

BIBLIOTECA DE LA ESCUELA NACIONAL DE INGENIERIA Y AGRICULTURA

MANEJO DE COCHINILLA (*Dysmicoccus brevipes*) EN EL CULTIVO DE PIÑA ORGÁNICA EN LA ZONA DEL LAGO DE YOJOA, HONDURAS.

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado
Académico de Licenciatura.

Presentado por

Oscar Llovany Vásquez Ayala.

300973

MICROFIS:	_____
FECHA:	_____
ENCARGADO:	_____

Zamorano, Honduras
Abril, 2000

#1125

El autor concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. par otras personas
físicas o jurídicas se reservan los derechos del autor.

A handwritten signature in black ink, enclosed within an oval shape. The signature is cursive and appears to read 'Oscar Vásquez Ayala'.

Oscar Vásquez Ayala.

Zamorano, Honduras
Abril, 2000

DEDICATORIA

A mi madre Amelida Ayala y a mi padre Anacleto Vásquez, por comprenderme durante todo este tiempo que estuve fuera de mi país.

Al Ing. Mario Bustamante, por ayudarme y poner todo su esfuerzo para que este trabajo se realizara con éxito.

Al señor Carlos Debortolii por animarme y darme confianza en terminar mis estudios de ingeniería.

A la Escuela Agrícola Panamericana, mi Alma Mater, que me ha brindado conocimientos, experiencias, amigos y muchas otras cosas.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la oportunidad, fuerzas y fe durante mis estudios.

A Mónica Valdés, por ser tan buena compañera y ayudarme a regresar a Zamorano.

A Elizabeth Vargas, por brindarme todo su apoyo, amistad, confianza y por ayudarme durante todo este año de estudios.

Al Ing. Mario Bustamante, por la confianza que depositó en mi para realizar este trabajo.

Al Ing. Armando Calidonio y al señor Mauricio Guardado de Organic Fruits International, S.A., por brindarme su ayuda para realizar este trabajo.

Al Dr. Gomez y al Ing. Monroy de Dole (Standard Fruits Co., Honduras), por la confianza depositada en mi y por darme la oportunidad de conocer más del cultivo de piña en esa empresa.

A don José Andino por su ayuda, instrucción y por permitir que los ensayos se realizaran en su plantación.

Al Dr. Ronald Cave, por realizar las identificaciones de insectos que fueron necesarias en este trabajo.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

A la DSE, por financiar mis estudios del Programa de Agrónomo.

Al Departamento de Protección Vegetal y al programa IPM-CRSP, por ayudarme a financiar mis estudios del programa de ingeniería agronómica.

A la Decanatura Académica, por confiar en mi y ayudar a financiar mis estudios de ingeniería.

RESUMEN

Vásquez, Oscar 2000. **Manejo de cochinilla (*Dysmicoccus brevipes*) en el cultivo de piña orgánica en la zona del lago de Yojoa, Honduras.**

La producción de piña (*Ananas comosus*) es uno de los principales rubros productivos en Santa Cruz de Yojoa. Una de sus principales plagas es la cochinilla *Dysmicoccus brevipes*, la que se alimenta de savia de las plantas y puede transmitir el Virus del Marchitamiento de la piña (Pineapple Mealybug Wilt-associated Virus, PMWaV). Los objetivos de este estudio estuvieron orientados a evaluar plaguicidas botánicos, microbiológicos e inorgánicos, para el manejo de esta plaga. Se estudió la relación que existe entre la cantidad de lluvia y el nivel de infestación, las especies de hormigas asociadas con las cochinillas y además se identificaron otras plagas. El trabajo de laboratorio se realizó en Zamorano y el de campo en Santa Cruz de Yojoa. Los productos evaluados *in vitro* fueron *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Entomophthora virulenta*, jabón, extracto de ajo (*Allium sativum*), Azadirachtina (extracto de nim *Azadirachta indica*), cal hidratada (hidróxido de calcio, $\text{Ca}(\text{OH})_2$) y un portador (surfactante). El jabón, ajo, nim y cal hidratada, fueron los que dieron resultados satisfactorios. Los tratamientos evaluados en el campo fueron los mismos que se evaluaron en laboratorio, a excepción del portador. El ajo, nim y cal fueron los mejores. Se observó que la infestación por cochinillas está relacionada con la intensidad de las lluvias y con el estado de desarrollo de la planta. En plantas adultas la población de cochinillas se reduce cuando se incrementan las lluvias, en plantas jóvenes se mantiene o aumenta; ésto se debe a que las plantas adultas acumulan agua en la base de las hojas. Se encontraron tres especies de hormigas asociadas con cochinillas: *Solenopsis geminata*, *Tranopelta* sp. y *Pheidole* sp., de las cuales las más activas son *S. geminata* y *Tranopelta* sp.; estas dos especies conviven en mutua relación con las cochinillas. Los piñicultores de la zona perciben como principales plagas la cochinilla y la gallina ciega y pocos conocen de Sinfilidos. Sin embargo, fueron encontrados hasta 5.6 sinfilidos por planta, población que puede ocasionar un daño significativo en la producción.

Palabras claves: Entomopatógenos, extractos de plantas, cal hidratada, hormigas, relación lluvia y cochinillas, virus del marchitamiento de la piña.

Nota de prensa.

La cochinilla de la piña (*Dysmicoccus brevipes*), se puede manejar con productos orgánicos.

En Honduras una de las principales zonas productoras de piña es Santa Cruz de Yojoa, esta zona los ingresos muchos pequeños agricultores dependen de la producción de este noble cultivo, la producción es destinada para el consumo nacional y para la exportación de fruta fresca y procesada. El vecino país de El Salvador es el principal importador de fruta fresca. La fruta procesada es exportada por algunas empresas como Organic Fruits International, S.A. La producción se está viendo afectada por una perjudicial plaga que se encuentra distribuida en toda esta zona piñera; esta plaga es la cochinilla de la piña (*Dysmicoccus brevipes*), conocida también por algunos agricultores como chinche de la piña, el daño que hace este insecto es que se alimenta de savia de las plantas extrayéndole los nutrientes que la planta extrae del suelo, inyecta sustancias tóxicas con la saliva y también puede transmitir un virus que provoca el marchitamiento de las plantas, este virus es conocido como Virus del Marchitamiento de la Piña. En vista de esta problemática situación, el programa internacional IPM-CRSP interesado en fomentar la producción y el ingreso de las familias rurales, a través realizar investigaciones para ayudar en la producción de cultivos no tradicionales y el fomento del uso de prácticas de manejo integrado de plagas (MIP), en conjunto con Zamorano está realizando investigaciones en algunas frutas tropicales como: piña, papaya y sandía, durante el año 1999 se realizó en la zona del lago de Yojoa una investigación para estudiar la cochinilla de la piña y buscar una alternativa para el manejo de esta plaga. Como parte del estudio se evaluaron siete productos, dentro de ellos: tres a base de hongos benéficos (**Bauveril**[®] (*Beauveria bassiana*), **Destruxin**[®] (*Metarhizium anisopliae*), **Vektor**[®] (*Entomophthora virulenta*); dos a base de plantas, extracto de ajo (*Allium sativum*) **Garlic Barrier**[®], extracto de nim (*Azadirachta indica*) **Organim 4 SL**[®]; jabón **Nutrisoap**[®] y cal hidratada (hidróxido de calcio). Estos productos fueron evaluados el laboratorio y en campo. Resultados satisfactorios se obtuvieron de esta investigación pues el ajo, el nim y la cal hidratada, fueron productos que dieron resultados de campo prometedores para manejar la plaga. La dosis de estos productos se presentan en el siguiente cuadro.

Producto	Ingrediente	Dosis de producto.
Garlic barrier [®]	Extracto de ajo	1 litro por hectárea
Organim [®]	Azadirachtina al 4%	1 litro por hectárea
cal hidratada	Ca(OH) ₂	110 gramos /litro (4 lbs/bomba de 16 litros.)

Los consejos para el uso de estos productos son los siguientes:

Las aplicaciones pueden realizarse cada 15 días, con una bomba de mochila de 16 litros y una boquilla de cono sólido, la aplicación debe dirigirse a la base de las hojas inferiores de las plantas de piña. Haciendo aplicaciones de esta forma pueden lograrse reducciones de la plaga.

Aunque los productos ajo, nim y cal fueron efectivos en reducir la población es importante tomar en cuenta que ninguno de los productos realizó un 100% de control, por lo que siempre es necesario realizar otras prácticas culturales, como una buena selección y desinfección de hijos, preparación del suelo.

Se observó que la infestación por cochinillas está relacionada con la intensidad de las lluvias y con el estado de desarrollo de la planta. En plantas adultas la población de cochinillas se reduce cuando se incrementan las lluvias, en plantas jóvenes se mantiene o aumenta; esto se debe a que las plantas adultas acumulan agua en la base de las hojas.

Durante la época lluviosa la población de cochinillas se reduce en plantaciones de aproximadamente un año o más de edad, por lo que en esta etapa no requieren de mucha atención en cuanto a control de cochinillas, pero las plantaciones jóvenes (menores de un año) pueden verse seriamente afectadas y deben tomar medidas para el control.

Durante la época seca se puede hacer uso de extractos de nim, ajo e incluso cal para el manejo de la plaga, pero es necesario aclarar que estos productos no deben mezclarse pues pueden darse reacciones que inactiven los productos, ya que su miscibilidad no ha sido muy bien estudiada, después de aplicar cal no debe aplicarse ninguno de los otros dos productos hasta que los residuos de la cal desaparezcan de la planta, ya que de aplicar nim o ajo sobre residuos de cal es muy probable que la cal los inactive. Después de usar nim o ajo si se puede usar cal, porque estos no dejan muchos residuos en la planta y no afectan el efecto de la cal.

La aplicación de cal al follaje no ha mostrado efectos negativos en el desarrollo de las plantas, pero mientras no se conozca más a fondo si la cal aplicada al follaje afecta el rendimiento, no es recomendable abusar de la cal para el manejo de la plaga. No debe aplicarse grandes cantidades en época seca ya que en esta época la planta se encuentra en estrés y podría afectarle.

Estos resultados y consejos ayudarán principalmente a los pequeños productores, pues al ser implementados estos conocimientos y ser implementados en los campos piñeros mejor producción podrán obtenerse, además mejor calidad de producto puede ser ofrecido al mercado, pues una plantación libre de plaga produce frutos de mejor calidad por su mayor tamaño y estar libres de cochinillas.

Como parte de este trabajo también se ha elaborado un folleto sobre el cultivo de la piña que podrá ayudar tanto a productores como a otras personas que deseen conocer más del cultivo.

CONTENIDO

Portadilla	i
Autoría	ii
Página de firmas.	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Agradecimientos a patrocinadores	vi
Resumen	vii
Nota de prensa	viii
Contenido	x
Indice de cuadros	xiii
Indice de figuras	xiv
Indice de anexos	xv
1. INTRODUCCIÓN	1
2 REVISION DE LITERATURA	3
2.1 EL CULTIVO DE LA PIÑA (<i>Ananas comosus</i>)	3
2.1.1 Principales problemas de plagas	4
2.1.2 Cochinilla (<i>Dysmicoccus brevipes</i> homóptera: pseudoccididae)	4
2.1.3 Virus del marchitamiento de la piña causado	
por cochinilla (PMWaV)	6
2.2 ALTERNATIVAS DE MANEJO DE LA COCHINILLA	
EN PIÑA ORGÁNICA	6
2.2.1 <i>Beauveria bassiana</i>	7
2.2.2 <i>Metarhizium anisopliae</i>	7
2.2.3 <i>Entomophthora virulenta</i>	8
2.2.4 Extracto de ajo: (<i>Allium sativum</i>)	8
2.2.5 Azadirachtina, Extracto de la semilla de	
Nim; (<i>Azadirachta indica</i>)	8
2.2.6 Jabón	9
2.2.7 Cal	9

3.	MATERIALES Y MÉTODOS	10
3.1	BIOENSAYOS	10
3.1.1	Conteo de esporas	10
3.1.2	Viabilidad de los productos entomopatógenos	11
3.1.3	Determinación la de efectividad en laboratorio	11
3.1.3.1	Tratamientos	11
3.1.3.2	Diseño experimental	12
3.1.3.3	Aplicación	12
3.1.3.4	Conteo	12
3.2	PRIMER ENSAYO DE CAMPO EN LA PLANTACIÓN JOVEN	13
3.2.1	Localización	13
3.2.2	Tratamientos	13
3.2.3	Diseño experimental	13
3.2.4	Aplicaciones	14
3.2.5	Variables y Muestreo	14
3.3	SEGUNDO ENSAYO EN LA PLANTACION JOVEN	15
3.3.1	Tratamientos	15
3.3.2	Diseño	15
3.3.3	Aplicaciones	15
3.3.4	Variable y muestreo	15
3.4	ENSAYO DE CAMPO EN LA PLANTACION ESTABLECIDA	16
3.4.1	Localización	16
3.4.2	Tratamientos	16
3.4.3	Diseño experimental	16
3.4.4	Aplicaciones.....	16
3.4.5	Variable y Muestreo	16
3.5	IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DE HORMIGAS ASOCIADAS CON LA COCHINILLA	17
3.6	MUESTREOS PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DEL VIRUS DEL AMARILLAMIENTO DE LA PIÑA (PMWaV)	18
3.7	DETERMINACION DE LA PERCEPCIÓN DE LAS PLAGAS EXISTENTES EN LA ZONA POR LOS PIÑICULTORES	18
3.8	MUESTREOS DE PLAGAS	18

