mismas condiciones por no más de 2 días.
9. La aplicación de hongos entomopatógenos o la liberación de parasitoides se debe realizar de acuerdo con las recomendaciones técnicas giradas por los especialistas de DIECA, las cuales surgen de estudios suficientemente validados. Las mismas serán dadas a conocer por medio de capacitaciones, material divulgativo, asistencia técnica y adiestramiento directo. En DIECA hay mucho material accesible referido a ese tópico.
10. El usuario debe garantizar el estricto seguimiento de las recomendaciones técnicas brindadas respecto al procedimiento vinculado en la preparación, manejo y uso de los controladores biológicos en el campo, de acuerdo con la naturaleza de la plaga que se encuentre afectando la plantación.
11. La aplicación de los hongos entomopatógenos y los parasitoides debe realizarse al final de la tarde (después de las 4:00 p.m.) una vez disminuida la influencia del sol, y sin la presencia de lluvias persistentes o torrenciales. Para los días en los cuales se imposibilita la aplicación a dicha hora por presencia de lluvias fuertes, el producto se deberá entonces aplicar o liberar en horas tempranas del día como máximo hasta las 8:00 am.
12. El beneficiario deberá utilizar para la preparación y aplicación de los hongos entomopatógenos, agua potable o en su defecto agua limpia, sin impurezas ni

contaminantes de índole químico o biológico, con un pH cercano a la neutralidad ($\text{pH} \approx 7$) y de baja dureza; tampoco deben emplearse aguas turbias o de rehúso industrial cuestionable o dudoso.

13. La adición de coadyuvantes u otras sustancias afines con el objeto de potenciar y mejorar la efectividad del producto, debe basarse en las recomendaciones técnicas generadas por DIECA, fundamentadas en investigación previa de los mismos.
14. Por lo anterior, deberán utilizarse productos complementarios que hayan sido investigados y validados por DIECA, que no presentan ningún efecto negativo sobre la calidad y efectividad del controlador biológico.
15. Los equipos de aplicación deben ser los apropiados y estar debidamente calibrados para optimizar la aplicación de los productos, de acuerdo con la dosis del producto recomendada, la cantidad de agua a utilizar y las áreas de aplicación previstas cubrir.
16. El equipo de aplicación debe estar limpio de contaminantes y residuos de sustancias inconvenientes (fungicidas, herbicidas, insecticidas, etc.) que puedan afectar la efectividad del producto biológico; así como también de sustancias o productos utilizados para el lavado (jabones, detergentes, etc.). Si es factible, el equipo de aplicación debe preferiblemente ser exclusivo para utilizar con hongos entomopatógenos.
17. DIECA está en disposición y capacidad de prestar a los usuarios que así lo requieran y técnicamente se justifique, equipos de aplicación mecánica acoplados a tractores (cañones marca Jacto), durante el periodo de tiempo necesario para cubrir la realización de las aplicaciones en el campo. La petición, trámite y asignación del equipo se efectuará en coordinación con el técnico de DIECA de la región involucrada, para lo cual se deberá disponer obligatoriamente de un lugar seguro y cubierto para el resguardo del equipo. Las solicitudes para el traslado del equipo de un usuario a otro deberá efectuarse por escrito, ya sea por parte del beneficiario o el técnico regionalizado de DIECA adoptando las verificaciones previas y prudenciales del caso.
18. Es responsabilidad absoluta y obligada del usuario, la correcta limpieza interna y externa del equipo (cañón) prestado; así como la adopción de todas las acciones de mantenimiento preventivo para su correcto empleo. El equipo deberá devolverse en la misma condición en que se entregó.
19. Si por acaso aconteciera algún daño funcional o estructural al equipo causado por negligencia, descuido o mal uso, su reparación correrá por cuenta del usuario.
20. El usuario deberá firmar un registro con acuse de recibo del equipo dado en calidad de préstamo.

APÉNDICE

A continuación se presentan a manera de ejemplo, las hojas de registro de campo para la evaluación de poblaciones de tres organismos específicos que provocan efectos muy negativos en el cultivo.

En la Figura N° 1 se expone la hoja de muestreo de ninfas y adultos del **Salivazo (*Aeneolamia* spp., *Prosapia* spp.)**. En cinco estaciones/ha de 5 metros de longitud cada una, se registra la presencia de adultos y ninfas, así como también la cantidad de tallos presente. Con base en esa información se estiman los parámetros de adultos/tallo y ninfas/tallo, indicadores de la necesidad de control mediante la aplicación del hongo *Metarhizium anisopliae*. Se ha estimado que poblaciones por encima de 0,2 adultos y 0,4 ninfas/tallo justifican la entrega y uso del hongo.

