

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
ESCUELA DE BIOLOGÍA

**Evaluación del potencial de hongos entomopatógenos para el control de saltahojas plaga (Hemiptera: Cicadellidae), en plantaciones de *Dracaena marginata* (Agavaceae)**

Tesis sometida a consideración del Tribunal del Trabajo Final de Graduación, como requisito para optar por el grado de: Licenciatura en Biología con énfasis en Manejo Integrado de Plagas

**Ana Priscilla Benavides Morera**

San José, Costa Rica  
2010

## Integrantes del Tribunal del Trabajo Final de Graduación

---

Dr. Paul Hanson Snortum  
**Director de Tesis**

---

M.Sc. Carolina Godoy Cabrera  
**Miembro del Comité Asesor**

---

M.Sc. Eduardo Hidalgo Jaminson  
**Miembro del Comité Asesor**

---

Dra. Virginia Solís Alvarado.  
**Decana de la Facultad de Ciencias Básicas**  
**Presidenta del Tribunal**

---

Ana Priscilla Benavides Morera  
**Estudiante**

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, febrero 2010

## DEDICATORIA

A aquellos productores de plantas ornamentales, en especial a los que siembran *Dracaena* sp., a quienes buscan controlar los insectos plaga en sus fincas y deben enfrentar presiones fitosanitarias para exportar su producto limpio. Espero que opten por un manejo integrado de los insectos plaga en sus cultivos y eviten el uso excesivo de agroquímicos.

## AGRADECIMIENTOS

A Gerardo y Grace, papá y mamá, por todo su apoyo, confianza, colaboración, paciencia y ejemplo durante mi vida, en especial en esta etapa de tesis. Gracias a la familia, quienes buscaron siempre una forma de aportar durante este período, Chary, Kb, Isaac y Alejandro.

Gracias a Jose Gregorio, mi querer, por impulsarme a terminar este trabajo, por confiar en mis capacidades, por interesarse en lo que hacía y por compartir conmigo los proyectos a futuro...

A Eduardo Hidalgo, muchas gracias por sus enseñanzas, por su tiempo y paciencia, gracias por su asesoría en esta tesis y por darme un espacio en Fitoprotección.

Al Programa de Material Propagativo Sano de *Dracaena* (Clean Stock Program) por el financiamiento en esta investigación y a Tamara Benjamín por permitirme ser parte del equipo.

Al Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza por la disponibilidad de hacer uso de sus instalaciones y equipo.

Gracias también a Paul Hanson y Carolina Godoy quienes aportaron con sus conocimientos en el desarrollo de este trabajo.

A Gera, Lind, Beatriz, Alexis, Arturito, Armando, Kenneth, Hjalmar, Claudio, Mildred y Heiner... gracias amigos.

A todos los productores de *Dracaena marginata* quienes permitieron el ingreso a sus fincas y facilitaron nuestras labores, muchas gracias!

## RESUMEN

El mercado de plantas ornamentales para exportación, entre ellas *Dracaena marginata*, ha tenido gran auge durante los últimos años, en Costa Rica. Sin embargo, se ve amenazado por el alto número de intercepciones en los cargamentos que ingresan a Estados Unidos debido a la presencia de plagas cuarentenarias.

En busca de controlar las poblaciones de cicádelidos en el campo, plaga que representa el mayor porcentaje de las intercepciones, se evaluó el potencial de control de tres hongos entomopatógenos, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* sobre *Oncometopia clarior*, *Cladwelliola reservata* y *Empoasca sp.*, tres de los cicádelidos identificados como plagas cuarentenarias en *D. marginata*.

Se realizaron pruebas de virulencia a nivel de laboratorio en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, con tres repeticiones de cada hongo y tres de tratamiento testigo, aplicados a cada una de las tres especies de saltahojas, recolectados en el campo. *B. bassiana* presentó los más altos porcentajes de mortalidad sobre *O. clarior* y *C. reservata*, mientras que para *Empoasca sp.* se dieron con *P. fumosoroseus*. Se probó la compatibilidad de tres productos dispersantes para mejorar la formulación de las suspensiones de hongos, con Tween 80® como testigo. Nu film® fue el producto en el que se dio la mayor germinación en promedio para los tres hongos. Se evaluó el efecto del pH en suspensiones de *B. bassiana*, con tres productos dispersantes, en un rango de pH de 5-9, la germinación de *B. bassiana* con NP7® fue mayor a un pH de 7, con Nu film® a 5 y para Kaytar® se dio a un pH de 8.

Se realizó una prueba en el campo donde se consideró el pH y el dispersante de las suspensiones de hongos. Consistió en cuatro bloques con cuatro tratamientos cada uno, de cada hongo entomopatógeno, más un testigo. Se evaluó el número de cicádelidos muertos con hongo en las plantas y se midió indirectamente la población de cicádelidos mediante trampas amarillas antes y después de las aplicaciones de los tratamientos. Sin embargo los resultados obtenidos no evidencian un efecto de los hongos sobre la población de cicádelidos en los bloques de la finca donde se realizó el ensayo. Se analizó la compatibilidad de tres aceites en suspensiones con cada uno de los hongos entomopatógenos, para aumentar la eficacia de estos sobre los cicádelidos; el mayor porcentaje de germinación en promedio fue con Limonoil®. Se añadió aceite en las suspensiones para una segunda prueba en plantaciones de *D. marginata*. Las fluctuaciones de población que se observaron durante el período de evaluación, no mostraron ningún efecto causado por los hongos entomopatógenos.

# ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
RESUMEN	v
ÍNDICE GENERAL	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
LISTA DE UNIDADES, ABREVIATURAS Y SIGLAS	x
1. INTRODUCCIÓN	11
1.1 Antecedentes	12
1.2 Justificación	16
1.3 Objetivos	17
1.3.1 Objetivo general	17
1.3.2 Objetivos específicos	17
2. MATERIALES Y MÉTODOS	18
2.1 Ubicación y descripción del área de estudio	18
2.2 Búsqueda de hongos entomopatógenos que causan mortalidad en cicadélidos	18
2.3 Selección y pruebas de virulencia, de los aislamientos de hongos entomopatógenos a nivel de laboratorio contra adultos de <i>O. clarior</i> , <i>Caldwelliola</i> sp. y <i>Empoasca</i> sp.	20
2.4 Efecto de surfactantes, pH y aceite, sobre la efectividad de las suspensiones de conidios de los hongos entomopatógenos	23
2.4.1 Prueba de compatibilidad de los hongos entomopatógenos con dispersantes (surfactantes) en la preparación de suspensiones	23
2.4.2 Influencia del pH de la suspensión en el porcentaje de germinación	24
2.4.3 Comparación del efecto de <i>B. bassiana</i> , <i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i> sobre la población de cicadélidos en el campo, con dispersante en la suspensión del hongo.	25

2.4.4 Prueba de compatibilidad de hongos entomopatógenos con aceite en la preparación de las suspensiones	26
2.4.4.a Compatibilidad de aceites en suspensión de conidios, con tres productos diferentes	26
2.4.4.b Aplicación en campo	27
3. RESULTADOS	29
3.1 Búsqueda de hongos entomopatógenos que causan mortalidad en cicadélidos	29
3.2 Selección y pruebas de virulencia, de los aislamientos de hongos entomopatógenos a nivel de laboratorio contra adultos de <i>O. clarior</i> , <i>Caldwelliola</i> sp. y <i>Empoasca</i> sp.	29
3.3 Efecto de surfactantes, pH y aceite, sobre la efectividad de las suspensiones de conidios de los hongos entomopatógenos	32
3.3.1 Prueba de compatibilidad de los hongos entomopatógenos con dispersantes (surfactantes) en la preparación de suspensiones	32
3.3.2 Influencia del pH de la suspensión en el porcentaje de germinación	34
3.3.3 Comparación del efecto de <i>B. bassiana</i> , <i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i> sobre la población de cicadélidos en el campo, con dispersante en la suspensión del hongo	35
3.4. Prueba de compatibilidad de hongos entomopatógenos con aceite en la preparación de las suspensiones	37
3.4.1 Compatibilidad de aceites en suspensión de conidios, con tres productos diferentes	37
3.4.2 Aplicación en campo de suspensiones con aceite y dispersante	38
4. DISCUSIÓN	41
4.1 Selección y pruebas de virulencia, de los aislamientos de hongos entomopatógenos a nivel de laboratorio contra cicadélidos.	41
4.2 Efecto de surfactantes, pH y aceite, sobre la efectividad de las suspensiones de conidios de los hongos entomopatógenos.	42
4.2.1 Prueba de compatibilidad de los hongos entomopatógenos con dispersantes (surfactantes) en la preparación de suspensiones	42
4.2.2 Influencia del pH de la suspensión en el porcentaje de germinación de los conidios	43
4.2.3 Comparación del efecto de <i>B. bassiana</i> , <i>M. anisopliae</i> y <i>P. fumosoroseus</i> sobre la población de cicadélidos en el campo, con	44

dispersante en la suspensión del hongo	
4.3. Prueba de compatibilidad de hongos entomopatógenos con aceite en la preparación de las suspensiones	45
4.3.1. Compatibilidad de aceites en suspensión de conidios, con tres productos diferentes	45
4.3.2 Aplicación en campo de suspensiones con dispersante y con aceite.	46
5. CONCLUSIONES	49
6. RECOMENDACIONES	50
7. REFERENCIAS	51
8. ANEXOS	56

## ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1: Ubicación de sitios de colecta y donde se efectuaron las pruebas de campo: a. Finca Agroexportaciones BW, b. Freddy Méndez, c. Ornamentales CyR, d. Mundiplantas.

Fig. 2: bolsas de malla donde se mantenían los insectos, durante el período de evaluación en las pruebas de virulencia con *O. clarior*.

Fig. 3: Inoculación con hongos entomopatógenos a cicadélidos *Empoasca* sp. y *C. reservata* mediante un aerógrafo para las pruebas de virulencia.

Fig. 4: Viales de plástico donde se mantuvieron los cicadélidos (*Empoasca* sp. y *C. reservata*) durante el período de evaluación en las pruebas de virulencia.

Fig. 5: Adulto de *Gyponana* infectado con el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*

Fig. 6: Mortalidad de *O. clarior* frente a tres hongos entomopatógenos aplicados a una concentración de  $5 \times 10^7$  con/ml bajo condiciones de laboratorio.

Fig. 7: Individuos de *O. clarior* con esporulación tras haber sido inoculados con a) *B. bassiana* y b) *M. anisopliae* en la prueba de virulencia.

Fig. 8: Mortalidad de *Empoasca* sp. frente a tres hongos entomopatógenos aplicados a una concentración de  $5 \times 10^7$  con/ml bajo condiciones de laboratorio.

Fig. 9: Mortalidad de *C. reservata* frente a tres hongos entomopatógenos aplicados a una concentración de  $5 \times 10^7$  con/ml bajo condiciones de laboratorio

Fig. 10: Porcentaje de germinación de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus*, en suspensión con cuatro productos dispersantes distintos.

Fig. 11: Porcentaje de germinación de *B. bassiana* en suspensiones con tres dispersantes a cinco niveles de acidez distintos.

Fig. 12: Número de individuos de *C. reservata* (a.), *Empoasca* sp. (b.), Otros cicadélidos (c.) y total de cicadélidos (d.) en cuatro bloques de prueba en Mundiplantas, Siquirres. Durante tres semanas de evaluación.

Fig. 13: Porcentaje de germinación de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus*, en suspensiones con tres aceites distintos.

Fig. 14: Número de individuos de *C. reservata* (a.), *Empoasca* sp. (b.), Otros cicadélidos (c.) y Total de cicadélidos (d.) en cuatro bloques de prueba, en Ornamentales C y R, Siquirres. Durante cuatro semanas de evaluación.

## LISTA DE UNIDADES, ABREVIATURAS Y SIGLAS

APHIS	Animal and Plant Health Inspection Service
CATIE	Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza
CSP	Clean Stock Program
PROCOMER	Promotora del Comercio Exterior de Costa Rica
USDA	United States Department of Agriculture
ml	Mililitros
mm	Milímetros
μl	Microlitros
psi	Libras por pulgada cuadrada

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 ANTECEDENTES

Las plantas ornamentales se encuentran entre los 50 principales productos de exportación en Costa Rica. El cultivo de plantas ornamentales representa un 4% del total de exportaciones del país, porcentaje que ha venido creciendo en los últimos años. Este crecimiento se refleja en un ingreso total de US \$70 millones para el año 2005, frente a US \$83 millones para el 2008 (Arce *et al.* 2009). Sin embargo, a pesar del auge que ha tenido la industria de ornamentales en los últimos 20 años, se han registrado más de 7000 intercepciones por la presencia de plagas cuarentenarias en cargamentos de plantas exportadas desde Costa Rica hacia los Estados Unidos en el Servicio de Inspección y Sanidad Animal (APHIS) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) en Miami.