4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
4.1	BIOENSAYOS	19
4.1.1	Conteo de esporas	19
4.1.2	Viabilidad de los entomopatógenos	19
4.1.3	Determinación la de efectividad en laboratorio	19
4.2	PRIMER ENSAYO EN LA PLANTACIÓN JOVEN	23
4.2.1	Efecto de los tratamientos sobre el nivel de infestación	23
4.2.2	Efectos de la lluvia sobre el nivel de infestación	23
4.2.3	Efecto de la aplicación de cal al suelo en el porcentaje de los hijos pegados.	26
4.3	SEGUNDO ENSAYO EN LA PLANTACION JOVEN	27
4.4	ENSAYO EN LA PLANTACIÓN ESTABLECIDA.....	28
4.4.1	Efecto de los tratamientos sobre el nivel de infestación	
4.4.2	Efectos de la lluvia sobre el nivel de infestación	30
4.5	IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DE HORMIGAS ASOCIADAS CON LAS COCHINILLAS	32
4.6	DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DEL VIRUS DEL AMARILLAMIENTO DE LA PIÑA (PMWaV)	33
4.7	PERCEPCIÓN DE LAS PLAGAS EXISTENTES EN LA ZONA POR LOS PIÑICULTORES	33
4.8	MUESTREOS DE PLAGAS	35
4.8.1	Sinfilidos	36
4.8.2	Barrenador del fruto	36
4.8.3	Gallina Ciega	36
4.8.4	Picudo Negro	36
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	37
6.	BIBLIOGRAFIA	40
7.	ANEXOS	43

INDICE DE CUADROS

Cuadro

1. Tratamientos que se usaron en la prueba de bioensayos para determinar efectividad de todos los tratamientos.	12
2. Dosis de campo utilizadas para el ensayo en la plantación joven.	13
3. Distribución de los tratamientos para diseño de parcelas divididas en el ensayo de la plantación joven.	14
4. Mortalidad de cochinillas en número de individuos muertos, acumuladas por plato petri en los bioensayos.	22
5. Diferencia estadística de los resultados de mortalidad.	22
6. Análisis de varianza de los tratamientos del primer ensayo en la plantación joven.	23
7. Porcentajes de infestación por cada muestreo del ensayo en la plantación joven, iniciada con un mes de edad.	24
8. Análisis de varianza del ensayo en la plantación establecida (plantas de 6 meses de edad).	28
9. Porcentajes de infestación y diferencia estadística, por cada muestreo del ensayo en la plantación iniciada con 6 meses de edad.	29
10. Resultado del muestreo de plagas.	36

INDICE DE FIGURAS

Figura

1. Los mejores tratamientos con mortalidad acumulada en número de cochinillas por plato petri en los bioensayos. 20
2. Niveles de infestación en porcentaje de plantas infestadas en los mejores tratamientos y el testigo en relación con los de milímetros diarios de precipitación, en el ensayo de la plantación joven. 26
3. Cambios en los porcentajes de plantas infestadas por cochinillas, por efecto de la aplicación de cal disuelta en agua, cal en polvo y testigo. 27
4. Planta de piña robusta mostrando retención de agua en las axilas de las hojas. 31
5. Comportamientos de los porcentajes de infestación por cochinillas en los mejores tratamientos del ensayo de la plantación establecida y el promedio diario de precipitación. 31
6. Plagas conocidas por los piñicultores en porcentaje de productores que la consideran una plaga importante. 34

INDICE DE ANEXOS

Anexo.

1. Recuento directo de conidias.	44
2. Recuento viable de hongos.	47
3. Protocol for blotting pineapple samples.	50

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los principales cultivos en el municipio de Santa Cruz de Yojoa, Honduras, es la piña *Ananas comosus*, cuya producción se destina a la exportación (El Salvador y EE.UU.), procesamiento y consumo nacional. Constituye por lo tanto el principal ingreso para muchos agricultores de esta zona. Este cultivo se ha consolidado en esta zona por la calidad de los suelos, los cuales tienen un pH ácido y bajo nivel de fertilidad, condiciones a las que la piña se adapta fácilmente.

A pesar de la gran importancia económica que tiene este cultivo en la zona, ha existido muy poca investigación y es necesario que se busquen alternativas funcionales para ayudar a resolver algunos de los problemas de este cultivo (Guardado, 1999)¹.

Actualmente una de las plagas más importantes en esta zona y la principal para la mayoría de piñicultores, es la cochinilla *Dysmicoccus brevipes* (Homóptera: pseudococcidae). Esta plaga es muy importante ya que además del daño producido por succión de savia; es vector del Pineapple mealybug wilt-associated virus (PMWaV) (Hu *et al.*, 1996) conocido también como Virus del Marchitamiento de la Piña. La presencia de este virus aun no ha sido confirmada en esta zona, pero según Barrientos (1998), por la correlación directa que se ha observado entre plantas con cochinillas y la presencia amarillamiento de la planta, se cree que puede existir el virus en la zona, pero no se ha determinado si el amarillamiento es por virus o como efecto secundario de la absorción de nutrientes que efectúa la cochinilla. Lo anterior obliga a buscar una alternativa funcional, económica y amigable con el ambiente para el manejo de la cochinilla. Esto es de mucha importancia e interés tanto para los agricultores como para algunas empresas frutícolas (exportadoras de fruta orgánica) que tienen presencia en la zona.

En vista de esta problemática situación, el programa internacional **IPM-CRSP** interesado en fomentar la producción y el ingreso de las familias rurales, a través realizar investigaciones para ayudar en la producción de cultivos no tradicionales y el fomento del uso de prácticas de manejo integrado de plagas (MIP), en conjunto con Zamorano está realizando investigaciones en algunas frutas tropicales como: piña, papaya y sandía, durante el año 1999 se realizó en la zona del lago de Yojoa una investigación para estudiar la cochinilla de la piña y buscar una alternativa para el manejo de esta plaga.

¹Mauricio Guardado, Técnico de Campo, Organic Fruits International.

En forma general la cochinilla y la gallina ciega son concebidas por los productores de piña en esta zona, como las plagas más dañinas. Los sinfilidos (*Hanseniella* sp., *Scutigerella* sp.) son otra plaga que también influyen en el rendimiento, que no es conocida en la zona de Yojoa por ser artrópodos muy pequeños que pasan desapercibidos por los productores. Es una plaga importante en muchas zonas piñeras del mundo, y por el sistema de manejo de dejar la plantación hasta por tres ciclos de producción es probable que esta plaga se haya establecido en la zona. Por esto es importante conocer cuales plagas están presentes en la zona, para estar conscientes del efecto en reducción del rendimiento que estas puedan ocasionar y también poder tomar acciones para manejarlas.

Algunas soluciones que se han planteado para ayudar a resolver el problema de la Cochinilla son; realizar aplicaciones de hongos entomopatógenos como: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Entomophthora virulenta*; extracto de Ajo *Allium sativum*; Azadirachtina (extracto de Nim *Azadirachta indica*), Jabón y Cal.

La efectividad de *Metarhizium anisopliae*, *Entomophthora virulenta*, *Beauveria bassiana*, extracto de semilla de Nim y jabón fue evaluada por Barrientos (1998), obteniendo buenos resultados en laboratorio con Nim y jabón, pero en los ensayos de campo ninguno de los productos presentó efectividad. Estos resultados probablemente fueron por efectos climáticos adversos que se presentaron en dicha evaluación.

OBJETIVOS:

1. Buscar una solución efectiva para el manejo de *Dysmicoccus brevipes* en el cultivo de piña orgánica, utilizando plaguicidas botánicos, microbiológicos e inorgánicos.
2. Evaluar la efectividad de los entomopatógenos: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Entomophthora virulenta* en el control de *Dysmicoccus brevipes*.
3. Evaluar el efecto de la cal en el porcentaje prendimiento de los hijos de piña y su efecto en el control de las cochinillas.
4. Determinar la presencia del Virus del Marchitamiento de la Piña en la zona.
5. Buscar una relación entre la población de cochinillas y la cantidad de lluvia.
6. Identificar las especies de hormigas presentes en la zona asociadas con las cochinillas y la relación que existe entre estas.
7. Identificar los problemas de plagas más importantes del cultivo de piña, de la zona de Yojoa.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 EL CULTIVO DE LA PIÑA (*Ananas comosus*)

La piña (*Ananas comosus*) pertenece a la familia de las Bromeliaceas, Según Py *et al.* (1987) casi todas las especies de bromeliaceas a excepción de algunas especies el género *Pitcairnia*, son originarias de América, para el caso específico de *A. comosus* es originaria de la parte norte de Argentina y de Brasil.

La planta de piña es de crecimiento herbáceo, puede alcanzar alturas entre 0.90 a 1.5 m según la variedad y las condiciones ambientales. Las raíces raramente profundizan a más de 90 cm (Sinclair, 1993), pero según las condiciones de suelo pueden alcanzar hasta los 2 m y generalmente la mayoría de estas se encuentran en los primeros 30 cm (Py, 1969). La propagación generalmente es vegetativa por lo que casi sólo se encuentran raíces adventicias. El tallo es corto, cilíndrico y puede alcanzar una longitud de 35 cm (Py *et al.*, 1987); tiene la particularidad de que la base es más angosta y los entrenudos son cortos. En el ápice tiene el meristema apical el cual se diferencia a meristema floral. Las hojas están colocadas en forma de roseta y pueden alcanzar 100 cm de longitud (Py *et al.*, 1987). La presencia de espinas depende de la variedad, condiciones ambientales y la pureza del material genético. El fruto es un sincarpo formado por la fusión de varias bayas, conocido como una sorosis, que se forma por el crecimiento partenocárpico. En algunos casos puede existir polinización y formación de semillas.

Existen 3 tipos de brotes que pueden usarse como material de propagación y son los siguientes: **Hijo de Corona**, se forma del crecimiento del meristema apical después que se forma el fruto, es un hijo muy vigoroso, pero generalmente no se usa para propagación, porque el fruto se comercializa con él; **Hijos basales o gallos**, estos se desarrollan de las yemas axilares del pedúnculo del fruto (Rebolledo *et al.*, 1998), su número varía según las condiciones de la planta y la situación ambiental, estos son los que más comúnmente se utilizan como material de propagación, por la facilidad de recolección y manejo; **Hijos axilares o clavos**, estos emergen de las axilas de las hojas de la planta, generalmente son más robustos que los gallos, se producen cuando la planta pierde su dominancia apical (Sinclair, 1993). Cuando la plantación se deja mas de un ciclo estos hijos son los que producen la planta sustituta y la producción del siguiente ciclo, también se usan como material de propagación, pero su mayor tamaño los hace difíciles de manejar y los hace más susceptibles a deshidratación.

Una de las características más importantes de la piña es que pertenece a las plantas de ciclo de ácido crasulácico (CAM), (Py *et al.*, 1987 y Sinclair, 1993), esta es una de las características que hace a la planta resistente a sequías, pues durante el día capta luz, pero no dióxido de carbono, cierra sus estomas y evita la transpiración; durante la noche abre sus estomas para captar el dióxido de carbono necesario para la producción de carbohidratos. Esto es algo importante pues cuando se aplican productos de acción sistémica es necesario que se realicen por la noche o por la tarde, para que tengan buen efecto, porque si se aplican durante el día los estomas están cerrados y la efectividad es menor. La piña es una planta de días cortos, la inducción floral natural se produce cuando los días se hacen mas cortos y fríos, sin embargo pueden lograrse floraciones forzadas con inductores florales (Bartolomew, 1999). Cuando se hacen inducciones es necesario tomar en cuenta el tamaño de la planta, ya que con plantas muy pequeñas (menos de 5 lbs), no se obtienen buenos resultados (Py *et al.*, 1987).

2.1.1 Principales problemas de plagas

Algunas de las plagas más importantes de la piña son: cochinilla (*Dysmicoccus brevipes*, Homóptera: Pseudococcidae), sinfilidos (*Hanseniella* sp., *Scutigerella sakimurai* Symphyla: Scutigerellidae), nemátodos (*Meloidogyne* sp., *Rotylenchulus reniformis*), (Waite, 1993). Barrenador del fruto (*Thecla basilides*), Gallina ciega (*Phyllophaga* sp. Coleóptera: Scarabidae) y picudo negro (*Metamasius callizona*, Coleóptera: Curculionidae) (Rebolledo *et al.*, 1998).