La Figura N° 2 corresponde a la hoja utilizada para el muestreo de poblaciones de larvas del **Barrenador Común del Tallo (*Diatraea* spp.)**. En ella se registran los "corazones muertos" y las larvas del barrenador encontradas en 5 estaciones/ha de 4 m. de longitud cada una. Con la información resultante se calcula la densidad de larvas/ha, para lo cual se estima que poblaciones de plaga mayores a 1.500 larvas justifican la liberación del parasitoide *Cotesia flavipes* en el campo en una relación de 1:4 (plaga : parasitoide).

Las Figuras N° 3 y N° 4 presentan por su parte la metodología de monitoreo del **Chinche de Encaje (*Leptodyctia tabida*)**. En la hoja de registro se anota lo observado en 20 puntos de muestreo estratégicamente distribuidos por lote. En cada punto de muestreo se deben revisar cinco (5) tallos y en los mismos las hojas +1 a +4, considerándolas afectadas si tienen una colonia grande o más de dos pequeñas. Se calcula entonces a partir de eso el porcentaje de hojas infestadas. Más de 30% de infestación requiere el uso de métodos de control, entre ellos la aplicación del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*. La Figura N° 4 esquematiza el procedimiento señalado.



**DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN DE LA CAÑA DE AZÚCAR (DIECA)
PROGRAMA DE CONTROL DE PLAGAS
MONITOREO DE POBLACION DE NINFAS Y ADULTOS DE SALIVAZO**

LOCALIDAD: _____ VARIEDAD: _____
 FINCA: _____ EDAD (MESES): _____
 LOTE: _____ PLANTA () SOCA () SOCA (N): _____
 AREA: _____ FECHA: _____

Aneolamia sp. () *Prosapia* spp. (Otra ()

ENCARGADO MUESTREO: _____

ESTACIÓN 5 METROS LINEALES	NINFAS	ADULTOS	TALLOS	ESTACIÓN 5 METROS LINEALES	NINFAS	ADULTOS	TALLOS
1				16			
2				17			
3				18			
4				19			
5				20			
6				21			
7				22			
8				23			
9				24			
10				25			
11				26			
12				27			
13				28			
14				29			
15				30			
				TOTAL			

* CADA ESTACIÓN ES DE 5 METROS LINEALES. SE HACEN 5 ESTACIONES POR HECTÁREA LO CUAL ES VÁLIDO PARA LOTES DE HASTA 5 HECTÁREAS. SI EL LOTE ES MÁS GRANDE, SE HACE UNA ESTACIÓN ADICIONAL POR CADA HECTÁREA.

CÁLCULOS

$$\text{NINFAS/TALLO} = \frac{\text{TOTAL DE NINFAS}}{\text{TOTAL DE TALLOS}}$$

$$\text{NINFAS/TALLO} = \frac{\quad}{\quad}$$

N.C.= 0,4 NINFAS/TALLO

$$\text{ADULTOS/TALLO} = \frac{\text{TOTAL DE ADULTOS}}{\text{TOTAL DE TALLOS}}$$

$$\text{ADULTOS/TALLO} = \frac{\quad}{\quad}$$

N.C.= 0,2 ADULTOS/TALLO

OBSERVACIONES:

Programa plagas y cb\Salivazo/MONITOREO SALIVAZO/Hoja1

Figura 1

Monitoreo de Poblaciones de Diferentes Estadios de Adultos y Ninfas del Salivazo (*Aeneolamia* spp. *Prosapia* spp.)

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION Y EXTENSION DE LA CAÑA DE AZUCAR
CONTROL BIOLÓGICO DE *Diatraea* spp
MUESTREO DE LARVAS DE *Diatraea* spp

LOCALIDAD		LOTE		EDAD	
ALTITUD		AREA		Nº CORTE	
FINCA		VARIEDAD		FECHA	

MUESTRA	CORAZON MUERTO	LARVAS	MUESTRA	CORAZON MUERTO	LARVAS
1			26		
2			27		
3			28		
4			29		
5			30		
6			31		
7			32		
8			33		
9			34		
10			35		
11			36		
12			37		
13			38		
14			39		
15			40		
16			41		
17			42		
18			43		
19			44		
20			45		
21			46		
22			47		
23			48		
24			49		
25			50		

UNIDAD DE MUESTREO (UM) = 5 puntos x 4 m lineales/ha

Metros muestreados

Nº de corazones muertos

Nº de larvas Larvas/ha *C. flavipes*/ha

Especies de *Diatraea*

1	
2	

Observaciones _____

Responsable del muestreo _____

muestreos cm/fichas3/hoja4

Figura 2

Monitoreo de Poblaciones de Larvas del Barrenador Común del Tallo (*Diatraea* spp.)

