

**EVALUACIÓN A NIVEL DE CAMPO DE LA PATOGENICIDAD DE
MICROORGANISMOS BENEFICOS SOBRE POBLACIONES DE
COCHINILLA HARINOSA *Dysmicoccus brevipes* (Hemíptera:
Pseudococcidae), EN EL PERIODO POSTERIOR A LA INDUCCIÓN
FLORAL DEL CULTIVO DE PIÑA (*Ananas comosus* (L.) MERR), EN
FINCA INDACO HORQUETAS S.A.**

ROGELIO UGALDE TREJOS

Trabajo final de graduación presentado a la Escuela de Agronomía como requisito parcial para optar el grado de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía.

**INSTITUTO TECNOLOGICO DE COSTA RICA
SEDE REGIONAL SAN CARLOS**

2010

EVALUACIÓN A NIVEL DE CAMPO DE LA PATOGENICIDAD DE MICROORGANISMOS BENEFICOS SOBRE POBLACIONES DE COCHINILLA HARINOSA *Dysmicoccus brevipes* (Hemíptera: Pseudococcidae), EN EL PERIODO POSTERIOR A LA INDUCCIÓN FLORAL DEL CULTIVO DE PIÑA (*Ananas comosus* (L.) MERR), EN FINCA INDACO HORQUETAS S.A.

ROGELIO UGALDE TREJOS

Aprobado por los miembros del Tribunal Evaluador:

Ing. Agr. Xiomara Mata Granados, Lic.

Asesora

Ing. Agr. Andrés Núñez Cruz, Lic.

Jurado externo

Ing. Agr. Joaquín Duran Mora, M. Sc.

Jurado

Ing. Agr. Zulay Castro Jiménez MGA.

Jurado

Ing. Agr. Fernando Gómez Sánchez, MAE.

Coordinador

Ing. Agr. Arnoldo Gadea Rivas, M. Sc

Director Escuela de
Agronomía

2010

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a ti señor Jesús por estar siempre a mi lado, a mis padres y abuelos por toda su dedicación desde el momento de mi nacimiento, por los sacrificios que realizaron para formarme como persona en esta vida; a mi hermano y a toda mi familia, es especial a Tía Mayra por ser la persona que motivo a mis padres a dejarme seguir mis sueños.

A la familia Castro Salas, por abrirme las puertas de su casa y confiar en mí, por estar a mi lado y apoyarme sobre todo en momentos difíciles, en especial a mi novia Marlen que me abrió su corazón y ha sido un pilar fundamental para no flaquear en mi vida.

Agradezco a todos mis compañeros de estudio y amigos, con los cuales no sólo compartí momentos felices y difíciles, sino también aprendí a valorar aún más la vida y las oportunidades.

A mi Profesora Xiomara Mata, por brindarme su valiosa amistad y apoyo incondicional, para lograr este sueño, a quién siempre agradeceré desde mi corazón. A mis jurados Joaquín Durán, Edgardo Vargas, Zulay Castro, por todas las recomendaciones que me brindaron durante la ejecución de este proyecto.

Al Dr. Miguel Obregón por sus recomendaciones y apoyo.

A todo el equipo de Indaco Horquetas S.A. por abrirme las puertas de la empresa y brindarme el financiamiento para poder cumplir con mi trabajo final de graduación, así como al Grupo Colono por su apoyo financiero.

Por último y no menos importante a mis profesores que han sido y serán parte de mi formación como profesional.

DEDICATORIA

A ti Señor Jesús, por todo lo que me has dado y todo lo que me tienes reservado, te dedico este ansiado logro y pongo en tus manos el resto de mi vida.

Porque has guiado cada uno de mis pasos y me diste la oportunidad de llegar a este mundo, brindándome a mi madre Giselle Trejos Segura, a mi padre Ernesto Ugalde Trejos, padres ejemplares y maravillosos que tanto amo.

A mi hermano Tony y a toda mi familia.

A la familia Castro Salas, en especial a mi novia Marlen, quién me acompañó durante este proceso, quién supo escucharme y guiarme en momentos difíciles, a ella todo mi amor.

TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	I
DEDICATORIA	II
TABLA DE CONTENIDOS	III
LISTA DE CUADROS	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
RESUMEN	IX
ABSTRAC	X
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivo general.....	2
1.2 Objetivos específicos	2
2. REVISIÓN LITERARIA	5
2.1 Generalidades del cultivo de la piña	5
2.1.1 Origen del cultivo.....	5
2.1.2 Descripción y clasificación taxonómica.	5
2.1.3 Morfología de la planta	5
2.2 <i>Dysmicoccus brevipes</i> (Hemíptera: Pseudococcidae)	8
2.2.1 Hábitos	9
2.2.2 Ciclo de vida.....	9
2.2.3 Morfología de <i>D. brevipes</i>	10
2.2.4 Hospederos	12
2.2.5 Importancia económica	12
2.2.6 Daños.....	12
2.2.7 Control químico	13
2.2.8 Control térmico	13
2.2.9 Control biológico.....	14
2.3 Hongos entomopatógenos	15
2.3.1 Factores bióticos y abióticos que afectan los hongos entomopatógenos.....	16

2.3.2	Mecanismo de acción.....	18
2.4	Ciclo de desarrollo de los hongos entomopatógenos.....	18
2.4.1	Adhesión	19
2.4.2	Germinación	19
2.4.3	Penetración	20
2.4.4	Multiplicación en el hemocele.....	20
2.4.5	Producción de toxinas	21
2.4.6	Muerte del insecto	21
2.4.7	Colonización total	21
2.4.8	Emergencia hacia el exterior.	22
2.4.9	Esporulación.....	22
2.4.10	Diseminación.....	22
2.5	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals) Vuill	23
2.6	<i>Metarhizium anisopliae</i> Metchnikoff	24
2.7	<i>Bacillus thuringiensis</i>	25
2.7.1	Modo de acción	26
2.7.2	Sintomatología.....	26
2.8	<i>Trichoderma</i> spp.	27
2.8.1	Modo de acción	28
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
3.1	Localización del ensayo.	29
3.2	Material experimental.....	29
3.3	Descripción del ensayo.	29
3.4	Tratamientos evaluados.....	30
3.5	Dosis de los tratamientos.....	31
3.6	Periodo de evaluación.....	31
3.7	Diseño experimental.	32
3.8	Variables evaluadas.....	32
3.9	Análisis estadístico de resultados	32

4. RESULTADOS	33
4.1 Porcentaje de incidencia de <i>D. brevipes</i>	33
4.2 Nivel poblacional de <i>D. brevipes</i>	34
4.3 Porcentaje de incidencia y nivel poblacional de <i>D. brevipes</i> interna en fruta	34
4.4 Fluctuación poblacional de <i>D. brevipes</i>	35
4.5 Contraste poblacional de <i>D. brevipes</i> entre tratamientos.....	36
4.6 Correlación lineal de variables	37
5. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	42
5.1 Porcentaje de incidencia y nivel poblacional de <i>D. brevipes</i>	44
5.2 Fluctuación poblacional de <i>D. brevipes</i>	46
5.3 Contraste poblacional de <i>D. brevipes</i> entre tratamientos.....	47
5.4 Correlación lineal de variables	48
5.5 Costo económico de los tratamientos	50
6. CONCLUSIONES	52
7. RECOMENDACIONES	54
8. LITERATURA CONSULTADA	55
9. ANEXOS	69

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1.	Descripción de los tratamientos evaluados en el ensayo.	30
2.	Coeficiente de correlación (r), coeficiente de determinación (r^2) y la probabilidad (p-value) asociada a la prueba de hipótesis de correlación nula, de las variables que presentan relación lineal, por medio de la prueba de correlación de Pearson.	38
3.	Costo en colones y dólares por hectárea, de los productos aplicados en cada uno de los tratamientos, durante el periodo de 21 semanas.	51
4	Prueba de Friedman para determinar diferencias estadísticas entre las áreas de muestreo de la planta.	69
5.	Prueba de Friedman para determinar diferencias estadísticas entre los tratamientos en la variable de nivel poblacional.	70
6.	Prueba de Friedman para determinar diferencias estadísticas entre los tratamientos en la variable de incidencia.	71
7.	Prueba de Friedman para determinar diferencias estadísticas entre los tratamientos en las variables de incidencia y nivel poblacional en el interior de la fruta.	72

LISTA DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1.	Vista dorsal y ventral de <i>D. brevipes</i> . (Ramos 2006).	11
2.	Incidencia inicial y final porcentual en plantas de <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr. Híbrido MD-2, infectadas por <i>D. brevipes</i> para cada tratamiento, sumando axilas, pedúnculo y parte externa de la fruta a nivel de campo durante la fase experimental en Indaco Horquetas S.A., 2009.	33
3.	Nivel poblacional inicial y final de <i>D. brevipes</i> en <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr. Híbrido MD-2 en cada tratamiento, durante prueba de patogenicidad de microorganismos benéficos a nivel de campo en Indaco Horquetas S.A., 2009.	34
4.	Porcentaje de incidencia y nivel poblacional de <i>D. brevipes</i> en el interior de frutas de <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr. Híbrido MD-2 durante prueba de patogenicidad de microorganismos benéficos a nivel de campo en Indaco Horquetas S.A., 2009.	35
5.	Fluctuación poblacional de <i>D. brevipes</i> , en <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr. Híbrido MD-2 en Indaco Horquetas S.A., 2009, durante 21 semanas.	36
6.	Contraste de la fluctuación poblacional de <i>D. brevipes</i> , entre plantas del tratamiento T5 (<i>B. thuringiensis</i> + <i>B. bassiana</i> + <i>M. anisopliae</i>) y T1 (<i>B. bassiana</i>), T2 (<i>M. anisopliae</i>) y T4 (<i>B. thuringiensis</i>), en <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr. Híbrido MD-2 a nivel de campo en Indaco Horquetas S.A., 2009.	36
7.	Contraste de la fluctuación poblacional de <i>D. brevipes</i> , entre plantas del tratamiento T6 (<i>B. thuringiensis</i> + <i>Trichoderma</i> spp.), T3 (<i>Trichoderma</i> spp.) y T4 (<i>B. thuringiensis</i>), en <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr. Híbrido MD-2 en Indaco Horquetas S.A., 2009.	37

Figura	Título	Página
8.	Correlación lineal entre el nivel de incidencia de <i>D. brevipes</i> , en las axilas e incidencia en el total de la planta de <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr. Híbrido MD-2 durante 21 semanas de investigación en Indaco Horquetas S.A., 2009.	39
9.	Correlación lineal entre el nivel de incidencia y nivel poblacional de <i>D. brevipes</i> , en el pedúnculo de las plantas de <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr. Híbrido MD-2 durante 21 semanas de investigación en Indaco Horquetas S.A., 2009.	40
10.	Correlación lineal entre el nivel de incidencia de <i>D. brevipes</i> , en frutas infectas en su exterior y nivel poblacional en el exterior de la fruta durante 21 semanas de investigación en Indaco Horquetas S.A., 2009.	40
11.	Correlación lineal entre incidencia en fruta interna y nivel poblacional de <i>D. brevipes</i> la parte interna de la fruta durante 21 semanas de investigación en Indaco Horquetas S.A., 2009.	41
12.	Frecuencia de plantas afectadas por <i>D. brevipes</i> y el respectivo nivel poblacional en axilas, pedúnculo y parte externa de la fruta de <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr. Híbrido MD-2 a nivel de campo en Indaco Horquetas S.A. 2009.	44
13.	Pedúnculo y base de la fruta de <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr. Híbrido MD-2, colonizada por <i>D. brevipes</i> en prueba de patogenicidad en Indaco Horquetas S.A. 2009.	50
14.	Croquis del área donde se realizó el ensayo.	72
15.	Precipitación registrada entre agosto y diciembre del 2009, en la zona del ensayo.	72

RESUMEN

El ensayo se estableció en finca Indaco Horquetas S.A., ubicada en Puerto Viejo de Sarapiquí, Heredia, Costa Rica, donde se evaluó a nivel de campo la patogenicidad de Bioprotection *Beauveria* (*B. bassiana*, BJV), Bioprotection *Metarrizium* (*M. anisopliae*, MTP) Bioprotection *Trichoderma* (*Trichoderma* spp., TRF) y Bioprotection *Bt* (*B. thuringiensis*, BTIMOG1), individualmente y en mezcla mediante aplicaciones quincenales; además de aplicaciones semanales de Diazinón y productos del manejo fitosanitario por parte de la finca, para el combate de *Dysmicoccus brevipes*, en *Ananas comosus* (L.) Merr. Se valoró de manera mensual el porcentaje de incidencia de plantas infectadas, nivel poblacional de *D. brevipes* en axilas, pedúnculo y fruta, la fluctuación poblacional y contraste entre los tratamientos en mezcla y sus componentes por separado, bajo un modelo estadístico de Bloques Completamente al Azar. Se obtuvo por medio del programa R 2.10.1, que los datos no presentaron normalidad, por lo que el análisis estadístico se realiza por medio de la prueba de Friedman, en la que no se encontró diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$), entre los tratamientos, para las variables evaluadas; sin embargo el tratamiento conformado por *Trichoderma* spp. (T3) muestra un comportamiento entomopatógeno interesante, ya que manifestó un 0% de plantas y fruta infectadas por *D. brevipes*, además del tratamiento conformado por *B. Thuringiensis* (T4), que mantiene bajos niveles poblacionales a lo largo del tiempo mostrando atributos deseables para un MIP de la plaga. En el análisis de correlación de Pearson se determina que la incidencia en las axilas influye en un 76% sobre el porcentaje de incidencia en el total de la planta, así también el nivel poblacional del pedúnculo varía en un 86% del nivel de incidencia en esta área y el nivel poblacional del exterior e interior de la fruta varía en un 82% y 76% del nivel de incidencia de cada área respectivamente.

Palabras claves: *Dysmicoccus brevipes* (Hemíptera: Pseudococcidae), *Ananas comosus* (L.) merr, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma* spp., patogenicidad, porcentaje de incidencia, nivel poblacional, fluctuación poblacional, contrastes poblacionales, correlación de Pearson.

ABSTRAC

The experiment was established in farm Indaco Horquetas SA, located in Puerto Viejo de Sarapiquí, Heredia, Costa Rica, where it was tested at field level pathogenicity of *Beauveria* Bioprotection (*B. bassiana*, BJV), *Metarrizium* Bioprotection (*M. anisopliae*, MTP) *Trichoderma* Bioprotection (*Trichoderma* spp., TRF) and *Bt* Bioprotection (*B. thuringiensis*, BTIMOG1), individually and in mixture by biweekly applications, in addition to weekly applications of Diazinon and plant health management products from the farm, to fight *brevipes Dysmicoccus* in *Ananas comosus* (L.) Merr. the percentage of incidence of infected plants at the population level of *D. brevipes* in axils, peduncle and fruit, the population dynamics and contrast between the treatment mixture and its components separately was assessed on a monthly basis, under a statistical model for randomized block. Through the program R 2.10.1, the data were obtained showed no normal, so the statistical analysis was performed by Friedman test, which found no statistically significant differences ($p > 0.05$) between treatments for the variables studied. The treatment of *Trichoderma* spp. (T3) shows entomopathogenic interesting behavior, as expressed by 0% of infected plants and fruit *D. brevipes*, along with treatment consisting of *B. Thuringiensis* (T4), which maintains low population levels over time showing desirable attributes for an IPM pest. The Pearson correlation analysis determines the impact on the arms affects 76% of the incidence rate in the whole plant; so the population level of the peduncle varies by 86% of the incidence in this area and population level of the exterior and interior of the fruit varies by 82% and 76% of the incidence of each area respectively.

Keywords: *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae), *Ananas comosus* (L.) merr, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma* spp., Pathogenicity, incidence rate, the population level, population dynamics, population contrasts, Pearson.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la producción agrícola tiene como objetivo fundamental incrementar la productividad de una sola especie vegetal, tal como sucede con el cultivo de la Piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) en Costa Rica, el cual se ha convertido en uno de los principales productos de exportación, representando una importante fuente de divisas para el país que según estadísticas brindadas por PROCOMER en el 2009, este producto ocupa el segundo lugar en exportaciones de productos agrícolas, con un 27,3%, solo por debajo del cultivo de banano, lo cual representa un ingreso total de 572,8 millones de US\$, sin embargo esta cifra se ve reducida por problemas fitosanitarios que afecta las exportaciones del país (Arce *et al.* 2008).

Dentro de estos problemas fitosanitarios, la cochinilla harinosa *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae), constituye una de las principales plagas, la misma se puede encontrar tanto en la parte aérea como en la raíz de la planta, provocando un bronceado en las hojas las cuales se tornan rojizas o amarillentas, los extremos se necrosan, el crecimiento de la planta se detiene por el ataque que sufre en las raíces por lo que la planta puede llegar a morir. Cuando el insecto alcanza el fruto, el producto es rechazado por las medidas cuarentenarias establecidas en los principales países donde se comercializa. Hu *et al.* (1996), indica que este insecto es considerado como un vector del virus PMW a V conocido comúnmente como el virus del marchitamiento de la piña, el cual puede reducir hasta un 80% el rendimiento en las plantaciones.

En sistemas de explotación convencional, el manejo que se le da al cultivo para contrarrestar el efecto de esta plaga es bastante intensivo, en el periodo posterior a la inducción floral, se realizan aplicaciones foliares con productos químicos como el Diazinón, el cual es un insecticida del grupo organofosforado de banda amarilla y de amplio espectro, que inhibe la colinesterasa y actúa por contacto, ingestión e inhalación. Este tipo de manejo, no sólo promueve una alteración en la biodiversidad y agroecosistema, problemas en la salud pública

sino también riesgos de fitotoxicidad lo que conlleva a que se encuentren residuos que podrán superar los LMR permitidos, incumpliendo las normas de sanidad e inocuidad.

Para dar respuesta a esta necesidad, esta investigación busca generar conocimiento en el manejo de esta plaga mediante el uso de alternativas biológicas las cuales puedan ser consideradas dentro un manejo integrado.

1.1 Objetivo general

- Evaluar a nivel de campo la patogenicidad de microorganismos benéficos sobre poblaciones de cochinilla harinosa *Dysmicoccus brevipes* (Hemíptera: Pseudococcidae), en el cultivo de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2.

1.2 Objetivos específicos

- Evaluar el porcentaje de incidencia de *D. brevipes*, durante el periodo posterior a la inducción floral, en las axilas, pedúnculo y fruta de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2.
- Determinar el nivel poblacional de *D. brevipes*, durante el periodo de posterior a la inducción floral, en las axilas, pedúnculo y fruta de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2.
- Comprobar a nivel de campo la patogenicidad de los tratamientos formados por *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Trichoderma* spp. y *B. thuringiensis*, en forma separada sobre poblaciones de cochinilla harinosa *D. brevipes*, en el cultivo de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2.

- Valorar a nivel de campo la patogenicidad de tratamientos conformados por mezclas de *B. bassiana* + *M. anisopliae* + *B. thuringiensis* y *Trichoderma* spp. + *B. thuringiensis*, sobre poblaciones de cochinilla harinosa *D. brevipipes*, en el cultivo de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2.
- Establecer la fluctuación de las poblaciones de cochinilla harinosa *D. brevipipes*, en el cultivo de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2, bajo los distintos tratamientos.
- Establecer la fluctuación de las poblaciones de cochinilla harinosa *D. brevipipes*, en el cultivo de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2, en las mezclas, y cada uno por separado.
- Comparar el costo económico del mejor tratamiento, con el testigo relativo.