Casi todas estas plagas están reportadas en la principal zona piñera de Honduras (La Ceiba) (Monroy, 1999)¹. La otra zona piñera de Honduras es Santa Cruz de Yojoa, departamento de Cortés, allí las principales plagas son cochinilla y gallina ciega.

2.1.2 Cochinilla (*Dysmicoccus brevipes* Homóptera: Pseudococcidae)

Distribución y características: La cochinilla se encuentra en casi todos los lugares donde se cultiva piña, como Africa, Australia, América Central, América del Sur, India y Hawai (Mau y Kessing, 1999).

Son insectos ovalados recubiertos por cera blanca, en estado adulto miden de 2 a 3 mm de largo y 1.8 a 2 mm de ancho, su reproducción puede ser partenogénica. Se localizan en la base de las hojas inferiores (Rebolledo *et al.*, 1998), pero también se encuentran en las raíces adventicias de la planta. Pueden infestar otras bromelias, y no bromelias como anona, banano, cítricos, café, algodón y madreño. (Mau y Kessing, 1999).

¹ José Monroy, Auxiliar de investigación, Stándar Fruit Co. Honduras. Comunicación personal.

Este insecto tiene un ciclo de vida incompleto y es ovovivíparo, según Py *et al.* (1987) el estado ninfal posee tres esdadios.

En su ciclo de vida muda tres veces, en un periodo de aproximadamente 34 días y unos 27 días después empiezan a producir un promedio 234 crías en un periodo de 25 días. El tiempo de vida es aproximadamente de 90 días, de los cuales 56 los pasa en el periodo adulto. La duración de estas etapas se aplican a un régimen de 23°C (Py *et al.*, 1987).

Se puede encontrar en todas partes de la piña, pero mayormente en la base de las hojas basales, las raíces de la planta, y en cavidades florales del fruto. El material vegetativo para propagación está frecuentemente infestado diseminándose así la plaga al momento de plantación (Mau y Kessing, 1999).

Existe una asociación de cochinillas con hormigas: Las hormigas viven en simbiosis con las cochinillas, protegen a las cochinillas manteniendo el vigor de las colonias mediante la interferencia con depredadores y parásitos, además, las hormigas remueven la mielecilla, la cual usan como alimento, que es continuamente producida y evitan la formación de una masa pegajosa que inmoviliza a la plaga (Johnson, 1999). La infestación de cochinillas puede ser esparcida hacia otros campos mediante el acarreo de juveniles y adultos. Algunas especies de hormigas que se asocian con las cochinillas son: *Pheidole megacephala*, *Iridomyrmex humilis*, *Solenopsis geminata* (Mau y Kessing, 1999).

Algunos enemigos naturales citados por Mau y Kessing (1999) son, parasitoides: *Aenasius cariocus*, *A. colombiensis*, *Anagyrus ananatis*, *Euryhopauus propinaquus*, *Hambletonia pseudococcina* y *Ptomastidae abnormis*. Depredadores: *Cryptolaemus montrouzeiri*, *Lobodiplosis pseudococci*, *Nephus bilucernarius*, *Scymnus unicus* y *S. pitus*. Ellos afirman que estos tienen poco efecto en el control natural porque las hormigas protegen a las cochinillas de estos enemigos naturales. Sin embargo, Johnson (1999) argumenta que *Anagyrus ananatis* puede parasitar cuando las hormigas están presentes, pero que ejercen mejor control en ausencias de estas.

Según (Hu *et al.*, 1996) existe evidencia de que la plaga es vector del PMWaV (Pineapple mealybug wilt-associated virus), conocido también como Virus del Marchitamiento por Cochinillas. El daño y síntomas no solo pueden producirse por la presencia del virus, sino también por los efectos tóxicos de la saliva de las cochinillas que inyectan cuando se alimentan de la planta (Mau y Kessing, 1999). El marchitamiento de la piña por cochinilla es una enfermedad de distribución mundial. Las plantas afectadas con el Virus del Marchitamiento por Cochinilla se tornan amarillas, luego rojizas y con pérdida de turgidez en las hojas. Los síntomas aparecen sucesivamente, primero afecta el sistema radicular, seguido por el follaje y finalmente el sistema reproductivo, existe una reducción en el número de hojas, longitud de hojas y raíces. El efecto primario del marchitamiento por cochinillas es la destrucción de las

raíces, que resulta parecido a los síntomas de marchitez por sequía. El sistema radicular se daña y es invadido por organismos secundarios antes de que aparezcan los síntomas en las hojas. Las frutas producidas por plantas afectadas tienen una apariencia inmadura y con bajo grado de calidad (Py *et al.*, 1987).

2.1.3 Virus del marchitamiento de la piña causado por cochinilla (PMWaV):

El PMWaV es una enfermedad presente en todo el mundo y es de las principales enfermedades de la piña. El virus fue reportado por primera vez hace aproximadamente diez años (Sether *et al.*, 1998). Se demostró que *Dysmicoccus brevipes* y *D. neobrevipes* son transmisores de la enfermedad y que son más efectivos en transmitirlo en el segundo y tercer instar ninfal. Los closterovirus están constituidos de ARN, para diagnosticarlo es necesario el uso de una transcriptasa reversa, para transformar la secuencia de ARN en ADN y en forma de ADN se utiliza el método de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Doyle, 1999)². El método de hibridización se ha utilizado para el estudio de este tipo de patógeno. Hu *et al.* (1996) en la Universidad de Hawaii, desarrollaron una sonda específica para el PMWaV para realizar pruebas de hibridización, también publicaron un artículo donde reportan anticuerpos monoclonales para la detección del virus, para identificación con el método de Ensayo Inmuno Absorbente de Enzima Ligada (ELISA). La forma más rápida de identificación es enviando muestras al Dr. Hu de la Universidad de Hawaii, en membranas de nitrocelulosa, para que sean analizadas por el método de hibridización.

2.2 ALTERNATIVAS DE MANEJO DE LA COCHINILLA EN PIÑA ORGÁNICA:

La mayoría de productores de piña de Santa Cruz de Yojoa, no realiza ningún control para esta plaga, algunos porque son productores orgánicos y otros porque los costos se incrementan y ellos dicen que en época de cosecha les pagan muy mal por su producto. Algunos productores ya han empezado a realizar aplicaciones de cal y extractos de hojas de *Glyricidia sepium*.

En este trabajo se evaluaron algunos productos que se podrían usar para el control de la plaga en plantaciones orgánicas, los productos evaluados fueron: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Entomophthora virulenta*, Azadirachtina (extracto de semilla del árbol de nim; *Azadirachta indica*), Extracto de ajo; *Allium sativum*, jabón y cal hidratada.

² María Mercedes Doyle: Fitopatóloga, Departamento de protección Vegetal, El Zamorano. Comunicación personal.

2.2.1 *Beauveria bassiana*

Es un hongo que pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, clase Hyphomycetes, se caracteriza por la formación de micelio septado y producción de conidias de aproximadamente 0.5 a 0.8 micras de diámetro o formas de reproducción asexual, en conidióforos que nacen a partir de hifas ramificadas (Laverlam, 1999). *B. bassiana* es uno de los hongos más estudiados y se ha aislado de muchos insectos en todo el mundo (Gillespie, 1988).

Actualmente el hongo se produce industrialmente por muchas casas comerciales entre ellas LAVERLAM de Colombia; es recomendado para control de una gran diversidad de insectos como: *Anthonomus grandis*, *Ancognatha* sp., *Phyllophaga* sp., *Cosmopolites sordidus*, *Castnia* sp., *Diaprepes* sp. y *Faustinus apicalis* (Laverlam, 1999). Remaundière y Largè (1985) encontraron en México *B. bassiana* infectando *Aenoneolamia albofasciata* (Homóptero; Cercopidae) también Laverlam lo recomienda para el control de cercópidos en pastos. Estos insectos pertenecen al mismo orden de la cochinilla .

El hongo tiene tres fases de infección por las cuales los insectos mueren: primero el hongo penetra al insecto, por la cutícula y oralmente, luego en el proceso de desarrollo libera metabolitos secundarios como; Beauveriloides, Bassianolides, Isarolides, Enniatinas y Oosporeina, y por último la esporulación el hongo, dando inicio un nuevo ciclo (Laverlam, 1999). El hongo también puede vivir como saprófito cuando no hay tejido presente.

2.2.2 *Metarhizium anisopliae*

Este hongo que pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, clase Hyphomycetes se caracteriza por la formación de micelio septado, produce conidias de aproximadamente 0.5 a 0.8 micras de diámetro y formas de reproducción asexual, es un parásito facultativo. En el proceso de invasión de los tejidos produce una gran variedad de metabolitos tóxicos, los más estudiados han sido; las destruxinas A, B, C, D y E; y la desmetildestruxina B. Puede afectar a insectos del orden coleóptera, Homóptera y lepidóptera (Laverlam, 1999). Remaundière y Largè (1985) encontraron en México *M. anisopliae* infectando *Aenoneolamia albofasciata* (Homóptero; Cercopidae) también Gillespie (1988) reporta que este hongo es usado ampliamente en Brasil para el control de cercópidos en caña de azúcar, estos insectos pertenecen al mismo orden de la cochinilla de la piña.

2.2.3 *Entomophthora virulenta*

Es un hongo imperfecto, facultativo, que puede afectar a insectos del orden Homóptera, Thysanóptera y Díptera, recomendado principalmente para mosca blanca, la muerte del insecto puede ser por la invasión el tejido del insecto y también por los metabolitos tóxicos, de los que se han aislado son; 4,4 hidroxymetil azoxybenceno, azoxybenceno ácido dicarboxílico y ácidos carboxílicos, los cuales se cree que afecta el transporte de cationes y aniones. Estos se producen cuando se cultiva el hongo y también cuando el hongo se desarrolla dentro del insecto (Laverlam, 1999).

2.2.4 Extracto de ajo: (*Allium sativum*)

Los extractos de ajo se caracterizan por ser repelentes de una gran diversidad de insectos y tener una acción sistémica, que al absorberse por la planta altera el sistema enzimático y provoca alteración en la transpiración, como consecuencia de esto sufre un cambio en los jugos intra-celulares de las plantas. Produce un enmascaramiento de las ferhormonas de los insectos, con ello disminuye el apareamiento, se produce un efecto antialimenticio por efecto de contacto e ingestión. En hormigas produce un efecto repelente. En los insectos produce un efecto de alteración y confusión por causa de los thiosulfatos que contiene el ajo (Special Nutrients, 1999). Los ingredientes más activos del ajo son; alliina, allicina y disulfato de dialil (Jones y Mann, 1963; citado por Müller, 1998).

2.2.5 Azadiractina, Extracto de la semilla del nim; (*Azadirachta indica*)

La azadiractina es uno de los principales ingredientes del nim, el cual es causante del 90% del efecto en las plagas. La azadiractina es similar a la hormona ecdyzoa producida por los insectos, la cual regula el proceso de metamorfosis, como la azadiractina el similar a ella bloquea el proceso de producción de ecdyzoa, por lo que los insectos no pueden continuar su ciclo de vida normal. Los homópteros son sensibles al nim en varios grados, especialmente cuando se encuentran en estado ninfal, el problema es que como los homópteros se alimentan succionando savia de las plantas es más difícil que sean ingeridas suficientes cantidades, aunque tiene acción sistémica la concentración el floema puede ser muy baja para producir mortalidad en la plaga (National Research Council, 1992)

2.2.6 Jabón

El jabón es un compuesto formado por grasa y álcali, el extremo graso se adhiere a la grasa de la cutícula de los insectos y perturba su función (Baker, 1999; citado por Vargas, 1999), el jabón entonces rompe la tensión superficial y pasa a través de la cutícula y envenena al insecto (Mahr y Regway, 1993; citado por Vargas, 1999). Se ha utilizado jabones últimamente para controlar algunas plagas, principalmente áfidos y zompopos. Las plagas que son susceptibles son aquellas que tienen un exoesqueleto blando o susceptible a los efectos del jabón, este reacciona con la quitina y la ablanda, esto produce muerte por deshidratación, también produce obstrucción de los espiráculos, seguidamente muerte del insecto (Special Nutrients, 1999). Se supone que el jabón podría producir una destrucción de la cera que protege a las cochinillas y producirles la muerte por deshidratación y taponamiento de los espiráculos.

2.2.7 Cal hidratada

Algunos productores de Santa Cruz de Yojoa, utilizan cal, aplicada al follaje y también al suelo para combatir *D. brevipes*, se supone que tiene un efecto deshidratante y abrasivo en la cochinilla, también obstruye el área de las axilas y las cochinillas no pueden alimentarse.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Las actividades para el manejo de cochinilla *Dysmicoccus brevipes*, estuvieron divididas en actividades de laboratorio y de campo, las de laboratorio consistieron en bioensayos y las de campo en: evaluaciones de productos, entrevistas con los productores, muestreo de plagas y muestreo de hormigas. Para los ensayos de campo se utilizó la variedad de piña “Montufar”, más conocida por los piñicultores de Santa Cruz de Yojoa como “Azucarón”. Las aplicaciones se realizaron por la mañana o por la tarde para que fueran mejor absorbidas por la planta y también para proporcionar mejores condiciones climáticas a los entomopatógenos.