Las intercepciones registradas en cargamentos de plantas ornamentales representan un 30% del total de las intercepciones en los productos agrícolas costarricenses, este es el número más alto para cualquier país que exporta plantas ornamentales hacia los Estados Unidos. Según Arce *et al.* (2009), Estados Unidos es el principal destino al que se exporta *Dracaena*, seguido por Holanda; lo que significa que la presencia de plagas cuarentenarias pone en riesgo un mercado muy importante para la industria de los ornamentales. Según la Base de Datos de APHIS, las intercepciones a embarques costarricenses de *Dracaena* han sido reportadas por: cicadélidos (40.54%), tetigónidos (13.51%), pentatómidos (13.51%), cóccidos (2.70%) y pseudocóccidos (2.70%), entre otras plagas en menor porcentaje.

Las *Dracaena* son plantas ornamentales cultivadas en el país para exportación. Este género se clasifica en la familia Agavaceae, género del cual se han descrito aproximadamente 40 especies y de las que solamente, seis se producen en forma comercial como ornamentales. Aunque son plantas originarias de África y Asia, crecen en la mayoría de las regiones tropicales del mundo (Colpetzer 2005). Las

*Dracaena* se destacan por la gama de colores en sus hojas, como por ejemplo: var. verde, tricolor y magenta, que son variedades cultivadas comercialmente en Costa Rica. Tradicionalmente se comercializaba como hijos (*tips*), pero en los últimos años ha habido una fuerte demanda del mercado por otros tipos de productos, entre los cuales se incluyen cañas rectas, candelabros, múltiples, *branches* (ramas), *character* y *stumps* (tallos) (Prado 2006).

Los saltahojas, como se les llama comúnmente a los cicadélidos, son en muchos casos los insectos más abundantes en número y diversidad de especies dentro de un agroecosistema, como sucede en las plantaciones de *Dracaena*. Los cicadélidos tienen piezas bucales succionadoras con las que se alimentan del xilema o floema de plantas. Poseen además una excelente agudeza visual, detectan varios colores con preferencia por los tonos amarillos (Tipping y Mizell 2004). Mundialmente, existen alrededor de 20 000 especies descritas para la familia Cicadellidae. En Costa Rica se estiman entre 800 – 1000 especies presentes (com. pers. Carolina Godoy, abril 08, Universidad Estatal a Distancia).

Existen tres principales cicadélidos que se encuentran en las plantaciones de *Dracaena marginata*, que además son reconocidos y reportados como plagas cuarentenarias en los puestos de control. *Oncometopia clarior* tiene adultos de 9 a 12mm y cubre sus huevos con brochosoma, sustancia blanca compuesta por lipoproteínas que dan protección a la masa de huevos (Azevedo-Filho y Carvalho 2005). *Empoasca* sp., son cicadélidos verdes de no más de 3 mm de longitud, sus huevos son muy difíciles de distinguir y se ha llegado a observar 50 ninfas eclosionadas de un tip (cogollo) al que no se le detectaron huevos (Clean Stock Program (CSP), datos no publicados). *Caldwelliola reservata* pone sus huevos de unos 3 mm en pares sobre las hojas. King y Saunders (1984) exponen que los adultos de *Caldwelliola* son de coloración crema y con medidas de 5 – 7mm y que son vectores de la bacteria *Xylella fastidiosa*, al igual que *Oncometopia*.

Actualmente, los problemas de generación de resistencia en las plagas hacia los productos químicos, así como los perjuicios provocados por la fabricación y uso de los plaguicidas, tanto por la contaminación en el ambiente como por los riesgos para la salud, se está tratando de desarrollar nuevas y menos contaminantes estrategias de Manejo Integrado de Plagas mediante el control biológico (Leucona 2002). Los hongos entomopatógenos son considerados como los agentes de control biológico más promisorios contra insectos chupadores, como el caso de los áfidos, escamas, moscas blancas y cicadélidos, ya que pueden infectar a los insectos directamente a través de la penetración de la cutícula. Sus múltiples mecanismos de acción les confieren una alta capacidad para evitar que el hospedero desarrolle resistencia. Pero estos productos dependen generalmente de las condiciones ambientales, de la temperatura (25° C) y de elevada humedad relativa para que su desarrollo y acción patógena sean los adecuados (Alean *et al.* 2004).

Según Ramírez (1991) existen alrededor de 700 especies de hongos entomopatógenos en casi 100 géneros aproximadamente. Varias de estas especies han sido evaluadas para el control de insectos y existen en el mercado como bioinsecticidas de fácil aplicación, rentables y ambientalmente inocuos.

El control de cicadélidos mediante el uso de hongos entomopatógenos ha sido reportado por Ibarra-Aparicio *et al.* (2005), donde probaron el efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre la chicharrita del maíz (*Dalbulus maidis*), además mencionan que esas dos especies de hongos no habían sido probadas contra hemípteros vectores del suborden Auchenorrhyncha, como son los miembros de las familias Cicadellidae y Delphacidae. Sin embargo, Tounou *et al.* (2003) evaluaron *M. anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* sobre *Empoasca decipiens*. Para 2005, Pu *et al.* (2005) probaron *Beauveria bassiana* en *Empoasca vitis*.

## 1.2 JUSTIFICACIÓN

El porcentaje más alto de las intercepciones hechas a los cargamentos de *Dracaena* provenientes de Costa Rica, que se realizan en los puestos de entrada a los Estados Unidos, son a causa de la presencia de cicadélidos. El manejo de esta plaga a nivel de las plantaciones es urgente para disminuir su incidencia en el producto exportable, además de afianzar el mercado estadounidense, principal mercado al que Costa Rica exporta plantas ornamentales.

Probar la efectividad de nuevas opciones de control de insectos plaga, ambientalmente inocuas, así como para quienes las aplican en el campo, es una acción clave para bajar el tamaño de las poblaciones de saltahojas en los cultivos de ornamentales. El control biológico, mediante el uso de hongos entomopatógenos, representa una alternativa para el control de estas poblaciones en el campo y una manera de reducir su presencia en los embarques. El alto número de intercepciones que se dan a las importaciones de *Dracaena* en el mercado estadounidense por plagas cuarentenarias provenientes de Costa Rica, trae al país consecuencias que afectan no sólo al sector productor, sino al país en general (CSP 2005).

Actualmente, con la firma de los tratados de libre comercio y la globalización, los países deben implementar normas fitosanitarias y cumplir con certificaciones e inspecciones sobre los productos que exportan e ingresan al país. Los productores deben enfrentar el reto de mejorar las condiciones fitosanitarias del cultivo, con el objetivo de disminuir las intercepciones cuarentenarias en los puertos de Estados Unidos, lo cual amenaza con el cierre del mercado si Costa Rica no desarrolla alternativas para la reducción de agentes plaga en los embarques.

## 1.3 OBJETIVOS

### 1.3.1 Objetivo general:

Evaluar el potencial de hongos entomopatógenos en el control de saltahojas plaga (Hemiptera:Cicadellidae) en plantaciones de *D. marginata*

### 1.3.2. Objetivos específicos:

- Localizar, recolectar e identificar hongos entomopatógenos que causen mortalidad en cicadélidos relacionados con el cultivo de *D. marginata*
- Realizar una selección y pruebas de virulencia de los hongos entomopatógenos en el laboratorio contra adultos de los cicadélidos *Oncometopia clarior*, *Caldwelliola reservata* y *Empoasca* sp.
- Determinar si los componentes (productos surfactantes, pH de la suspensión, aceite) de las suspensiones de conidios de los hongos entomopatógenos, influyen en la efectividad de estos durante su aplicación en el campo.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS:**

### **2.1 Ubicación y descripción del área de estudio:**

El estudio se realizó en dos etapas, una etapa se ubicó en el laboratorio de la Unidad de Fitoprotección del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), en Turrialba y una segunda etapa se llevó a cabo en el campo. Las pruebas de campo se realizaron en lotes de *D. marginata* var. verde de las fincas MundiPlantas y Ornamentales CyR, ubicadas en Pocora, Siquirres, a 65 m.s.n.m. Los insectos para las pruebas de virulencia fueron recolectados de las dos fincas mencionadas anteriormente, así como también de las fincas Agroexportaciones BW y la finca de Freddy Méndez, ambas localizadas en Sarapiquí, a 180 m.s.n.m. (Fig.1). Esta tesis se desarrolló entre los meses de junio 2008 a marzo del 2009.

### **2.2 Búsqueda de hongos entomopatógenos que causan mortalidad en cicadélidos.**

Se inició con una búsqueda de cicadélidos (adultos y ninfas) en el campo, aquellos que presentaran sintomatología característica de un ataque de hongos entomopatógenos, que mostraran un crecimiento de micelio por sus aberturas (tegumento, boca, ano, espiráculos). A los insectos que fueron localizados con micelio, se les colocó en frascos secos para su transporte y procesamiento en el laboratorio. Los especímenes fueron luego colocados en cámara húmeda para estimular el desarrollo de micelio y conidias que permitieran su aislamiento e identificación.

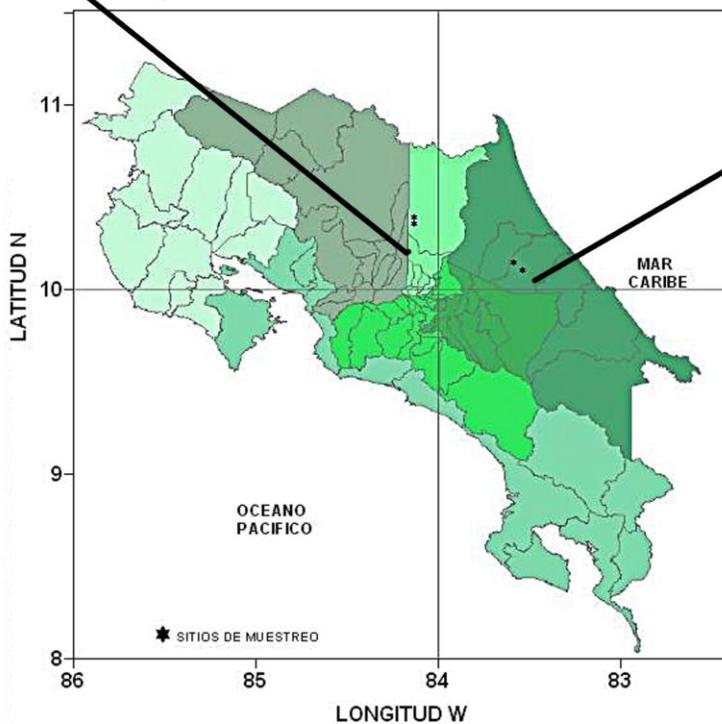


Fig. 1: Ubicación de sitios de recolecta y donde se efectuaron las pruebas de campo: a. Finca Agroexportaciones BW, b. Freddy Méndez, c. Ornamentales CyR, d. Mundiplantas.

### **2.3 Selección y pruebas de virulencia, de los aislamientos de hongos entomopatógenos a nivel de laboratorio contra *Oncometopia clarior*, *Caldwelliola reservata* y *Empoasca* sp.**

Se realizaron aislamientos de una cepa de *Beauveria bassiana* encontrada en el campo y se comparó con cepas de *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus*, pertenecientes a la colección de hongos entomopatógenos de la Unidad de Control Microbiano del CATIE. Se hicieron diez platos Petri con medio PDA más el inóculo, para los tres hongos entomopatógenos. Estos platos se colocaron en bandejas plásticas dentro de una incubadora a 24°C, donde permanecieron por 15 días para su crecimiento y esporulación. Tras haber esporulado los hongos, se colocaron los platos Petri con los hongos en refrigeración a 4°C, para conservarlos para las pruebas de virulencia.

La suspensión de conidios de cada uno de los hongos para estas pruebas se preparó raspando la superficie de los cultivos en los platos Petri. El inóculo se colocó en agua con Tween 80® al 0.5%, respectivamente para cada hongo. Se realizaron conteos de esporas luego de homogeneizar las suspensiones, se tomó una muestra que se colocó en una cámara hematocitométrica de Neubauer, se realizó el conteo de esporas en el microscopio óptico y se obtuvo el número promedio de conidios por campo. Una vez conocida la cantidad de esporas/ml, se procedió a hacer las diluciones correspondientes para obtener las suspensiones a una concentración aproximada de  $5 \times 10^7$  conidios/ml, para ser aplicada a los cicadélidos. Se hicieron tres repeticiones para cada uno de los hongos (*Beauveria*, *Metarhizium* y *Paecilomyces*) y tres repeticiones para el tratamiento testigo, para cada una de las especies de cicadélidos sobre las que se evaluó el efecto de los hongos. El ensayo consistió entonces en tres tratamientos con hongo aplicados a cicadélidos adultos, además del testigo. Excepto en la prueba contra *Caldwelliola* en la cual se efectuó la prueba sobre ninfas.