Hipótesis

- a. H_0 = Los tratamientos propuestos brindan igual control del porcentaje de incidencia de *D. brevipipes*, que el tratamiento convencional usado en la finca.
- b. H_0 = Los tratamientos propuestos brindan igual control del nivel poblacional de *D. brevipipes*, que el tratamiento convencional usado en la finca.
- c. H_0 = La mezcla de *B. thuringiensis*, con *B. bassiana* y *M. anisopliae*, ejerce el mismo control que cada uno por separado.
- d. H_0 = La mezcla de *B. thuringiensis* con *Trichoderma* spp. ejerce el mismo control que cada uno por separado.
- e. H_0 = Los tratamientos presentan igual fluctuación del nivel poblacional de *D. brevipipes*.
- f. H_0 = Los resultados obtendrán al menos una correlación en las variables a evaluar.

2. REVISIÓN LITERARIA

2.1 Generalidades del cultivo de la piña

2.1.1 Origen del cultivo

Este cultivo es originario del norte de Brasil y se cree que fue diseminado por los portugueses, primeramente en Santa Elena en 1502, para luego ser llevada a África, la India y a finales del siglo XVI ya estaba presente en las regiones tropicales, sin embargo el auge de la piña se inicia en Hawaii, con plantaciones comerciales de la variedad Cayena Lisa, la cual se extiende por diferentes partes el mundo, siendo en Costa Rica, el valle central, luego Sarapiquí y San Carlos las zonas tradicionales que fueron cultivadas en un principio con la variedad Monte Lirio y posteriormente se impulsó otras variedades, hasta la actualidad el híbrido más cultivado es el MD-2 (Jiménez 1999).

2.1.2 Descripción y clasificación taxonómica.

La piña se describe y se clasifica en un cultivo perenne, que pertenece al grupo de las monocotiledóneas herbáceas, a la familia de las bromeliáceas, al género *Ananas* y especie *comosus*, las cuales pueden crecer hasta 2 metros de altura y 1,5 metros de diámetro. Poseen como característica un crecimiento luego de la fructificación por medio del desarrollo de yemas axilares, las cuales producirán un nuevo fruto (Sancho y Barahona 1991); y así mismo esta especie, está constituida por 30 a 40 hojas tiesas y gruesas, distribuidas en forma de roseta, con buena capacidad de retención y resistencia a la pérdida del agua (Py 1969).

2.1.3 Morfología de la planta

Dentro de la morfología de la planta se encuentra el sistema radical, que según Samson (1991), es muy frágil, limitado y superficial ya que estas muy difícilmente se extienden por debajo de 30 cm de profundidad, lo que hace posible el manejo de altas densidades en el cultivo de piña. Además Jiménez (1999),

menciona que esta planta por lo general exhibe raíces fibrosas y adventicias secundarias, adheridas al tallo de la planta.

Este tallo es una estructura que se presenta anclada al suelo por medio de raíces, con medidas cercanas a los 30cm de largo, 6,5cm de ancho en la base y 3,5 en el centro (Castañeda de Pretelt 2003).

Dichas hojas, se disponen en forma de espiral, poseen forma lanceolada alargada y acanalada, la superficie de las hojas muestra una textura suave a pesar de la presencia de tricomas en ambas epidermis y con la presencia de espinas en los bordes, con excepción de la Cayena Lisa (Jiménez 1999).

El número de hojas por planta oscila entre el 44,2 a 54,7 con yemas axilares latentes en la base de cada hoja y el color de la superficie oscila entre el verde pálido y verde oscuro, también presenta conductos vasculares paralelos, con una banda especial que se pega las dos superficies de las hojas (González y Vriesenga 2006).

De acuerdo a la edad fisiológica, las hojas se clasifican de la siguiente manera: la más vieja se codifica con la letra "A", habiendo hasta 4; la hoja "D", es la más madura y larga, esta última es la más importante debido a que se utiliza en análisis foliares, donde la base blanca es útil para determinar niveles de Potasio, Calcio, Magnesio y Fosforo; mientras que en la sección del medio se determina Nitrógeno, Hierro y Azufre (Jiménez 1999).

Aparte de las hojas, un componente importante del crecimiento vegetativo son los retoños, los cuales emergen del tallo central en el siguiente orden cronológico, primero salen los hijos axiales, de la porción basal del tallo, caracterizados por presentar hojas largas y angostas, más cortas hacia la parte inferior, constituyendo el mejor material de propagación asexual; el segundo tipo de retoños son más cortos, formado en las yemas del tronco, ambos de propagación vegetativa, el tercer tipo sale del pedúnculo floral, este tiene un follaje mucho más corto y compacto, todos estos brotes presentan una curvatura en la

base pues son producidos de yemas horizontales y luego crecen de manera vertical (De La Cruz y García 2003).

Un proceso importante en el ciclo de vida de una planta de piña, es el inicio del crecimiento reproductivo, que comúnmente se establece artificialmente por medio de la inducción floral o forzamiento, que es uno de los procesos más primordiales, en el manejo agronómico del cultivo de la piña ya que de esta actividad depende una producción uniforme de la fruta en el campo, lo que favorece el manejo y comercialización del producto final. Sin embargo para tener éxito en el forzamiento uniforme de la plantación, es necesario mantener los lotes con la totalidad de las prácticas agronómicas básicas y además muestreos rutinarios por lote para plagas, enfermedades y malezas cada 15 días. La realización de esta labor se hace por medio de aplicaciones de Ethrel (ácido 2-cloroetil fosfónico) y gas etileno, en una etapa fenológica en que la planta llega a tener un peso promedio de 2,5 a 2,7 kg el cual lo alcanza cerca de los 6 a 9 meses de edad (Arias y López 2007).

Una vez realizado el proceso de forzamiento, inicia el crecimiento reproductivo el cual inicia con la emergencia de la inflorescencia, que según González y Vriesenga (2006), la inflorescencia está compuesta de flores individuales bisexuales, con tres sépalos, seis estambres, tres estigmas y tres carpelos. Las brácteas florales son lanceoladas, con un borde liso; los pétalos son de forma oblonga, color que varía de púrpura en la punta, blanco púrpura en el centro y blanquecina en la parte inferior, presenta polen de color amarillo. Además la inflorescencia radica en cuatro etapas, que son la de pétalo temprano, dos tercios de medio pétalo, pétalo tardío y pasado (Jiménez 1999).

Una vez concluida la etapa de la inflorescencia queda formada la fruta de la piña, la cual no es más que la unión de frutos individuales y del eje de la inflorescencia, donde cada flor produce un fruto individual; su exterior está conformado por un escudo poligonal, cubierto por el ápice de una bráctea, doblada hacia arriba y en su interior se logra observar grandes cavidades de paredes

brillantes, anteriormente formando los nectarios, compuestas por las celdas del ovario, que contienen los óvulos o semillas (De La Cruz y García 2003).

La formación del fruto después de dos meses de la inducción floral, se divide en etapas, que corresponden a media pulgada de corazón abierto, cono que se subdivide en temprano, medio y tardío; por último pétalo, subdividido en temprano medio tardío y pasado (Jiménez 1999).

Este fruto está compuesto por un conjunto de frutículos individuales ubicados sobre el pedúnculo, de longitud aproximada a los 10mm y este logra alcanzar pesos cercanos a las 8 libras (Castañeda de Pretelt 2003).

2.2 *Dysmicoccus brevipes* (Hemíptera: Pseudococcidae)

Según Bayer (sf) *D. brevipes*, pertenece al Reino Animal de la Clase Insecta, a la Superfamilia Coccoidea y Familia Pseudococcidae.

Según Castillo y Bellotti (1990) y Willians y Granara de Willink, citado por Ramos y Serna (2004), los insectos de esta familia, son las verdaderas cochinillas o chinches harinosos, los cuales son así llamadas porque muchas especies secretan una capa de sustancias de apariencia harinosa, además de la presencia de prolongaciones laterales y caudales de estas secreciones que pueden observarse en mayor o menor longitud dependiendo de la especie, así mismo poseen un aparato bucal pinchador chupador que tiene la capacidad de inyectar tóxicos o transmitir virus.

Según Couturier *et al.* (1994), una característica de este insecto es que es partenogenético, con un tamaño aproximado de 3mm de largo, los adultos no tienen movimiento y se pueden agrupar en colonias densas, en diferentes partes de la planta, no obstante según el Ministerio de Agricultura y Ganadería (2007), la forma partenogenética de *D. brevipes*, esta principalmente confinada a las porciones inferiores de la planta de Piña, mientras que la forma biparental se localiza sobre la corona y frutos en desarrollo.

2.2.1 Hábitos

Por lo general este insecto habita en forma gregaria en la base de las plantas huésped, tanto en las raíces expuestas de los pastos y plantas herbáceas así como en la parte inferior de los tallos y los pedúnculos de las hojas de piña (Mau y Jayma 2007). Así mismo, Williams y Granara de Willink (1992), citados por Ramos y Serna (2004), mencionan que se reproducen y se desarrollan agrupados en colonias en cualquier estructura vegetativa o reproductiva de las plantas hospedadas, presentan hábitos fitófagos y por su aparato bucal se les conoce como succionadores, con lo cual debilita o mata las plantas, al privarlas de su sabia, además de exponerla a la entrada de otros patógenos.

Su movimiento en la plantación y sobrevivencia en el campo está muy vinculado a la presencia de hormigas, las cuales establecen con este insecto un mutualismo, donde la cochinilla segrega una sustancia alimenticia, aprovechable por la hormiga la cual le brinda protección evitando depredación y parasitismo, asimismo la eliminación de excesos de mielina para evitar la mortalidad de las cochinillas (Rohrbach y Schimitt 1994).

2.2.2 Ciclo de vida

En reportes de la literatura se da un grado de discrepancia con respecto a las características en diferentes etapas de desarrollo del insecto, entre ellas está la del huevo, donde Peña *et al.* (2002) y Mau y Jayma (2007) e igualmente Gullan y Martín (2009), mencionan que esta especie es ovovivípara, que sus huevos eclosionan en la cavidad interna de su cuerpo, mientras que Coto y Saunders (2004) mencionan que la hembra oviposita alrededor de 300 a 400 huevos, envueltos en un ovisaco de color blanco, los cuales eclosionan entre los 8-9 días después de puestos.

Según Ito (1938), citado por Peña *et al.* (2002), a 23,5 °C, el desarrollo de la plaga, posee tres instares larvales de 34,03 días; de pre larva a adulto (26,58 días); de larva a adulto (24,84 días); de pos larva a adulto, (4,70 días) y la vida que este insecto disfruta en estado adulto es de 56, 23 días, por lo tanto el ciclo

completo de *D. brevipes* tiene una duración cercana a los 90 días. Por otro lado Mau y Jayma (2007), describen cronológicamente el ciclo larval en tres estadios donde los estadios de primera, segunda y tercera fases larvarias tienen una duración de 10 a 26 días, de 6 a 22 días y 7 a 24 días, respectivamente, por lo tanto este puede variar de 26 a 55 días, con un promedio de 34 días.

A su vez Gullan y Martín (2009), describen que el insecto en su ciclo de vida muda tres veces, en un periodo de aproximado de 34 días y unos 27 días después producen un promedio 234 crías en un periodo de 25 días, siendo el ciclo de vida de aproximadamente 90 días, de los cuales 56 los pasa en el periodo adulto, todo esto a 23°C.

Antes de la vida adulta, las larvas del primer instar, tienen la capacidad de caminar y trasladarse por toda la planta, momentos antes que se posicionen en un lugar donde alimentarse y desarrollar la capa serosa que los recubre, momento en el cual mantienen un mínimo movimiento hasta alcanzar la madurez. Esto ocurre después de la tercera muda en el caso de las hembras y en el macho durante la tercera muda que es inactivo, donde forma un capullo ceroso para pasar a la etapa adulta (Peña *et al.* 2002).

Una vez alcanzada la madurez entran en la etapa adulta, las hembras disfrutan de este estado entre 31-80 días con un promedio de 56 días, dando una descendencia cercana a 234 descendientes (Mau y Jayma 2007).

2.2.3 Morfología de *D. brevipes*.

Según Machin de Oroño (1991) el macho adulto se caracteriza por ser alado con presencia de balancines además de presentar un aparato bucal atrofiado, imposibilitándole alimentarse por lo que acorta su vida.

La hembra por su parte, tiene un tamaño de 2-6mm de diámetro, son de color amarillento o rosado con una capa de cera que le recubre el cuerpo y presenta una serie de filamentos cerosos hacia las laterales (Saunders *et al.* 1998)

Sobre la superficie dorsal puede verse la segmentación del cuerpo, pero no se nota una diferencia entre cabeza, tórax y abdomen, tal como se muestra en la Figura 1, que al observarla al microscopio, tiene 17 pares de cerarios mayormente con dos a cuatro setas cónicas largas y alrededor de 6 setas auxiliares, con excepción de los lóbulos anales, con dos setas cada uno, presentando en forma general todo el dorso con setas cónicas cortas 8-20 μm de longitud a diferencia el octavo segmento abdominal, que son más largas 60 μm y el séptimo en la región media, que posee setas cónicas de 40 μm ; ventralmente este insecto tiene los lóbulos anales sobre una zona esclerotizada (Coto y Saunders 2004).

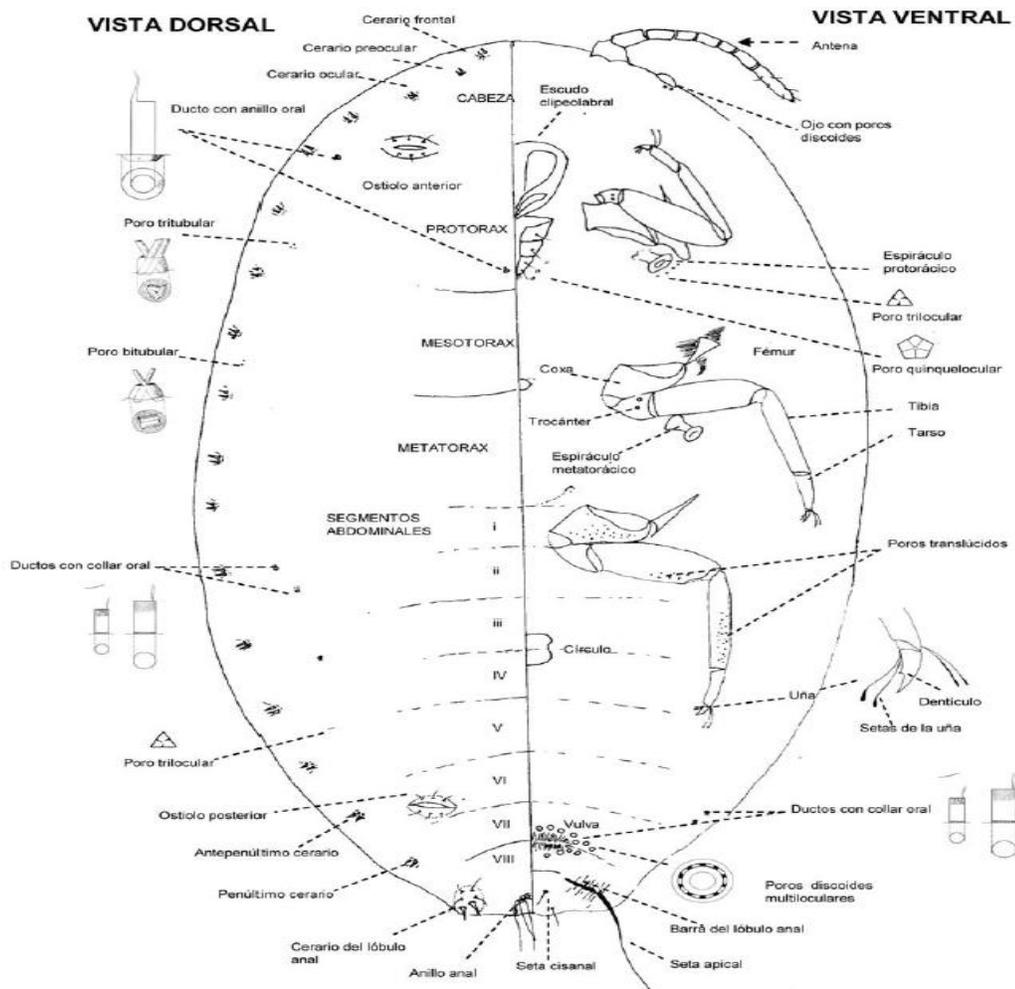


Figura 1. Vista dorsal y ventral de *D. brevipes*. (Ramos 2006)

2.2.4 Hospederos

Este succionador tiene como particularidad, una amplia cantidad de hospederos entre ellos se encuentran el arroz, maní y garbanzo (Saunders *et al.* 1998). A esta lista anterior, se le agregan aguacate, cacao, café, cítricos, mango, piña; haciendo referencia a gran cantidad de hospedantes (Coto y Saunders 2004).

2.2.5 Importancia económica

El estado ninfal de esta plaga, es fácilmente diseminado a través del transporte externo, ya que después de que las personas visitan un campo infestado, las ninfas tienen la capacidad de adherirse a la ropa y a los vehículos, así también puede ser transportada por partes vegetales, como semillas, raíces, hojas, yemas, tallos, esquejes, flores, frutas y plantas enteras, lo cual constituye una fuente muy importante para la diseminación de estos insectos. En el caso de *D. brevipes*, que es una especie partenogenética, una sola hembra puede dar inicio a una infestación importante en una zona libre de la presencia de este insecto (Ramos y Serna 2004)

La importancia económica de la plaga radica cuando trasmite el virus de la marchitez en la planta y el control de este insecto se orienta en una estrategia química muy costosa, que produce gran contaminación, resistencia de la plaga, además de un constante peligro de rebasar los límites de residualidad permitidos en fruta, aumentando el riesgo de problemas de intoxicación y rechazo de fruta, igualmente cuando el insecto logra llegar a la fruta y se aloja en la cavidad de los nectarios, hace que esa fruta sea de rechazo en un mercado de exportación (Villegas *et al.* 2007).

2.2.6 Daños

Entre los daños que se tienen identificados Mau y Jayma (2007), indican que la transmisión del virus de la marchitez o “*Wilt*”, además de la formación de zonas cloróticas debido a la succión que hace el homóptero donde se alimenta, lo

que da cabida a la entrada de patógenos que pueden causar necrosis en la parte inferior de la piña.

2.2.7 Control químico

El control químico de las plagas se fundamenta en la represión de poblaciones y su desarrollo mediante el uso de sustancias químicas para la protección de los cultivos. Dicho control está constituido como la principal herramienta en el control de plagas, ya que sus efectos son más rápidos que cualquier otra forma de represión, son fácilmente manejables y se considera que su utilización, en conjunto con otros plaguicidas, han jugado un papel importante en el incremento de la productividad agrícola pero con la desventaja que estos químicos afectan los controladores biológicos que normalmente son más susceptibles que las especies fitófagas, y al destruir estos organismos benéficos, se producen dos fenómenos que son la rápida resurgencia de la plaga problema y la aparición de nuevas plagas (Cisneros 1995).