Se montaron tres ensayos en el campo, dos en una plantación joven, en la que se iniciaron las aplicaciones cuando ésta tenía un mes de haberse plantado y otro ensayo en una plantación ya establecida de seis meses de edad. El propósito de establecer ensayos en plantaciones con dos edades fue para poder observar el efecto de control cuando se aplican en plantas pequeñas y plantas grandes en varias épocas del año, para poder hacer conclusiones del comportamiento de la plaga en un ciclo completo de cultivo.

3.1 BIOENSAYOS:

Se realizaron en el Laboratorio de Diagnostico y en el Centro de Plaguicidas de Zamorano, situado a 30 Km al este de Tegucigalpa, a una altura de 800 msnm, a 14° 00” latitud norte y 87° 02” longitud oeste.

La calidad y efectividad de los productos fueron evaluadas por medio de tres pruebas: conteo de esporas, determinación de viabilidad y un ensayo de laboratorio con todos los tratamientos para evaluar su efectividad.

3.1.1 Conteo de esporas

Para realizar el conteo se utilizó la formulación comercial de los productos entomopatógenos: **Bauveril**[®] (*Beauveria bassiana*), **Destruxín**[®] (*Metarhizium anisopliae*) (Cuadro 1), se prepararon únicamente 0.1 L de cada producto. Para pesar la cantidad exacta de **Bauveril**[®] y **Destruxín**[®] se utilizó una balanza analítica. Para **Vektor**[®] (*Entomophthora virulenta*) no se realizó conteo de esporas ni de micelio, porque las toxinas contenidas en el líquido son las que hacen la acción insecticida y porque la gran cantidad de micelio impidió tomar una lectura correcta. El

procedimiento seguido fue el protocolo de laboratorios Laverlam para recuento directo de conidias. (Anexo 1).

Los tres productos a base de entomopatógenos utilizados en todos los ensayos fueron de la cepa colombiana Laverlam, producidos por la casa comercial LAVERLAM.

3.1.2 Viabilidad de los productos entomopatógenos

Para saber si los productos de *Beauveria*, *Metarhizium* y *Entomophthora* que se utilizaron se encontraban en buen estado y cumplían las especificaciones de la casa distribuidora, se realizó cultivos en agar (PDA) con ácido láctico al 4%.

Los cultivos se prepararon en porta objetos, y con una pipeta se colocó el agar y cuidadosamente se vació en el porta objetos, y se colocaron dentro de una caja de petrí sostenida por dos palillos y papel filtro humedecido con agua estéril debajo de los palillos para mantener la humedad, estos se inocularon con la solución de los productos entomopatógenos a la concentración indicada en el cuadro 1. Para inocular y distribuirlo se utilizó un rastrillo de cristal estéril. Todo este procedimiento se realizó dentro de la cámara de flujo laminar, los cultivos se incubaron a 27°C. Ver protocolo de recuento viable de hongos de laboratorios Laverlam (anexo 2).

Durante tres días se contó cada 24 horas un número de esporas germinadas y no germinadas. Para poder contar diariamente el número de esporas germinadas y no germinadas se hicieron tres microcultivos de cada uno de los entomopatógenos.

3.1.3 Determinación la de efectividad en laboratorio

3.1.3.1 Tratamientos. El ensayo consistió de nueve tratamientos (Cuadro 1) y cinco repeticiones, utilizando las dosis de campo recomendadas. Los insectos se recolectaron de la zona de Yojoa y en cada bloque se colocaron cochinillas del mismo tamaño.

Se colocaron 10 cochinillas en un pedazo de hoja de piña sobre una caja petrí con tapa de malla y papel filtro húmedo en el fondo, para proporcionar humedad y se asperjaron con la solución del tratamiento.

Cuadro 1. Tratamientos que se usaron en la prueba de bioensayos para determinar efectividad de todos los tratamientos.

No	TRATAMIENTO	DOSIS/ en agua
1	Bauveril [®] (<i>Beauveria bassiana</i>)	0.05 g/L.
2	Destruxin [®] (<i>Metarhizium anisopliae</i>)	0.05 g /L.
3	Vektor [®] (<i>Entomophthora virulenta</i>)	2.5 cc/L.
4	Garlic barrier [®] Ajo: (<i>Allium sativum</i>)	5 cc/L.
5	Organim 4 SL [®] : (<i>Azadirachta indica</i>)	5 cc/L.
6	Nutrisoap [®] Jabón	10 cc/L.
7	Cal hidratada	110 g/L.
8	Bioport [®] portador	0.125 cc/L.
9	Testigo	

Nota: Organim 4 SL[®] tiene una concentración de 4% de azadirachtina.

Cal hidratada: hidróxido de calcio, Ca(OH)₂

El Bioport se utilizó como portador en los productos entomopatógenos a la dosis indicada en el Cuadro 1, y se usó como uno de los tratamientos para determinar si producía mortalidad. Esto se realizó en vista que Barrientos (1998) reportó que parte de la mortalidad en las cochinillas podría deberse al portador.

3.1.3.2 Diseño experimental. El diseño estadístico utilizado fue Bloques Completos al Azar (BCA) con Medidas Repetidas en el Tiempo y se utilizó como covariable el número inicial de cochinillas, ya que algunas se perdieron del plato, entonces se tomó como número inicial únicamente las que se encontraron dentro de la unidad experimental. Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico "Statistical Analysis Systems" (SAS) versión 6.12.

3.1.3.3 Aplicación. Se realizó una sola aplicación utilizando una bomba manual de aspersión. Se asperjó tratando que el producto llegara a todas las partes del plato petri.

3.1.3.4 Conteo. El conteo de cochinillas muertas se realizó cada 48 horas durante 14 días, tiempo en el cual varias unidades experimentales habían alcanzado el 100% de mortalidad y también otras unidades experimentales mostraron reproducción.

3.2 PRIMER ENSAYO DE CAMPO EN LA PLANTACIÓN JOVEN

3.2.1 Localización

Las parcelas se establecieron en la localidad de La Ceibita (660 msnm), a 7 Km del municipio de Santa Cruz de Yojoa, en el departamento de Cortes, Honduras.

3.2.2 Tratamientos

Para este ensayo se utilizaron los mismos tratamientos de los bioensayos (cuadro 1), no se incluyó el portador como uno de los tratamientos y la cal fue aplicada al suelo.

La cal al suelo se aplicó al pie de la planta a una dosis de 14 quintales por ha después de la siembra y otra dosis igual dos meses después. Las dosis del resto de productos variaron con respecto a las dosis por volumen de los bioensayos ya que se utilizó dosis por hectárea (Cuadro 2).

Cuadro 2. Dosis de campo utilizadas para el ensayo en la plantación joven.

Tratamiento	Dosis/ha	Dosis/unidad experimental	Conidias/ha (entomopatógenos)
Bauveril®	25 g	0.0875 g	1×10^{11}
Destruxin®	50 g	0.175 g	1×10^{10}
Vektor®	1 L	3.5 cc	
Garlic Barrier®	1 L	7.0 cc	
Organim®	1 L	3.5 cc	
Nutrisoap®	1 L	3.5 cc	
Cal hidratada	14 qq	5.0 lbs	
Testigo			

qq= quintales.

3.2.3 Diseño experimental

Se hizo un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA), con Parcelas Divididas y cinco repeticiones. Se hizo un análisis con Medidas Repetidas en el Tiempo, con el paquete estadístico "Statistical Analysis Systems" (SAS) versión 6.12. Las parcelas principales fueron los tratamientos con y sin cal al suelo, y las parcelas secundarias los productos: Bauveril®, Destruxin®, Vektor®, Garlic barrier®, Organim® y Nutrisoap® (Cuadro 3). El área de las unidades experimentales fue de 35 m², con una parcela útil de 50 plantas. La densidad de siembra de esta plantación fue de 28,570 plantas por hectárea.

Cuadro 3. Distribución de los tratamientos para diseño de parcelas divididas en el ensayo de la plantación joven.

Con cal al suelo	Sin cal al suelo
Bauveril[®] (<i>Beauveria bassiana</i>)	Bauveril[®]
Destruxin[®] (<i>Metarhizium anisopliae</i>)	Destruxin[®]
Vektor[®] (<i>Entomophthora virulenta</i>)	Bauveril[®]
Garlic barrier[®] ajo: (<i>Allium sativum</i>)	Garlic barrier[®]
Organim 4 SL[®] (<i>Azadirachta indica</i>)	Organim 4 SL[®]
Nutrisoap[®] jabón	Nutrisoap[®]
Testigo	Testigo

Se desinfectó todos los hijos que se plantaron con una solución de 2 lb de cal más 3 onzas de sulfato de cobre por cinco galones de agua, solución con la que se les dio un tratamiento por inmersión a todos los hijos que se plantaron.

3.2.4 Aplicaciones

Las aplicaciones se realizaron con una bomba de mochila de 16 L con una boquilla de cono sólido (dispersor N. 3 y disco D1). Las aplicaciones se efectuaron cada 15 días. Se calibró el equipo de aplicación en cada una de las aplicaciones, para determinar el volumen de agua necesario por parcela. Las aplicaciones se suspendieron cuando se incrementaron los niveles de precipitación, por presentar un obstáculo en las aplicaciones y porque la lluvia habría lavado los productos.

3.2.5 Variables y Muestreos

Las variables que se midieron fueron; el número de plantas infestadas con cochinillas y el porcentaje de hijos perdidos.

Después de cada dos aplicaciones se hizo un muestreo en 50 plantas para determinar el nivel de infestación de cada unidad experimental, éste se realizó por medio de observación visual directa en las axilas de las plantas. Las plantas que se perdieron se contaron tres meses después de la plantación.

3.3 SEGUNDO ENSAYO EN LA PLANTACIÓN JOVEN

Como se observó que los tratamientos no tuvieron el mismo efecto en la plantación joven que en la plantación establecida, se decidió montar otro ensayo en las parcelas de la plantación joven, éste ensayo fue hecho durante la época lluviosa del año.

3.3.1 Tratamientos

Hubo tres tratamientos: Testigo absoluto, cal hidratada aplicada al follaje disuelta en agua y cal aplicada al follaje pero en forma de polvo.

3.3.2 Diseño

Para este ensayo se utilizaron las mismas parcelas que ya estaban marcadas para el primer ensayo porque las aplicaciones ya se habían suspendido. Se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar con cinco repeticiones. Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico “Statistical Analysis Systems” (SAS) versión 6.12.

3.3.3 Aplicaciones

Para el tratamiento de cal disuelta en agua se utilizó una bomba de mochila de 16 litros y la concentración a la que se aplicó fue de 4 libras de cal por los 16 litros de agua (Cuadro 1), se realizó una sola aplicación. Para el tratamiento de cal aplicada en polvo se utilizó un recipiente al que se le abrieron agujeros en la base para que dejara salir la cal, se aplicó 0.032 lbs/planta.

3.3.4 Variable y muestreo

La variable que se midió fue el número de plantas infestadas por cochinillas en las 50 plantas del área útil. Se realizó un muestreo antes de la aplicación y otro un mes después. El método de muestreo utilizado fue de observación directa de la presencia de cochinillas en el área axilar inferior de la planta.

3.4 ENSAYO DE CAMPO EN LA PLANTACIÓN ESTABLECIDA

3.4.1 Localización

El ensayo se montó en una plantación ya establecida de seis meses de edad, en la localidad de Chorritos (655 msnm) Santa Cruz de Yojoa departamento de Cortés, Honduras.

3.4.2 Tratamientos

Para este ensayo se utilizaron los mismos productos del Cuadro 1, con excepción del portador. Se utilizaron las dosis del Cuadro 2, la cal se aplicó a la base de las hojas inferiores, se usó la dosis del Cuadro 1, para el caso de la cal fue necesario hacer las aplicaciones por concentración.

3.4.3 Diseño experimental

Se realizó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA) con medidas repetidas en el tiempo, con ocho tratamientos y cinco repeticiones. El área de cada unidad experimental fue de 54 m² con una parcela útil de 25 plantas. Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico “Statistical Analysis Systems” (SAS) versión 6.12.

3.4.4 Aplicaciones

Las aplicaciones se realizaron con una bomba de mochila de 16 L con una boquilla de cono sólido (dispersor N. 3 y disco D1) cada 15 días, la aplicación fue directamente a las axilas de las hojas de la planta, para el tratamiento de cal hidratada se utilizó la boquilla de cono hueco de la bomba “Matabi”, ya que la boquilla de cono sólido se taponaba. Las aplicaciones se suspendieron cuando se incrementaron las lluvias, porque los niveles de infestación bajaron en todos los tratamientos.