La inoculación de los insectos de *Oncometopia* se hizo con una botella de 110ml con boquilla de asperjar (spray). Los diez cicadélidos para cada repetición eran colocados en un recipiente, uno distinto para cada hongo, con el fin de no mezclarlos y evitar la contaminación y se les roció la suspensión con el hongo para luego liberarlos en una bolsa de malla (Marquisette liso). Estas bolsas contenían un tip o caña de *D. marginata* enraizado (de 20 pulgadas) en una maceta con tierra, sobre el que se ponían los insectos ya inoculados con el respectivo hongo entomopatógeno (Fig. 2).



Fig. 2: bolsas de malla donde se mantenían los insectos, durante el período de evaluación en las pruebas de virulencia con *O. clarior*.

En las pruebas de virulencia contra *Empoasca* sp. y *Caldwelliola*, se inocularon los cicadélidos en cajas de vidrio (Fig. 3), una para cada hongo aplicado. Se utilizó un aerógrafo con un compresor a una presión de 30psi para obtener un rocío más fino, dado el tamaño de los insectos. Luego, los insectos inoculados eran colocados en viales de plástico con tapa de tela y con hojas de *Dracaena* dentro. Estas hojas se cambiaron día a día para que estuvieran turgentes y alimentaran a los insectos. Además, las repeticiones de *Empoasca* y *Caldwelliola* se mantuvieron todas en incubadora a 25°C durante los días de evaluación.



Fig. 3: Inoculación con hongos entomopatógenos a cicadélidos *Empoasca* sp. y *C. reservata* mediante un aerógrafo para las pruebas de virulencia.



Fig. 4: Viales de plástico donde se mantuvieron los cicadélidos (*Empoasca* sp. y *C. reservata*) durante el período de evaluación en las pruebas de virulencia.

Estas pruebas de virulencia fueron realizadas por un período de 6 ó 7 días, durante los cuales se evaluó la mortalidad acumulada de los cicadélidos, diariamente para cada repetición. Los insectos que morían eran separados y colocados en cámara húmeda, para así estimular la esporulación de los hongos sobre el insecto. Este procedimiento se realizó para los insectos del género *Oncometopia*, *Caldwelliola* y *Empoasca*.

Se realizó una prueba individual para cada especie, con un diseño en bloques completos al azar. Los datos del porcentaje de mortalidad fueron sometidos a un análisis de varianza con el paquete estadístico Infostat, para determinar diferencias

estadísticas entre los diferentes tratamientos. Las comparaciones entre tratamientos se realizaron mediante la prueba LSD de Fisher.

#### **2.4. Efecto de surfactantes, pH y aceite, sobre la efectividad de las suspensiones de conidios de los hongos entomopatógenos.**

##### **2.4.1 Prueba de compatibilidad de los hongos entomopatógenos con dispersantes (surfactantes) en la preparación de suspensiones**

La prueba consistió en utilizar tres diferentes productos dispersantes, accesibles en el mercado, en la preparación de las suspensiones de hongos entomopatógenos y observar con cuál presentan un mayor porcentaje de germinación las esporas. Los nombres comerciales de los productos son NP7®, Nu film®, Kaytar® y además Tween 80® al 0.5% como tratamiento testigo. Se realizó la prueba con *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus*. Para cada hongo se preparó una suspensión de conidios usando los diferentes productos. Esto se hizo raspando la superficie del plato Petri con el cultivo del hongo y haciendo una suspensión en agua, a la que se le agregó el dispersante respectivo, en las dosis que recomienda cada producto. A estas soluciones madre se les realizó conteos de conidios para determinar su concentración. Luego se llevaron a una concentración estándar aproximada de  $5 \times 10^6$  conidios/ml en suspensiones de 100 ml de cada hongo, para cada uno de los productos dispersantes a utilizar.

Con estas suspensiones, se inocularon tres platos Petri por dispersante por hongo, colocando 100  $\mu$ l en cada uno y distribuyéndolo sobre el medio de cultivo (PDA) por todo el plato, con una asa esterilizada. Se hicieron tres repeticiones por dispersante por cada hongo, para un total de doce platos por hongo. Se sellaron con Parafilm® y se colocaron en incubadora a 24°C por 20 horas para su germinación. Al final de ese tiempo se les roció formalina al 10%, para detener el crecimiento de las esporas y proceder a determinar los porcentajes de germinación en cada plato.

Para determinar el porcentaje de germinación de los conidios en cada plato se tiñó un área del plato Petri con una gota de Lactofenol/Azul Algodón. Sobre esta área, se colocó un cubreobjetos y se llevó el plato Petri al microscopio para el conteo, a 40x. Se cuantificaron las esporas germinadas o no, hasta alcanzar 100 unidades. El ensayo tuvo un diseño irrestricto al azar y los datos de porcentaje de germinación fueron sometidos a un análisis de varianza utilizando el paquete estadístico Infostat, para determinar diferencias estadísticas entre los diferentes dispersantes. Las comparaciones entre tratamientos se realizaron mediante la prueba LSD de Fisher.

#### **2.4.2 Influencia del pH de la suspensión en el porcentaje de germinación**

Esta prueba se aplicó solamente a *Beauveria bassiana*. Se utilizaron tres dispersantes presentes en el mercado: NP7®, Nu film® y Kaytar®, evaluándose a cinco niveles de pH diferentes cada uno. Se preparó una suspensión madre de conidios del hongo con cada uno de los dispersantes para producir cinco suspensiones de 100 ml de aproximadamente  $5 \times 10^6$  conidios/ml con pH de 5, 6, 7, 8 y 9, respectivamente. Se les aumentó el pH con hidróxido de sodio 1,25 M y disminuyó con ácido láctico 25%. Luego se inocularon tres platos Petri por cada pH, para cada uno de los productos dispersantes. Se sellaron con Parafilm® y se colocaron en incubadora a 24°C por 20 horas para su germinación. Al final de ese tiempo se les roció formalina al 10% para detener el crecimiento y determinar los porcentajes de germinación en cada plato. El porcentaje de germinación de los conidios se determinó con el mismo método descrito anteriormente en la sección 2.4.1

#### **2.4.3 Comparación del efecto de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus* sobre la población de cicadélidos en el campo, con dispersante en la suspensión del hongo.**

Esta prueba se efectuó en la finca Mundiplantas en Siquirres, sobre cultivo de *D. marginata* var. verde. Consistió en marcar cuatro bloques dentro del cultivo; en cada bloque se distribuyeron cuatro parcelas (tratamientos), una para cada uno de los

hongos entomopatógenos a aplicar, más una parcela como testigo. Cada parcela estuvo definida por cinco filas de plantas con sus entrecalles, aproximadamente 5m de ancho, por el largo del lote que eran 20m. Previo a la aplicación de los tratamientos, se colocaron trampas amarillas con pegamento (Biotrap®) dentro del cultivo, a 5 m de cada borde y a una altura de 0,5m para evaluar la población de cicadélidos asociados al cultivo. Se usaron dos trampas por tratamiento o parcela, para un total de ocho trampas por bloque. Estas se recogieron después de un periodo de 24 horas para trasladarlas al CATIE y realizar los conteos de los insectos atrapados.

Los tratamientos consistieron en aplicaciones con bomba de motor (STIHL®) de suspensiones de *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *P. fumosoroseus* en una concentración de  $5 \times 10^7$  conidios/ml y un testigo absoluto, por bloque. Se aplicó de manera directa, tanto a plantas de *Dracaena* como a la maleza, avanzada la tarde para mantener la viabilidad de los hongos.

Se evaluaron los cuatro bloques a los ocho y quince días después de la aplicación, colocando de nuevo las trampas amarillas pegajosas por un período de 24 horas en cada evaluación. Además se evaluaron cinco puntos al azar dentro de cada tratamiento, en los cuatro bloques siguiendo un transecto en zigzag, en busca de insectos atacados por el hongo. En caso de encontrarse alguno, se guardaba en frascos secos para luego colocarlos en cámara húmeda para estimular la esporulación.

El diseño estadístico del ensayo consistió en bloques completos al azar con tres tratamientos, un testigo absoluto y cuatro repeticiones. Los datos de abundancia relativa de insectos y el número de insectos infectados por hongo se analizaron mediante ANDEVA, utilizando el paquete estadístico Infostat. Las comparaciones entre tratamientos se realizaron mediante la prueba LSD de Fisher.

#### **2.4.4 Prueba de compatibilidad de hongos entomopatógenos con aceite en la preparación de las suspensiones**

##### **2.4.4.a Compatibilidad de aceites en suspensión de conidios, con tres productos diferentes**

Se probaron tres diferentes aceites: Agroil®, Limonoil® y aceite vegetal. Con cada aceite se prepararon tres suspensiones con conidios en polvo de *M. anisopliae*, *B. bassiana* y *P. fumosoroseus*, respectivamente, en viales. A estas suspensiones se les dio un período de 24 horas, en incubadora a 25°C. Al cabo del cual, se tomó una muestra para ser emulsificada con agua. Con esta suspensión de hongos en aceite y agua, se inocularon tres platos por hongo para cada uno de los aceites. Se sellaron todos los platos Petri con Parafilm® y se colocaron en incubadora a 24°C para determinarles el porcentaje de germinación a las 24 horas. Los conteos se realizaron como se describió en la sección 2.4.1.

##### **2.4.4.b Aplicación en el campo, adicionando dispersante y aceite a las suspensiones**

Esta prueba se efectuó en la finca Ornamentales CyR, sobre un cultivo de *D. marginata* var. verde. Consistió en marcar tres bloques dentro del cultivo, en cada uno se distribuyeron cuatro parcelas (tratamientos) al azar. Cada parcela estuvo definida por diez filas de plantas con sus entrecalles, parcelas de aproximadamente 10m de ancho por 15m de largo; con un borde de tres filas entre cada bloque. En estos bloques se aplicaron las suspensiones de *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *P. fumosoroseus* agregando aceite Limonoil® y NP7 como dispersante, una en cada parcela, así como un testigo absoluto por bloque, con una bomba de motor (STIHL®). Estas suspensiones se aplicaron de manera directa, tanto a plantas de *Dracaena* como a la maleza.

Para evaluar el efecto de los hongos entomopatógenos sobre las poblaciones de cicadélidos asociados al cultivo, se colocaron trampas amarillas con pegamento

(Biotrap®). Las trampas estuvieron a 5m de los bordes hacia el interior de cada parcela, a una altura de 1m. En cada parcela se ubicaron dos trampas durante diez días, antes de la primera aplicación (denominada Semana 0), lo que permitió conocer la población de cicadélidos al inicio del ensayo. Luego, estas trampas se recogieron y se colocaron trampas nuevas. Se realizó la primer aplicación según el hongo que correspondiera a cada parcela. Diez días después, se realizó lo segunda aplicación y se cambiaron las trampas de nuevo. De igual forma para la tercera aplicación en los mismos bloques, otros diez días después. Las últimas trampas se recogieron a los diez días de la tercera aplicación.

Todas las trampas fueron trasladadas al CATIE para realizar los conteos de los cicadélidos atrapados. Se contabilizaron por separado los *C. reservata*, *Empoasca* sp., otros cicadélidos y luego el total de cicadélidos. El diseño estadístico del ensayo consistió en bloques completos al azar con tres tratamientos, un testigo absoluto y cuatro repeticiones. Los datos de abundancia relativa de insectos se analizaron mediante ANDEVA, utilizando el paquete estadístico Infostat. Las comparaciones entre tratamientos se realizaron mediante la prueba LSD de Fisher

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Búsqueda de hongos entomopatógenos que causan mortalidad en cicadélidos.

En el campo, se localizó un adulto de *Gyponana* infectado por *Beauveria bassiana* (Fig. 5), de donde se aisló la cepa 0600, que se utilizó en las pruebas de laboratorio y de campo. Esta cepa de *B. bassiana* se comparó con una cepa de *Metarhizium anisopliae* (R-CP-2) y con una cepa de *Paecilomyces fumosoroseus* (0485), pertenecientes a la colección de hongos entomopatógenos de la Unidad de Control Microbiano del CATIE, con el fin de aumentar el número de géneros de hongos probados contra cicadélidos.



Fig. 5: Adulto de *Gyponana* infectado con el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*.

#### 3. 2 Selección y pruebas de virulencia, de los aislamientos de hongos entomopatógenos contra cicadélidos, a nivel de laboratorio.