El control a base de productos químicos que describe Coto y Saunders (2004) es la inmersión del material vegetativo a sembrar, en una solución con insecticidas que presentan una ligera persistencia. Cuando la plaga se manifieste en el campo, la aplicación de insecticidas sistémicos y mezclados con aceites agrícolas, es una opción viable preferiblemente cuando las ninfas están recién eclosionadas.

Cabe destacar que el tratamiento químico inicia con la desinfección de la semilla y este tratamiento varía entre cada productor, ya que en algunas empresas lo hacen con máquinas curadoras, otros en planteles con pilas de desinfección y algunos en aplicaciones dirigidas en el campo, así mismo con distintos tipos de productos químicos, frecuencias y dosis.

2.2.8 Control térmico

Según Ullman *et al.* (1991), citado por el MAG (2007), en un ensayo, al sumergir las coronas de piña con agua a 50°C por 30 minutos permite 100% de

supervivencia de la planta y obtener 100% de plantas libres de virus asociados a la Marchitez de la Piña, además las plantas tratadas no fueron colonizadas rápidamente por las cochinillas; a este proceso Subirós (2000), le llama Termoterapia y consiste en provocar una degradación de enzimas de los microorganismos plaga, sin dañar las yemas que van a producir brotes vegetativos.

2.2.9 Control biológico

El control biológico se define como la manipulación de un ser vivo para reducir la densidad poblacional de otro, por debajo del umbral económico. Es una técnica constituida como pilar de la moderna protección de cultivos, siendo pieza fundamental del Manejo Integrado de Plagas (MIP), así mismo se identifican distintos tipos de control biológico, entre ellos el de conservación que se caracteriza por conservar el organismo en el ecosistema, el control biológico clásico, que consiste en introducir y aclimatar nuevas especies entomófagas y el control biológico inoculativo estacional e inundativo que se fundamenta en la introducción periódica de especies con pobre adaptación al ecosistema (Jacas y Ubajena 2008).

Como control biológico Hara *et al.* (2001), mencionan que los depredadores naturales y parásitos de la cochinilla de la piña en Hawai incluyen varias avispa y mariquitas; mientras que Saunders *et al.* (1998) y Mau y Jayma (2007) nombran a los parasitoides de la familia Encyrtidae (*Anagyrus ananatis* Gahan, *Euryhopauus propinquus* Kerrich, *Hambletonia pseudococcina* Compere, *Aenasius cariocus* Compere, *Aenasius colombiensis* Compere, *Ptomastidae abnormis* (Girault) y *Acerophagus debilis*). En cuanto a los depredadores se incluyen los de la familia Cecidomyiidae (*Lobodiplosis pseudococci* Felt) y Coccinellidae (*Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, *Nephus bilucernarius* Mulsant, *Scymnus* (Pullus) *unicatus* Sicard y *Scymnus pictus* Gorham).

2.3 Hongos entomopatógenos

Dentro de las herramientas del control biológico están los hongos entomopatógenos, organismos que han despertado mucho interés entre científicos a través del tiempo en relación a las asociaciones establecidas durante la evolución entre los insectos y los hongos, además de la biología y patogenicidad que presentan los hongos entomopatógenos, los cuales han demostrado un excelente potencial en el control de plagas muy importantes económicamente (Delgado *et al.* 2001 y Quesada-Moraga y Santiago-Álvarez 2008).

Estos microorganismos pueden ocasionar enfermedad y propagarse en la población plaga, pero va a depender de las características del patógeno como patogenicidad, virulencia, dispersión y persistencia, además del hospedero y su susceptibilidad, densidad, distribución, comportamiento y del medio ambiente con sus componentes abióticos como temperatura, humedad, viento, lluvias; y factores bióticos como parásitos, depredadores y planta huésped (Vergara 2004).

Lecuona (1996), atribuye a los hongos entomopatógenos una excelente capacidad de adaptación a hábitats variados tanto terrestres como acuáticos y los beneficios que brindan al parasitar a distintos tipos de artrópodos, por lo que son objeto de múltiples estudios en todo el mundo, contabilizándose 700 especies reunidas en 100 géneros. Así mismo Valenzuela (1987) menciona que por la independencia de los hábitos alimenticios del huésped para situarse en el tegumento de los insectos, patogenizarlos y hacer eficiente el control de la plaga, los hace candidatos indiscutibles en el uso como herramienta dentro de un MIP; además cabe recalcar que otra característica muy importante que agregan Jackson *et al.* (1997) citado por Carrillo y Blanco (2009), es que estos microorganismos son inoocuos para animales de sangre caliente, plantas y demás componentes del ecosistema y tienen la capacidad de desarrollar epizootias, que se extienden a una o varias especies dentro de una región o país, con carácter transitorio, en las poblaciones de insectos plaga.

Otro factor que se debe de tomar en cuenta con estos microorganismos, es su manejo o aplicación agronómica en campo, la cual se realiza en tres estrategias que son la inundación o dosis inundativas, que consiste en la liberación de grandes cantidades del agente biológico sobre poblaciones de la plaga; la inoculación que son liberaciones del patógeno en cantidades mínimas y la conservación de recursos, para evitar destruir la biodiversidad de hongos presentes de forma natural en el agroecosistema, enfocándose principalmente en la racionalización del empleo de plaguicidas (Vergara 2004).

2.3.1 Factores bióticos y abióticos que afectan los hongos entomopatógenos.

Quesada-Moraga y Santiago-Álvarez (2008), añaden que la limitante en la eficacia de estos microorganismos benéficos, se determina en gran medida por factores relacionados a la fisiología del patógeno y la del hospedante, así como factores extrínsecos relacionados al ambiente como la susceptibilidad de inactivación por la radiación ultravioleta y la temperatura que afecta de manera directa el coeficiente de infección y tiempo letal.

De acuerdo a Luz y Fargues (1997) es importante considerar la temperatura al momento de selección del hongo, cepa o aislado, ya que esta no sólo incide en la efectividad biológica sino también en la persistencia a nivel de campo del mismo, por su parte Ayala-Zermeño *et al.* (2005) citados por Carrillo y Blanco (2009) reportan tasas de crecimiento de *Lecanicidium lecanii* diferentes, a distintas temperaturas, lo cual es importante para la selección de aislados, por lo que la temperatura es decisiva para su crecimiento, esporulación, germinación de conidios y tasa de invasión.

De acuerdo a Baeteman (1997), citado por Godoy *et al* (2007), los entomopatógenos presentan un rango de temperatura bastante amplio, menciona que para el caso de *Beauveria bassiana* esta puede desarrollarse entre los 15°C a los 30°C, sin embargo, de acuerdo al aislado existen ciertas preferencias no solo en cuanto a temperatura sino también humedad, al respecto Carrillo y Blanco

(2009) indican que el conidio puede germinar a una humedad relativa que puede oscilar entre los 90 y 100%, por su parte Hegedus y Khachatourians (1995) y Khachatourians (1996), reporta que la germinación de la espora es favorecida por una humedad arriba del 70% durante catorce horas, sin embargo los hongos entomopatógenos, infectan insectos a diferentes niveles de humedad relativa.

Otro factor que influye en la efectividad de los hongos entomopatógenos, es la radiación ultravioleta, que según Alves y Lecuona (1998) ejerce un efecto germicida, siendo el principal agente de inhibición de los entomopatógenos, además Braga *et al.* (2001) indica que este factor produce efectos negativos causantes del retraso del crecimiento, mutaciones o muerte celular ya que según Diffey (1991), el ADN expuesto a la radiación ultravioleta puede sufrir lesiones resultando la formación de fotoproductos como dímeros de pirimidinas, hidratos de pirimidina y entrecruzamientos entre ADN y proteínas, indirectamente se debe principalmente a la aparición de especies de oxígeno reactivo que oxidan la pentosa presente en el ADN, rompiendo la hebra de la molécula.

En cuanto a los fungicidas se ha demostrado una inhibición en el crecimiento y esporulación de *Beauveria bassiana*, cuando se expone a fungicidas como Silvacur, Atemi y Daconil en diferentes concentraciones, mientras que fungicidas como Kocide y Cupravit no afectaron significativamente el crecimiento y la esporulación (Fuenmayor 1999). Ibarra y Várela (2002), citado por Vásquez (2006) en un ensayo evaluaron la compatibilidad de *Beauveria bassiana* con plaguicidas como carbofurán y malatión como insecticidas, benomil (Benlate) y ditiocarbamato de zinc (Manzate) como fungicidas, determinando que los aislados presentaron una inhibición mayor con los insecticidas, que con los fungicidas

Entre los factores bióticos se encuentran los cultivos, los cuales pueden interferir en el proceso de patogenicidad ya que por periodos prolongados proporcionan estabilidad relativa a los hongos entomopatógenos que pueden mantenerse en forma enzótica en las poblaciones de las plagas (Yasem de Romero *et al.* 2008).

2.3.2 Mecanismo de acción

El mecanismo de acción de estos microorganismos, inicia cuando la unidad infectiva se adhiere al insecto sobre la cutícula, momento en el cual el hongo produce un complejo enzimático como la fenoloxidasa, proteasa, lipasa, quitinasa, pero el éxito de la patogenicidad no se debe solo a esto, sino también depende del sitio específico de la acción de las enzimas sobre la cutícula, y una vez establecido el hongo en el insecto, procede a la germinación de las esporas del hongo, por lo que empieza la producción de hifas encargadas de la penetración en los tejidos internos del insecto blanco (Castellanos 1997; Paterson *et al.*1994)

Monzón (2001), afirma que en esta penetración, participan un mecanismo tanto físico como químico, donde el primero se da por presión que ejerce la estructura de penetración la cual rompe las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula, el segundo mecanismo es el que causa la degradación de la zona de penetración, facilitando el mecanismo físico por medio de acción enzimática principalmente proteasas, lipasas y quitinasas. Una vez que las hifas han penetrado en el cuerpo del insecto se ramifican, colonizan la cavidad y producen una aglomeración micelial, y se inicia la liberación toxinas que se encargan de impedir el desarrollo fisiológico del insecto (Delgado *et al.* 2001).

2.4 Ciclo de desarrollo de los hongos entomopatógenos

Las fases en las que se desarrollan los hongos sobre la cutícula de los insectos, según Monzón (2001) son la germinación, formación de apresorios, formación de estructuras de penetración, colonización y reproducción.

Mientras tanto Valenzuela (1987), establece que el desarrollo de Deuteromycetes se divide en diez fases para provocar la muerte de los insectos y la producción de sus partes reproductivas para perpetuarse en el ambiente donde se encuentre; son las tres primeras etapas, las de mayor importancia en el inicio del proceso patogénico y a la vez son más sensibles al efecto de especificidad patógeno-hospedero.

2.4.1 Adhesión

Es el proceso en el cual los propágulos del hongo, se adhieren al tegumento, para el cumplimiento del primer requisito esencial en el control de la plaga, esta fase se conforma de tres subfases donde una vez adheridos los propágulos del hongo al insecto, se da una inmovilización de la estructura fúngica en la superficie, que representa una unión pasiva comandada por factores físicos y químicos de la superficie del insecto, y fuerzas de Van der Waals y electrostáticas atribuidas a los hongos entomopatógenos y el hospedante. Una vez dada esta fase de contacto entre los dos protagonistas y dependiendo de la capacidad del propágulo para producir las microextensiones que alimenten la unión electroestáticas entre ambos, esta adhesión puede ser pasiva o activa, específica o no (Lecuona 1996).

2.4.2 Germinación

Jones (1994) y Kershaw y Talbot (1998), mencionan que la capacidad de hidratación de la espora es favorecida por la acción anti desecante que posee su cubierta mucilaginoso, la cual le sirve como escudo defensor ante la presencia de polifenoles tóxicos y enzimas, que son secretadas por el sistema inmunológico del insecto. La germinación se desencadena a causa de carbohidratos presentes en las proteínas cuticulares del insecto, que luego del hinchamiento de la espora tiene lugar la formación del tubo germinativo por medio del proceso de polarización típico que caracteriza el crecimiento apical de los hongos donde los iones H^+ y Ca^{2+} penetran en la punta de la hifa por medio de un mecanismo de transporte pasivo y que a su vez son expulsados por mecanismos dependientes de energía y que estimula la síntesis de la pared celular (Hegedus y Khachatourians 1995; Khachatourians 1996, Riquelme *et al.* 1998 y Harol 1999, Wessels 1999).

La germinación de esta estructura fúngica sobre el insecto, depende de la relación Patógeno-Hospedero, ya que la presencia de algunos lípidos, bacterias y hongos en la superficie tegumentaria, producen un efecto inhibitor de la

germinación de los conidios o en caso contrario, la presencia de aminoácidos en el tegumento del insecto cumplen funciones nutricionales para el hongo, también algunos lípidos como hidrocarburos alifáticos y lípidos polares ejercen una estimulación a la germinación, produciendo uno o dos tubos germinativos, que luego de un corto crecimiento, penetra directamente la cutícula del hospedero o el extremo del tubo germinativo se diferencia en un apresorio que debilita la cutícula en sus puntos de contacto, siendo el apresorio un paso de transición entre el tubo germinativo y el pico de penetración que atraviesa el tegumento del insecto (Lecuona 1996).

2.4.3 Penetración

Después de la germinación de las esporas se producen reacciones por complejos enzimáticos desencadenados durante la germinación de la espora o conidio, que degradan la cutícula del insecto y por medio de una presión mecánica que ejerce el tubo germinativo, se da la penetración de la estructura fúngica en el interior del insecto. El éxito de esta fase de desarrollo del hongo, depende del grosor de la cutícula, grado de esclerotización, presencia de sustancias nutricionales para favorecer el desarrollo del hongo o sustancias anti fúngicas y el estado de desarrollo del insecto (Cañedo y Ames 2004).

2.4.4 Multiplicación en el hemocele

Una vez penetrado el hongo, se inicia la multiplicación asexual, por medio de gemación, resultando en formas micelianas libres llamadas blastosporas en los Deuteromycetes, pero estos son inexistentes en los Entomophthorales. Sin embargo también se producen hifas y protoplastos o células sin pared celular en el hemocele. El sistema inmune de los insectos dentro del hemocele es capaz de reconocer partes estructurales del hongo, por lo que se inicia el proceso de encapsulación de estos segmentos en cuestión de diez minutos, por lo que se puede afectar la multiplicación del hongo en la cavidad interna y el ineficiente control de la plaga (Lecuona 1996).

2.4.5 Producción de toxinas

De acuerdo a Monzon (2001), una forma por la cual un hongo entomopatígeno puede causar la muerte del insecto, es mediante la producción de toxinas que son utilizadas durante la relación entre el hongo y el insecto. Entre las toxinas identificadas están las dextruxinas, demetildextruxina y protodextruxina.

Estas toxinas son macromoléculas proteicas, de origen extracelular que se secretan en grandes cantidades, así como toxinas de bajo peso molecular, que varían de acuerdo a la propiedad genética de cada hongo, sin embargo la producción puede verse afectada por medio de factores como nutrientes, pH, temperatura entre otros. La importancia del estudio de estas micotoxinas es que determina claramente la virulencia de las cepas no así la patogenicidad de la misma (Lecuona 1996).

2.4.6 Muerte del insecto

Una vez que el hongo entomopatígeno, parasite a un insecto, la muerte de este llegará antes que el hongo colonice el interior del hemocele, ya que este produce células llamadas blastosporas, que sufren una multiplicación y rápidamente se dispersan y evaden el sistema inmune del insecto (Pérez 2004).

Ferrón (1978), afirma que la muerte del insecto se puede desarrollar con mayor rapidez, cuando el hongo produce mayor cantidad de toxinas, debido a que aumentan el daño sobre el tejido del insecto y las deficiencias nutricionales; por lo que se puede observar una disminución del movimiento, convulsiones, pérdida de la coordinación, estado de letárgico y su muerte.

2.4.7 Colonización total

La colonización es el inicio de la etapa saprofítica, en la cual el hongo se alimenta de los tejidos, una vez muerto el insecto, se inicia la invasión del micelio del hongo en los órganos y tejidos, comenzando en la mayoría de los casos por el tejido graso, hasta formar una momia que funciona de reservorio, también estas

momias son resistentes a la descomposición bacteriana, lo cual se debe a la acción de antibióticos liberados por los hongos (Lecuona 1996).

2.4.8 Emergencia hacia el exterior.

Al agotarse los nutrientes, el hongo inicia un crecimiento micelial donde las hifas penetran la cutícula desde el interior del insecto y emergen a la superficie iniciando la formación de esporas cuando la humedad relativa es adecuada. Lecuona (1996) menciona que la masa micelial encontrada en el interior del insecto, cuando se encuentre en condiciones de alta humedad y ambiente cálido, romperá el tegumento que se encontraba intacto y emergerá al exterior, por las partes menos esclerosadas, como son las membranas intersegmentadas o los espiráculos, pero esto depende del tipo de insecto colonizado y el estado de desarrollo en el que se encuentre, a esto Quesada-Moraga y Santiago-Álvarez (2008) añade que en los Entomophthorales, tras la muerte del insecto, el hongo emerge del mismo y con condiciones favorables se da la esporulación, favoreciendo la diseminación de conidias, que iniciaran un nuevo ciclo.

2.4.9 Esporulación

Esta es la etapa reproductiva, que se caracteriza por la esporulación del hongo, sobre el cadáver, donde las aberturas naturales del insecto, llámese ano, boca, espiráculos, son los ideales, para la salida de las estructuras fúngicas que producirán inoculo, para parasitar a mas hospederos; es esta fase la más demandante de humedad, ya que se necesita más de 90%, para que se pueda desarrollar (Cañedo y Ames 2004).

2.4.10 Diseminación

La dispersión de los conidios, puede darse por medio de dos procesos, activo o pasivo y este dependerá tanto de las características de la spora. Cada conidio puede adherirse o pasar de un invertebrado a otro por dispersión con ayuda de vectores como el viento, agua, el hombre y muchos más organismos (Carreño 2003).

2.5 *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill

Según Lecuona (1996), este hongo se clasifica taxonómicamente en la clase Hyphomycetes, del orden Moniliales y la familia Moniliaceae.

Sobre este hongo Carballo *et al.* (2004), mencionan que se mantienen datos desde 1834, cuando se logró demostrar que este producía la muerte del gusano de ceda *Bombix mori*; y que es uno de los más estudiados a nivel universal, tanto por sus aspectos básicos como aplicados (Lecuona 1996). La distribución de este hongo es mundial, se encuentra parasitando insectos desde el nivel del mar hasta los 3000m.s.n.m. y se puede encontrar tanto en la materia orgánica en descomposición como en hospederos parasitados (López 1994).

Se reporta que este hongo ataca a más de 200 especies de insectos de distintos órdenes, dentro de estos se incluyen plagas de gran importancia agrícola, como la broca del café, la palomilla del repollo y *Cosmopolites sordidus* (Monzón 2001). Estos insectos al ser infestados por el hongo, presentan una cubierta de color blanca y densa formada por el micelio y la esporulación del hongo (Hidalgo 1999).

Según Bustillo (2001), citado por Carreño (2003), este género se caracteriza por presentar un micelio blanco, conidióforos sencillos, agrupados irregularmente o en grupos verticilados, en algunas especies hinchada en la base y van adelgazándose hacia la porción que sostiene el conidio, el cual se presenta en forma de zigzag, después de que se producen varios conidios, estos son hialinos, redondeadas a ovoides y unicelulares; así mismo Pariona *et al.* (2007), agregan que en algunas cepas de *Beauveria bassiana*, se resaltan conidias globosas a subglobosas y las estructuras de conidióforas formando densos grupos.