3.4.5 Variable y Muestreo

La variable que se midió en este ensayo fue el número de plantas infestadas por cochinillas. Se realizó una evaluación inicial de cada parcela para determinar el nivel de infestación. Después de cada dos aplicaciones se hizo un muestreo para determinar el nivel de infestación de cada unidad experimental, el muestreo se realizó por medio de observación visual directa en las axilas inferiores de las plantas para determinar la presencia de cochinillas en las 25 plantas del área útil de la unidad experimental.

3.5 IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DE HORMIGAS ASOCIADAS CON LA COCHINILLA.

Para esto se realizó un muestreo de hormigas en las localidades de Chorritos y Ceibita (Santa Cruz de Yojoa), se busco en las axilas foliares de la piña, las hormigas que se encontraron en la planta cuando esta estaba infestada de cochinillas. Se colectaron en un recipiente con alcohol al 75%, y se identificaron en el centro de diagnostico de El Zamorano, en donde fueron clasificadas por el Dr. Ronald Cave.

3.6 MUESTREO PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DEL VIRUS DEL AMARILLAMIENTO DE LA PIÑA (PMWaV)

No es posible realizar el diagnostico de este virus en el Centro de Diagnostico de Zamorano, por lo que las muestras se enviaron al Dr. Hu, de la Universidad de Hawaii. Las muestras se tomaron de dos plantaciones, una de ocho meses y otra en producción (de 18 meses aproximadamente). Se tomaron muestras de plantas con síntomas de marchitamiento y con cochinillas, con síntomas y sin cochinillas, sin síntomas y con cochinillas, sin síntomas y sin cochinillas de cada una de las plantaciones. El procedimiento consistió en cortar en forma transversal las hojas en la base y la parte media. La parte cortada se colocó durante cinco segundos a una membrana de nitrocelulosa, de tal forma que la savia con el material genético(ARN) del presunto virus quedara impregnada en la membrana, (anexo 3) y esta membrana fue la que se envió.

3.7 DETERMINACION DE LA PERCEPCIÓN DE LAS PLAGAS EXISTENTES EN LA ZONA POR LOS PIÑICULTORES

Para saber sobre que plagas insectiles creen los piñicultores que tienen en sus plantaciones, se hizo una reunión con los miembros de la Empresa Asociativa Campesina de Transformación y Servicios Yojoa (EACTSY), en la que se les expuso los propósitos del presente trabajo y se les encuestó sobre cuales son las plagas más importantes que ellos tienen en el cultivo de piña, durante el transcurso del año. Las entrevistas fueron tanto a productores orgánicos como convencionales para conocer que plagas consideraban más importantes. Para esta actividad no se diseño una encuesta elaborada, sino que se realizó mediante preguntas abiertas al productor mientras se hacia un recorrido por su plantación.

3.8 MUESTREOS DE PLAGAS

Para corroborar lo indicado por los productores e identificar plagas presentes en la zona, se realizó un muestreo de las plagas más importantes del cultivo de piña. Las plagas observadas aparte de cochinillas, fueron; sinfilidos Symphyla: Scutigereidae; barrenador del fruto (*Thecla basilides*); gallina ciega (*Phyllophaga* sp.) Coleóptera: Scarabidae y picudo negro (*Metamasius callizona*) Coleóptera: Curculionidae.

El muestreo de sinfilidos se realizó en la zona de Chorritos y Ceibita. Se muestrearon al azar 10 plantas por ha. La raíz de la planta fue puesta en una bolsa plástica con cinco plantas por bolsa, para poder analizar la presencia de sinfilidos las muestras fueron colocadas en los embudos de Berlese en el Centro de Diagnostico de Zamorano, por cinco días, los especímenes fueron recolectados en alcohol al 75% y luego se procesaron.

Para el barrenador del fruto se hizo un muestreo al azar en 20 plantas ha, por el método de observación directa de daño, en frutas pequeñas de una plantación en fructificación del área de Chorritos.

Para gallina ciega, se seleccionaron 20 plantas al azar por hectárea en las plantaciones de Ceibita y Chorritos, una de 6 meses y la otra de aproximadamente un año respectivamente, las plantas se arrancaron y se observó la presencia de la plaga, el área muestreada fue de 0.5 has por cada plantación que se muestreó. Las larvas de gallina ciega encontradas se colectaron y fueron identificadas por el Dr Ronald Cave, en el Centro de Diagnostico de Zamorano.

El muestreo de picudo se realizó en una plantación de seis meses de edad, seleccionando 20 plantas al azar por hectárea y se observó daño por picudo en el meristema de la planta. El área muestreada fue de 1 ha seleccionada al azar en la plantación de Ceibita.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 BIOENSAYOS

4.1.1 Conteo de esporas

Después de realizar el conteo se encontró que **Bauveril**[®] (*Beauveria bassiana*) tenía 9×10^{10} esporas por dosis (30 g) esto es un 90% del número de lo especificado en la etiqueta del producto (1×10^{11}), pero se tomo como una cantidad adecuada, ya que en las especificaciones de control de calidad de la casa comercial la variación puede ser de un 20%. Para **Destruxín**[®] (*Metarhizium anisopliae*) se encontró que una dosis (50 g) contenía 1.5×10^{10} esporas, esto es un 30% más de lo especificado en la etiqueta del producto. Para **Vektor**[®] (*Entomophthora virulenta*) no se realizó conteo de esporas ni de micelio porque la gran cantidad de micelio contenido en el producto dificultó las lecturas, además según Botero (1999)³ lo que se espera con **Vektor**[®] es que las toxinas contenidas en el producto realicen la acción insecticida.

4.1.2 Viabilidad de los entomopatógenos

A las 48 horas las esporas **Bauveril**[®] y las de **Destruxín**[®] mostraron un 83.4% y 82.3% de germinación respectivamente. La germinación a las 72 horas no se pudo realizar porque el micelio impedía realizar una buena observación, pero se observaron muy pocas esporas no germinadas, las esporas ni el micelio de **Vektor**[®] germinaron en el medio.

4.1.3 Determinación la de efectividad en laboratorio

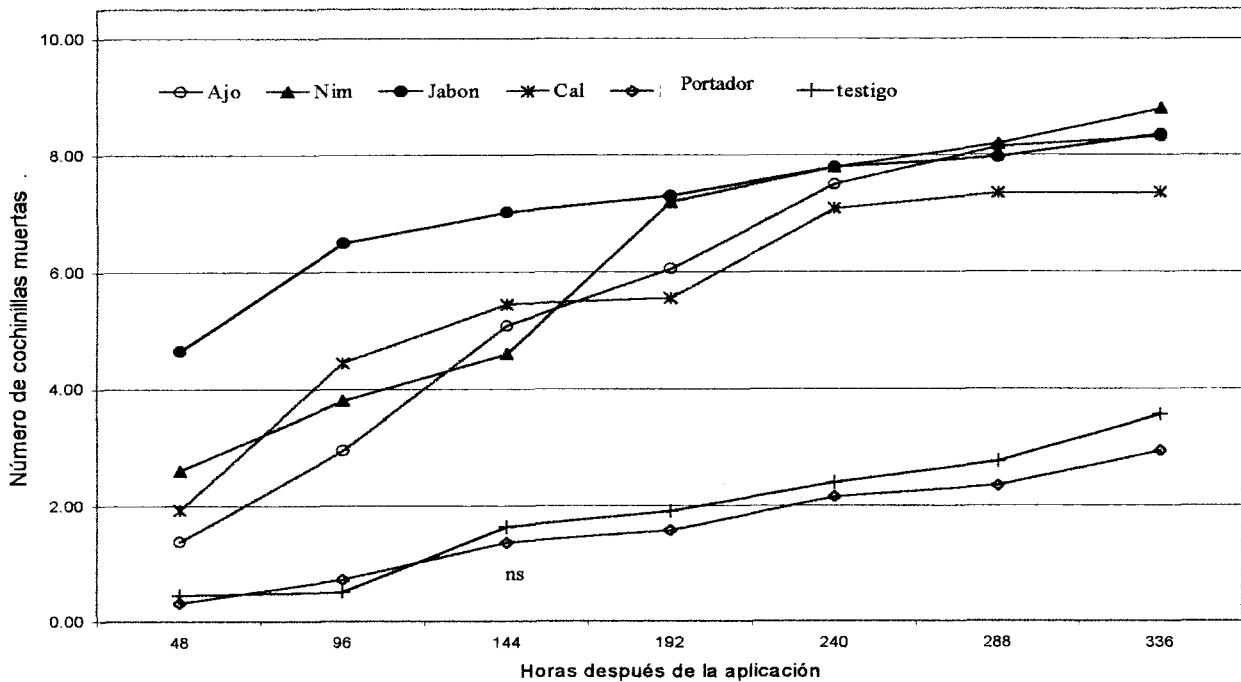
Se encontró diferencia estadística en tratamientos ($p=0.0034$) y en la interacción tratamientos-tiempo ($p=0.0057$), por lo que fue necesario hacer la interpretación en cada uno de los tiempos a los que se tomaron las lecturas.

Desde las primeras 48 horas el jabón y el nim mostraron mayor mortalidad y diferencia estadística con el testigo, pero a partir de las 240 horas ajo y cal empezaron a incrementar la mortalidad y se observó diferencias con el testigo que se

³ Ing. Fernando Botero, Representante de ventas LAVERLAN, comunicación personal.

mantuvieron así hasta el final del ensayo. Los entomopatógenos no produjeron mortalidad diferente a la del testigo (Figura 1).

El daño físico al exoesqueleto y taponamiento de espiráculos, fue probablemente el efecto que ocasiono en los insectos el jabón y por eso se observo una rápida mortalidad, en cambio el nim y ajo no fueron tan rápidos en actuar, ya que el efecto antialimenticio y cambio en el comportamiento hormonal que ocasionan no mata inmediatamente sino que los insectos mueren de inanición y otros efectos en el metabolismo, que fueron mencionados en la revisión de literatura. Probablemente ese retardo en la acción del nim y ajo se deba a que las cochinillas se alimentan succionando los nutrientes de las hojas vivas y estas hojas al estar desprendidas de la planta no absorbieron bien los productos y por lo que los insectos no succionaron suficiente producto. Para el caso de la cal se esperaba un efecto más inmediato, sin embargo, la solución de cal no cubrió a las cochinillas por el efecto hidrofóbico de la cera que las cubre. La mortalidad probablemente se debió a muerte por inanición porque las hojas quedaron cubiertas con una película de cal.



ns = no significativo

Figura 1. Los mejores tratamientos con mortalidad acumulada en número de cochinillas por plato petri en los bioensayos.

Los tratamientos mostraron diferencias claras a las 240 horas (décimo día) en donde los 4 productos ajo, nim jabón y cal que se comportaron mejor, causaron en promedio 3.14 veces más mortalidad que el testigo (cuadro 4).

Después de las 336 horas que duro el ensayo ajo, nim jabón y cal mostraron controles similares y fueron diferentes al testigo, por lo que estos productos mostraron un buen potencial para ser usados en el control de la plaga (Cuadro 4 y 5).

Los tres entomopatógenos ocasionaron una baja mortalidad de las cochinillas, y la mayoría de veces fueron iguales al testigo (Cuadro 4 y 5), probablemente estas cepas no tengan patogenicidad sobre las cochinillas, pero también es probable que las esporas necesiten hacer contacto con la cutícula de los insectos para germinar y en las cochinillas esto es muy difícil por la cobertura de cera que estas tienen, para el caso del producto a base de *Entomophthora virulenta*, probablemente las toxinas presentes en este producto no tuvieron el efecto deseado en las cochinillas o la cantidad de ingrediente absorbido no fue suficiente para matar los insectos, por el mismo efecto expuesto anteriormente de falta de translocación de las sustancias tóxicas al interior de la hoja por tener los estomas cerrados y por tanto las cochinillas no absorbieron suficiente cantidad de toxinas, para ocasionar una alta mortalidad.

El portador Bioport® no mostró diferencia con el testigo, por lo que este producto no ocasionó mortalidad en las cochinillas como había sospechado Barrientos (1998), por lo que este producto no ayuda al efecto de los productos.

Cuadro 4. Mortalidad de cochinillas en número de individuos muertos acumuladas por plato petri en los bioensayos.

Tratamiento	Horas a las que se tomó la lectura.						
	48	96	144	192	240	288	336
<i>Beauveria</i>	2.14	3.78	4.87	5.32	5.85	6.22	6.82
<i>Metarhizium</i>	1.48	2.87	4.04	4.43	4.85	5.46	5.46
<i>Entomophthora</i>	0.66	1.22	2.53	2.68	3.34	3.77	4.18
<i>Ajo</i>	1.37	2.95	5.08	6.05	7.50	8.15	8.32
<i>Nim</i>	2.60	3.80	4.60	7.20	7.80	8.20	8.80
<i>Jabón</i>	4.65	6.50	7.03	7.30	7.80	7.97	8.36
<i>Cal</i>	1.92	4.45	5.45	5.55	7.09	7.35	7.36
<i>Portador</i>	0.31	0.72	1.36	1.57	2.15	2.34	2.94
<i>Testigo</i>	0.45	0.50	1.63	1.90	2.40	2.76	3.56

Cuadro 5. Diferencia estadística de los resultados de mortalidad.