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION Y EXTENSION DE LA CAÑA DE AZUCAR
PROGRAMA DE PLAGAS Y CONTROL BIOLÓGICO
MONITOREO DE INFESTACION DE CHINCHE DE ENCAJE

FECHA		VARIEDAD	
INGENIO		Nº CORTES	
FINCA		EDAD	
LOTE		RESPONSABLE	

PUNTO MUESTRA	CANTIDAD DE HOJAS INFESTADAS POR PLANTA					TOTAL AFECTADAS
	PLANTA 1	PLANTA 2	PLANTA 3	PLANTA 4	PLANTA 5	
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
						TOTAL

Porcentaje de hojas afectadas por chinche de encaje por lote:

$\frac{\text{TOTAL} \times 100}{400}$	=	
---------------------------------------	---	--

Procedimiento:

1. Hacer 20 puntos de muestreo
2. Tomar 5 tallos por punto para ser revisados
3. En cada tallo revisar las 4 primeras hojas (+1 a +4)
4. Cada hoja se reporta como afectada si tiene al menos una colonia grande o bien 2 o más colonias pequeñas
5. Determinar el % de hojas afectadas por lote

Figura 3

Determinación del Porcentaje de Infestación de Chinche de Encaje.

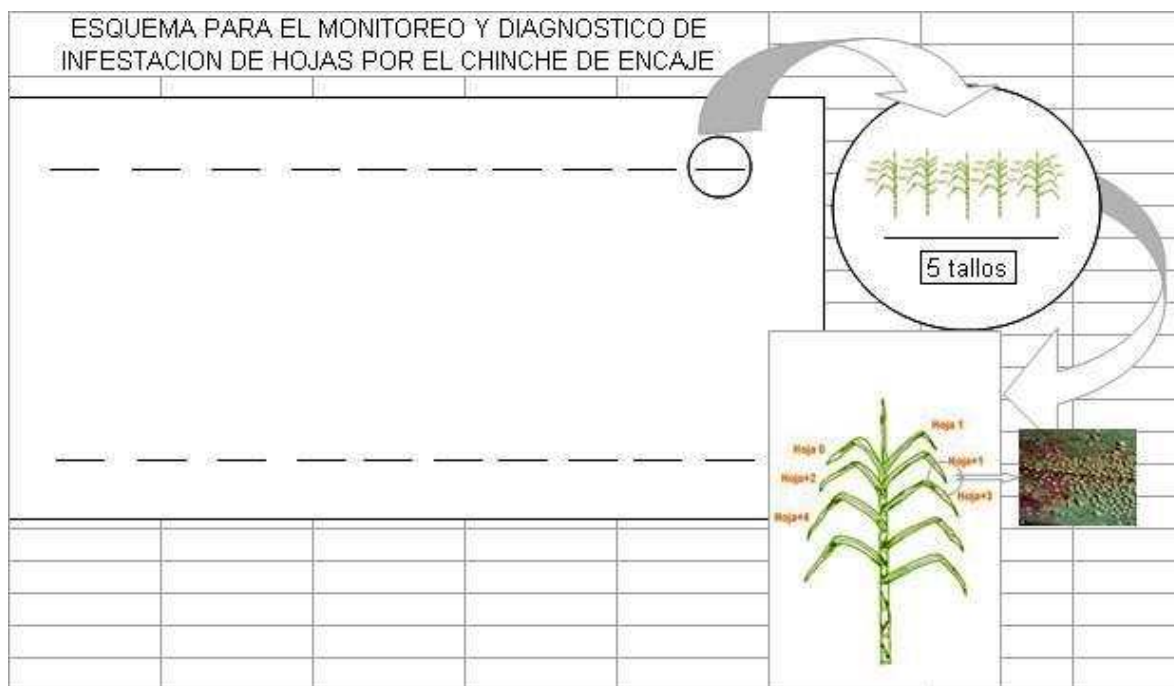


Figura 4
Metodología de Campo para la Determinación del Porcentaje de Infestación de Chinche de Encaje.