Para la caficultura, *B. bassiana* se ha convertido en el método de control más común y exitoso contra la broca, comprobándose su éxito en programas de MIP, con una mayor producción de café, mayores ingresos y márgenes de contribución económica, en comparación con otros métodos de control (Montilla *et al.* 2006). Así mismo Pariona *et al.* (2007), dan fe de la alta patogenicidad de *B. bassiana*,

que en un ensayo con el insecto *Schistocerca piceifrons peruviana*, los resultados muestran que en soluciones de 10^8 conidias/mL, producen un 100% de mortalidad, en un tiempo aproximado de 15 días.

Según Arboleda *et al.* (2003), la toxina de *B. bassiana*, encargada del éxito del control de gran variedad de plagas, llamada beauvericina es un tipo de biomolécula tóxica que participa de manera activa en los mecanismos de infección, tal como, se evaluó en aplicaciones tópicas e inmersión a larvas de primer instar y adultos de *Hypothenemus hampei*, en cuartos climatizados, a $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$ y HR de 75 - 80%, donde concluyen que la acción de la beauvecina fue más activa en larvas que en adultos y se alcanzaron mortalidades inferiores al 10% al primer día de evaluación, mayores al 30% para el tercer y quinto día, y superiores al 50% al octavo día.

2.6 *Metarhizium anisopliae* Metchnikoff

Según Hernández y Benz (1992), la clasificación taxonómica se desarrolla en la clase Deuteromycetes, orden Moniliales y familia Moniliaceae. Este microorganismo, según Lecuona (1996), apareció de forma epizootica por primera vez, sobre cercópodos de la caña de azúcar, por lo que adquirió importancia de estudio por parte de investigadores y es a partir de esto, que se ha aplicado hasta en 100.000 ha/año de caña de azúcar para el control de *Mahanarva posticata*.

Además *M. anisopliae*, según Hajek y Leger (1994), citado por Castillo (2006), naturalmente se encuentra en rastros de cultivos, estiércol, en el suelo, en las plantas, entre otros; sus características le permite lograr un buen desarrollo en lugares frescos, húmedos y poca radiación solar, mientras que Burgués *et al.* (1971), citado por Ribera (2002), mencionan que la utilización de este controlador biológico data desde 1879, donde el investigador Ruso Metchnikoff, lo investigó por primera vez al infectar larvas del escarabajo *Anisopliae austriaca*, con buenos resultados.

M. anisopliae es un hongo que posee la capacidad de patogenizar a más de 300 especies de insectos de siete ordenes distintos, que según Monzón (2001) y

Sandino (2003), citado por Castillo (2006) el salivazo de la caña de azúcar, son parte de esta lista y estas pasan a ser cadáveres completamente cubiertos con un micelio que es blanco y verdoso cuando esporula y debido a las características de la especie y/o de la cepa, así como su ámbito de hospedantes, patogenicidad, virulencia y condiciones ambientales, existen cepas específicas utilizadas para el control de diferentes plagas.

Las fiálidas formadas poseen ápices redondeados o cónicos y están arreglados en densos himenios y los conidióforos son ramificados repetidamente por lo que llegan a formar una estructura similar al de un candelabro, además los conidios son aceptados cilíndricos o ovoides, que se distribuyen formando cadenas arregladas en columnas prismáticas o cilíndricas verde pálido u oliva (Hidalgo 1999).

2.7 *Bacillus thuringiensis*

Según Sauka y Benintende (2008) esta bacteria se clasifica en la Familia Bacillaceae, Género *Bacillus* y Especie *thuringiensis*.

Los *B. thuringiensis* se descubrieron en 1901, en Japón con el gusano de seda, posteriormente a esta fecha en 1911 en Thuringia, Alemania, lugar donde se dio origen a su nombre y desde 1950 se utiliza como un bioplaguicida y son un excelente control sobre larvas de Lepidópteros y muy seguro en cuanto a contaminación ambiental y efecto sobre la salud humana (Carballo *et al.* 2004).

Según Gordon *et al.* (1973), y Schnepf *et al.* (1998), citados por Sauka y Benintende (2008), esta bacteria es un bacilo gram positivo, de flagelación peritrica, con un tamaño de 3 a 5 μm de longitud por 1 a 1,2 μm de ancho se caracteriza por desarrollar esporas de resistencia elipsoidales las cuales no provocan un hinchamiento del perfil bacilar, poseen la capacidad de fermentar glucosa, fructosa, trealosa, maltosa y ribosa, y de hidrolizar gelatina, almidón, glucógeno, esculina y N-acetil-glucosamina, pero en el proceso de esporulación origina una inclusión parasporal formada por una o más estructuras cristalinas proteicas llamadas Cry, tóxicas para distintos invertebrados, especialmente larvas

de insectos; igualmente menciona Jackson (1999), que *B. thuringiensis* es capaz de formar esporas que produce un rango de toxinas cristalizadas, donde algunas de ellas son tóxicas para algunos insectos en particular.

2.7.1 Modo de acción

Cuando es digerida la bacteria por el insecto se rompe el cristal de proteína, debido a la acción de las proteinasas del intestino, por lo que se libera la toxina; causando que las células del intestino sufran un inflamamiento y ruptura de las células epiteliales, provocando posteriormente la muerte de la larva (Jackson 1999).

Una vez que los cristales de *B. thuringiensis* son ingeridos y luego solubilizados en el intestino medio del insecto, tras lo cual se liberan las proteínas cristalinas en forma de protoxinas, que por sí mismas no realizan el efecto, sino hasta cuando estas sean procesadas por proteasas intestinales para generar las toxinas activas que atraviesan la membrana peritrófica, desencadenándose una serie de reacciones y enzimas que se producen provocando a groso modo que se facilite la formación de un poro en el epitelio del intestino medio, dándose un desequilibrio osmótico y la consecuente lisis celular y el tejido intestinal resulta dañado gravemente, lo que impide la asimilación y retención de compuestos vitales para la larva y lleva a la muerte del insecto (Bravo, citado por Sauka y Benintende 2008).

2.7.2 Sintomatología

Dentro de los síntomas más comunes manifestados por los insectos afectados por *B. thuringiensis*, que menciona Carballo *et al.* (2004), están una inmovilización del intestino y sistema bucal, regurgitación y diarrea provocada por la endotoxina en el epitelio intestinal, pérdida del brillo del tegumento por lo que se torna de color marrón oscuro, cesa la alimentación y acumulo de alimento en el intestino, se pierde la agilidad volviéndose una larva flácida que alcanza la muerte

en 18 a 72 horas y posterior a esto toma un color negro y deterioro de los tejidos sin romperse el tegumento.

2.8 *Trichoderma* spp.

Según Alexopolus *et al.* (1996), el género *Trichoderma* se clasifica taxonómicamente en el Reino Mycetae, División Eumycota, Subdivisión Deuteromycotina, Clase Hyphomycetes, Orden Hyphales (Moniliales) y Familia Moniliaceae.

Este hongo es utilizado en el control de enfermedades en la agricultura, constituyéndose como un agente de control biológico de bajo costo que pueden establecerse en distintos ecosistemas, favoreciendo el equilibrio del suelo sin dañar organismos beneficiosos que contribuyen al control de patógenos, además este agente de control biológico es seguro y eficaz tanto en entornos naturales y controlados ya que no se acumula en la cadena alimentaria y en los que no se ha descrito resistencia, así mismo las cepas de *Trichoderma* spp. pueden actuar por medio de la colonización del suelo y partes de la planta, las cuales ocupan un espacio físico y evitan la multiplicación de los patógenos, la producción de enzimas degradantes de la pared celular de los patógenos, la fabricación de antibióticos que pueden matar a los patógenos y promover el desarrollo de la planta así como la inducción de mecanismos de defensa de la planta (Monte y Llobell 2003).

Por su parte Harman (2000), añade que las cepas de este género incluyen desde colonizadores del suelo con alto potencial de biodegradación, algunos son capaces de antagonizar fitopatógenos hongos mediante el uso de colonización del sustrato, antibiosis y / o micoparasitismo como los principales mecanismos y es este potencial antagonista la base para la aplicación efectiva de diferentes cepas de *Trichoderma* como una alternativa al control químico contra una amplia gama de hongos patógenos de plantas.

Este hongo antagonista presenta gran versatilidad, adaptabilidad y fácil manipulación; produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios,

los cuales se encuentran activos contra una amplia gama de fitopatógenos durante diferentes fases del ciclo de vida, abarcando desde la germinación de las esporas hasta la esporulación de las mismas (Fernández y Vega 2001).

Según Hillocks y Waller (1997), *Trichoderma* presenta mecanismos parasíticos sobre otros hongos, coloniza raíces, compite por nutrientes y espacio, favorece la tolerancia al estrés por parte de la planta y mejora el sistema radical además de solubilizar nutrientes inorgánicos e inducir a la resistencia inducida.

2.8.1 Modo de acción

Fernández y Vega (2001), mencionan que el ataque de *Trichoderma* spp. es por medio de antibiosis, competencia por espacio o por nutrimentos, interacciones directas con el patógeno (micoparasitismo y lisis enzimática) e inducción de resistencia y esta amplia gama de modos de acción, hace que el control generado por el hongo tenga menos riesgos de resistencia; sin embargo no es tan fácil determinar con precisión los mecanismos que intervienen en las interacciones entre los antagonistas y los patógenos en la planta.

Por otro lado Durán (2004), alude que este hongo antagonista actúa rompiendo las paredes hifales del hongo parasitado, para penetrarlo y alimentarse con los nutrientes de este hasta romperlo y a su vez produce toxinas como tricodermin y harzianopiridona, que son los agentes encargados de causar antagonismo por fungistasis y del mismo modo produce enzimas de tipo lítico, encargadas de destruir las paredes celulares de los esclerocios o estructuras de resistencia del hongo, además de competir por nutrientes y colonización de la rizosfera.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del ensayo.

El ensayo se realizó en la finca Indaco Horquetas S.A., ubicada en Puerto Viejo, de Sarapiquí, de la provincia de Heredia, con una extensión territorial de 600 hectáreas, dedicadas al cultivo convencional de Piña, con el Híbrido MD-2 la cual se encuentra a una altitud entre los 35 a 140m.s.n.m. con presencia de vientos de 1,6 a 2,3 kph, la temperatura oscila entre 20,3-30,3°C, una precipitación promedio que ronda los 3750 mm y una humedad relativa entre 79-88% (MAG 2006).

3.2 Material experimental.

El ensayo experimental se estableció en un área de segunda cosecha cultivadas con *Ananas comosus* (L.) Merr, híbrido MD2, en el período posterior a la inducción floral. Se utilizaron cuatro productos biológicos conformados por *Beauveria bassiana* (Vals.) Cepa BJV (Bioprotection *B. bassiana*), *Metarrhizium anisopliae* (Metsch.) var. *anisopliae* cepa MTP (Bioprotection *M. anisopliae*), *Trichoderma* spp. cepa TRF (Bioprotection *Trichoderma* spp.) y *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* y *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* cepa BTIMOG1 (Bioprotection *Bt*); además de éstos, se utilizaron productos de uso común en la finca, como el Diazinón que representan el testigo relativo.

3.3 Descripción del ensayo.

Para el establecimiento de las unidades experimentales, se delimitó el terreno en parcelas de 4 x 8 metros, considerando un efecto de borde de un metro, mismas que se distribuyen de manera aleatoria (Anexo 5).

La aplicación de los tratamientos se inició tres semanas después de la inducción floral, con una frecuencia de aplicación de 15 días en el caso de los tratamientos conformados por *B. bassiana* (T1), *M. anisopliae* (T2), *Trichoderma* spp. (T3), *B. thuringiensis* (T4), *B. thuringiensis* + *B. bassiana* + *M. anisopliae* (T5)

y *B. thuringiensis* + *Trichoderma* spp. (T6), sumando un total de 9 aplicaciones, mientras que para el tratamiento relativo (T7) con aplicación de Diazinón la frecuencia de aplicación fue de ocho días para un total de 20 aplicaciones. Todas las aplicaciones se realizaron utilizando una pulverizadora manual

3.4 Tratamientos evaluados.

El ensayo comprendió un total de ocho tratamientos, los cuales se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos evaluados en el ensayo.

Tratamiento	Ingrediente activo/(cepa)*	Método de control	Concentración
T1	<i>Beauveria bassiana</i> (bjv).	Biológico	2,5x10 ⁹ conidios/ml.
T2	<i>Metarhizium anisopliae</i> (mtp).	Biológico	2,5x 10 ⁹ conidios/ml.
T3	<i>Trichoderma</i> spp (trf).	Biológico	2,5x 10 ⁹ conidios/ml.
T4	<i>Bacillus thuringiensis</i> (btimog1).	Biológico	2,1x10 ⁹ UFC/ml
T5	50% <i>Bacillus thuringiensis</i> + 25% <i>Beauveria bassiana</i> +25% <i>Metarhizium anisopliae</i> .	Biológico	Según proporción.
T6	50% <i>Bacillus thuringiensis</i> + 50% <i>Trichoderma</i> spp.	Biológico	Según proporción.
T7	Testigo relativo (Manejo de la finca)	Químico	Según manejo de finca.
T8	Testigo absoluto	Testigo absoluto	Sin aplicación.

*Para tratamientos que su componente es un hongo entomopatógeno, antagonista y bacteria entomopatógena.

3.5 Dosis de los tratamientos.

Las dosis de aplicación de los tratamientos compuestos *B. bassiana* (T1), *M. anisopliae* (T2) y *Trichoderma* spp. (T3), inicia con una dosis inundativa, de tres litros ha⁻¹ y ocho inoculativas de un litro ha⁻¹; para el tratamiento de *B. thuringiensis* (T4), se manejó una dosis inundativa de doce litros ha⁻¹ de producto comercial y ocho dosis inoculativas de seis litros ha⁻¹; las dosis del tratamiento *B. thuringiensis* + *B. bassiana* + *M. anisopliae* (T5) y del tratamiento *B. thuringiensis* + *Trichoderma* spp. (T6), en ambos se aplicó una dosis inundativa de 7.5 litros ha⁻¹ y ocho dosis inoculativas de 3.5 litros ha⁻¹. Las dosis de aplicación del testigo relativo (T7), se establecieron de acuerdo al manejo fitosanitario determinado por la finca.

3.6 Periodo de evaluación.

Se inició con un primer muestreo de 20 plantas a las tres semanas después de la inducción floral, para determinar el porcentaje de incidencia y nivel poblacional inicial de *D. brevipennis* para cada tratamiento, a partir de éste se ejecutaron cada cuatro semanas hasta el momento de la cosecha (cinco en total), el último muestreo se realizó ocho días después de la última aplicación. En general durante cada muestreo se contabilizó ninfas y adultos en axilas pedúnculo y fruta.

Al momento de la cosecha se realizó un muestreo en seis frutas por tratamiento, para determinar la incidencia porcentual y nivel poblacional de cochinilla harinosa interna en fruta.

3.7 Diseño experimental.

Se utilizó un diseño experimental en Bloques Completos al Azar con muestreo describiéndose el siguiente modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + L_i + \beta_k + \varepsilon_{ij} + \lambda_{ijk}.$$

Donde:

Y_{ijk} = Variable dependiente (observación).

μ = Media de la población.

L_i = Efecto de la i -ésimo tratamiento.

β_k = Efecto del k -ésimo bloque.

ε_{ij} = Error Experimental.

λ_{ijk} = Error de muestreo.

3.8 Variables evaluadas.

La finalidad del estudio fue determinar el efecto que ejercen los tratamientos sobre poblaciones de *D. brevipes*, en estado adulto y ninfa en axilas, pedúnculo y parte externa e interna de la fruta, por medio de las siguientes variables:

- El porcentaje de incidencia (% IN), se evaluó de manera mensual, por medio de una contabilización de plantas infectadas por *D. brevipes*, las cuales se dividieron entre el total de plantas muestreadas, expresado en porcentaje.
- El nivel poblacional (NP), se determinó de manera mensual, por medio de una contabilización de individuos de *D. brevipes* y divididos entre el total de plantas de la parcela útil.

3.9 Análisis estadístico de resultados

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el paquete estadístico R 2.10.1, para realizar la prueba de supuestos de normalidad. El análisis estadístico se efectuó mediante pruebas no paramétricas (Friedman), para las variables de incidencia porcentual, nivel poblacional, fluctuación poblacional y contraste poblacional.

Las correlaciones lineales de las variables, se obtuvieron por medio del coeficiente de correlación de Pearson, con su respectivo coeficiente de correlación (r), coeficiente de determinación (r^2) y la probabilidad (p -value).

4. RESULTADOS

En forma general el análisis estadístico mostró que los datos no presentan normalidad, por lo que se realizó el análisis por medio la prueba de Friedman, tal como se observa en los Anexos del 1 al 4.

4.1 Porcentaje de incidencia de *D. brevipes*.

En la Figura 2, se aprecia el porcentaje de incidencia inicial, observándose que los mismos oscilan entre 0,56% y 6,11%, mientras que en el porcentaje final oscila entre 0% y 21,67% de plantas infectadas, determinando que estadísticamente no existen diferencias significativas ($p>0,05$) entre los tratamientos y testigos absoluto y relativo (Anexo 3).

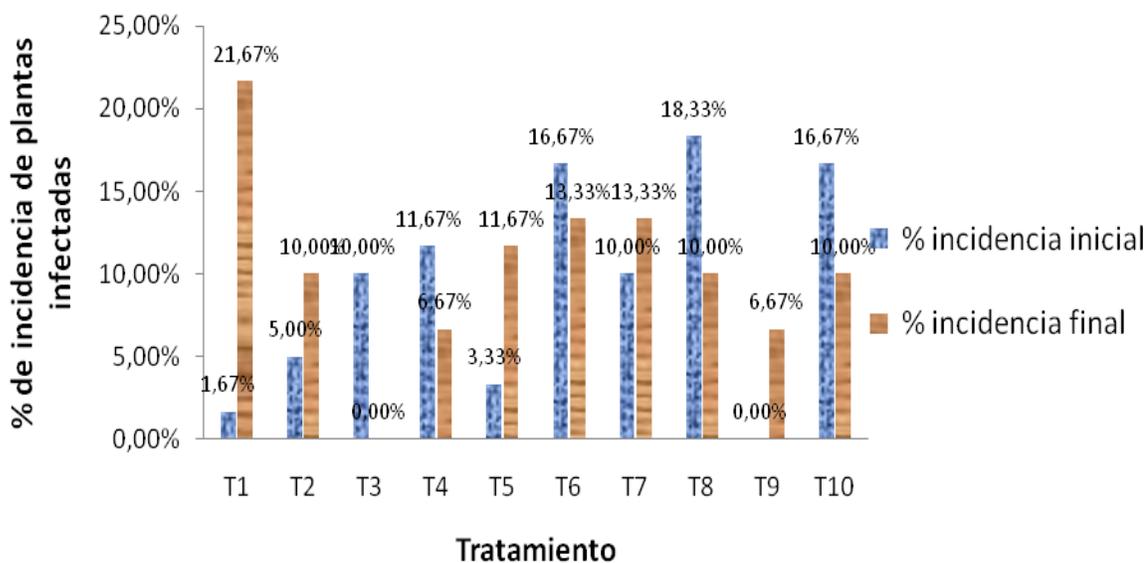


Figura 2. Incidencia inicial y final porcentual en plantas de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2, infectadas por *D. brevipes* para cada tratamiento, sumando axilas, pedúnculo y parte externa de la fruta a nivel de campo durante la fase experimental en Indaco Horquetas S.A., 2009.