La prueba de virulencia sobre *O. clarior*, fue evaluada por un período de seis días. El porcentaje de mortalidad en el testigo alcanzó valores iguales o mayores a los de los tratamientos. La mortalidad en general mostró una tendencia lineal ascendente alcanzando valores superiores al 80% después de los seis días de incubación (Fig. 6).

A pesar de que el Testigo presentó un alto porcentaje de mortalidad en esta prueba, el efecto del hongo entomopatógeno sobre los insectos inoculados fue evidente al trasladar los individuos muertos de cada tratamiento, así como del testigo, a cámaras húmedas separadas donde se dio la esporulación de los que habían sido inoculados con *B. bassiana* y *M. anisopliae* (Fig 7). El análisis de varianza aplicado a esta prueba no mostró diferencias significativas entre los tratamientos aplicados a adultos de *O. clarior* (Anexo 1.a).

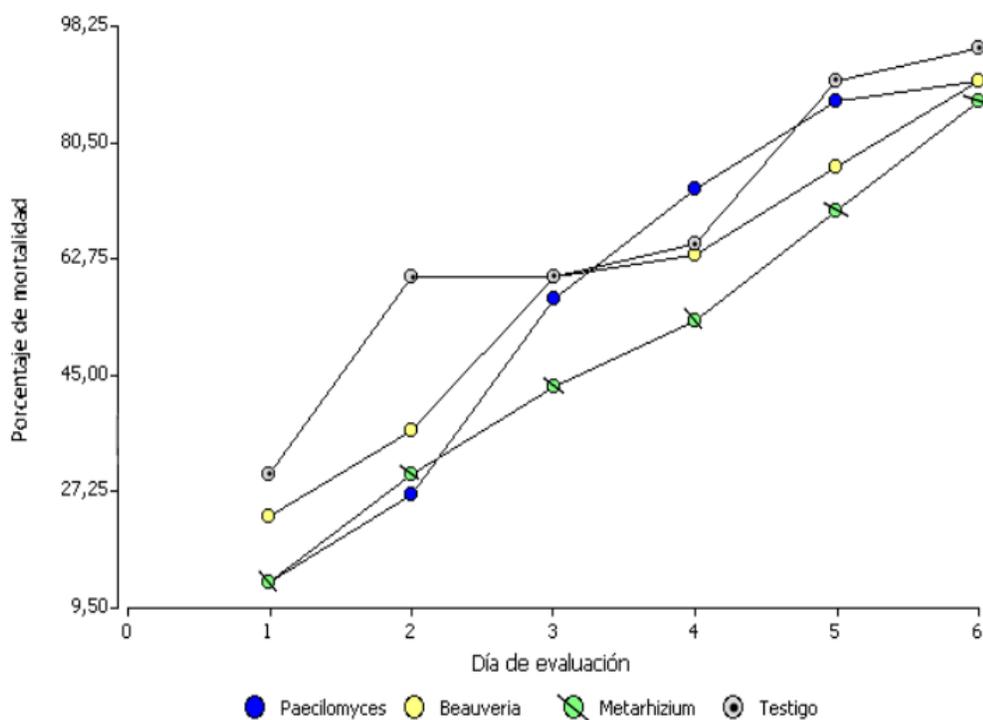


Fig. 6: Mortalidad de *O. clarior* frente a tres hongos entomopatógenos aplicados a una concentración de  $5 \times 10^7$  con/ml bajo condiciones de laboratorio

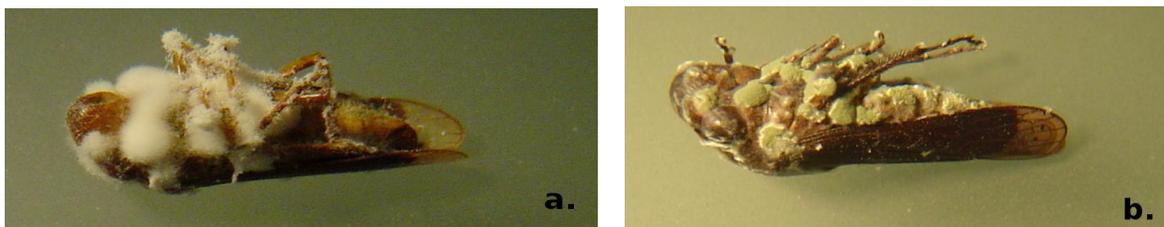


Fig. 7: Individuos de *O. clarior* con esporulación tras haber sido inoculados con a) *B. bassiana* y b) *M. anisopliae* en la prueba de virulencia.

Los resultados obtenidos con los adultos de *Empoasca* sp. en las pruebas de virulencia, fueron de una mayor mortalidad para los insectos del tratamiento de *P. fumosoroseus*, seguido del tratamiento con *M. anisopliae*, durante los cuatro primeros días de evaluación. En este caso, los insectos muertos no presentaron esporulación para ninguno de los tratamientos aplicados, al ser colocados en cámaras húmedas. Pero el análisis de varianza si mostró diferencias significativas entre los tratamientos aplicados a *Empoasca* sp. ( $F= 2,81$ ;  $gl=3$ ;  $p= 0,0453$ ) (Anexo 1.b), especialmente en los días 2 y 3 del período de evaluación donde el testigo está por debajo del porcentaje de mortalidad de los tratamientos aplicados.

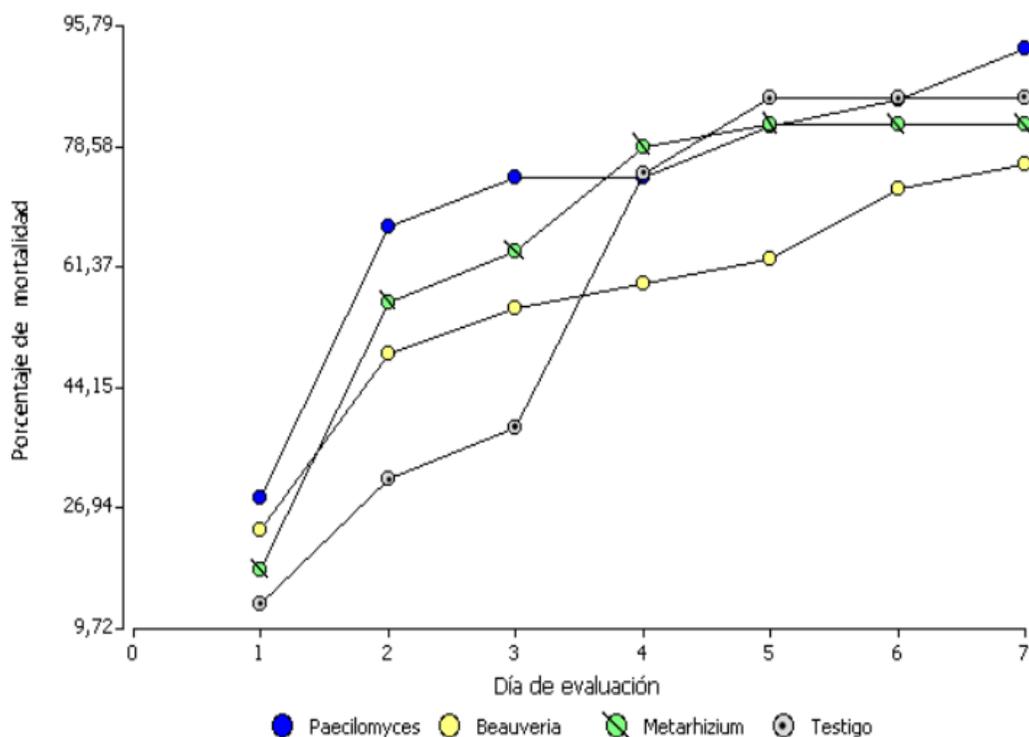


Fig. 8: Mortalidad de *Empoasca* sp. frente a tres hongos entomopatógenos aplicados a una concentración de  $5 \times 10^7$  con/ml bajo condiciones de laboratorio

La prueba de virulencia de *C. reservata* se realizó con ninfas puesto que no se alcanzaba la cantidad de individuos adultos necesaria para cada repetición en todos los tratamientos. Para esta prueba, el tratamiento con *B. bassiana* fue el que mostró el porcentaje más alto de mortalidad sobre los cicadélidos, durante todo el período de

evaluación (Fig. 9). Para los días 3 y 4 del período de evaluación, los porcentajes de mortalidad para los tratamientos con hongos entomopatógenos, fueron superiores a los que presentó el testigo. El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los tratamientos ( $F=4,88$ ;  $gl=3$ ;  $p=0,038$ ) (Anexo 1c).

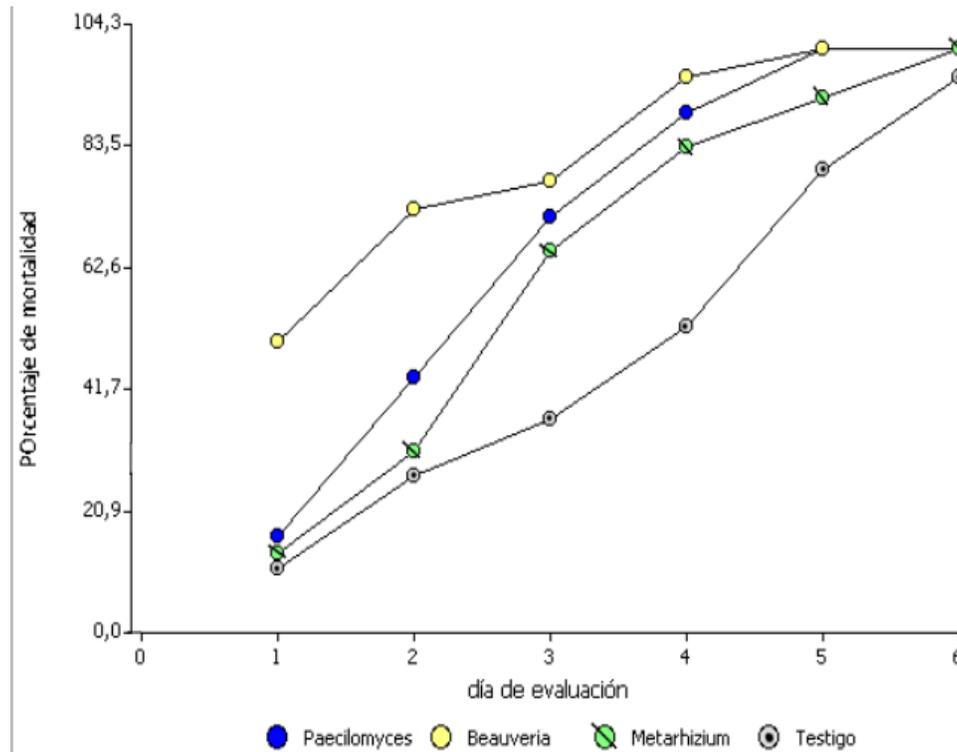


Fig. 9: Mortalidad de *C. reservata* frente a tres hongos entomopatógenos aplicados a una concentración de  $5 \times 10^7$  con/ml bajo condiciones de laboratorio

### 3.3 Efecto de surfactantes, pH y aceite, sobre la efectividad de las suspensiones de conidios de los hongos entomopatógenos.

#### 3.3.1 Prueba de compatibilidad de los hongos entomopatógenos con dispersantes (surfactantes), en la preparación de suspensiones.

El porcentaje de germinación para los tres hongos entomopatógenos utilizados durante este ensayo y con cada uno de los cuatro productos dispersantes fue mayor al 85%, lo que sugiere que sí hay compatibilidad entre estos productos

dispersantes en las suspensiones, con los hongos entomopatógenos. En promedio, el mayor porcentaje de germinación se dio con Nu film® con 98,44%. Sin embargo para cada hongo en específico, hubo un dispersante con el que se dio una mayor germinación. Así, para *M. anisopliae* hubo un mayor número de conidios germinados con Nu film®, en el caso de *P. fumosoroseus* el dispersante NP7® permitió un mayor porcentaje de germinación y para *B. bassiana* fue en Tween (Fig. 10). El análisis de varianza muestra diferencias significativas entre los dispersantes utilizados en este ensayo ( $F=3,16$ ;  $gl=3$ ;  $p=0,039$ ) (ver anexo 2).