	Probabilidad Del ANDEVA	Horas a la que se tomó la lectura, después de aplicar.						
		48	96	144	192	240	288	336
		0.006	0.013	ns	0.023	0.001	0.0003	0.0003
Tratamiento								
<i>Beauveria</i>		bc	abc	a	ab	ab	abc	bc
<i>Metarhizium</i>		bc	bc	a	ab	abc	abc	bc
<i>Entomophthora</i>		bc	bc	a	bc	bc	bc	c
<i>Ajo</i>		bc	bc	a	abc	a	a	a
<i>Nim</i>		ab	ab	a	a	a	a	a
<i>Jabón</i>		a	a	a	a	a	a	a
<i>Cal</i>		bc	ab	a	ab	a	a	ab
<i>Portador</i>		c	c	a	c	c	c	c
<i>Testigo</i>		c	c	a	c	c	c	c

Letras diferentes indican diferencia estadística significativa (prueba DMS $p < 0.05$)

ns = no significativo.

300973

4.2 PRIMER ENSAYO EN LA PLANTACIÓN JOVEN

4.2.1 Efecto de los tratamientos sobre el nivel de infestación

La infestación de cochinillas fue igual en las parcelas en las que se aplicó cal al suelo como en las que no se aplicó, no se encontró diferencia estadística entre estas dos parcelas, tampoco hubo diferencias en la interacción entre tratamientos y la aplicación de cal hidratada al suelo, la aplicación de cal al suelo no evitó la infestación por cochinillas sobre la plantación de piña (Cuadro 6).

Cuadro 6. Análisis de varianza de los tratamientos del primer ensayo en la plantación joven.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Bloque	4	0.1609	0.0402	3.63	0.0115
Cal	1	0.00007	0.00007	0.01	0.9361
Bloque*cal	4	0.0021	0.0005	0.05	0.9954
Tratamiento	6	0.9448	0.1575	14.22	0.0001
Cal*tratamiento	6	0.1031	0.0172	1.55	0.1820
Tiempo	4	0.8793	0.2198	34.35	0.0001
Tiempo*tratamiento	24	0.9680	0.0403	5.57	0.0001
Error(Tiempo)	192	0.8883	0.0046		

Hubo diferencia entre los tratamientos ($p=0.0001$), en el tiempo ($p=0.0001$) y en la interacción tratamiento-tiempo (0.0001), por lo que se analizaron los resultados por cada una de las fechas en las que se hicieron los muestreos (Cuadro 6).

A diferencia que los resultados obtenidos en los bioensayos, el ajo y el nim fueron los tratamientos que mostraron un mejor efecto en mantener bajas las poblaciones de cochinillas y prácticamente mantuvieron su efectividad a través del tiempo, sin embargo ninguno de los dos produjo un control completo de la plaga (Cuadro 7).

La mejor respuesta del ajo y el nim en el campo se debe básicamente a que al ser aplicados estos productos en las plantas vivas, estas absorben las sustancias al interior de la planta. Azadirachtina probablemente produce efectos nocivos en la fisiología de las cochinillas, aparentemente ocasiona una interrupción en la producción de cera pues se observó bastante cera libre en las axilas de las plantas a las que se les aplicó y también había cochinillas desprovistas de cera. El extracto de ajo además de los efectos fisiológicos y sobre el comportamiento de las cochinillas, es probable que también evite la infestación y reinfestación por el efecto repelente que tiene hacia las hormigas.

El jabón y las toxinas de *Entomophthora* al inicio no mostraron una diferencia, pero en el segundo muestreo se diferenciaron del testigo así como de *Beauveria* y *Metarhizium*, pero estos resultados no fueron persistentes ya que en el tercero y cuarto muestreo no se mostraron diferentes, lo que hace suponer que estos productos no tuvieron un efecto significativo en disminuir la población de cochinillas. A pesar que el jabón mostró un buen efecto en los bioensayos no tuvo el mismo efecto en el campo, esto podría atribuirse a que es necesario que el jabón este en contacto directo con las cochinillas, pero las cochinillas normalmente se encuentran en el envés y en el interior de las axilas de las hojas, lugar a donde es difícil llegar, ya que el jabón no rompe tan fácilmente la tensión superficial en las hojas de la piña por la cera que las hojas producen.

Beauveria y *Metarhizium* mostraron ser similares al testigo a lo largo del tiempo, esto confirma los resultados de laboratorio, donde tampoco ejercieron control, y seguramente se debe a que estas cepas no tienen efecto sobre *Dysmicoccus brevipes* y también por la dificultad de las esporas para contactar la cutícula de estas por su cobertura de cera.

Cuadro 7. Porcentajes de infestación por cada muestreo del ensayo en la plantación joven, iniciada con un mes de edad.

TRATAMIENTO	Fecha de muestreo				
	22-May	2-Jul	31-Jul	28-Aug	2-Oct
Testigo	25.35 a	30.15 a	31.76 a	23.83 a	24.11 a
<i>Beauveria</i>	22.07 ab	23.43 a	26.14 ab	19.11 ab	28.75 a
<i>Metarhizium</i>	20.38 ab	23.04 a	23.23 ab	23.77 a	30.17 a
<i>Entomophthora</i>	16.50 bc	17.52 b	17.34 b	13.15 bc	19.00 a
Jabón	18.49 bc	12.31 bc	10.72 b	11.87 bc	27.22 a
Ajo	13.89 c	8.48 c	5.64 c	5.41 c	22.49 a
Nim	14.28 c	7.25 c	4.91 c	5.34 c	24.54 a

Nota: letras diferentes indican diferencia estadística significativa (prueba Tukey $\alpha < 0.05$).

Todos los muestreos se realizaron 15 días después de dos aplicaciones y las aplicaciones se realizaron cada 15 días.

4.2.2 Efectos de la lluvia sobre el nivel de infestación

Para observar el efecto de la lluvia en la población de cochinillas se obtuvieron todos los datos de precipitación pluvial de la zona en todo el año. En este ensayo el 28 de agosto 1999, se suspendieron las aplicaciones de productos por la alta y constante precipitación pluvial. Las lluvias se presentaban por la mañana y por la tarde, hora en las que se estaban haciendo las aplicaciones, esto impedía desarrollar la actividad de

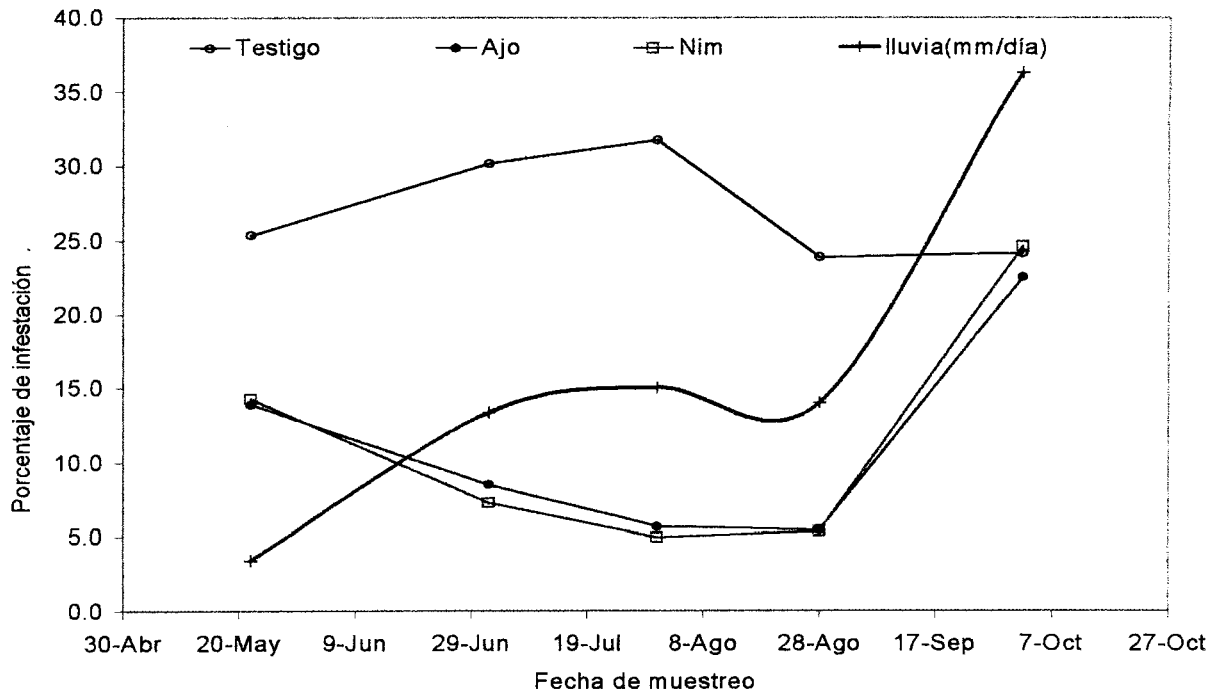
aplicar y además las lluvias hubieran lavado los productos, sin embargo se siguieron las lecturas de la población de cochinillas para estudiar el comportamiento de la población. Para esta fecha la edad de las plantas de piña era ya de seis meses.

Entre el 31 de julio y el 28 de agosto, fecha en que las lluvias ya se habían incrementado a 15 mm/día, se notó una disminución del 28.74% de las plantas infestadas y que equivale a una disminución del 7.93% el porcentaje global de infestación en el testigo, un efecto similar ocurrió con varios de los tratamientos especialmente *Beauveria* y *Entomophthora*, con los mejores tratamientos (ajo y nim), el nivel de infestación se mantuvo constante entre esas fechas. El comportamiento notado en las cochinillas fue que estas ascendían en las hojas y se encontró una gran cantidad de cochinillas muertas por deshidratación, aparentemente la alta humedad en el suelo hace que las cochinillas emigren hacia la parte superior de las hojas para evitar la humedad y allí mueren deshidratadas.

Después del 28 de agosto se presentó un dramático incremento en la precipitación pluvial que llegó a 36 mm/día, pero contrario a lo que se notó en los días anteriores casi en todos los tratamientos se mostró un incremento en los niveles de infestación de cochinillas provocando que no hubiera diferencia estadística. Las parcelas que se encontraban con un bajo nivel de infestación fueron reinfestadas. En el muestreo que se realizó el dos de octubre el nivel de infestación en los mejores tratamientos fue 3.37 veces mayor que la lectura del 28 de agosto, esto hizo que las poblaciones fueran iguales a las del testigo (Figura 2).

Aparentemente hubo un cambio en el comportamiento de las cochinillas, estas tendieron a buscar las hojas más inferiores y protegerse con la tierra que se encuentra en estas hojas bajas, de esta forma, el agua escurre a través de la tierra, llega a las cochinillas pero el efecto hidrofóbico de la cera de estas hace que se mantengan secas y de esta forma pueden subsistir a estas condiciones ambientales adversas, este comportamiento lo pueden adoptar las cochinillas en plantas pequeñas de piña, que todavía no han desarrollado robustamente las bases de sus hojas, con plantas grandes y robustas sucede algo diferente que será discutido más adelante en el tema de los efectos de la lluvia sobre las poblaciones de cochinillas en una plantación de mayor edad.

Se observó también un cambio en el comportamiento de las hormigas que se asocian con las cochinillas y que favorecen la dispersión y mejor establecimiento de estas, esto también será discutido más adelante en el tema de asociación entre especies de hormigas y cochinillas.



Fuente de datos de lluvia: IHCAFE, La Fe, Honduras.

Figura 2. Niveles de infestación en porcentaje de plantas infestadas de ajo, nim y el testigo en relación con los de milímetros diarios de precipitación, en el ensayo de la plantación joven.

4.2.3 Efecto de la aplicación de cal al suelo en el porcentaje de pegue de los hijos

La cal aplicada al suelo no tuvo ningún efecto en el nivel de infestación por cochinillas, pero sí tuvo un efecto en el porcentaje de hijos prendidos ($p=0.0001$), no hubo diferencia entre cada uno de los tratamientos de las sub-parcelas sino únicamente entre las parcelas principales.