4.2 Nivel poblacional de *D. brevipes*.

En la Figura 3, se describe el nivel poblacional inicial y final de *D. brevipes* en axilas, pedúnculo y parte externa de la fruta para cada tratamiento. Éstos muestran niveles iniciales entre 0,02 y 0,72 mientras que al final los niveles poblacionales varían entre 0 y 2,12 individuos por planta, determinándose que estadísticamente no existe diferencia significativa ($p>0,05$) entre los tratamientos y testigo absoluto y relativo (Anexo 2).

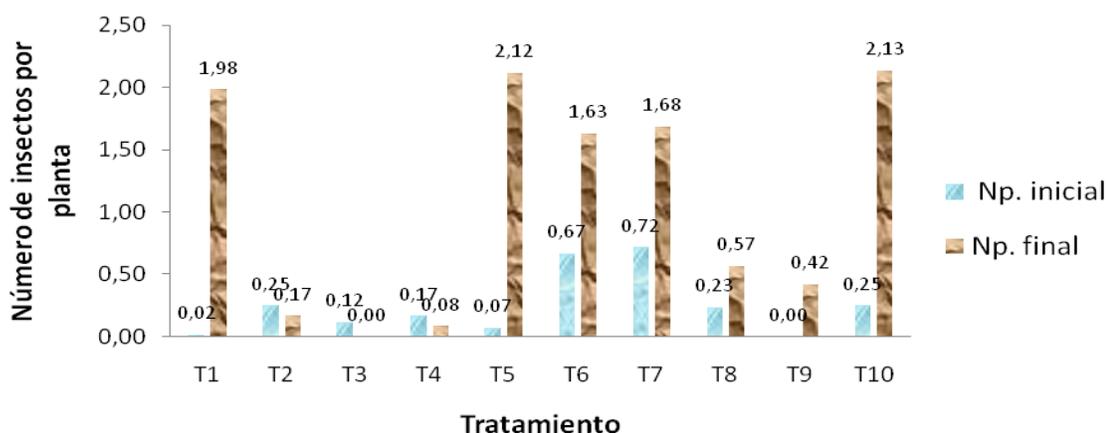


Figura 3. Nivel poblacional inicial y final de *D. brevipes* en *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2 en cada tratamiento, durante prueba de patogenicidad de microorganismos benéficos a nivel de campo en Indaco Horquetas S.A., 2009.

4.3 Porcentaje de incidencia y nivel poblacional de *D. brevipes* interna en fruta

En cuanto al análisis del porcentaje de incidencia y nivel poblacional final de *D. brevipes* en el interior de la fruta (Figura 4), no se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p>0,05$) entre los tratamientos para ambas variables, no obstante el tratamiento donde se aplicó la suspensión de conidios de *Trichoderma* spp. (T3) fue el único tratamiento que presentó un 0% de incidencia interna mientras que los restantes tratamientos mostraron rangos entre 17% y 50% de frutas infectadas, con niveles poblacionales que varían entre 0,25 y 2,50 insectos por planta.

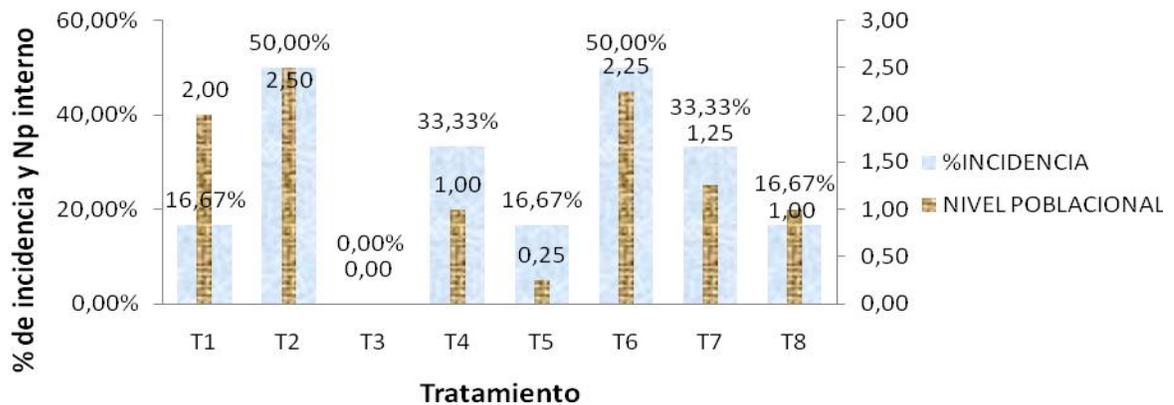


Figura 4. Porcentaje de incidencia y nivel poblacional de *D. brevipes* en el interior de frutas de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2 durante prueba de patogenicidad de microorganismos benéficos a nivel de campo en Indaco Horquetas S.A., 2009.

4.4 Fluctuación poblacional de *D. brevipes*

En la Figura 5, se muestra la fluctuación poblacional de *D. brevipes*, en cada uno de los tratamientos durante el período de evaluación, determinando que su comportamiento a través del tiempo es bastante similar por lo que estadísticamente se comprobó que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$), entre los tratamientos y los testigos, tal como se muestra en el Anexo 4.

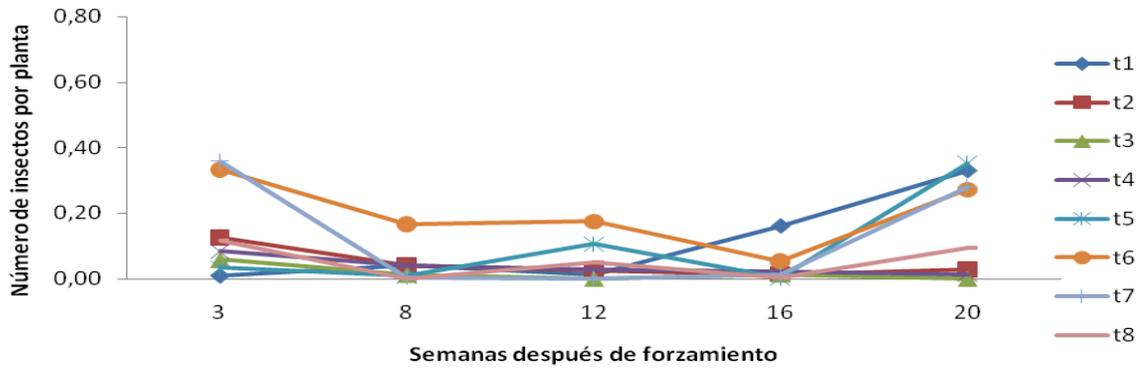


Figura 5. Fluctuación poblacional de *D. brevipes*, en *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2 en Indaco Horquetas S.A., 2009, durante 21 semanas.

4.5 Contraste poblacional de *D. brevipes* entre tratamientos

Al contrastar las fluctuaciones poblacionales entre *B. thuringiensis* + *B. bassiana* + *M. anisopliae* (T5) y *B. bassiana* (T1), *M. anisopliae* (T2) y *B. thuringiensis* (T4), (Figura 6), se puede describir una fluctuación muy similar en los tratamientos, observándose únicamente que el tratamiento de *B. thuringiensis* (T4) mantiene la población más estable en el tiempo a niveles más bajos sin diferencias estadísticas significativa ($p > 0,05$).

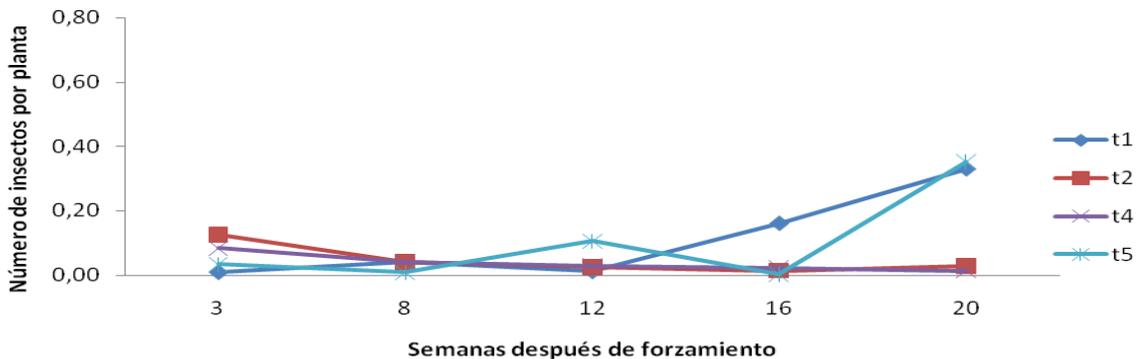


Figura 6. Contraste de la fluctuación poblacional de *D. brevipes*, entre plantas del tratamiento T5 (*B. thuringiensis* + *B. bassiana* + *M. anisopliae*) y T1 (*B. bassiana*), T2 (*M. anisopliae*) y T4 (*B. thuringiensis*), en *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2 a nivel de campo en Indaco Horquetas S.A., 2009.

En la Figura 7, los tratamientos *B. thuringiensis* + *Trichoderma* spp. (T6), *Trichoderma* spp. (T3) y *B. thuringiensis* (T4), mantienen un comportamiento poblacional muy similar, constatándose que no hay diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$)

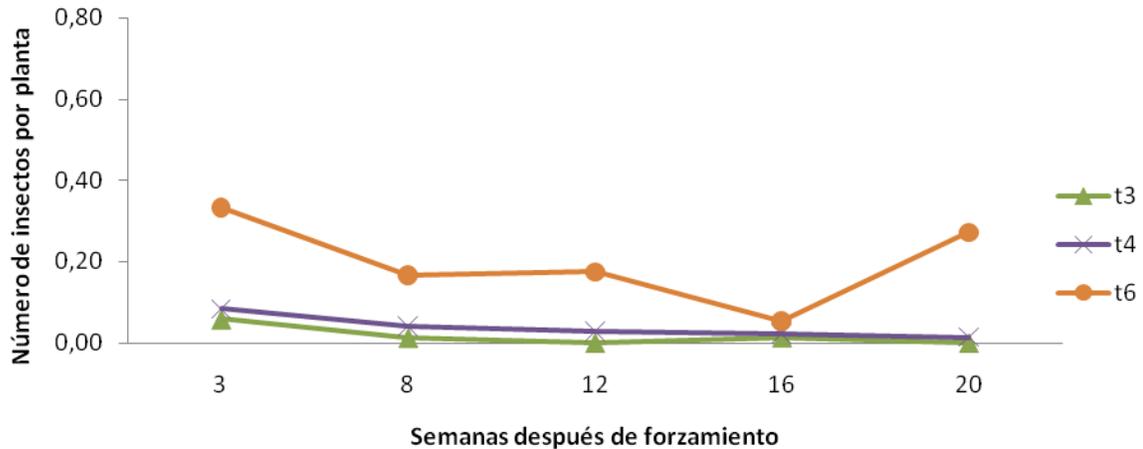


Figura 7. Contraste de la fluctuación poblacional de *D. brevipes*, entre plantas del tratamiento T6 (*B. thuringiensis* + *Trichoderma* spp.), T3 (*Trichoderma* spp.) y T4 (*B. thuringiensis*), en *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2 en Indaco Horquetas S.A., 2009.

4.6 Correlación lineal de variables

En el Cuadro 2 se representa todas las posibles correlaciones lineales; donde se presentan las variables correlacionadas, con su respectivo coeficiente de correlación de Pearson para determinar el grado de relación lineal que presentan estas dos variables, además del coeficiente de determinación que brinda un panorama más claro del porcentaje de variabilidad conjunta de las dos variables correlacionadas y el p-value inferior a 0,05, que quiere decir que posee un grado de significancia.

Cuadro 2. Coeficiente de correlación (r), coeficiente de determinación (r^2) y la probabilidad (p-value) asociada a la prueba de hipótesis de correlación nula, de las variables que presentan relación lineal, por medio de la prueba de correlación de Pearson.

Variables correlacionadas	r	r²	P-value
<i>inc_axila/np_axila</i>	0,58	0,33	2,90E-03**
<i>inc_axila/np_pedúnculo</i>	0,41	0,16	0,05*
inc_axila/inc_total	0,87	0,76	2,80E-08**
inc_pedúnculo/np_pedúnculo	0,92	0,86	1,20E-10**
<i>inc_pedúnculo/np_axila</i>	0,48	0,23	0,02*
<i>inc_pedúnculo/inc_total</i>	0,62	0,38	1,10E-03**
<i>inc_pedúnculo/inc_fruta interna</i>	0,65	0,42	6,50E-04**
<i>inc_pedúnculo/np_fruta interna</i>	0,6	0,36	2,20E-03**
<i>inc_fruta externa/inc_total</i>	0,52	0,27	0,01**
inc_fruta externa/np_fruta externa	0,91	0,82	8,10E-10**
<i>inc_fruta externa/np_total</i>	0,8	0,64	3,00E-03**
<i>inc_total/np_total</i>	0,64	0,41	8,30E-04**
<i>inc_total/inc_fruta interna</i>	0,64	0,41	7,20E-04**
<i>inc_total/np_fruta interna</i>	0,56	0,31	4,60E-03**
<i>inc_total/np_axila</i>	0,71	0,50	1,10E-04**
<i>inc_total/np_pedúnculo</i>	0,58	0,33	3,20E-03**
<i>np_axila/np_pedúnculo</i>	0,53	0,28	0,01**
<i>np_axila/np_total</i>	0,73	0,53	4,80E-05**
<i>np_axila/inc_fruta interna</i>	0,48	0,23	0,02*
<i>np_pedúnculo/inc_fruta interna</i>	0,53	0,28	0,01**
<i>np_pedúnculo/np_fruta interna</i>	0,45	0,20	0,03*
<i>np_total/inc_fruta interna</i>	0,43	0,18	0,04*
inc_fruta interna/np_fruta interna	0,87	0,76	2,90E-08**

*p<0,05, **p<0,01

Una correlación lineal importante es la que existe con la incidencia en la totalidad de la planta, donde la misma varía en un 76%, por el nivel de incidencia de individuos en las axilas, tal como se observa en la Figura 8.

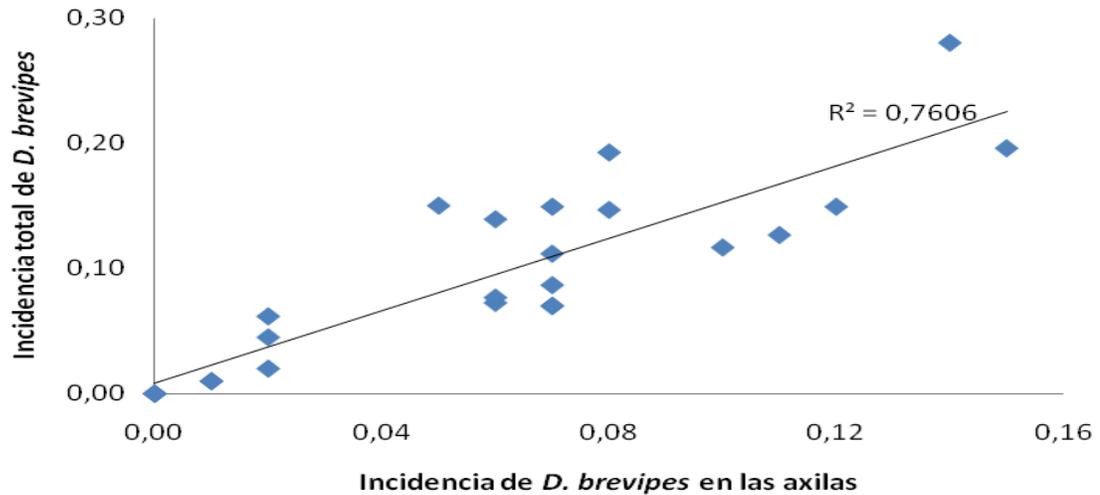


Figura 8. Correlación lineal entre el nivel de incidencia de *D. brevipes*, en las axilas e incidencia en el total de la planta de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2 durante 21 semanas de investigación en Indaco Horquetas S.A., 2009.

Al variar la incidencia de individuos en pedúnculo, provoca una variación de un 86% del nivel poblacional de esta misma área, tal como se observa en la Figura 9.

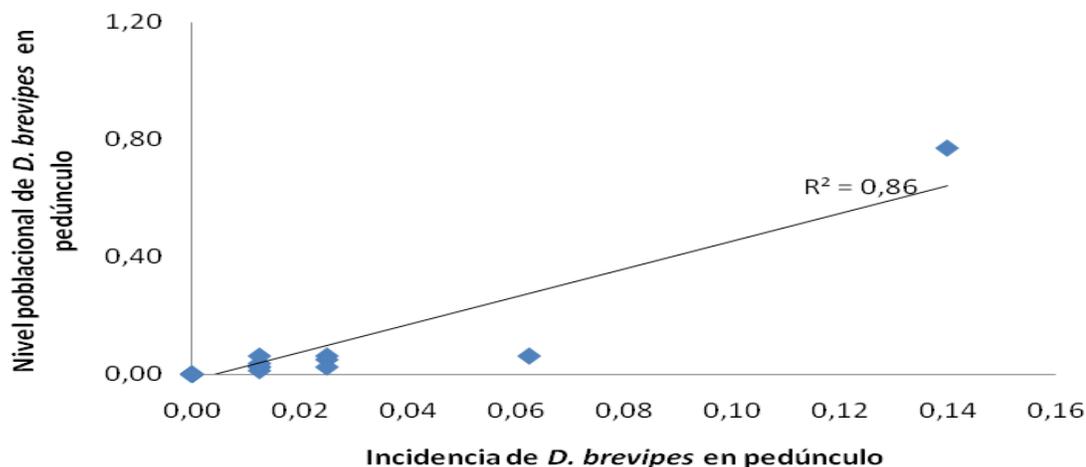


Figura 9. Correlación lineal entre el nivel de incidencia y nivel poblacional de *D. brevipis*, en el pedúnculo de las plantas de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2 durante 21 semanas de investigación en Indaco Horquetas S.A., 2009.

En la Figura 10, se representa el nivel de incidencia de la cochinilla en la fruta externamente, está linealmente correlacionada en forma positiva con el nivel poblacional en la misma, donde el 83% de la variabilidad depende de la incidencia en la fruta.