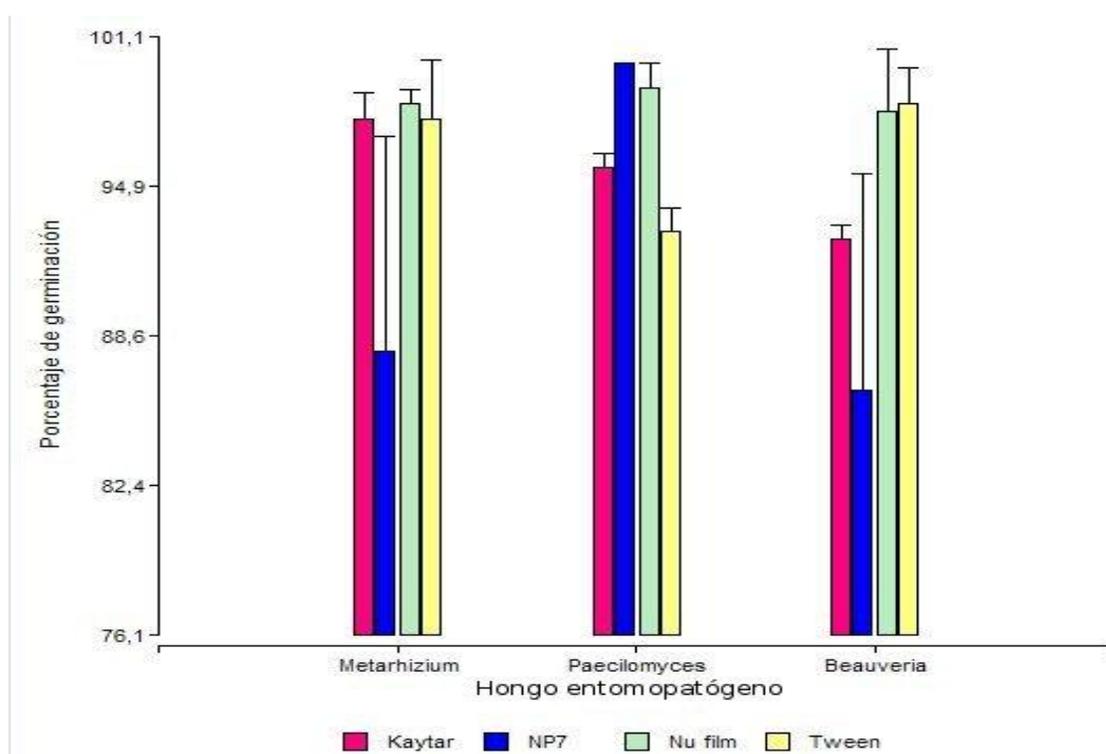


Fig. 10: Porcentaje de germinación de *B.bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus*, en suspensión con cuatro productos dispersantes distintos.

### 3.3.2 Influencia del pH de la suspensión en el porcentaje de germinación de los conidios.

Se realizó la prueba únicamente con el hongo *B. bassiana*. El porcentaje de germinación que se obtuvo con todos los dispersantes excedió el 80%, y en los cinco niveles de pH a los que se llevaron las suspensiones (Fig 11). El porcentaje más alto para cada dispersante fue: NP7® a un pH de 7, para Nu film® se dio a 5 y para Kaytar® el porcentaje mayor de germinación se dio a un pH de 8. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos pero si entre las interacciones dispersante – pH, ( $F=4,04$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,0024$ ) (ver anexo 3), por lo que se obtuvo un porcentaje de germinación mayor a niveles distintos de pH, con cada dispersante.

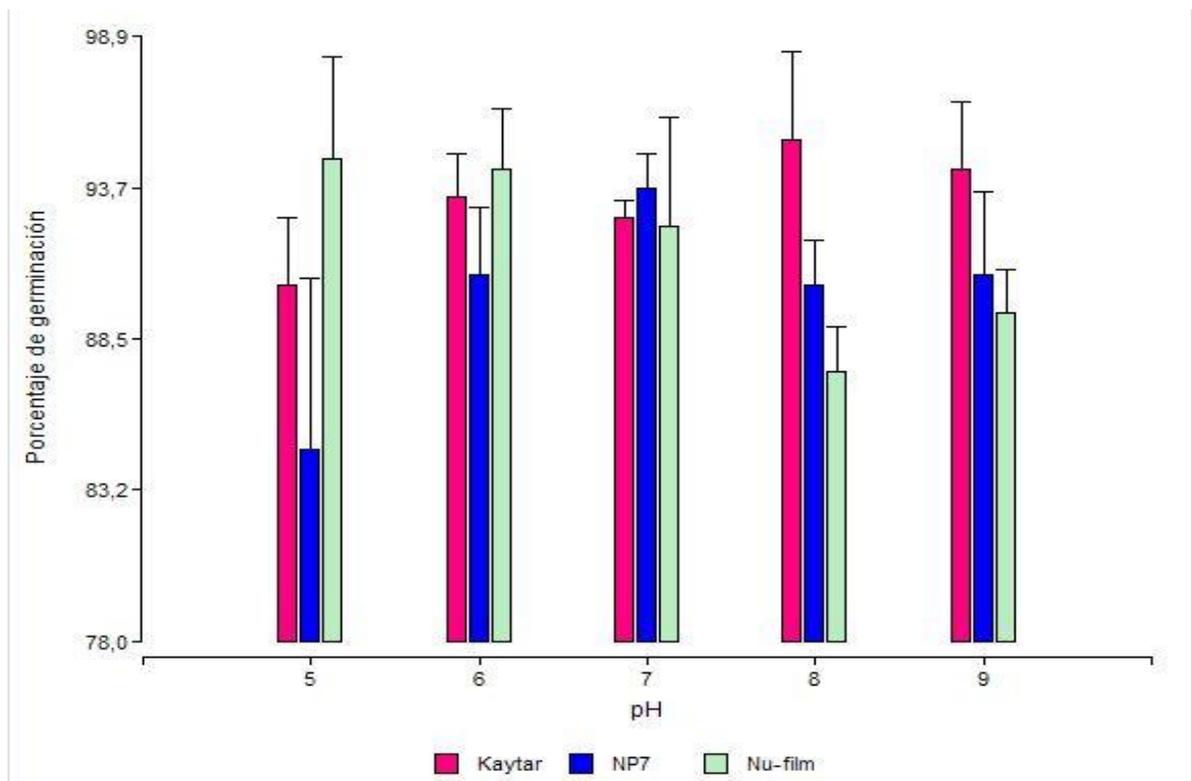


Fig. 11: Porcentaje de germinación de *B. bassiana* en suspensiones con tres dispersantes a cinco niveles de acidez distintos.

### **3.3.3 Comparación del efecto de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus* sobre la población de cicadélidos en el campo, con dispersante en la suspensión del hongo.**

Se agregó dispersante NP7 a las suspensiones que se aplicaron en este ensayo. De las tres evaluaciones de transectos realizadas cada semana, en cada bloque y en los cuatro tratamientos, no se encontró ningún insecto con síntomas de ataque de hongos entomopatógenos. Para las trampas amarillas, se contabilizaron los individuos de *C. reservata* y de *Empoasca* sp. por separado, luego se agrupó a las otras especies de cicadélidos bajo la categoría de “Otros cicadélidos”.

Para los datos de *C. reservata* (Fig 12.a.) y *Empoasca* sp. (Fig 12.b), se observó una baja en las poblaciones de ambas especies durante el período de evaluación, esta fue más pronunciada en las parcelas inoculadas con *M.anisopliae*, contrario para “Otras especies” de cicadélidos (Fig 12.c.) donde en la tercera semana de evaluación se da un aumento en el número de cicadélidos para este tratamiento. Para las parcelas testigo también se observa una disminución de la población de cicadélidos pero, en el total de cicadélidos capturados, son en las parcelas donde la baja es menos pronunciada (Fig 12.d.).

El análisis de varianza fue aplicado por separado para *C. reservata*, *Empoasca* sp. y para otros cicadélidos, sin embargo los resultados no muestran diferencias significativas entre tratamientos ni entre las semanas de evaluación para ninguno de los casos (ver anexo 4).

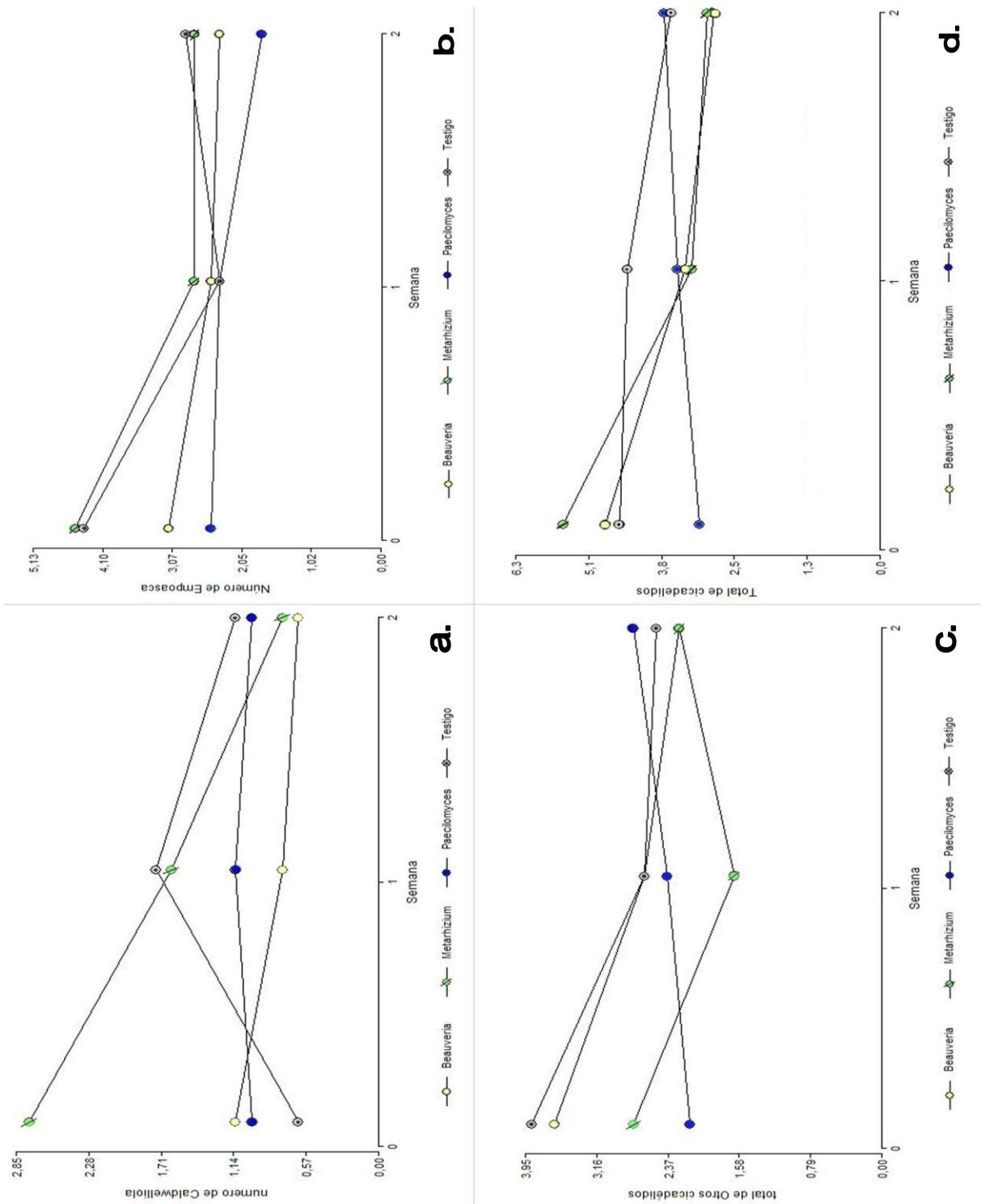


Fig. 12: Número de individuos de *C. reservata* (a.), *Empoasca* sp (b.), Otros cicadélidos (c.) y total de cicadélidos (d.) en cuatro bloques de prueba en Mundiplantas, Siquirres. Durante tres semanas de evaluación.