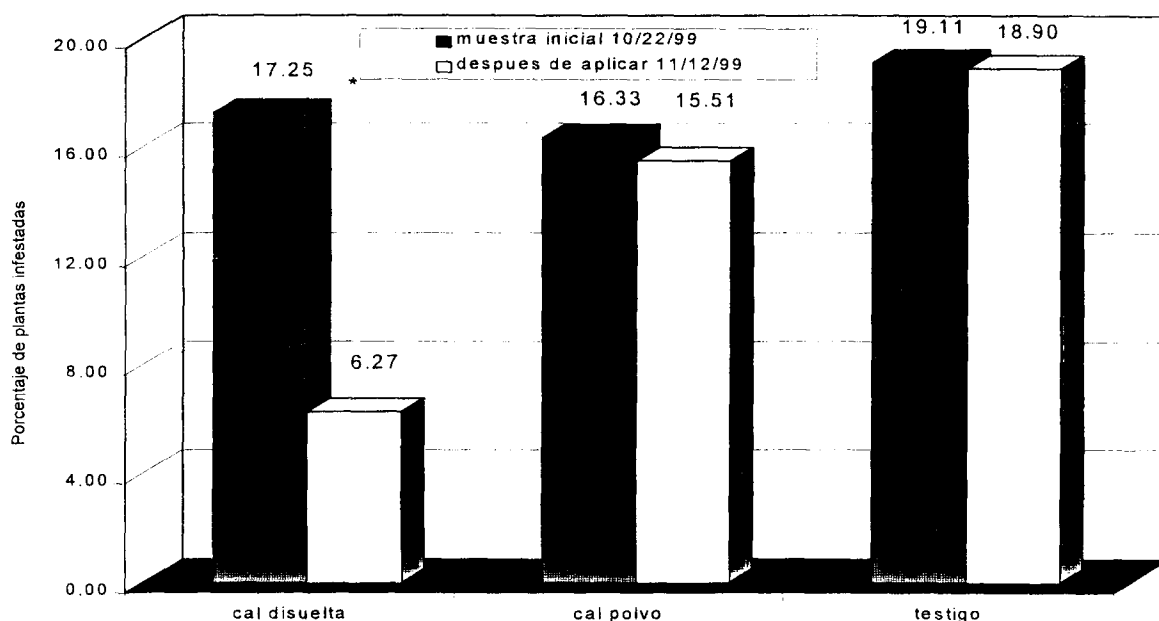
El porcentaje de hijuelos prendidos en las parcelas sin aplicación de cal al suelo fue de 95.42% mientras que solo el 89.89% de los hijos se prendieron en las parcelas en las que se aplicó cal al pie de la planta. Además se expresó un crecimiento menos vigoroso en las plantas de las parcelas a las que se les aplicó cal.

A pesar que el suelo de este terreno es extremadamente ácido (pH 3.98), la cal aplicada al suelo tuvo un efecto negativo en el porcentaje de plantas que se establecieron. La cal en el suelo probablemente produjo un efecto quemante en las nuevas raicillas provocando que muchas plantas no se prendieran, también es probable que se haya producido un aumento localizado de pH y esto evitó el desarrollo normal de las plantas, al hacer que estas absorbieran menos nutrientes que

las plantas que no se les aplicó cal, ya que la piña prefiere un pH entre 4 - 5 y no un sustrato alcalino.

4.3 SEGUNDO ENSAYO EN LA PLANTACION JOVEN

En el muestreo que se realizó después de la aplicación de cal se encontró diferencia entre los tratamientos ($p=0.0076$). La aplicación de cal disuelta en agua a las axilas de las hojas ocasionó un cambio en el porcentaje de infestación de 17.25% a 6.27%, esto es un cambio de un 10.98% en el porcentaje global de infestación y equivale a una reducción del 63.65% de las plantas infestadas. La aplicación de cal en polvo al follaje no ocasionó reducción significativa en el porcentaje de infestación y fue igual al testigo (Figura 3).



* = Diferencia estadística (prueba Tukey alpha < 0.05)

Figura 3. Cambios en los porcentajes de plantas infestadas por cochinillas, por efecto de la aplicación de cal disuelta en agua, cal en polvo y testigo.

La cal disuelta en agua y aplicada en las axilas de las plantas pudo llegar hasta las cochinillas, hubo muerte de estas por deshidratación y por efectos mecánicos, porque la cal se acumuló en las axilas. La ventaja que pudo observarse fue que la cal permaneció por un largo periodo (15 días) sin ser lavada de las axilas esto evitó la reinfestación porque el espacio axilar fue ocupado por la cal y las cochinillas no pudieron establecerse.

Se pudo observar que las plantas en las que la cal no hubo control, fue porque las bases de las hojas estaban cubiertas por tierra debajo de la cual se encontraban las cochinillas y esta no tenía contacto con las cochinillas. La mayor cantidad de tierra se acumuló en el área axilar al realizar las prácticas culturales de limpieza y aplicación de abonos orgánicos, esto benefició a las cochinillas porque las protegió y ocurre el mismo efecto que la protección con tierra que realizan las hormigas (*Solenopsis geminata*).

La aplicación de cal en polvo no tuvo efecto sobre la población de cochinillas, porque el polvo al aplicarse no llegó hasta la base y se pretendía que el agua de lluvia disolviera la cal y junto con el agua de lluvia esta descendiera a las axilas y efectuara el mismo control que la cal que se aplicó disuelta en agua, esto no sucedió porque la cal formó grumos los cuales no descendieron y por lo tanto no efectuaron el control deseado.

4.4 ENSAYO EN LA PLANTACIÓN ESTABLECIDA

4.4.1 Efecto de los tratamientos sobre el nivel de infestación

Se encontró diferencias entre los tratamientos y también hubo diferencias en el tiempo ($p=0.0001$) por lo que se analizarán los resultados por cada una de las fechas en las que se hicieron los muestreos (cuadro 8).

Cuadro 8. Análisis de varianza del ensayo en la plantación establecida (platas de 6 meses de edad).

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Bloque	4	0.0770	0.0192	0.67	0.6178
Tratamiento	7	0.9608	0.1372	4.78	0.0012
Error	28	0.8038	0.0287		
Tiempo	4	0.6503	0.1626	34.35	0.0001
Tiempo*tratamiento	28	0.7380	0.0264	5.57	0.0001
Error(Tiempo)	112	0.5301	0.0047		

Se realizó el primer muestreo antes de iniciar las aplicaciones y no existió diferencia en la distribución de las plagas en las parcelas (cuadro 9), esto nos dio la pauta para concluir que existía una distribución uniforme de cochinillas en todo el ensayo y por lo tanto no fue necesario hacer un rearrreglo de las unidades experimentales.

El nim y el ajo fueron los tratamientos que empezaron a mostrarse mejores desde el segundo muestreo, pero la diferencia más notable se observó en el tercer muestreo (junio/18/1999) fecha en la que cal, ajo y nim fueron los que disminuyeron más el nivel de infestación de cochinillas y fueron diferentes a los otros tratamientos y al testigo (Cuadro 9). Este comportamiento se observó en el cuarto muestreo. En el último muestreo ya cuando las aplicaciones se habían suspendido por la gran cantidad de lluvia que estaba precipitando en la zona, se observó una gran variabilidad en los resultados y el único tratamiento que se mantuvo con niveles de infestación más bajos fue el de cal (Cuadro 9).

Al igual que en los bioensayos y el ensayo en la plantación joven, ninguno de los tres entomopatógenos ejercieron efecto en bajar el nivel de infestación de cochinillas, estos tres productos junto con el jabón formaron un grupo que no se diferenció del testigo a lo largo de la investigación, por lo que es notorio que las cepas utilizadas no tienen efecto sobre *Dysmicoccus brevipes* en esta zona (Cuadro 9).

Cuadro 9. Porcentajes de infestación y diferencia estadística, por cada muestreo del ensayo en la plantación iniciada con 6 meses de edad.

Tratamiento	Fecha de muestreo				
	Mar/27/99	may/7/99	jun/18/99	Jul/30/99	sep/10/99
Testigo	15 a	38 a	45 a	30 a	25 a
Bauveria	28 a	28 ab	44 ab	16 ab	11 a
Metarhizium	32 a	41 a	43 ab	24 ab	19 a
Entomophthora	31 a	26 ab	30 ab	18 ab	15 a
Jabón	28 a	26 ab	24 b	16 ab	11 a
Ajo	27 a	17 b	09 c	07 c	16 a
Nim	22 a	14 b	07 c	05 c	08 a
Cal	34 a	22 ab	08 c	07 c	06 b

Nota: letras diferentes indican diferencia estadística significativa (prueba Tukey $\alpha < 0.05$).

El primer muestreo se realizó antes de iniciar las aplicaciones, las aplicaciones se realizaron cada dos semanas y cada muestreo se realizó después de dos aplicaciones.

La cal disuelta en agua y aplicada en las axilas de las plantas pudo llegar hasta las cochinillas y hubo muerte de éstas por deshidratación y porque la cal se acumuló en las axilas de las hojas, ocasionando también muerte por efectos mecánicos.

La ventaja que pudo observarse como en el ensayo en la plantación joven, fue que la cal permaneció por un largo periodo sin ser lavada de las axilas, esto evitó que la reinfestación se volviera a producir porque el espacio axilar fue ocupado por la cal y las cochinillas no pudieron establecerse. En este ensayo el efecto fue más notorio porque fue el único tratamiento que mostró diferencia después de suspender las aplicaciones, a pesar de la gran cantidad de lluvia que estaba precipitando en esa fecha.

Se pudo observar que las plantas en las que no hubo control fue porque las bases de las hojas estaban cubiertas por tierra, debajo de la cual se encontraban las cochinillas, ya que se produjo un efecto de barrera para las partículas de cal que quedan sobre la superficie de la tierra y no llegan hasta las cochinillas. Mayor cantidad de tierra se acumula en el área axilar al realizar las prácticas culturales de limpieza y fertilización orgánica.

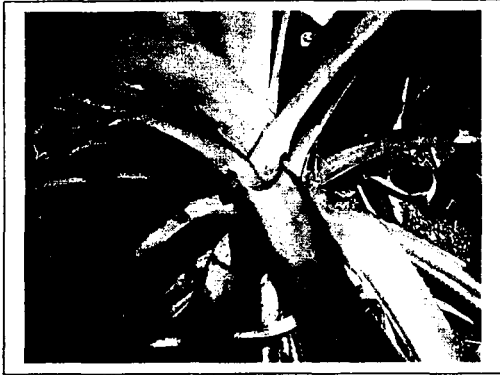
4.4.2 Efectos de la lluvia sobre el nivel de infestación

En este ensayo el 30 de julio 1999 se suspendieron las aplicaciones de productos, pues se presentó un incremento en la precipitación pluvial y las lluvias se presentaban en las horas en que se estaban haciendo las aplicaciones a la plantación (por la mañana y por la tarde), esto impedía desarrollar la actividad de aplicar y además las lluvias hubieran lavado los productos. Sin embargo se siguieron las lecturas de la población de cochinillas para estudiar el comportamiento de estas, para esta fecha la edad de las plantas de piña era de un año.

Entre el 18 de junio y el 30 de julio, fecha en que las lluvias se habían incrementado, se notó un cambio del 45% al 30% en el nivel de infestación del testigo, esto equivale a una disminución del 33.33% de las plantas infestadas, un efecto similar ocurrió con todos los tratamientos y en promedio el nivel de infestación paso de 26.25% a 15.37% esto equivale a una disminución del 41.43% de las plantas infestadas. A medida que las lluvias aumentaron siguió disminuyendo el nivel de infestación y en promedio hasta el 10 de septiembre el nivel de infestación fue de 13.87% esto es solo el 52.9% de lo que había el 18 de junio (Figura 3).

Después del 30 de julio, la precipitación pluvial promedio fue de 16.68, pero al contrario de lo que se notó en el ensayo de la plantación joven, el nivel de infestación continuó disminuyendo en todos los tratamientos, hubo menos tratamientos con diferencia estadística significativa porque en la mayoría de tratamientos hubo una disminución en los porcentajes de infestación.

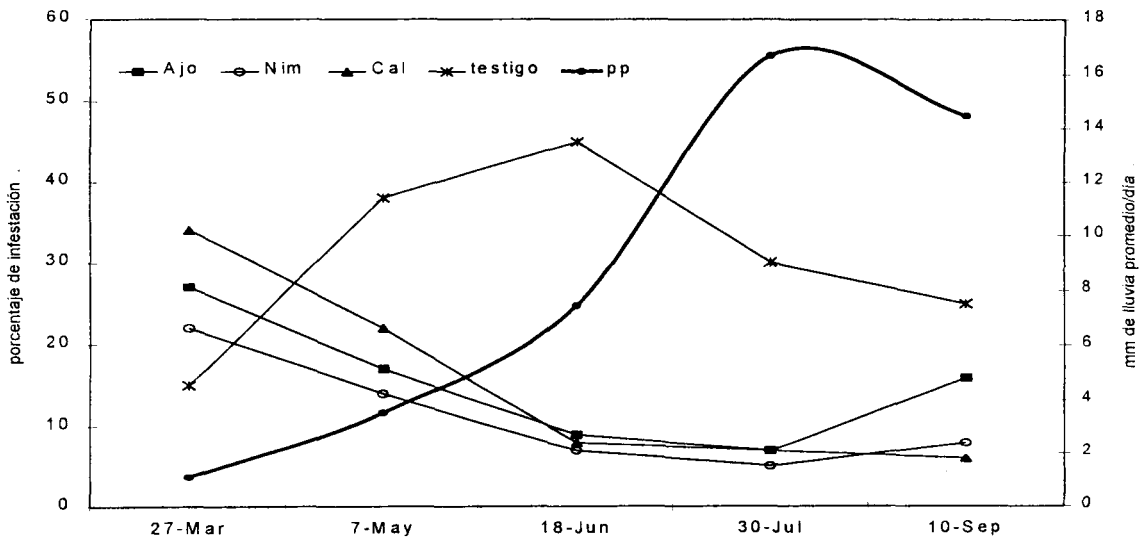
Esta disminución en los niveles de infestación de debió básicamente a una característica morfológica de la piña, y esta es que cuando la planta de piña se hace más grande y robusta en las bases de las hojas se forma un canal que impide que el agua se escape, entonces esta agua se acumula en las axilas y las cochinillas no pueden sobrevivir bajo el agua. (Figura 4).