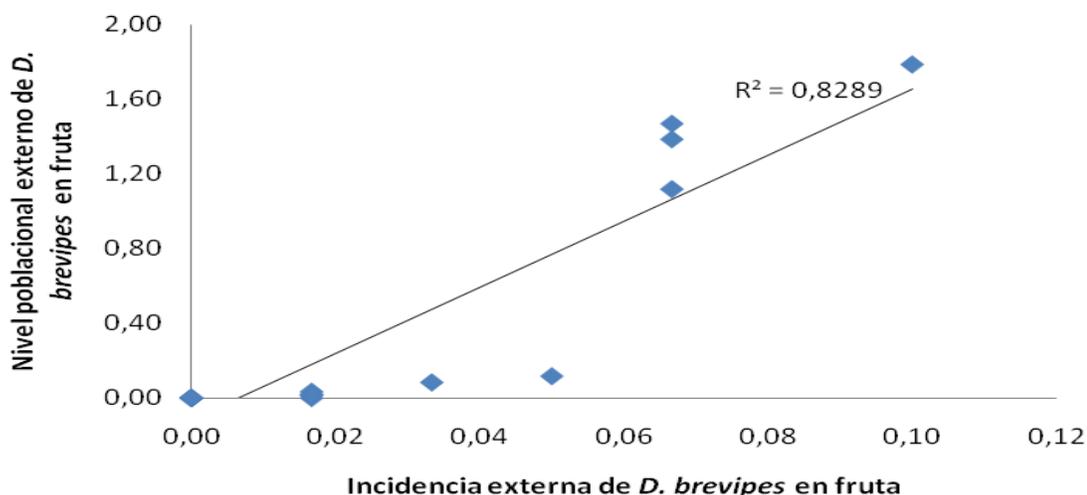


Figura 10. Correlación lineal entre el nivel de incidencia de *D. brevipis*, en frutas infectadas en su exterior y nivel poblacional en el exterior de la fruta durante 21 semanas de investigación en Indaco Horquetas S.A., 2009.

En la Figura 11, se muestra que existe una correlación lineal del nivel poblacional en el interior de la fruta con respecto a la incidencia interna, observando que varía en un 75%.

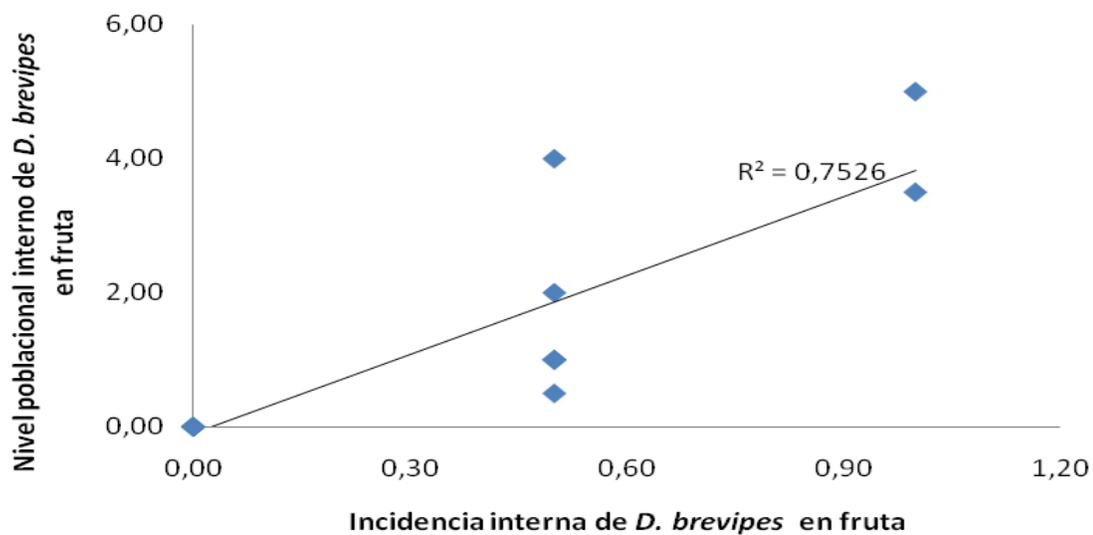


Figura 11. Correlación lineal entre incidencia en fruta interna y nivel poblacional de *D. brevipies* la parte interna de la fruta durante 21 semanas de investigación en Indaco Horquetas S.A., 2009.

5. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Los sistemas de producción agrícola son agroecosistemas que, como producto del auge en los años 60 de la mencionada revolución verde, han sufrido la pérdida o simplificación de las redes tróficas, ya que el único objetivo ha sido magnificar la productividad de una sola especie y principalmente del área de interés (Urbaneja y Jacas 2008). Al respecto Cisneros (1995) indica que como consecuencia de lo anterior en éstos sistemas de producción modernos, se desencadenan problemas fitosanitarios que han promovido la pérdida de eficacia de los productos de síntesis química, generando la aparición de nuevas plagas, destrucción ambiental, problemas de intoxicación, lo que en ocasiones hacen que un sistema sea insostenible ya que los rendimientos en la producción se reducen drásticamente y los costos aumentan significativamente.

Altieri y Nicholls (1994), mencionan que al alterarse el equilibrio ecológico, resaltan factores como ausencia de controladores naturales, falta de competencia entre organismos con similar hábito alimenticio, lo que aunado a un sistema productivo tipo monocultivo en extensas áreas de terreno bajo condiciones climáticas favorables, se incrementa el nivel poblacional de insectos, convirtiendo a un insecto esporádico en una plaga, las cuales tal como lo menciona Villegas *et al.* (2007), estas son contrarrestadas mediante aplicaciones frecuentes e intensivas de productos sintéticos, adquiriendo cada vez mayor importancia sobre todo cuando el producto que se comercializa es rechazado al detectarse plagas consideradas como cuarentenarias en los países a los que se exportan.

Un ejemplo de lo anterior lo constituye el manejo fitosanitario para combatir la cochinilla harinosa (*D. brevipis*) en el cultivo de la piña, la cual por su hábito de crecimiento no solo se puede encontrar en el exterior de la fruta sino también en la parte interna de la misma, presentándose una mayor intensidad de ésta después que se da la inducción floral, por lo que antes de esta etapa y posterior a la misma se aplican de manera intensiva productos como el Diazinon. Este insecticida

pertenece al grupo de los organofosforados, de acuerdo a documentos consultados, son derivados de uno de los ácidos del fósforo y dentro de su clase son de los más tóxicos para los vertebrados.

En Argentina de acuerdo a la resolución 456/2009 MS y respondiendo a los compromisos internacionales adquiridos con la adhesión de éste a la Carta de la Tierra y el Programa 21 así como con las políticas Nacionales de Salud, han promovido normas que regulan y disminuyen el uso de sustancias químicas que puedan representar un peligro a la salud pública, considerando importante incluir en la lista de prohibición de productos organofosforados como Clorpirifos y Diazinon, ya que ambos son inhibidores de la colinesterasa, sustancia que necesita el organismo para que funcione el cerebro y el sistema nervioso, éstos se pueden absorber por todas las vías y causar daños neurotóxicos agudos, eventualmente fatales (Manzur 2009). La Red de Acción en plaguicidas de Chile, informa que el Diazinón interfiere con la fertilidad femenina y puede producir malformaciones fetales.

Por su parte la Comisión de Estados miembros de la Unión Europea, había dado tiempo hasta diciembre del 2007 para que se retirarían las autorizaciones concebidas de productos que contenía Diazinón, de igual forma la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA), restringió severamente el uso agrícola de este compuesto, argumentando que para todos estos compuestos existen alternativas de menor toxicidad para obtener similares beneficios (Manzur 2009).

Syngenta (2004), indica que este producto es de banda amarilla, de amplio espectro, con una persistencia media de dos a cuatro semanas, de características muy tóxicas y efectos adversos a largo plazo en ambientes acuáticos, actúa sobre insectos por contacto, ingestión e inhalación. Sin embargo, a pesar de estos aspectos negativos, este insecticida es de uso común en la Piña, no siendo la excepción la finca donde se estableció el ensayo experimental, en la cual el objetivo es disminuir al máximo la presencia de la cochinilla en etapas críticas para el cultivo, de manera tal que, se logre también reducir la tasa de reproducción

hasta el momento de la cosecha y que no alcance un porcentaje de incidencia y nivel poblacional que arriesgue la calidad de la fruta.

5.1 Porcentaje de incidencia y nivel poblacional de *D. brevipes*

Lo mencionado anteriormente concuerda con los porcentajes de incidencia y nivel poblacional en axilas y pedúnculo encontrados al inicio del ensayo experimental (Figura 2 y 3), donde a pesar de seleccionarse la segunda cosecha y fase fenológica posterior a la inducción floral, mismas en la que la presencia de esta plaga es más intensiva, pero tal como se observa en la Figura 12 a y b, se puede apreciar una alta frecuencia de plantas libres de *D. brevipes* y bajas frecuencias con niveles poblacionales superior a cero.

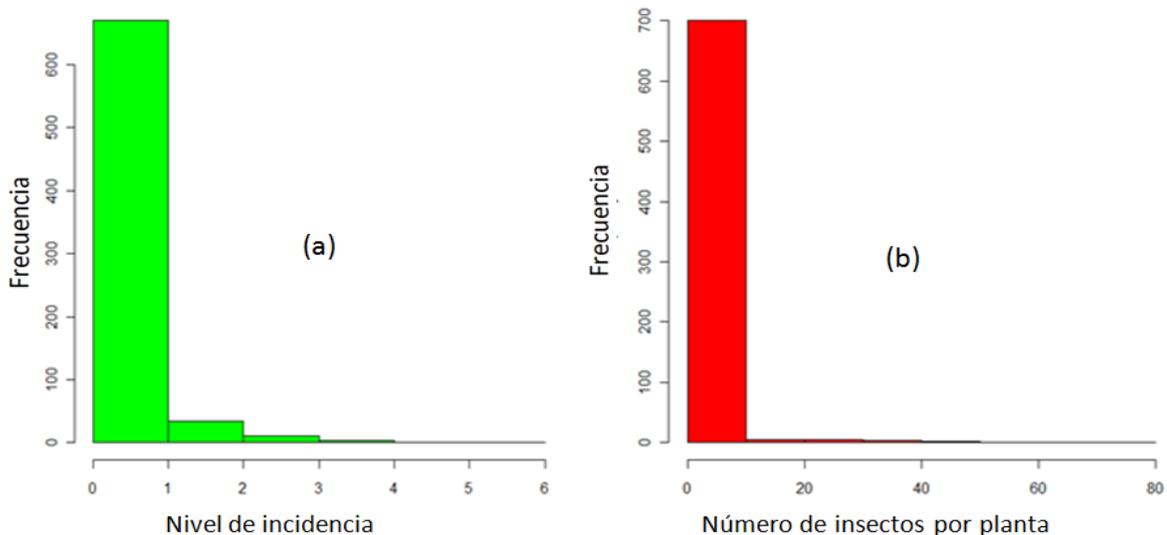


Figura 12. Frecuencia de plantas afectadas por *D. brevipes* y el respectivo nivel poblacional en axilas, pedúnculo y parte externa de la fruta de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2 a nivel de campo en Indaco Horquetas S.A. 2009.

Estos porcentajes de incidencia y niveles poblacionales tan bajos, probablemente se deben a la presión que ejerció el Diazinón, el cual como parte del manejo, fue aplicado de manera general a la finca, bajo un pH 7, el cual favorece este agroquímico ya que según la FAO (2000), la semidesintegración por

hidrólisis es más lenta en medios con un pH ligeramente superior a 7,4 a 20° C, haciéndolo más efectivo en las aplicaciones de campo, antes de establecerse el experimento, por lo que estadísticamente los datos no presentaron normalidad (Anexos 1, 2 y 3). Es importante mencionar que aunque la presencia de hormigas no se cuantificó y analizó estadísticamente, si se observó una menor presencia en la medida que se avanzaba en la investigación.

En concordancia con lo anterior González *et al.* (1999), indica que existe una simbiosis entre esta y la cochinilla harinosa, ya que las hormigas se alimentan de la sabia que se desprende como producto del ataque de *D. brevipes* a la planta, sirviendo a la vez éstas como medio de protección y de transporte a la cochinilla harinosa a otras áreas de la planta y zonas de la plantación, aumentando los porcentajes de incidencia de plantas infectadas, tal como lo muestra Petty y Tustin (1993), en un estudio, donde el control de poblaciones de hormigas, les aseguró diferencias significativas en los porcentajes de infección, así también Gary (1992) en su tesis de doctorado, afirma que existe una correlación ($r=0,97$) entre *Pheidole megacephala* y los porcentajes de incidencia de *D. brevipes*.

Sin embargo, a pesar de no encontrar diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$), es importante destacar el comportamiento que muestra el tratamiento T3 conformado por *Trichoderma* spp., el cual a pesar de ser reportado como un hongo antagonista exhibe un comportamiento entomopatógeno sobre poblaciones de *D. brevipes*, logrando reducir la incidencia y nivel poblacional drásticamente (Figura 2 y 3), lo que de igual forma repercute en la incidencia y nivel poblacional a nivel interno de la fruta (Figura 4), mismo que además de ejercer este efecto sobre la plaga, al caer en el suelo conidios de éste como parte de la aplicación, se podrían desencadenar en la plantación efectos como, incrementar la tolerancia al estrés por parte de la planta ya que podría mejorar el desarrollo del sistema radical, solubilización y absorción de nutrientes inorgánicos así como inducir a resistencia (Hillocks y Waller 1997).

Aunado a lo anterior, podría bajar la presión de inóculo de agentes que causan enfermedades en este cultivo tales como *Fusarium oxysporum*, al respecto Vásquez (2009) encontró que a nivel *in vitro* este agente es inhibido en un 100% en 28 horas por nueve cepas de *Trichoderma* spp. de igual forma el tratamiento T4 (*Bacillus thuringiensis*) contrarresta y mantiene la población durante toda la fase de experimentación a un nivel muy bajo.

Si se analiza el testigo absoluto (T8), en la (Figura 5) se observa que a pesar de ser el testigo absoluto, muestra una alta fluctuación poblacional, es probable que este resultado poco común, se deba a la ausencia de hormigas ya que tal como lo afirman Gary (1992), Cisneros (1995) así como Rohrbach y Schimitt (1994), la ausencia de poblaciones de hormigas afecta directamente las poblaciones de *D. brevipennis*, observándose una mayor mortalidad de *D. brevipennis*, ya que al no haber hormigas no se remueven los excesos de mielina que provocan la mortalidad de la cochinilla.

5.2 Fluctuación poblacional de *D. brevipennis*.

Al analizar la fluctuación poblacional de *D. brevipennis*, en todos los tratamientos (Figura 5), en el segundo muestreo se determinó que en el tratamiento de la finca (T7) el nivel poblacional disminuyó abruptamente mientras que en los tratamientos conformados por *B. bassiana* (T1), *M. anisopliae* (T2), *Trichoderma* spp. (T3), *B. thuringiensis* (T4) y *B. thuringiensis* + *Trichoderma* spp. (T6), la reducción fue más lenta, y en el tratamiento formado por *B. thuringiensis* + *B. bassiana* + *M. anisopliae* (T5) la población se mantiene, Méndez (2007), indica que la reducción poblacional en los tratamientos biológicos es relativamente lenta, al respecto Quesada y Santiago-Álvarez (2008) mencionan que la eficacia de éstos, está determinada en gran medida por factores intrínsecos asociados a la fisiología del hospedante (insecto), factores ambientales así como del aislado seleccionado y la persistencia que esté presente en el campo, esta interacción es aún más compleja cuando se considera el cultivo, el cual puede contribuir a aumentar la susceptibilidad del mismo al entomopatógeno, ya que en estudios

realizados por Santiago-Álvarez *et al.* (2006) citados por Quesada-Moraga y Santiago-Álvarez (2008) mencionan que los compuestos alelopáticos de algunas especies vegetales pueden contribuir a esto.

Durante el tercer muestreo las fluctuaciones entre los tratamientos fueron mínimas, manteniéndose la misma tendencia a excepción del tratamiento de *B. thuringiensis* + *B. bassiana* + *M. anisopliae* (T5) y el testigo absoluto (T8) donde la población tiende a aumentar, sin embargo éstas poblaciones vuelven a exhibir bajos niveles en el cuarto muestreo siendo *B. bassiana* (T1) y *M. anisopliae* (T2), donde la población tiende a incrementarse, tendencia que mantienen todos los tratamientos en el quinto muestreo a excepción de *Trichoderma* spp.(T3) donde la población alcanza un nivel de cero y el *B. thuringiensis* (T4) donde la población a partir de la primera aplicación se mantiene en niveles muy bajos.

Un factor que pudo haber repercutido sobre la fluctuación poblacional, son las condiciones climáticas imperantes en la zona durante la fase de estudio, donde a partir del segundo muestreo, realizado en el mes de setiembre se registran precipitaciones arriba de los 250mm (Anexo 8), con un promedio durante la fase de estudio de 374mm, en concordancia con lo anterior Barrantes (2009) menciona que las poblaciones de cochinilla tienden aumentarse con el inicio de las lluvias llegando a alcanzar niveles máximos tres o cuatro meses después. Por su parte Gratereaux (2009), en sus estudios menciona que al aumentar la intensidad de las lluvias el producto biológico aplicado puede no ser efectivo por la pérdida de inoculo debido al lavado por la lluvia.

5.3 Contraste poblacional de *D. brevipis* entre tratamientos.

En cuanto al análisis de los contrastes del tratamiento formado por *B. thuringiensis* + *B. bassiana* + *M. anisopliae* (T5) y *B. thuringiensis* + *Trichoderma* spp. (T6) y sus componentes por separado (figura 6 y 7), se determinó que no hay diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$). Quesada-Moraga y Santiago-Álvarez (2008), indican que cuando se aplican microorganismos en forma de mezcla, los efectos de éstas pueden ser de sinergismo o antagonismo, por su

parte estos autores menciona que cada microorganismo que conforma la mezcla actúa en tejidos diferentes.

En los resultados, se determinó que si bien es cierto no se determinaron diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$), se observa que las mezclas ofrecen un menor control sobre la población, lo anterior puede deberse a que los tratamientos conformados por *B. bassiana* (T1) y *M. anisopliae* (T2), están conformado por hongos entomopatógenos y el tratamiento T3 por un hongo antagonista, los cuales a pesar de tener un ciclo de reproducción más complejo tienen no sólo tasas de crecimiento más aceleradas sino también enzimas y metabolitos que probablemente lograron inhibir el efecto del *B. thuringiensis* (T4) constituido por una bacteria cuando se encuentra en forma de diferentes mezclas.

Este mismo efecto fue encontrado en estudios realizados por Hurpin y Robert (1968) citados por Carvajal (1996), los cuales encontraron que la mortalidad no aumentó cuando aplicaron de manera conjunta *B. popilliae* (cepa melolontha), *Rickettsiella melolontha* y *Vagoiavirus melolontha*, sobre *M. melolontha*, pese a que de manera general hubo un buen desarrollo de ambas en el mismo individuo. Carvajal (1996), evaluó combinaciones de cepas de *Beauveria* sp. (Bals.) Vuill, *Metarhizium anisopliae* (Metch.) y *Bacillus popilliae* (Dutky) para el control de larvas de *Phyllophaga menetriesi* (Coleoptera: Scarabaeidae) y demostró que aplicaciones combinadas de *M. anisopliae* y *B. bassiana*, aplicadas subsecuentemente el mismo día, redujeron la mortalidad a un 15% en comparación con aplicaciones individuales que presentaron un 52.5% de mortalidad; evidenciando un posible antagonismo.

5.4 Correlación lineal de variables

En el Cuadro 2 se muestran todas las posibles variables correlacionadas. En cursiva se anotan las variables que tienen una correlación lineal positiva es decir significancia ($p \leq 0.05$) y alta significancia ($p \leq 0.01$), sin embargo presentan un coeficiente de determinación bajo ($r^2 < 0.70$), lo que indica que el coeficiente de no determinación o coeficiente de alineación es alto, es decir la proporción de

variabilidad no explicada. Por otra parte las variables que se encuentran en negrita en el mismo cuadro y que se representan en figuras de 9, 10, 11 y 12, poseen también correlación lineal positiva, con alto grado de significancia ($p \leq 0.01$) y un elevado coeficiente de determinación ($r^2 \geq 0.70$), según Vargas (2010)¹, este porcentaje debe de ser mayor a 70% ($r^2 \geq 0,70$), para que el porcentaje de la variación de una variable corresponda realmente al comportamiento de la otra variable, tal como lo afirma *Vila et al.* (sf).