### 3.4. Prueba de compatibilidad de hongos entomopatógenos con aceite en la preparación de las suspensiones.

#### 3.4.1. Compatibilidad de aceites en suspensión de conidios, con tres productos diferentes.

El porcentaje más alto de germinación de conidios en promedio, se dio con el aceite Limonoil®. A pesar de esto, se obtiene que el hongo *B. bassiana* tuvo mayor porcentaje de esporas germinadas en la suspensión con Aceite Vegetal, al igual que *P. fumosoroseus*. Mientras que *M. anisopliae* germinó más con Limonoil® (Fig. 13). Con respecto al análisis de varianza aplicado en los porcentajes de germinación, los resultados no mostraron diferencias significativas entre los tres tipos de aceite. (anexo 5)

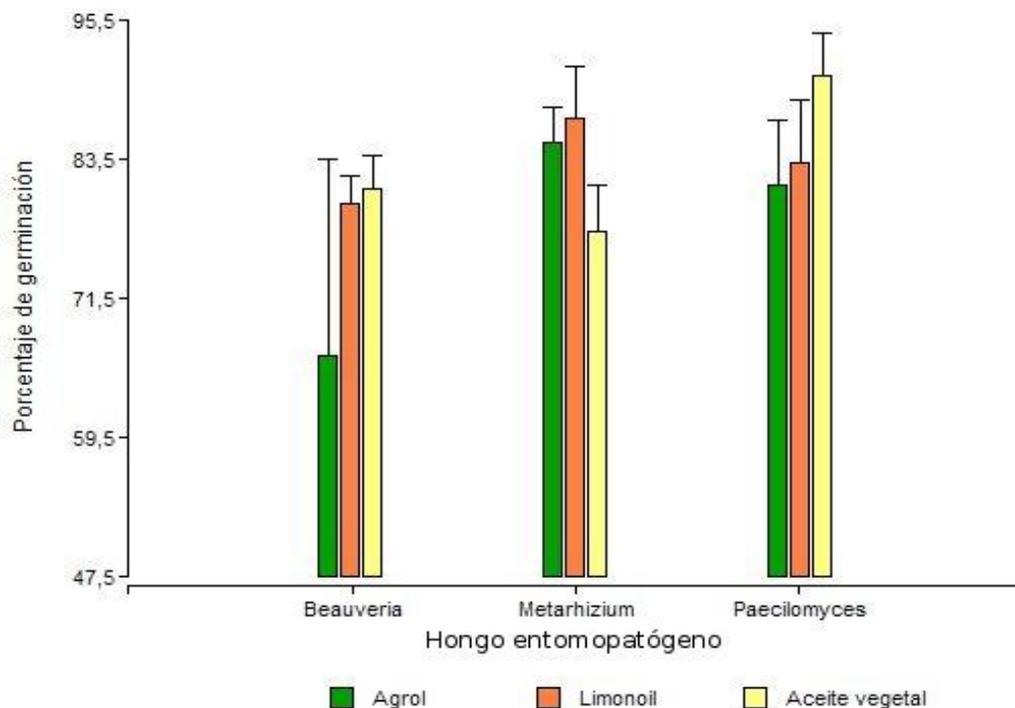


Fig. 13: Porcentaje de germinación de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus*, en suspensiones con tres aceites distintos.

### 3.4.2 Aplicación en el campo de suspensiones con dispersante y con aceite.

Los resultados obtenidos para este ensayo y bajo las condiciones específicas sobre las que éste se llevó a cabo, no mostraron un efecto definitivo por parte de los hongos entomopatógenos sobre la población de cicadélidos en el cultivo de *D. marginata*. Los análisis de varianza, aplicados a cada categoría (*Caldwelliola*, *Empoasca*, “Otros cicadélidos” y “Todos los cicadélidos”), no encontraron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados a los cicadélidos.

Para *C. reservata* y *Empoasca* sp. se vieron fluctuaciones similares en las parcelas testigo, así como en las que se aplicó un hongo entomopatógeno, indistintamente. En “Otras especies” (Fig. 14.c.) y en el “Total de cicadélidos” muestreados (Fig. 14.d.), el número de individuos baja, sube y vuelve bajar durante las cinco semanas de evaluación, tanto para los tres tratamientos con hongos entomopatógenos, como para el tratamiento testigo.

Para *C. reservata* (Fig. 14.a.), se dio una baja en el número de individuos durante la Semana 1, en general para todas las parcelas, sin importar el tratamiento que había sido aplicado, inclusive para las parcelas testigo que en esta semana reportaron la menor cantidad de *C. reservata* colectados. Sin embargo para la Semana 2, esta especie mostró un aumento en el número de individuos presentes en las parcelas del ensayo. Para las últimas semanas de evaluación, nuevamente la población de *C. reservata* vuelve a disminuir, de igual forma para todos los tratamientos.

El número de individuos de *Empoasca* sp. (Fig. 14.b.) tuvo un pico alto en la semana 1 para casi todos los tratamientos, excepto *P. fumosoroseus* que se mantuvo con el mismo número de individuos durante las semanas 1 y 2, pero disminuyó en las

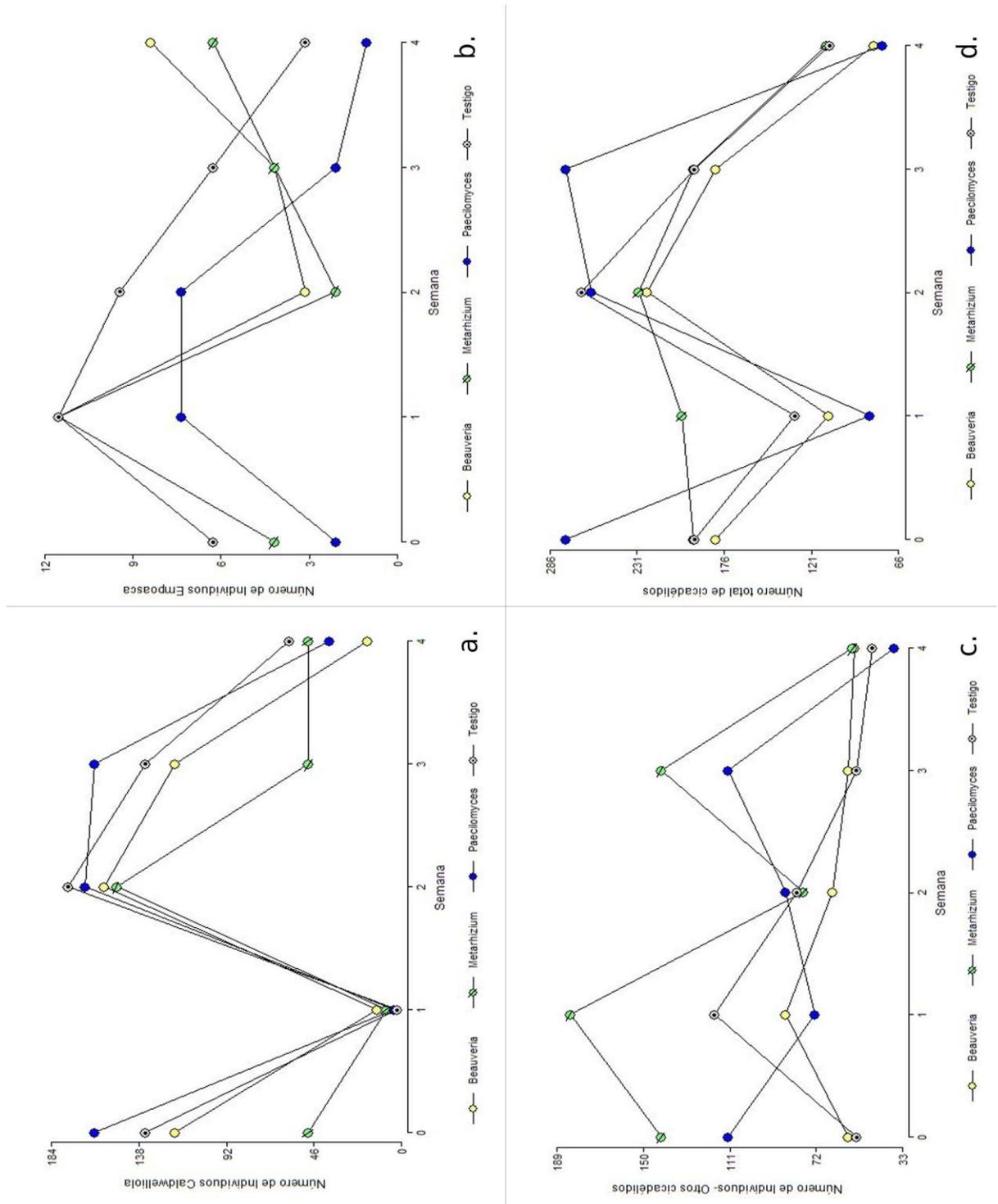


Fig. 14: Número de individuos de *C. reservata* (a.), *Empoasca* sp. (b.), Otros cicadélidos (c.) y Total de cicadélidos (d.) en cuatro bloques de prueba, en Ornamentales C y R, Siquirres. Durante cuatro semanas de evaluación.

semanas 3 y 4. Mientras *M. anisopliae* y *B. bassiana* mostraron resultados similares durante las semanas de evaluación, subieron en la semana 1, volvieron a bajar en la semana 2 y se recuperaron para el final de la etapa de evaluación. El tratamiento testigo se mantuvo siempre con mayor número de individuos sobre los demás tratamientos, excepto en la semana 4.

## 4. DISCUSIÓN

La búsqueda de nuevos aislamientos de hongos entomopatógenos presentes de manera natural en el campo, tuvo como fin probar la efectividad de éstos sobre las plagas de cicadélidos en los cultivos de *D. marginata*. Algunos de estos hongos, pueden causar epizootias si se dan las condiciones apropiadas, ya que están más adaptados a la zona. Según Shannon (1996), para que una cepa de campo sea seleccionada, debe presentar características como alta capacidad de formar conidios, tolerancia a altas temperaturas y alta virulencia, características presentes en las cepas utilizadas, a pesar de que sólo la cepa de *B. bassiana* provenía del campo.

### 4.1 Selección y pruebas de virulencia, de los aislamientos de hongos entomopatógenos a nivel de laboratorio, contra cicadélidos.

Pese a la alta mortalidad de los testigos, las pruebas de virulencia mostraron que *O. clavior*, *C. reservata* y *Empoasca* sp. son susceptibles a los tres hongos entomopatógenos que se utilizaron, *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus*. De esta manera, éstos tienen potencial para controlar esas plagas de *D. marginata* bajo las condiciones de laboratorio en las que se realizaron los ensayos. Estos hongos son reconocidos como bio-controladores de varios insectos, incluyendo insectos succionadores (Pu *et al.* 2005), pero no existían estudios hasta la fecha, para estas plagas cuarentenarias en ornamentales, hasta la fecha.

Sin embargo, hay varios factores que pueden incidir en la mortalidad que presentaron los insectos en estas pruebas. La edad del insecto es uno de esos factores, ya que con los pie de cría que se montaron de los cicadélidos en el CATIE, no se alcanzó la cantidad de individuos requerida para realizar las repeticiones, para ninguna de las especies, por lo que los insectos debieron ser colectados del campo antes de cada una de las pruebas. Esto se vio en uno de los tratamientos testigo de *O. clarior*, donde algunos de los adultos murieron pues acabó su ciclo de vida. Un segundo factor fueron las plantas hospederas, ya que se usó únicamente *D. marginata* durante los períodos de evaluación. Pérez (2007) expone que existen preferencias por parte de los cicadélidos, a otras plantas hospederas según el estadio en el que se encuentre el insecto (adulto o ninfa). El comportamiento también varía si éste se alimenta del xilema de la planta como *O. clarior* o del floema como *C. reservata* y *Empoasca* sp.

Durante el ensayo, el desarrollo de esporulación fue una manera de confirmar el efecto del hongo entomopatógeno sobre los saltahojas. Esta capacidad de esporulación del hongo sobre su hospedero es fundamental para la diseminación de la enfermedad en condiciones de campo, lo que permite reinfestaciones a partir de insectos parasitados (Rodríguez *et al.* 2006). Sin embargo, la falta de esporulación en *C. reservata* y *Empoasca* sp podría indicar que la mortalidad fue causada por una micotoxina, que según Arboleda *et al* (2004), están implicadas en bloquear el desarrollo fisiológico del insecto y causar su muerte. De todos modos, el hecho de no esporular no invalida a las cepas para ser empleadas como micoinsecticidas.

## **4.2 Efecto de surfactantes, pH y aceite, sobre la efectividad de las suspensiones de conidios de los hongos entomopatógenos.**

### **4.2.1 Prueba de compatibilidad de los hongos entomopatógenos con dispersantes (surfactantes), en la preparación de suspensiones.**

La función de un producto dispersante en las suspensiones de hongos entomopatógenos es de activador, ya que reduce la tensión superficial del agua y aumenta la disolución de los conidios en ella (García 2000). Esto permite que haya una distribución más homogénea y a la vez evita que se formen grumos que pueden taquear las boquillas de los instrumentos con los que van a ser aplicados. La formulación de la suspensión del hongo a aplicar puede influir en su viabilidad, virulencia y eficacia.

El 85% de germinación obtenido como mínimo con los tres dispersantes empleados sugiere una buena compatibilidad de estos productos con la suspensión de conidios. Sin embargo, en el mercado existen otras opciones de productos dispersantes que deben ser probadas en suspensiones de hongos entomopatógenos, por ejemplo: para el año 2008, en tres almacenes de productos agropecuarios en Turrialba, la oferta de dispersantes fue de tres a cinco productos distintos.