Plaga de Salivazo (*Aeneolamia* spp., *Prosapia* spp.) Parasitada

Plántulas *in vitro* reproducidas por Cultivo de Tejidos

Introducción

Al igual que acontece con los controladores biológicos, la reproducción de plantas de caña de azúcar empleando la técnica del cultivo de tejidos *in vitro*, constituye un moderno instrumento biotecnológico de mejoramiento productivo que permite contar con material vegetativo de mayor calidad para el establecimiento de semilleros básicos, a partir de los cuales se reproducirá posteriormente la semilla de las plantaciones comerciales.

Esta iniciativa forma parte sustantiva del Programa de Reproducción de Semilla Mejorada auspiciado y desarrollado por DIECA en asocio con los Ingenios, las Cámaras de Productores de Caña y otras instancias del sector azucarero directamente vinculadas. El cultivo de tejidos está por otra parte directamente asociado al Programa de Mejoramiento Genético y otras técnicas complementarias utilizadas por la agroindustria azucarera como estrategia fitosanitaria, como es el uso del tratamiento hidrotérmico de la semilla.

Objetivo General:

El objetivo del programa de reproducción *in vitro* de caña de azúcar, es fundamentalmente obtener material de excelente calidad fitosanitaria y pureza genética para iniciar el proceso de reproducción vegetativa a escala comercial; tanto para las variedades comerciales consolidadas, como también para las variedades promisorias en fase de crecimiento en todas las regiones cañeras del país.

Objetivos Específicos:

1. Utilizar la técnica del cultivo de tejidos vegetales *in vitro* para obtener, en forma rápida y confiable, material vegetal suficiente para el establecimiento de semilleros básicos de caña de azúcar.
2. Obtener plantas de alta calidad fitosanitaria y pureza genética por medio del cultivo de tejidos vegetales *in vitro*, con el objeto de ser utilizadas posteriormente en el establecimiento de semilleros para la multiplicación de semilla básica.
3. Evaluar la efectividad de los procedimientos de multiplicación masiva durante la fase de producción, con el fin de realizar los ajustes necesarios para la optimización de las metodologías de reproducción *in vitro*.
4. Evaluar procedimientos alternativos de reproducción viable, efectiva y factible para la multiplicación masiva de la caña de azúcar.

5. Establecer y aplicar los estándares básicos de calidad que permitan entregar material vegetal de alta confiabilidad fitosanitaria a los productores del sector azucarero costarricense.
6. Maximizar el potencial genético de las variedades liberadas para uso comercial por parte del Programa de Mejoramiento Genético de DIECA.

Distribución Teórica de la Producción de Plántulas

El laboratorio de cultivo de tejidos de DIECA posee en las circunstancias y condiciones actuales, una capacidad de reproducción promedio de 110.000 plantas al año. El Cuadro 1 expone para fines informativos la distribución teórica realizada a nivel nacional de las plántulas dentro del sector azucarero nacional, establecida proporcionalmente con base en la capacidad de producción y el área total de caña sembrada comercialmente, como indicador de las necesidades potenciales de semilla de los ingenios por región y de los productores a nivel nacional.

Cuadro 1.

Distribución teórica de la producción de plántulas *in vitro* del laboratorio de cultivo de tejidos de DIECA.

GRUPO PRODUCTIVO	REGIÓN	CANTIDAD PLÁNTULAS	PORCENTAJE
INGENIOS	Guanacaste	33.000	30
	Puntarenas	4.400	4
	San Carlos	7.700	7
	Turrialba	7.700	7
	Valle Central	8.800	8
	Pérez Zeledón	4.400	4
Subtotal INGENIOS		66.000	60
PRODUCTORES		44.000	40
TOTAL		110.000	100

Asignación Real de Plántulas.

La asignación real de plántulas a los usuarios del programa se realizará de manera estratégica con base en las solicitudes y demanda de los beneficiarios, permitiendo con ello la redistribución y reasignación de la distribución teórica definida en el Cuadro 1.

Cuadro 1 **Determinación de las Necesidades de Semilla.**

La asignación final de las plántulas se realiza con base en los pedidos directos y expresos del usuario mediante el empleo de cualquier medio de comunicación disponible y efectivo, los cuales se realizan directamente en las instalaciones de DIECA o por medio de los técnicos regionalizados que DIECA tiene ubicados en cada una de las seis zonas productoras de caña del país.