Las correlaciones que muestran un alto coeficiente de determinación, podrían tomarse como un parámetro de referencia al momento de establecer curvas o niveles de daño económico, con las cuales y de acuerdo al estado fenológico se establezcan umbrales de acción. De acuerdo a la Figura 8 se puede apreciar que el coeficiente de determinación ($r^2=0.76$), quiere decir que un 76% de la incidencia total es debida a la incidencia en las axilas, mientras que un 86% del nivel poblacional del pedúnculo es determinada por la incidencia en pedúnculo (Figura 9), según Py (1969), *D. brevipex* presenta dos formas de reproducción, la partenogenética, la cual se da en áreas u órganos inferiores de la planta, tal como las axilas y el pedúnculo, en concordancia con lo anterior el MAG (2007), recomienda aplicar medidas de control cuando se determina la presencia de cochinilla harinosa en las axilas, ya que considerando esta forma de reproducción y su cercanía a las brácteas y base de la fruta ésta se podría diseminar fácilmente, comportamiento que se observó durante la fase experimental (Figura 13), estas además de ofrecer protección y hacer que el manejo sea aún más difícil, son áreas (corona y fruto) donde se da el segundo tipo de reproducción la biparenteral (Py 1969).

¹ Vargas, E. 2010. Coeficiente de determinación (entrevista). San Carlos, Costa Rica. Tecnológico de Costa Rica.



Figura 13. Pedúnculo y base de la fruta de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2, colonizada por *D. brevipes* en prueba de patogenicidad en Indaco Horquetas S.A. 2009.

Los aspectos antes mencionados podrían contribuir a que el 82% del nivel poblacional en el exterior de la fruta se deba a la incidencia en el exterior de la misma tal como se observó en la Figura 10, siendo este punto donde se da un nivel de daño económico ya que el manejo fitosanitario se intensifica a fin de evitar rechazos por la presencia de esta en la fruta. Por otra parte un 76% en el nivel poblacional a nivel interno en la fruta se debe a la incidencia en la parte interna de la misma (Figura 11).

5.5 Costo económico de los tratamientos

En lo referente al costo económico (Cuadro 3), se resume claramente el costo tanto en colones como dólares de los productos de cada tratamiento para el control de *D. brevipes* en la fase experimental.

Se observa que el tratamiento conformado por *B. thuringiensis* (T4), muestra un menor costo económico que las mezclas, las cuales representan un menor costo que los tratamientos *B. bassiana* (T1), *M. anisopliae* (T2) y *Trichoderma* spp. (T3), siendo estos últimos en forma individualmente un 29,4% del costo que conlleva el manejo fitosanitario de *D. brevipes* por parte de la empresa.

Cuadro 3. Costo en colones y dólares por hectárea, de los productos aplicados en cada uno de los tratamientos, durante el periodo de 21 semanas.

Tratamiento	Colones/ha/Periodo	Dólares/Ha/Periodo
<i>B. bassiana</i> (T1)	¢155.774,50	\$300,04
<i>M. anisopliae</i> (T2)	¢155.774,50	\$300,04
<i>Trichoderma</i> spp. (T3)	¢155.774,50	\$300,04
<i>B. thuringiensis</i> (T4)	¢118.680,00	\$228,59
50% T4 + 25% T1 + 25% T2 (T5)	¢137.227,25	\$264,32
50% T4 + 50% T3 (T6)	¢137.227,25	\$264,32
Testigo de la finca (T7)	¢530.102,22	\$1.021,04
Sin aplicar (T8)	¢0	\$0

Tipo de cambio de dólar: ¢519,18

Al analizar este costo económico, se concluye que el tratamiento de la finca (T7) representa un mayor costo económico que los tratamientos conformados por *Trichoderma* spp. (T3) y *B. thuringiensis* (T4), mismos que exhiben porcentajes de incidencia y niveles poblacionales menores al finalizar el ensayo a pesar de no encontrarse diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Considerando los resultados generados durante la investigación y correlaciones analizadas, aunque por el comportamiento inicial en las poblaciones, los datos no presentaron normalidad, ni se determinaron diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$), como se mencionó anteriormente, el tratamiento con *Trichoderma* spp. (T3) ofrece resultados promisorios, sobre todo si se considera la correlación de las Figura 10 y 11. Si se considera esta alternativa como una herramienta más dentro del manejo integrado de las plagas, en este caso de la cochinilla harinosa en el cultivo de la piña, con un criterio técnico acertado, es decir con conocimiento de cada uno de los componentes (Cultivo-Plaga-Ambiente-Alternativas de Combate), se podría promover a largo plazo la restauración de este agroecosistema e ir creando condiciones que a la vez promuevan la sostenibilidad del mismo.

6. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se desarrolló el presente trabajo, se concluye lo siguiente:

- Al inicio del ensayo se determinó una alta frecuencia de plantas libre de *D. brevipes* y una baja frecuencia del nivel poblacional superior a cero.
- El porcentaje de incidencia y nivel poblacional de *D. brevipes* obtenido durante el ensayo no presentan normalidad.
- No se determinaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en el porcentaje de incidencia de *D. brevipes* en plantas de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2 entre los tratamientos y los testigos debido a la alta frecuencia de plantas libres de *D. brevipes*.
- No existen diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en el nivel poblacional de *D. brevipes* en plantas de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2 entre los tratamientos y los testigos, debido a la alta frecuencia de plantas libres de *D. brevipes*.
- El nivel poblacional de *D. brevipes* en plantas de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2 del tratamiento conformado por *B. thuringiensis* + *B. bassiana* + *M. anisopliae* (T5) y *B. thuringiensis* + *Trichoderma* spp. (T6) al contrastarlos con sus componentes por separado, no muestran diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$), sin embargo el efecto de la mezcla es menor debido a los diferentes modos de acción de sus componentes.
- Se determinó que el porcentaje de incidencia de *D. brevipes* en axilas, pedúnculo, parte externa de la fruta e interna de la fruta de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2, se correlaciona fuertemente y con alto grado de

variabilidad conjunta con el nivel poblacional de estas mismas áreas respectivamente.

- Se determinó un comportamiento entomopatógeno de *Trichoderma* spp. (T3) sobre *D. brevipes*, observándose que luego de aplicado alcanza un 100 por ciento de plantas libres de insectos, sin embargo no se determinaron diferencias significativas ($p>0,05$) con respecto a los demás tratamientos evaluados.
- Se observó que el tratamiento conformado por *B. thuringiensis* (T5), mantuvo niveles muy bajos y constante de *D. brevipes* en plantas de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2.
- El testigo relativo (T7) muestra un mayor costo económico con respecto a los tratamientos evaluados, sin manifestar diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$) en el porcentaje de incidencia y nivel poblacional final de *D. brevipes* en plantas de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2.

7. RECOMENDACIONES

Con base a los resultados obtenidos en el ensayo, se recomienda que:

- Realizar muestreos de hormigas para su identificación y su relación con la cochinilla harinosa.
- Evaluar el nivel poblacional de hormigas, para emitir correlaciones entre estas y el nivel de incidencia de *D. brevipes* en plantas de *Ananas comosus* (L.) Merr. Híbrido MD-2.
- No realizar aplicaciones de Diazinon 30 días antes del establecimiento de muestreos y aplicaciones de los tratamientos biológicos.

8. LITERATURA CONSULTADA

- Alexopolus, C; Mins, C; Blackwell, M. 1996. Introductory mycology. 3 ed. New York. Editorial John Wiley & Sons.
- Altieri, MA; Nicholls, CI. 1994. Biodiversidad y manejo de plagas en agroecosistemas. 1era edición. Barcelona, España. Editorial Icaria. 247p.
- Alves, SB; Lecuona, R. 1998. Epizootiología aplicada ao controle microbiano de insetos. En: Alves, S. B. (ed.), Controle microbiano de insetos. 2. ed. Biblioteca de Ciencias Agrarias Luiz de Queiroz, Piracicaba, Brasil. pp97-163.
- Arboleda, JW; Delgado, F y Valencia, A. 2003. Detection of beauvericin in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* by using polyclonal antibodies. Revista de Entomopatología de Colombia 30 (2): 125-130 (en línea). Consultado el 24/02/2010. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882004000200001&lng=es&nrm=iso.
- Arce, R; Chacón, E; Chaves, G; Tristán, A. 2009. Estadísticas de comercio exterior de Costa Rica 2009. 1ed. San José, Costa Rica. PROCOMER. 238p.
- Arias, S; López, JA. 2007. Manual para la inducción floral (forza) en piña (en línea). Consultado el 15/04/2009. Disponible en: www.fintrac.com/docs/RED/USAID_RED_Manual_Induccion_Floral_esp.pdf
- Barrantes, M. 2009. Cochinillas radicales del café. Revista informativa I-2009 ICAFE. 16p. (En línea). Consultado el 27/10/2010. Disponible en: http://www.icafe.go.cr/icafe/revista_informativa/revistas/2009/Revista%20I%20Sem%2009.pdf

- Bayer. sf. *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) (en línea). Consultado el 27/10/2010.
Disponible en:
<http://www.bayercropscience.com.pe/web/index.aspx?articulo=686>
- Braga, GUL; Flint, SD; Messias, CL; Anderson, AJ; Roberts DW. 2001. Effect of uv-b on conidia and germlings of the entomopathogenic hyphomycete *Metarhizium anisopliae*. *Mycological Res.* 105: 874-882.
- Cañedo, V; Ames T. 2004. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Lima Perú. Editorial Centro Internacional de la Papa. 62p.
- Carballo, M; Guharay, F; Lopez, JA. 2004. Control biológico de plagas agrícolas. Editorial CATIE. Managua Nicaragua. pp35-41.
- Carreño, IA. 2003. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis Bondar* (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero (en línea). Tesis de graduación en Microbiología Agrícola y Veterinaria. Bogotá, D. C. Colombia. Pontificia Universidad Javeriana. 101 p. Consultado el 18/04/2009. Disponible en: www.ciat.cgiar.org/ipm/pdfs/tesis_irina_alean.pdf. Fuente original: Bustillo, A. 2001. Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia. En: seminario Uso de entomopatógenos en Colombia. Sociedad Colombiana de entomología. Bogotá. pp30-53.
- Carrillo, MT; Blanco A. 2009. Potencial y Algunos de los Mecanismos de Acción de los Hongos Entomopatógenos para el Control de Insectos Plaga. *Acta Universitaria*, 19(2):40-49. Universidad de Guanajuato, México. (en línea). Consultado el 16/02/2010. Disponible en: redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/416/41611810005.pdf.

Carrillo, MT; Blanco A. 2009. Potencial y Algunos de los Mecanismos de Acción de los Hongos Entomopatógenos para el Control de Insectos Plaga. Acta Universitaria. 19(2):40-49. (en línea). Consultado el 16/02/2010. Disponible en: redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/416/41611810005.pdf. Fuente original: Jackson, MA; McGuire, MR; Lacey, LA; Wraight SP. 1997. Liquid culture production of desiccation tolerant blastospores of the bioinsecticidal fungus *P. fumosoroseus*. Mycol Res 101:35-41.

Carrillo, MT; Blanco A. 2009. Potencial y Algunos de los Mecanismos de Acción de los Hongos Entomopatógenos para el Control de Insectos Plaga. Acta Universitaria, Vol. 19, Núm. 2. Universidad de Guanajuato, México. pp. 40-49. (en línea). Consultado el 16/02/2010. Disponible en: redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/416/41611810005.pdf. Fuente original: Ayala-Zermeño MG, Mier T, Sánchez-Robles J, Toriello C (2005) Variabilidad intraespecífica del crecimiento de *L. lecanii* (= *V. lecanii*) por efecto de la temperatura. Rev Mex Mic 20:93-97.

Carvajal, C.1996. Mortalidad de larvas de *Phyllophaga menetriesi* (BLANCHARD) (COLEOPTERA: Scarabaeidae) debida a la aplicación combinada de *Beauveria* sp. (BALS.) VUIL, *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. y *Bacillus popilliae* (DUTKY). Tesis de Maestría. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 98p.

Carvajal, C.1996. Mortalidad de larvas de *Phyllophaga menetriesi* (BLANCHARD) (COLEOPTERA: Scarabaeidae) debida a la aplicación combinada de *Beauveria* sp. (BALS.) VUIL, *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. Y *Bacillus popilliae* (DUTKY). Tesis de Maestría. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 98p. Fuente original: Hurpin, B; Robert, P. 1968. Experiments on simultaneous infections of the common cockchafer, *Melolontha melolonta*. J. Inv. Path (USA). 11. 203-213. Ibarra, AM; Varela, A. 2002. Aislamiento, identificación y

caracterización de hongos como agentes potenciales de control biológico en algunas regiones Colombianas. Rev. Col. Entomol. 28(2):129-137.

Castañeda de Pretelt, P. 2003. Seminario sobre producción y manejo postcosecha de la piña para la exportación (en línea). Consultado el 27/10/2010. Disponible en: <http://www.oirsa.org/aplicaciones/subidoarchivos/BibliotecaVirtual/SeminarioProduccionManejoPina.pdf>.

Castellanos, D. 1997. Importancia en la patogenicidad de la acción enzimática del hongo *Beauveria bassiana* sobre la broca del café. Revista Colombiana de Entomología 23 (1-2): 65-71.

Castillo JA; Bellotti, AC. 1990. Caracteres diagnósticos de cuatro especies de piojos harinosos observaciones sobre algunos de sus enemigos naturales. Revista Colombiana de Entomología. 16(2):33-43.

Castillo, S. 2006. Uso de *Metarhizium anisopliae* para el control biológico del salivazo (*Aeneolamia* spp. y *Prosapia* spp.) en pastizales de *Brachiaria decumbens* en El Petén, Guatemala. Tesis de Magister Scientiae en Agricultura Ecológica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 78p. Fuente original: Hajek, A.E; Leger, R.J.St. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. Annual Review of Entomology 39:293-322.

Castillo, S. 2006. Uso de *Metarhizium anisopliae* para el control biológico del salivazo (*Aeneolamia* spp. y *Prosapia* spp.) en pastizales de *Brachiaria decumbens* en El Petén, Guatemala. Tesis de Magister Scientiae en Agricultura Ecológica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 78p. Fuente original: Sandino D, VM. 2003. Manejo integrado de la salivita de la caña de azúcar. Nicaragua. FUNICA/UNA/CATIE, 26p.

- Cisneros, F. 1995. Control de plagas agrícolas. 2da Edición. Editorial La Molina. Lima, Perú. 313p.
- Coto, D; Saunders, JL. 2004. Insectos plagas de cultivos perennes con énfasis en frutales en América Central. Turrialba, Costa Rica. Editorial CATIE. pp232-233.
- Couturier, G; Tanchiva, E; Cárdenas, R; González, J; Inga, H. 1994. Los insectos plaga del camu camu (*Myrciaria dubia h.b.ic*) y del arazá (*Eugenia stipitata Mc Vaughl*. Lima, Perú (en línea). Consultado el 20/01/2010. Disponible en: <http://www.bvcooperacion.pe/biblioteca/bitstream/123456789/1606/1/BVCI0001400.pdf>.
- De La Cruz, J; García, H. 2003. Operaciones postcosecha de la piña (en línea). Instituto tecnológico de Veracruz. Consultado el 15/04/2009. Disponible en: <http://www.fao.org/inpho/content/compend/text/ch33s/AE614s01.htm>.
- Delgado B, F; López F, Y; Giraldo C, EM. 2001. Actividad enzimática de hongos y su patogenicidad sobre *Hypothenemus hampei*. Revista Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 60: 43-49.
- Diffey, B.L. 1991. Solar ultraviolet radiation effects on biological systems. *Physics in Medicine and Biology* 36:299-328.
- Durán, J. 2004. Guía de ingredientes activos de bioplaguicidas. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE. Proyecto Fomento de Productos Fitosanitarios No Sintéticos. Turrialba, Costa Rica (en línea). Consultado el 24/02/2010. Disponible en: www.alianzaecocafeh.org/biblioteca/bioplaguicidas/guiaIngredientes.pdf
- Organización de Las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 2000. Evaluación de la contaminación del suelo (en línea). Consultado el

24/11/2010. Disponible en:
<http://www.fao.org/docrep/005/x2570s/x2570s00.htm>.

Fernández, O; Vega, L. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Costa Rica. Revista Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 62:96-100.

Ferrón, P.1978. Biological control of insect pest of entomopathogenous fungi. Annual Review of Entomology. 23:409-442.

Fuenmayor, MM. 1999. Evaluación de formulaciones y métodos de almacenamiento de aislamientos de *Beauveria bassiana* promisorias para el control de broca del café. Tesis de Maestría. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 82p.

Gary, CJ. 1992. The ecological significance of the big-headed ant in mealybug wilt disease of pineapple. Tesis de doctorado en entomología. Universidad de Hawaii (en línea). Consultado el 22/02/2010. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10125/9774>

Godoy, JC; Valera, RE; Guédez, C; Cañizalez, LM; Castillo, C. 2007. Determinación de temperatura y humedad óptima para la germinación y esporulación de cinco aislamientos de *Beauveria bassiana*. Universidad de los Andes. Caracas, Venezuela. (en línea). Consultado el 15/04/2009. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-78182007000300002&script=sci_arttext Fuente original: Baeteman, R. 1997. The development of a mycoinsecticide for the control of locust and grasshoppers. Outlook on Agriculture. 26:13-18.

González, H; Reimer, NJ; Johnson, MW. 1999. Survey of the natural enemies of *Dysmicoccus* mealybugs on pineapple in Hawaii (en línea). Consultado el 22/02/2010. Disponible en: www.springerlink.com/index/M8137802Q87T0367.pdf

- González, J; Vriesenga, J. 2006. Pineapple plant named 'P-1972' (en línea). Consultado el 15/04/2009. Disponible en:
www.patentstorm.us/patents/PP016396/description.html
- Gratereaux, WV. 2009. Potencial del uso de hongos entomopatógenos para el control de cochinilla (*Dysmicoccus brevipes*) en producción orgánica de piña (*Ananas comosus*). Tesis de Maestría. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 66p.
- Gullan, PJ; Martín, JH. 2009. Sternorrhyncha (jumping plant-lice, whiteflies, aphids, and scale insects). Encyclopedia of Insects. 2 ed. Elsevier, San Diego pp. 957–967 (en línea). Consultado el 20/01/2010. Disponible en:
http://www.elsevier.com/wps/find/bookdescription.cws_home/718546/description#description.
- Hara A, H; Niino-DuPonte R; Jacobsen C, M. 2001. Root Mealybugs of Quarantine Significance in Hawaii (en línea). Consultado el 20/01/2010. Disponible en: <https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/handle/10125/12306>
- Harman, GE. 2000. Myths and dogmas of biocontrol. Plant Dis 84:377-393 (en línea). Consultado el 27/10/2010. Disponible en:
<http://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS.2000.84.4.377>
- Harol, FM. 1999. In pursuit of the whole hypha. Fungal Genet. Biol. 27: 128-133.
- Hegedus, D; Khachatourians, G. 1995. The impact of biotechnology of hyphomycetous fungal insect biocontrol agents. Biotecnol. Adv. 13:455-490.
- Hernández, S; Benz, B. 1992. Natural enemy of *Macrodactylus murinus* Bates (Coleoptera; Scarabaeidae) in San Miguel, Sierra de Manantlan, Jalisco, Mexico (en línea). Consultado el 27/04/09. Disponible en:
<http://www.ucol.mx/revai/a/anteriores/anteriores/2004/VOL.1/Enemigos%20naturales%20de%20Macrodactylus%20murinus%20Bates.pdf>.