#### **4.2.2 Influencia del pH de la suspensión en el porcentaje de germinación de los conidios.**

El adicionarle productos como los dispersantes a una suspensión de hongos, hace que ésta varíe su pH inicial, por ejemplo el producto Kaytar® muestra en su etiqueta que es un coadyuvante que actúa como regulador de pH, por lo que las interacciones dispersante-pH en las suspensiones deben ser consideradas a la hora de aplicar hongo entomopatógenos. También debe medirse el pH del agua que se utiliza para las mezclas, en caso de que deba ser regulado, especialmente para aplicaciones en el campo donde por lo general, toman el agua de alguna quebrada o río.

El rango de pH recomendado para las formulaciones con hongos entomopatógenos es de 5.5 a 7.0 (Alean *et al.* 2004, Romero y Espinoza 2004). El pH ha de ser ligeramente ácido para facilitar el crecimiento de los hongos e inhibir al mismo tiempo el desarrollo de otros microorganismos.

Cazorla *et al.* (2007) evaluaron *B. bassiana* a ocho pH distintos y obtuvieron porcentajes de germinación altos en un rango de pH de 4 - 10, inhibiendo significativamente la germinación del hongo a pH de 1,32 - 2 y 11 - 12. Ellos reportan que las variaciones extremas de pH entre alcalinos y ácidos, puede llevar a que se rompan los enlaces de hidrógeno de enzimas, bicapa lipídica y del ADN, afectándose de esta manera la integridad y metabolismo de la célula.

En otro caso donde se monitoreó el crecimiento de *B. bassiana* en medios de cultivo con distintos pH iniciales, 4.8, 5.5 o 6.2, sin adicionar ningún dispersante, mostraron que el pH del medio en los tres tratamientos tendió a igualarse hacia el último día, lo cual podría ser indicio de una gran capacidad del hongo para regular el pH del medio que lo rodea, mediante la liberación de distintas sustancias (Mata, 2008).

#### **4.2.3 Comparación del efecto de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus* sobre la población de cicadélidos en el campo, con dispersante en la suspensión del hongo**

En la formulación de las suspensiones aplicadas en el campo se adicionó como dispersante el NP7, ya que este producto presentó altos porcentajes de germinación a pH de 6 y 7, en las pruebas de laboratorio. El pH del agua en la finca Mundiplantas, donde se realizó este ensayo se encontraba en un rango de 5 a 6. Niveles críticos de pH pueden influir en la efectividad de los hongos entomopatógenos a aplicar, como se vio en la sección 4.2.2.

De acuerdo con Groettel e Inglis (1997) algunos ensayos de laboratorio brindan información sobre el comportamiento de los hongos entomopatógenos que pueden reproducirse a nivel del campo, aunque estos ensayos deben incorporar los parámetros ambientales. La eficiencia de los hongos se ve afectada por un número de variables bióticas y abióticas, como son clima, exposición a agroquímicos, presencia de maleza, entre otras.

A nivel del campo los tratamientos no presentaron diferencias perceptibles, debido principalmente a que la captura fue muy baja. Esto pudo ser influido por el corto período que permanecieron colocadas las trampas en el campo. Además de que se debe considerar que en la finca donde se realizó el ensayo, se le da un manejo convencional con aplicaciones de agroquímicos cada 15 días; a pesar de que durante la prueba se suspendió en los bloques donde se hicieron los muestreos, no fue así en los bloques vecinos, lo que pudo afectar la población de cicadélidos.

### **4.3 Prueba de compatibilidad de hongos entomopatógenos con aceite en la preparación de las suspensiones.**

#### **4.3.1. Compatibilidad de aceites en suspensión de conidios, con tres productos diferentes.**

Numerosos estudios mencionan un incremento en la eficacia de los hongos entomopatógenos cuando fueron formulados con aceite; entre ellos: *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Nomuraea rileyi* y *Paecilomyces farinosu* (Cortez-Madrigal 2005). Dos de los mencionados anteriormente, fueron probados en el ensayo y tuvieron una mayor compatibilidad por los coadyuvantes aceite vegetal y Limonoil®.

En cuanto al uso de aceite vegetal como coadyuvante en las formulaciones de hongos entomopatógenos, Cortez – Madrigal (2005) demostró que la efectividad biológica de *Lecanicillium lecanii* en el campo puede ser incrementada mediante formulaciones en aceite vegetal, favorece el desarrollo miscelial incluso a una baja humedad relativa (80%).

A pesar de que Agrol fue en el que se dieron los porcentajes más bajos de germinación, estudios mencionan que este aceite no afecta de forma significativa la germinación y el crecimiento para *B. bassiana* (Durán 1998). La adición de aceite,

como parte de la formulación de la suspensión de hongos entomopatógenos, da una mayor persistencia inclusive a plena exposición solar. Por ejemplo, Vargas *et al.* (2003) demostró que *B. bassiana* persistió hasta 72 horas luego de la aplicación en el campo en un cafetal sin sombra a plena exposición solar.

Por otro lado, en pruebas del laboratorio para el control de la cochinilla harinosa del helecho, comprobaron que el uso de Limonoil® junto a *B. bassiana* baja las poblaciones de la plaga, ya que el aceite le facilita al hongo el entrar por la cera (harinilla) de la cochinilla (Chavarria 2006). Limonoil® se seleccionó porque fue el aceite que presentó mayor porcentaje de germinación, en promedio para los tres hongos. Presenta características como ser biodegradable, tiene una buena acción sobre grasas y ceras lo que le permite una mejor penetración e incrementa el efecto del hongo sobre la plaga, además de ser económico.

#### **4.3.2 Aplicación en el campo de suspensiones con dispersante y con aceite.**

Para este ensayo se realizó un cambio en la altura a la cual fueron colocadas las trampas amarillas, esto porque en los lotes donde se evaluó la población de cicadélidos presentaba plantas de mayor altura que en la sección 4.2.3. También se extendió el período de permanencia de las trampas en el campo, lo que se tradujo en un aumento en el número de cicadélidos capturados.

Sin embargo, los resultados obtenidos muestran que las fluctuaciones en el número de cicadélidos capturados durante las semanas de evaluación, no son debidos al efecto de los hongos entomopatógenos aplicados, ya que se dan indistintamente para todos los tratamientos. La ausencia de una baja notable en la población de cicadélidos a causa de la acción de los hongos entomopatógenos, en los lotes sobre los que evaluó el ensayo, puede tener razones como las mencionadas en la sección 4.2.3.

Además, Prado (2006) reporta que las prácticas agrícolas que llevan a cabo los productores de *D. marginata* influyen en las poblaciones de las plagas muestreadas. La frecuencia de prácticas como deshierbe tienen una asociación con la población de cicadélidos, ya que a medida que se disminuye la frecuencia de deshierbes aumenta el tamaño de la población (Prado 2006). Considerando también que en Ornamentales C y R no se aplican agroquímicos al cultivo.

Es importante indicar que la fluctuación de la población de los cicadélidos, varía con la temperatura y la humedad relativa en cada una de las fincas. Asimismo, varía con el efecto de la precipitación pluvial, cuando las lluvias se vuelven torrenciales, afectando la captura y causando la muerte de los cicadélidos en estado de ninfas y adultos (Hernández *et al.* 2009).

Los principales productos agrícolas para exportación en Costa Rica, como por ejemplo banano, piña, café, ornamentales, entre otros, provienen de grandes áreas de monocultivo. La falta de diversidad en ellos hace que se disminuya de manera proporcional, el número de enemigos naturales, los cuales podrían reducir las poblaciones de insectos plaga y si se logran establecer, mantenerlas bajo el umbral de daño económico. El uso de hongos entomopatógenos para disminuir tales insectos constituye, por lo tanto, un componente importante de control, siendo muchos los hongos mencionados en diversos estudios que se usan para este propósito.

## 5. CONCLUSIONES

- Los hongos entomopatógenos *B. bassiana*, *M. anisoplae* y *P. fumosoroseus* tienen potencial para infectar saltahojas plaga de *D. marginata*, a nivel de laboratorio
- Los productos dispersantes NP7®, Nu film® y Kaytar® son compatibles con los hongos entomopatógenos utilizados en este ensayo. Se debe considerar que dosis diferentes de Kaytar® pueden subir o bajar el pH de una suspensión.
- El rango de pH recomendado para la aplicación de hongos entomopatógenos es de 5 a 7.
- El uso de aceites con coadyuvantes en la suspensión de hongos entomopatógenos se recomienda, siempre y cuando considere interacciones con otros dispersantes.
- El estudio del efecto de los hongos entomopatógenos sobre la población de cicadélidos a nivel del campo es muy complejo, debe considerar el comportamiento de los insectos, así como numerosas variables ambientales.

## 6. RECOMENDACIONES

- Establecer un pie de cría de la especie que será evaluada en una prueba de virulencia o de no ser esto posible, tener acceso cercano a la población de campo de donde se puedan coleccionar.
- Según el número de ninfas al que se tenga acceso, las pruebas de virulencia pueden realizarse sobre estas en vez de utilizar cicadélidos adultos, ya que permite una mejor estimación de la edad del insecto y observar el efecto de los hongos entomopatógenos aun si llega a mudar a su etapa adulta.
- Hacer pruebas con otros productos dispersantes y aceites, para evaluar su compatibilidad con los hongos entomopatógenos, ya que la oferta en el

- mercado no siempre es la misma
- Probar otros hongos entomopatógenos sobre los cicadélidos plaga presentes en las plantaciones de *D. marginata*
  - Considerar el máximo de variables posibles dentro de un ensayo de campo, así como la disponibilidad del espacio dentro de la plantación para el estudio.

## 7. REFERENCIAS

Alean, I., A. Morales, C. Holguin y A. Bellotti. 2004. **Patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de *Aleurotrachelus socialis* (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero.** Revista Colombiana de Entomología. 30 (1): 29-36. Disponible en: <http://bit.ly/am1RT1>

Arboleda, J., F. Delgado y A. Valencia. 2004. **Detección de beauvericina en el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* mediante el uso de anticuerpos policlonales.** Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 125-130.

Arce, R., E. Chacón, G. Cháves y A. Tristan. 2009. **Estadísticas de Comercio Exterior de Costa Rica 2008.** Promotora del Comercio Exterior de Costa Rica. Costa Rica

Azevedo-Filho, W. y G. Carvalho. 2005. **Brochosomes-for-eggs of the Proconiini (Hemiptera: Cicadellidae, Cicadellinae) Species associated with orchards of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck in Rio Grande do Sul, Brazil.** Neotropical Entomology 34 (3): 387-394

Cazorla, D., P. Morales y M. Acosta. 2007. **Efectos de gradientes térmicos, salinos y ph sobre la germinación in vitro de un aislado nativo de *Beauveria bassiana* (bálsamo) vuillemin, patógeno para *Rhodnius prolixus* y *triatoma maculata*.** Revista Científica (Maracaibo). 17 (6): 627-631. Disponible en línea: <http://bit.ly/bYiOa3>

Chavarria, M. 2006. **El uso de microorganismos benéficos: Biofertilizantes y Biocontroladores**. Intituton Nacional de Innoación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria. Costa Rica

Clean Stock Program (CSP, CR). 2005. **Proyecto: Innovación tecnológica para la generación de material propagativo sano de *Dracaena* spp. para exportación hacia el mercado estadounidense**. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica. <http://www.dracaenas.cnp.go.cr/>

Colpetzer, K. 2005. **Importation of Oversized *Dracaena* for Ornamental: Purposes from Costa Rica into the United States**. Department of Agriculture of the United States. North Carolina. United States.

Cortez-Madrigal, H. 2005. **Efecto de Coadyuvantes en *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare y Gams y su Virulencia hacia *Toxoptera aurantii* Boyer**. Revista Mexicana de Patología. 24 (1): 59-64. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/612/61224109.pdf>

Durán, J. 1998. **Uso de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin como alternativa de manejo del picudo del chile *Anthinimus eugeni* Cano**. Tesis Mag. Sc. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Costa Rica.

García, J. 200. **Introducción a los plaguicidas**. Editorial Universidad Estatal a Distancia. 1 ed. Costa Rica

Groettel, M. y D. Inglis. 1997. **Fungi: Hyphomycetes**. En: L. Lacey (ed). Manual of techniques in insect pathology. Academic Press. Estados Unidos

Hernández, A., P. Figueoa, L. Moises y J. García. 2009. **Fluctuación poblacional de los cicadélidos “saltahojas” del café y su importancia**. Revista del Caficultor: El cafetal. Julio-Agosto. Guatemala

Ibarra - Aparicio, G., G. Moya-Raygoza y A. Berlanga-Padilla. 2005. **Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anicopliae* sobre la chicharrita del maíz (*Dalbulus maidis*) (Delong y Wolcott, 1923) (Hemiptera:Cicadellidae)**. Folia

Entomológica Mexicana. 44(1): 1-6

King, A. y J. Saunders. 1984. **Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central**. Overseas Development Administration. Londres, Inglaterra.