Las necesidades de semilla y la determinación de las variedades a reproducir se definen mediante consulta directa y la realización de un sencillo estudio previo coordinado y articulado entre los técnicos del programa y los usuarios interesados.

Las solicitudes de material vegetal deben realizarse con al menos 12 meses de anticipación a las temporadas de entrega establecidas por el programa y definidas en el Cuadro 2, con el objeto de programar con la antelación debida el proceso de reproducción en el laboratorio. Es importante tener presente que los protocolos y periodos de tiempo vinculados en la fase reproductiva son específicos en ciertas variedades y prolongados para todas, virtud de lo cual debe administrativamente operarse necesariamente con la antelación prudencialmente necesaria en este caso, motivo del periodo implicado para la solicitud de material.

Las solicitudes estarán sujetas, determinadas y restringidas por la disponibilidad de espacio físico y recurso humano que se tenga en el laboratorio y en los invernaderos. Las mismas se atenderán en orden cronológico de acuerdo con su fecha de ingreso.

Cuadro 2.

Épocas de entrega de material *in vitro* del laboratorio de cultivo de tejidos de DIECA.

REGIÓN	ÉPOCAS DE ENTREGA
Guanacaste (Liberia, Carrillo, Santa Cruz, Nicoya, Cañas, Bagaces y Abangares)	Enero a marzo
Puntarenas	Enero a marzo
Pérez Zeledón	Mayo a julio
Valle Central (Grecia, San Ramón, Atenas y Alajuela)	Mayo a julio
Turrialba (Turrialba, Jiménez y Alvarado)	Agosto a setiembre
San Carlos (San Carlos y Los Chiles)	Agosto a setiembre

DIECA se reserva en todo caso el derecho de priorizar la reproducción de variedades que, para casos calificados y debidamente justificados mediante análisis técnico y de viabilidad, sean de extrema importancia para una localidad o regiones en particular; esto puede acontecer por motivos de una emergencia fitosanitaria por ejemplo.

Selección y Recolección del Material Vegetal para Reproducción.

El usuario solicitante deberá proveer de sus plantaciones propias o que estén a su cargo, el material vegetal donante inicial, el cual es necesario para realizar la extracción de los “*explantes*” requeridos para efectuar la reproducción de partida de la(s) variedad(es) prevista(s) multiplicar. En caso de que no pueda proveerlo por razones técnicas, fitosanitarias o de carencia de la(s) variedad(es) solicitada(s), DIECA podrá entonces contribuir con la extracción y aporte del material vegetal requerido con el oportuno comunicado, debido conocimiento y consentimiento previo del usuario. Esto resulta importante por las consecuencias que posteriormente puedan darse en cuanto a la identificación del material reproducido, como ya se ha experimentado.

Recolección del Material Vegetal en el Campo para Reproducción.

Las siguientes son las condiciones establecidas en materia de recolección del material vegetal inicial:

1. Para la recolección del material vegetal necesario en el campo para proceder con la reproducción posterior en el laboratorio, se deben seleccionar sin excepción ni condicionante de ningún tipo, plantas sanas y representativas que muestren las características morfológicas típicas (biotipo) de la variedad que se va a reproducir. Se recomienda recolectar la muestra preferiblemente a partir de semilleros o plantaciones jóvenes, salvo los casos en los que haya escasez de material vegetativo ideal.
2. Las plantas seleccionadas deben mostrar ausencia de síntomas de enfermedades de origen viral, daños causados por otras enfermedades que afectan el tallo, presencia de daños mecánicos a la altura del verticilo caulinar (cogollo) y daños ocasionados por plagas en los tallos.
3. Es fundamental comprobar y asegurar que las plantas seleccionadas estén en buenas condiciones fisiológicas y que no manifiesten síntomas de estrés, generadas por presencia de condiciones ambientales adversas, limitantes o resultado del manejo agronómico deficiente.
4. Una vez identificadas y seleccionadas las plantas apropiadas en el campo, se procede a extraer los tallos donantes a partir de donde luego se extraerán los ápices, que representa la sección de la planta que es más factible y recomendable de utilizar como fuente proveedora de “*explantes*”, debido a que se encuentra ubicada dentro del verticilo caulinar (cogollo) del tallo, lo que hace que su condición aséptica sea ideal, favoreciendo que el riesgo de contaminación en la fase inicial de reproducción sea mínimo. En el ápice se encuentra ubicado el meristemo apical que corresponde al órgano que da origen a las hojas y al tallo.