- Hidalgo, E. 1999. Control de plagas agrícolas y forestales con agentes microbiológicos. Turrialba, Costa Rica. Editorial CATIE. pp22-24.
- Hillocks, R J; Waller, JM. 1997. Associations between soilborne pathogens and other soilinhabiting microorganisms. CAB International. pp351-364.
- Hu, J. S; Sether, D. M; Ullman, D. E.1996. Detection of pineapple closterovirus in pineapple plants and mealybugs using monoclonal antibodies. Plant Pathology. 45:829-836.
- Ibarra, AM; Varela, A. 2002. Aislamiento, identificación y caracterización de hongos como agentes potenciales de control biológico en algunas regiones Colombianas. Rev. Col. Entomol. 28(2):129-137.
- Jackson, T. 1999. Bacterias para el control de insectos en Hidalgo E. 1999. Control de plagas agrícolas y forestales con agentes microbiológicos. Turrialba, Costa Rica. Editorial CATIE. 36p.
- Jiménez, A. 1999. Cultivo de la piña de exportación. Cartago, Costa Rica. Editorial Tecnológica. 224p.
- Jones, RL. 1994. Role of field studies in assessing enviromental behavior of herbicides. Proc. Brighton crop protection conference. Weeds. 3:1275-1282.
- Kershaw, MJ; Talbot, NJ. 1998. Hydrophobins and repellents: proteins with fundamental roles in fungal morphogenesis. Fungal Genet. Biol. 23:18-33.
- Khachatourians, G. 1996. Biochemistry and molecular biology of entomopathogenic fungi. En Howard, DH; Miller, JD (Eds.) The mycota VI. Human and animal relationship. Springer. Berlin, Alemania pp331-364.
- Lecuona, RE. 1996. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Buenos Aires Argentina. Talleres Gráficos Mariano Mas. 338p.

- López, M, LM. 1994. Uso de entomopatógenos y parasitoides como control biológico de plagas y enfermedades en el cultivo del café. San José Costa Rica. MAG. 62p.
- Luz, C; Fargues, J. 2000. Effects of fluctuating moisture and temperature regimes on the infection potential of *Beauveria bassiana* for *Rhodnius prolixus*. *Journal of Invertebrate Pathology* 75(3): 202-211.
- Machin de Oroño, T. 1991. Plagas y enfermedades forestales en América Central: Guía de campo. Turrialba, Costa Rica. Editorial CATIE. 236p.
- Manzur, JL. 2009. Resolución 456/09-MS - SALUD PUBLICA - Prohíbe la producción, importación, comercialización, cesión gratuita y/o uso de determinados compuestos químicos. (en línea). Consultado el 20/10/2010. Disponible en: www.puntoprofesional.com/P/.../MS_456-09.HTM
- Mau, R; Jayma, L. 2007. *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) (en línea). Consultado el 15/04/2009. Disponible en: www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/.../d_brevip.htm
- Méndez, L. 2007. Seminario de perspectivas para la investigación y producción de bioinsumos en Colombia. Bogotá, Colombia (en línea). Consultado el 22/02/2010. Disponible en: webiica.iica.ac.cr/colombia//03.../BIOECOLGICOS%20LTDA.pdf
- Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). 2007. Cadena Agroalimentaria del Cultivo de Piña en Distrito de Chires de Puriscal (en línea). Consultado el 22/02/2010. Disponible en: www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/a00059.pdf
- Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). 2006. Programa de agencia de servicios agropecuarios (en línea). Consultado el 28/07/2009. Disponible en: http://www.mag.go.cr/regionales/p_hn_p_viejo_03-06.pdf

- Monte, E; Llobell. 2003. Trichoderma in organic agriculture (en línea). Consultado el 27/10/2010. Disponible en:
http://www.avocadosource.com/WAC5/Papers/WAC5_p725.pdf
- Montilla, R; Camacho, B; Quintero, A; Cardozo, G. 2006. Parasitismo por *Beauveria bassiana* sobre la broca del café, en el estado Trujillo, Venezuela (en línea). Consultado el 24/02/2010. Disponible en:
sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/.../at5602/.../montilla_r.pdf
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Revista Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 63:95-103.
- Pariona, N; Castellanos, P; León, E. 2007. Entomocidal ability of native strains *Beauveria* sp. on *Schistocerca piceifrons peruviana* (Lynch Arribalzaga, 1903). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú (en línea). Consultado el 24/02/2010. Disponible en:
Sisbib.unmsm.edu.pe/Bvrevistas/biologia/v14n2/.../a12v14n2.pdf
- Paterson, I; Charnley, K; Cooper, R; Clarkson, J. 1994 Specific induction of cuticle-degrading protease of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Microbiology (140):185-189 (en línea). Consultado el 27/10/2010. Disponible en: <http://aem.asm.org/cgi/content/full/70/7/3898>.
- Peña, JE; Sharp, JL; Wysoki, M. 2002. Tropical Fruit Pests and Pollinators: Biology, Economic Importance, Natural Enemies and Control CABI Publishing. Oxon, UK. 181p. (en línea). Consultado el 28/07/2009. Disponible en:
http://www.cabi.org/bk_BookDisplay.asp?SubjectArea=&Subject=&PID=133
Fuente original: Ito, K. 1938. Studies on the life history of the pineapple mealybug. Journal of economic entomology pp291-298.

- Pérez, C.N. 2004. Manejo Ecológico de Plagas. Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural – CEDAR. 296p.
- Petty, GJ; Tustin, H. 1993. Ant (*Pheidole megacephala f.*) mealybug (*Dysmicoccus brevipes* ckl.) relationships in pineapples in South Africa. Acta hort. (ishs) 334:387-396. http://www.actahort.org/books/334/334_41.htm
- Py, C. 1969. La Piña Tropical. 1erª edición. Barcelona. España. Editorial Blume. 278p.
- Quesada-Moraga, E; Santiago-Álvarez, C. 2008. Hongos entomopatógenos en Urbaneja, A; Jacas, JA. 2008. Control biológico de plagas agrícolas. 1^{era} edición. España. Editorial Phytoma. 496p.
- Ramos A, A; Serna F, J. 2004. Coccoidea de Colombia, con énfasis en las cochinillas harinosas (Hemiptera: Pseudococcidae) (en línea). Consultado el 20/01/2010. Disponible en: redalyc.uaemex.mx/redalyc/.../ArtPdfRed.jsp.
- Ramos A, A; Serna F, J. 2004. Coccoidea de Colombia, con énfasis en las cochinillas harinosas (Hemíptera: pseudococcidae) (en línea). Consultado el 20/01/2010. Disponible en: redalyc.uaemex.mx/redalyc/.../ArtPdfRed.jsp
Fuente original: Williams, D; Granara de Willink, M. 1992. Mealybugs of Central and South América. London, UK, CAB Internacional. 635p.
- Ramos, A. 2006. Chinchas harinosas (Hemiptera: Pseudococcidae y Putoidae) en cinco cultivos de la región andina colombiana. Tesis Mag. Sc. Bogotá, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. 90p.
- Ribera P, M. 2002. Producción del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* utilizando medios caseros de esterilización. Tesis Lic. Ing. Agr. Guácimo, Costa Rica: Universidad EARTH, 43p. Fuente original: Burgues, H; Hussey, N. 1971. Microbial control of insects and mites. ACADEMIC PRES INC. New York, Estados Unidos. 861p.

- Riquelme M, Reynaga PCG, Gires G, Bartnicki GS (1998) What Determines Growth Direction in Fungal Hyphae?. *Fungal Genet. Biol.* 24:101-109.
- Rohrbach, KG; Marshall, WJ. 1994. Pest diseases and weeds. En Bartholomew, DP; Paull, RE; Rohrbach KG. *The pineapple botany production and uses.* New York, USA. Cabs international. 247p.
- Samson, J. 1991. *Fruticultura tropical.* D.F. México. Editorial Limusa. 396p.
- Sancho; E; Barahona, M. 1991. *Fruticultura especial: Piña y Papaya.* Fruticultura II. San José. Editorial UNED. 46p.
- Sauka, DH; Benintende, GB. 2008. *Bacillus thuringiensis: generalidades.* Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas (en línea). *Revista Argentina de microbiología.* Consultada el 27/04/09. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-75412008000200013&script=sci_arttext. Fuente original: Bravo, A; Gómez, I; Conde, J; Muñoz-Garay, C; Sánchez, J; Miranda, R. 2004. Oligomerization triggers binding of a *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab pore-forming toxin to aminopeptidase N receptor leading to insertion into membrane microdomains. *Biochim Biophys.* 6:38-46.
- Sauka, DH; Benintende, GB. 2008. *Bacillus thuringiensis: generalidades.* Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas (en línea). *Revista Argentina de microbiología.* Consultada el 27/04/09. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-75412008000200013&script=sci_arttext. Fuente original: Gordon, R; Haynes, W; Pang, C. 1973. The genus *Bacillus*. En: *US Department of Agriculture handbook N° 427.* Washington DC. USDA. pp109-126.
- Sauka, DH; Benintende, GB. 2008. *Bacillus thuringiensis: generalidades.* Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas (en línea). *Revista Argentina de microbiología.* Consultada

el 27/04/09. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-75412008000200013&script=sci_arttext.

Sauka, DH; Benintende, GB. 2008. *Bacillus thuringiensis*: generalidades. Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas (en línea). Revista Argentina de microbiología. Consultada el 27/04/09. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-75412008000200013&script=sci_arttext. Fuente original: Schnepf, E; Crickmore, N; Van Rie, J; Lereclus, D; Baum, J; Feitelson, J. 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. Microbiol Mol Biol Rev. 62: 775-806.

Saunders, JL; Coto, D; King, A. 1998. Plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. Turrialba, Costa Rica. Editorial CATIE. pp232-233.

Subiros, F. 2000. El cultivo de la caña de azúcar. 1^{era} edición. San José, Costa Rica. Editorial EUNED. 448p.

Syngenta. 2004. Hoja de información de seguridad del Diazol 50ew (en línea). Consultado el 22/02/2010. Disponible en: www.syngenta.cl/prodyserv/fitosanitarios/.../Diazol50EW.pdf

Urbaneja, A; Jacas, JA. 2008. Control biológico de plagas agrícolas. 1er^a edición. España. Editorial Phytoma. 496p.

Valenzuela, E. 1987. Microorganismos entomopatógenos. 1. Ed. México. Editorial Universidad Autónoma de Chapingo. 107p.

Vásquez, CA; Saldarriaga, Y; Pineda F. 2004. Compatibilidad del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* con triflumuron. Revista Colombiana de Entomología. Bogotá, Colombia. (en línea). Consultado el 16/02/2010. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-04882004000100004&script=sci_arttext. Fuente original: Hurpin, B; Robert,

- P. 1968. Experiments on simultaneous infections of the common cockchafer, *Melolontha melolonta*. J. Inv. Path (USA). 11. 203-213.
- Vásquez, J. 2009. Evaluación de la eficacia in vitro de sustancias químicas y microorganismos antagónicos del género *Trichoderma* spp., como herramienta para la toma de decisiones en el control de enfermedades “caso muerte descendiente del cultivo de piña *Ananas comosus* (L) Merr”. Tesis de licenciatura en Ingeniería en Agronomía. San Carlos, Costa Rica. ITCR. 70p.
- Vergara, R. 2004. Enfoque agroecológico del empleo de entomopatógenos para el control de plagas. Consultado el 24/02/2010. Disponible en: <http://www.agro.unalmed.edu.co/departamentos/agronomia/docs/ENFOQUE%20AGROECOLOGICOVERGARA.pdf>.
- Vila, A; Sedano M; López, A; Juan AA. sf. Análisis de regresión y correlación lineal. Universidad Oberta de Catalunya. España (en línea). Consultado el 23/02/2010. Disponible en: www.uoc.edu/in3/emath/docs/RegresionLineal.pdf
- Villegas, O; Vargas, F; Pérez, J; García, RB; Porras, S; Meneses, D; Quesada, A; Delgado, G; Alpizar, D; Mora, B; León, R; Alfaro, D. 2007. Caracterización y plan de acción para el desarrollo de la agrocadena de Piña en la región Huetar Norte (en línea). Consultado el 11/04/2009. Disponible en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/ac-pina-rhn-2007-resumen.pdf>.
- Wessels, JGH. 1999. Fungi in their own right. Fungal Genet. Biol. 27:134-145.
- Yasem de Romero, MG; Salvatore, AR; López, G; Willink, E. 2008. Presencia natural de hongos hyphomycetes en larvas invernantes de *Diatraea saccharalis* F. en caña de azúcar en Tucumán, Argentina. Tucumán, Argentina. (en línea) Consultado el 16/02/2010. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-30182008000200005.

9. ANEXOS

Anexo 1. Prueba de Friedman para determinar diferencias estadísticas entre las áreas de muestreo de la planta.

Variables	Muestras	Chi-squared	df	p-value
axilas	1	7,5625	7	0,3727
	2	7,4149	7	0,3866
	3	8,8594	7	0,2629
	4	3,2736	7	0,8586
	5	6,414	7	0,4923
	1+2+3+4+5	7,525	7	0,3763
Pedúnculo	1	Na	7	Na
	2	10,6364	7	0,1553
	3	5,5263	7	0,596
	4	7	7	0,4289
	5	7	7	0,4289
	1+2+3+4+5	6,7425	7	0,4562
Fruta	1	Na	7	Na
	2	Na	7	Na
	3	8,0667	7	0,3268
	4	7	7	0,4289
	5	3,1023	7	0,8754
	1+2+3+4+5	3,3091	7	0,855

Anexo 2. Prueba de Friedman para determinar diferencias estadísticas entre los tratamientos en la variable de nivel poblacional.

Variables	Muestreos	Chi-squared	df	p-value
Nivel poblacional de adultos en axilas.	1	4,4972	7	0,721
	2	5,069	7	0,6515
	3	13,4167	7	0,06258
	4	4,404	7	0,7322
	5	6,5971	7	0,472
	1+2+3+4+5	4,6761	7	0,6994
Nivel poblacional de ninfas en axilas.	1	7,2217	7	0,4062
	2	7,7101	7	0,3588
	3	11,5294	7	0,1171
	4	4,8182	7	0,6821
	5	7,9202	7	0,3397
	1+2+3+4+5	10,2742	7	0,1736
Nivel poblacional de ninfas en pedúnculo.	1	Na	7	Na
	2	11,4211	7	0,1213
	3	7	7	0,4289
	4	Na	7	Na
	5	7	7	0,4289
	1+2+3+4+5	7,5537	7	0,3736
Nivel Poblacional de adultos en pedúnculo.	1	Na	7	Na
	2	6	7	0,5397
	3	7	7	0,4289
	4	7	7	0,4289
	5	7	7	0,4289
	1+2+3+4+5	8,7143	7	0,2738
Nivel poblacional de adultos en frutas.	1	Na	7	Na
	2	Na	7	Na
	3	5,5455	7	0,5937
	4	5,3885	7	0,6127
	5	3,8889	7	0,7925
	1+2+3+4+5	4,3	7	0,7446
Nivel poblacional de ninfas en frutas.	1	Na	7	Na
	2	Na	7	Na
	3	6	7	0,5397
	4	6	7	0,5397
	5	3,4444	7	0,841
	1+2+3+4+5	5,8085	7	0,5623

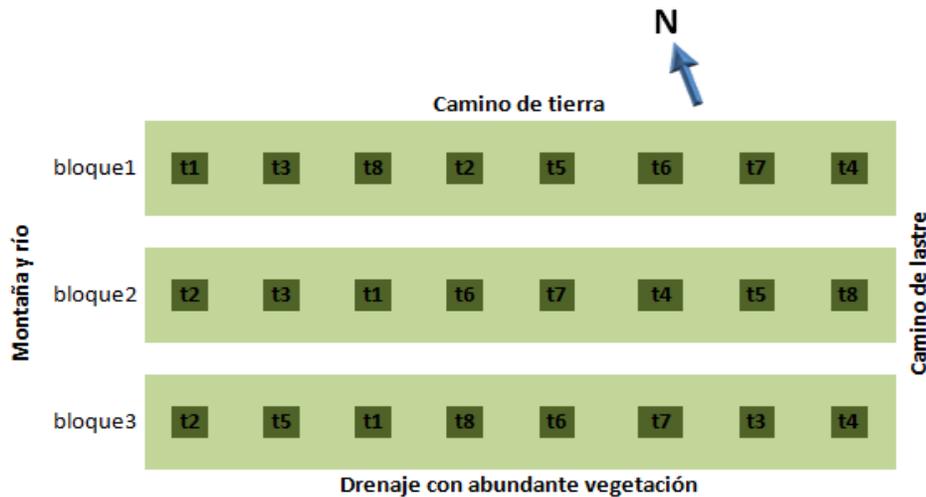
Anexo 3. Prueba de Friedman para determinar diferencias estadísticas entre los tratamientos en la variable de incidencia.

Variables	Muestreos	Chi-squared	df	p-value
Incidencia de adultos en axilas.	1	9,0435	7	0,2495
	2	5,069	7	0,6515
	3	8,963	7	0,2553
	4	4,3333	7	0,7407
	5	5,7647	7	0,5675
	1+2+3+4+5	4,5085	7	0,7197
Incidencia de ninfas en axilas.	1	7,1321	7	0,4153
	2	7,3483	7	0,3935
	3	8,6923	7	0,2755
	4	4,8182	7	0,6821
	5	7,4712	7	0,3815
	1+2+3+4+5	11,5061	7	0,1180
Incidencia de ninfas en pedúnculo.	1	Na	7	Na
	2	11,4211	7	0,1213
	3	7	7	0,4289
	4	Na	7	Na
	5	7	7	0,4289
	1+2+3+4+5	8,36	7	0,3019
Incidencia de adultos en pedúnculo.	1	Na	7	Na
	2	6	7	0,5397
	3	7	7	0,4289
	4	7	7	0,4289
	5	7	7	0,4289
	1+2+3+4+5	11	7	0,1386
Incidencia de adultos en frutas.	1	Na	7	Na
	2	Na	7	Na
	3	8,6154	7	0,2815
	4	7,4828	7	0,3804
	5	4,4783	7	0,7233
	1+2+3+4+5	5,4225	7	0,6085
Incidencia de ninfas en frutas.	1	Na	7	Na
	2	Na	7	Na
	3	6	7	0,5397
	4	7	7	0,4289
	5	3,4444	7	0,841
	1+2+3+4+5	5,4	7	0,6113

Anexo 4. Prueba de Friedman para determinar diferencias estadísticas entre los tratamientos en las variables de incidencia y nivel poblacional en el interior de la fruta.

Variables	Chi-squared	df	p-value
Incidencia interna	6,0059	7	0,5391
Nivel poblacional interno	5,25	7	0,6295

Anexo 5. Croquis del área donde se realizó el ensayo.



Anexo 6. Precipitación registrada entre agosto y diciembre del 2009, en la zona del ensayo.