Leucona, R. 2002. **Situación actual y perspectivas de uso de bioplaguicidas en Latinoamérica**. En: **Conferencia Curso Internacional de Producción y Uso de Agentes Microbianos para el Control de Plagas en Agricultura Ecológica**. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Costa Rica

Mata, M. 2008. **Evaluación de la fermentación sumergida del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* como parte de un proceso de escalamiento y producción de bioplaguicidas**. Tesis Bach. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica

Pérez, G. 2007. **Evaluación de comportamiento de *Oncometopia clarior* (Walker) (Hemiptera: Cicadellidae) ante especies vegetales asociadas al cultivo *Dracaena marginata* (Lamarck) y su preferencia a diversos regímenes de fertilización**. Tesis Mag. Sc. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Costa Rica

Prado, J. 2006. **Desarrollo de protocolos de muestreo y evaluación de la relación de prácticas agrícolas con la población de plagas cuarentenarias en *Dracaena marginata* en Costa Rica**. Tesis Mag. Sc. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Costa Rica

Pu, X.-Y., M.-G. Feng, C.-H. Shi. 2005. **Impact of three application methods on the field efficacy of a *Beauveria bassiana*-based mycoinsecticide against the false-eye leafhopper, *Empoasca vitis* (Homoptera: Cicadellidae) in the tea canopy**. Crop Protection 24: 67–175.

Ramírez, S. 1991. **Determinación de algunas especies de hongos entomopatógenos de Costa Rica**. Manejo Integrado de Plagas 20-21: 11-17

Rodríguez, M., M. Gerding y A. France. 2006. **Selección de aislamientos de hongos entomopatógenos para el control de huevos de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae).** Agricultura Técnica 66 (2): 151-158.

Romero, O. y J. Espinoza. 2004. **Estudio de factibilidad para el establecimiento de un taller de multiplicación artesanal del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* Bals. (Vuill) para el manejo de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en la comunidad de San Buenaventura, municipio de Boaco.** Tesis de Grado. Universidad Nacional Agraria. Nicaragua.

Shannon, P. 1996. **Hongos entomopatógenos.** En: L. Hilje (ed.) Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza. Costa Rica.

Tipping, C. y R. Mizell. 2004. **Sharpshooters, Leafhoppers, Cicadellidae (Insecta: Hemiptera: Auchenorrhyncha: Cicadellidae).** Series of Featured Creatures from the Entomology and Nematology Department. Institute of Food and Agricultural Sciences (IFAS). University of Florida. (disponible en línea <http://creatures.ifas.ufl.edu>)

Tounou A., K. Agboka, H. Poehling, J. Langewald, G. Zimmermann, C. Borgemeiter, y K. Raupch. 2003. **Evaluation of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for control of the Green Leafhopper *Empoasca decipiens* (Homoptera: Cicadellidae) and potential side effects on the egg parasitoid *Anagrus atomus* (Hymenoptera: Mymaridae).** Biocontrol Science and Technology 13 (8): 715-728

Vargas, L., J. Avilés, J. Mora, A. Solórzano, R. Piedra y O. Bravo. 2003. **Persistencia en campo de *Beauveria bassiana* en mezcla con aceites.** En: G. Méndez (ed.) Memoria: Congreso Alianza Tecnológica para una agricultura con calidad. Costa Rica

## 8. ANEXOS

Anexo 1: Resultados de los análisis de varianza para las pruebas de virulencia contra *O. clarior* (a.), *Empoasca* sp. (b.) y *C. reservata* (c.)

### a. ANAVA para *O. clarior*

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
%Mortalidad	66	0,71	0,67	29,69

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	41023,23	8	5127,90	17,73	<0,0001
Tratamiento	2186,87	3	728,96	2,52	0,0669
Día	38836,36	5	7767,27	26,86	<0,0001
Error	16485,86	57	289,23		
Total	57509,09	65			

### b. ANAVA para *Empoasca* sp.

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
%mortalidad	84	0,60	0,56	29,30

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	39023,88	9	4335,99	12,53	<0,0001
día	36107,15	6	6017,86	17,39	<0,0001
Tratamiento	2916,73	3	972,24	2,81	0,0453
Error	25606,64	74	346,04		
Total	64630,52	83			

### c. ANAVA para *C. reservata*

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
%mortalidad	12	0,73	0,58	18,68

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Coef
Modelo	4301,67	4	1075,42	4,81	0,0350	
Tratamiento	3270,26	3	1090,09	4,88	0,0388	
Repetición	1031,41	1	1031,41	4,61	0,0688	-11,35
Error	1565,14	7	223,59			
Total	5866,81	11				

Anexo 2: Resultados del análisis de varianza entre dispersantes usados en suspensiones de hongos entomopatógenos

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
% germinado	36	0,28	0,16	5,18

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	289,17	5	57,83	2,37	0,0635
tratamiento	57,06	2	28,53	1,17	0,3250
dispersante	232,11	3	77,37	3,16	0,0388
Error	733,39	30	24,45		
Total	1022,56	35			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=4,76008

Error: 24,4463 gl: 30

Dispersante	Medias n			
np7	91,44	9	A	
Kaytar	95,33	9	A	B
Tween	96,33	9		B
Nu film	98,44	9		B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Anexo 3: Resultados del análisis de varianza entre efecto de dispersantes a diferentes pH en las suspensiones de hongos entomopatógenos

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
% germinación	45	0,63	0,45	2,96

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	370,80	14	26,49	3,61	0,0015
tratamiento	76,80	2	38,40	5,24	0,0112
ph	57,24	4	14,31	1,95	0,1276
tratamiento*ph	236,76	8	29,59	4,04	0,0024
Error	220,00	30	7,33		
Total	590,80	44			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=4,51563

Error: 7,3333 gl: 30

tratamiento	ph	Medias n				
np7	5	84,67	3	A		
nufilm	8	87,33	3	A	B	
nufilm	9	89,33	3		B	C
np7	8	90,33	3		B	C
kaytar	5	90,33	3		B	C
np7	9	90,67	3		B	C
np7	6	90,67	3		B	C

nufilm	7	92,33	3	C	D	E
kaytar	7	92,67	3	C	D	E
kaytar	6	93,33	3	C	D	E
np7	7	93,67	3	C	D	E
nufilm	6	94,33	3		D	E
kaytar	9	94,33	3		D	E
nufilm	5	94,67	3		D	E
kaytar	8	95,33	3			E

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

Anexo 4: Resultados del análisis de varianza de la comparación del efecto de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus* sobre la población de cicadélidos en el campo, con dispersante en la suspensión del hongo. En finca Mundiplantas, Siquirres

Variable	N	R2	R2 Aj	CV
<b>RANG_Empoasca</b>	96	0,09	0,00	57,66

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6409,44	11	582,68	0,74	0,6926
Tratamiento	2374,94	3	791,65	1,01	0,3915
Semana	2429,30	2	1214,65	1,55	0,2176
Tratamiento*Semana	1605,20	6	267,53	0,34	0,9126
Error	65699,06	84	782,13		
Total	72108,50	95			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=16,05458

Error: 782,1317 gl: 84

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=27,80734

Error: 782,1317 gl: 84

Tratamiento	Semana	Medias	n	
Paecilomyces	2	35,63	8	A
Testigo	1	44,00	8	A
Paecilomyces	1	44,81	8	A B
Beauveria	2	45,50	8	A B
Paecilomyces	0	45,81	8	A B
Beauveria	1	46,31	8	A B
Testigo	2	47,38	8	A B
Metarhizium	2	47,69	8	A B
Metarhizium	1	48,56	8	A B
Beauveria	0	50,38	8	A B
Testigo	0	54,13	8	A B
Metarhizium	0	71,81	8	B

Letras distintas indican diferencias significativas( $p \leq 0,05$ )

Variable N R2 R2 Aj CV  
**RANG\_Caldwelliola** 96 0,09 0,00 54,61  
 Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5694,63	11	517,69	0,74	0,6992
Tratamiento	2156,44	3	718,81	1,02	0,3859
Semana	495,42	2	247,71	0,35	0,7035
Tratamiento*Semana	3042,77	6	507,13	0,72	0,6322
Error	58919,88	84	701,43		
Total	64614,50	95			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=15,20373

Error: 701,4271 gl: 84

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=26,33363

Error: 701,4271 gl: 84

Tratamiento	Semana	Medias	n	
Testigo	0	40,19	8	A
Beauveria	2	40,19	8	A
Paecilomyces	2	43,31	8	A
Metarhizium	2	44,25	8	A
Beauveria	1	44,25	8	A
Beauveria	0	44,81	8	A
Paecilomyces	1	44,81	8	A
Paecilomyces	0	46,88	8	A
Testigo	2	53,69	8	A
Metarhizium	1	54,75	8	A
Testigo	1	58,81	8	A
Metarhizium	0	66,06	8	A

Letras distintas indican diferencias significativas( $p \leq 0,05$ )

Variable N R2 R2Aj CV  
**RANG\_Otros cicadélidos** 96 0,05 0,00 58,87  
 Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3470,94	11	315,54	0,39	0,9577
Tratamiento	913,15	3	304,38	0,37	0,7724
Semana	694,42	2	347,21	0,43	0,6545
Tratamiento*Semana	1863,37	6	310,56	0,38	0,8892
Error	68467,06	84	815,08		
Total	71938,00	95			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=28,38708

Error: 815,0841 gl: 84

Tratamiento	Semana	Medias	n	
Beauveria	2	41,56	8	A
Paecilomyces	0	42,25	8	A
Metarhizium	2	42,56	8	A
Paecilomyces	1	45,75	8	A
Testigo	2	46,88	8	A
Metarhizium	1	47,69	8	A
Beauveria	1	48,06	8	A

Metarhizium	0	48,94	8 A
Testigo	1	49,44	8 A
Paecilomyces	2	51,63	8 A
Beauveria	0	52,13	8 A
Testigo	0	65,13	8 A

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

#### Anexo 5: Resultados del análisis de varianza entre aceites adicionados a suspensiones con hongos entomopatógenos

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
% germinacion	27	0,31	0,19	9,65

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	620,15	4	155,04	2,52	0,0705
tratamiento	436,46	2	218,23	3,54	0,0463
aceite	183,69	2	91,84	1,49	0,2470
Error	1354,98	22	61,59		
Total	1975,13	26			

#### Anexo 6: Resultados del análisis de varianza de la comparación del efecto de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus* sobre la población de cicadélidos en el campo, con dispersante y aceite en la suspensión del hongo. En finca Ornamentales C y R

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
<b>RANG_Empoasca</b>	120	0,16	0,10	50,96

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	19617,29	7	2802,47	2,95	0,0071
Tratamiento	2325,75	3	75,25	0,82	0,4879
semana	17291,54	4	4322,89	4,55	0,0019
Error	106477,71	112	950,69		
Total	126095,00	119			

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=17,63582

Error: 950,6938 gl: 112

semana	Medias	n	
4	52,81	24	A
0	53,48	24	A
3	53,48	24	A
2	58,58	24	A
1	84,15	24	B

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

Variable N R2 R2 Aj CV  
**RANG\_Caldweliolla** 120 0,33 0,29 48,14

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	47830,95	7	6832,99	8,06	<0,0001
Tratamiento	1944,35	3	648,12	0,76	0,5165
semana	45886,60	4	11471,65	13,52	<0,0001
Error	95003,05	112	848,24		
Total	142834,00	119			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=16,65847

Error: 848,2415 gl: 112

semana	Medias	n			
1	25,15	24	A		
4	59,52	24		B	
0	66,54	24		B	
3	66,54	24		B	
2	84,75	24			C

Letras distintas indican diferencias significativas( $p \leq 0,05$ )

Variable N R2 R2 Aj CV  
**RANG\_Otros cicadélidos** 120 0,19 0,14 53,33

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	26753,68	7	3821,95	3,67	0,0013
Tratamiento	4457,55	3	1485,85	1,43	0,2385
semana	22296,13	4	5574,03	5,36	0,0006
Error	116577,33	112	1040,87		
Total	143331,00	119			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=18,45327

Error: 1040,8690 gl: 112

semana	Medias	n	
4	37,56	24	A
0	58,02	24	B
3	58,02	24	B
2	73,58	24	B
1	75,31	24	B

Letras distintas indican diferencias significativas( $p \leq 0,05$ )