5. Los tallos seleccionados deben poseer al menos 3 entrenudos contados desde el nivel del suelo hasta el verticilo caulinar en aquellos casos de plantas jóvenes, ya sea de caña planta o caña soca. En el caso de plantas adultas, se cortan los tallos y toman los verticilos con al menos tres entrenudos del tercio superior.
6. Las hojas deberán podarse para eliminar aproximadamente el 50% del área foliar, con el fin de que los ápices no se deshidraten demasiado mientras son conducidos y llegan al laboratorio para ser procesados. No se debe por ello eliminar completamente las hojas de los tallos.
7. Debe evitarse exponer el material vegetal extraído al sol o periodos extensos de alta temperatura, pues ello provoca un indeseable estrés.
8. Los tallos deben de llegar al laboratorio para ser procesados en el término de las próximas 36 a 48 horas después de ser cortados.

Entrega del Almácigo *in vitro* al Usuario Final.

El usuario final será el encargado y responsable único de retirar el almácigo *in vitro* en la Estación Experimental de DIECA ubicada en Santa Gertrudis Sur de Grecia, lugar donde se encuentran el laboratorio; así como también del transporte del material vegetal al campo para su siembra.

Se debe tener presente y tomar en cuenta que las plántulas se entregarán en cajas plásticas con un máximo de 200 plantas por caja. Las cajas son de un material no desechable ni biodegradable, por lo que el usuario final será responsable por el uso, manejo y estado apropiado de las cajas. Tendrá además la obligación de retornarlas a su lugar de origen en el menor tiempo posible y en las mismas condiciones en que le fueron entregadas, para proceder con su posterior reutilización o para su respectivo desecho como material reciclable. De haber daño o deterioro de las cajas el usuario es responsable directo de su inmediata reposición.

Para llevar a cabo el retiro del material, el beneficiario deberá coordinar con los funcionarios de DIECA, ya sea de su región o directamente con el personal responsable de la Estación Experimental.

Para el retiro del material vegetal:

1. El usuario deberá comunicar con al menos 24 horas de anticipación que se presentará a retirar el material vegetal que le fue asignado. Esta acción es importante en virtud de que las plántulas se entregarán en “adobe” y listas para ser sembradas en el campo, lo que requiere de un proceso de empaque previo al embalaje del mismo.
2. El usuario será responsable del traslado del material al campo, el cual deberá sembrarse en un lapso de tiempo no mayor a 24 horas después de su retiro en la Estación Experimental de DIECA. El mismo no debe estar expuesto al sol.

3. El usuario final o la persona designada para proceder con el retiro del material, deberá firmar un comprobante de retiro de las plántulas *in vitro* y de préstamo de las cajas en las que va embalado el material, asumiendo la responsabilidad respectiva.
4. Es importante para el beneficiario coordinar y conocer previamente las condiciones de siembra y manejo que conlleva mantener un material tan sensible y de tan alto valor económico como es el material *in vitro*.
5. El terreno donde serán sembradas las plantas deberá contar con las condiciones requeridas y exigidas en estos casos, las cuales serán idóneas en todos los sentidos, lo cual deberá comprobar de previo el técnico de DIECA regionalizado en el lugar. Deben evitarse terrenos infértiles de suelos arenosos o en su caso pesado (arcillosos), de acceso y topografías difíciles, secas, pedregosas, con sombra parcial o total, etc. La disponibilidad de riego resulta vital.
6. DIECA mantendrá y ejercerá la supervisión que estime necesaria y en el momento oportuno, con el objeto de verificar el estado y condición vegetativa del material entregado; así como también, asegurará que el destino de las plantas sea aplicado según lo acordado por las partes.
7. La siembra y manejo del material *in vitro* en el campo deberá seguir y cumplir obligatoria y fehacientemente con todas las recomendaciones y normas establecidas por el **“PROTOCOLO: Recomendaciones Técnicas para el Establecimiento y Manejo de los Semilleros Básicos de Caña de Azúcar en Costa Rica”**, publicado por DIECA en el año 2007.

El presente Protocolo fue aprobado por la Junta Directiva Corporativa de LAICA en su Sesión N° 399, celebrada el día 22 de febrero del 2011.