En esta figura se puede notar el canal que se forman en la base de las hojas de la planta de piña, y el agua se acumula principalmente en las hojas inferiores, y estas son las hojas que prefieren las cochinillas. Esto no sucede con plantas jóvenes porque las hojas son más verticales y el agua no es retenida.

Figura 4. Planta de piña robusta mostrando retención de agua en las axilas de las hojas.

Dados los diferentes efectos de la lluvia asociados con el tamaño de la planta para manejar la población de cochinillas es necesario tomar en cuenta estos dos factores, tomando en cuenta que las plantas más pequeñas y menos robustas son más susceptibles en época lluviosa que las plantas grandes y robustas.



Fuente de datos de precipitación: IHCAFE, La Fe, Honduras.

Figura 5. Comportamientos de los porcentajes de infestación por cochinillas en los mejores tratamientos del ensayo de la plantación establecida y el promedio diario de precipitación.

4.5 IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DE HORMIGAS ASOCIADAS CON LAS COCHINILLAS.

Se encontraron tres especies de hormigas en asociación con las cochinillas, estas son; *Solenopsis geminata*, *Tranopelta sp.* y *Pheidole sp.*

Solenopsis está más asociada en plantaciones establecidas y su mayor actividad se inicia con la floración de la piña, las hormigas transportan a las cochinillas por el pedúnculo de la fruta y las recubren con tierra para protegerlas del sol. La otra especie más común es *Tranopelta sp.* esta es una hormiga de menor tamaño, de color amarillo claro y se encuentra asociada más en plantaciones jóvenes hasta de un año de edad, no realiza un transporte tan activo como *Solenopsis*, pero sí realiza limpieza de las excretas(mielecilla) de las cochinillas y le proporciona un ambiente adecuado para su desarrollo. El genero de *Pheidole* se encontró en muy bajas cantidades y aparentemente tiene poca interacción con las cochinillas.

Según lo observado existe una íntima relación entre las cochinillas y las dos especies de hormigas *Solenopsis geminata* y *Tranopelta sp.*, cuando las plantas están pequeñas y/o durante la época seca cuando las condiciones son favorables para las cochinillas porque no necesitan mucha protección pero que hay poca producción de mielecilla *Tranopelta* realiza una eficaz labor de mantenimiento, relación en la que las cochinillas se benefician por que las hormigas recolectan la mielecilla excretada por ellas y de no ser así esta mielecilla afectaría el desarrollo de la colonia de cochinillas, porque impediría el movimiento de ellas, pero principalmente en la mielecilla se produciría el crecimiento de hongos y que crea un ambiente inadecuado para las cochinillas. Las hormigas se benefician porque aprovechan esta mielecilla como alimento.

La actividad de *Solenopsis* se incrementa en época lluviosa y/o cuando la planta se acerca a floración. Cuando se incrementan las lluvias y la población de cochinillas de ve afectada *Solenopsis* construye una protección de tierra sobre las cochinillas para protegerlas de las lluvias, ya que *Tranopelta* no es capaz de construir esas estructuras, con esto aseguran la sobrevivencia de un mayor numero de cochinillas. En plantas grandes durante el período de floración y fructificación, *Solenopsis* transporta a las cochinillas por toda la planta incluso el pedúnculo y la fruta, la cubre con tierra para protegerla del sol, en este periodo como la producción de nutrientes por la planta es alta, la reproducción de las cochinillas se incrementa dramáticamente y la planta queda cubierta de cochinillas, de esta forma se establece una asociación beneficiosa para *Solenopsis* y las cochinillas, en la que ambos obtienen un beneficio igual al explicado anterior mente (cochinillas vrs *Tranopelta*).

4.6 DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DEL VIRUS DEL AMARILLAMIENTO DE LA PIÑA (PMWaV)

Desafortunadamente el Dr. Hu, de la Universidad de Hawaii no envió los resultados y a pesar de los esfuerzos que se hicieron no se le pudo contactar, por lo que no se pudo saber los resultados y confirmar la ausencia o presencia del virus en la zona. Sin embargo, por los síntomas que se observan en las plantas se puede especular que el virus sí está presente, pero esto no se puede asegurar hasta tener un resultado de laboratorio confiable.

4.7 PERCEPCIÓN DE LAS PLAGAS EXISTENTES EN LA ZONA POR LOS PIÑICULTORES.

Se encontró que básicamente los productores de piña encuentran que la Gallina Ciega *Phyllophaga sp.* y la cochinilla de la piña *Dysmicoccus brevipes* son las principales plagas. Existe una opinión dividida entre los productores, algunos aseguran que la cochinilla no es mucho problema, porque no mata a la planta y se puede convivir con ella, mientras que la gallina ciega produce mucha mortalidad de plantas y en un cultivo orgánico es difícil de manejar. El 60% de las personas consideran que la cochinilla es el principal problema de plagas, mientras que el 40% perciben a la gallina ciega como el principal problema (Figura 6).

Entre otras plagas; el 30% de los productores afirma la presencia de *Thecla* y la perciben como un problema y solo un 5% de los productores comentó la presencia de sinfilidos en la zona (figura 6).

Un problema en el que el 100% de los agricultores entrevistados estuvieron de acuerdo que un problema importante son las malezas. Los productores afirmaron que es necesario invertir gran cantidad de mano de obra anualmente para controlar malezas y es uno de los problemas que les consume tiempo y dinero (figura 6).

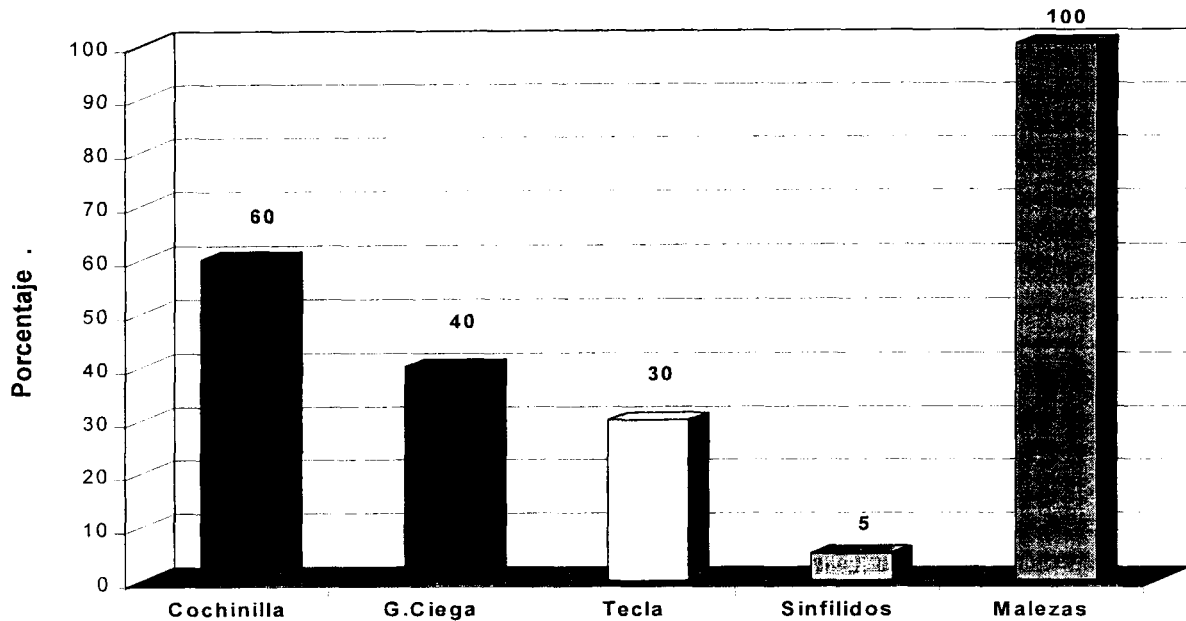


Figura 6. Plagas conocidas por los piñicultores en porcentaje de productores que la consideran una plaga importante.

Es hasta cierto punto es lógico pensar que a pesar de que casi todas las plantaciones de piña de esta zona tienen casi un 50% de infestación por cochinilla, no existe unanimidad en encontrar a las cochinillas como la principal plaga insectil y esto se debe a que como dicen los productores, la cochinilla no mata rápidamente y los efectos dañinos no son tan perceptibles como los efectos que produce la gallina ciega, sin embargo esta opinión podría cambiar si se constatará la presencia del virus transmitido por las cochinillas (PMWaV) en la zona, y que los efectos de esta enfermedad así como la transmisión por las cochinillas fuera del conocimiento de los productores.

Los daños ocasionados por gallina ciega son más fáciles de observar, ya que se observa un amarillamiento rápido de la planta y al arrancarla se encuentra a la larva en la raíz y el daño es notorio, pero el problema se presenta principalmente a finales de año cuando las larvas se encuentran en el tercer instar, estado en el que las larvas son muy voraces.

El problema de malezas se debe básicamente a la baja densidad a la que se siembra el cultivo en esta zona (aprox. 15,000 plantas por ha), esto favorece el desarrollo de las malezas porque el cultivo no hace una cobertura del suelo, sin embargo los productores se ven obligados a sembrar a baja densidad porque la variedad Azucarón

es espinosa y de sembrar a mayores densidades la limpieza se hace mucho más difícil, todo esto aunado a la baja fertilidad del suelo que ocasiona un crecimiento pobre en el cultivo y la imposibilidad de usar herbicidas por tratarse de cultivo orgánico, hacen de las malezas un factor muy problemático en la producción de piña orgánica.

4.8 MUESTREOS DE PLAGAS

4.8.1 Sinfilidos

En el muestreo de Chorritos se encontró en promedio 5.6 sinfilidos por planta (Cuadro 10), este muestreo se realizó en un terreno que ha estado constantemente cultivada con piña, esto favorece la presencia de sinfilidos, y es por eso que la población de sinfilidos se encontró en tan altas densidades. Según Rebolledo *et al.* (1998), dos o más sinfilidos por planta requieren tomar acciones contra esta plaga porque ocasionan daños económicos a este nivel. Tomando en cuenta que lo que se encontró fue 5.6 sinfilidos por planta se puede concluir que esa densidad de sinfilidos está ocasionando disminución considerable en la producción, y para esta plaga no se hace nada, no sólo por el sistema continuo de producción, sino porque no existen opciones de manejo para producción orgánica conocidas hasta el momento, incluso el manejo con productos químicos también es limitado.

En el muestreo de Ceibita por ser una plantación joven y por no haberse cultivado piña anteriormente, no se encontró sinfilidos infestando las plantas

4.8.2 Barrenador del fruto

En los muestreos que se realizaron no se entró barrenador del fruto *Thecla basilides*, sin embargo en las entrevistas con los productores algunos de ellos aseguraron tener la presencia de la plaga en el cultivo, por lo que a pesar de no haber encontrado insectos para identificarlos no se descarta la posibilidad de la presencia de esta plaga en la zona, sin embargo los daños que ocasiona probablemente no sean tan grandes porque las condiciones climáticas de la zona no son favorables para su desarrollo.

4.8.3 Gallina ciega

En el muestreo que se realizó en el área de Ceibita se encontró un 25% de la plantación infestada con *Phyllophaga* spp. (Cuadro 10). Esto es un porcentaje bastante alto de infestación por gallina ciega, ya que esta plaga retrasa el desarrollo de la planta y la deja improductiva. El terreno donde estaba esta plantación a pesar de ser una plantación en un terreno nuevo, fue usado como potrero con anterioridad y dentro de la misma finca hay áreas de potreros donde se cría ganado, esto favorece el establecimiento de la plaga pues esta oviposita sobre materia orgánica. Según

Rebolledo *et al*, 1998 las áreas que fueron pastizales favorecen la presencia de esta plaga.

En la plantación de Chorritos a pesar de ser una plantación ya establecida y de estarse manejando en ciclos continuos solo se encontró el 5% de plantas infestadas, y esto se debe a que el suelo tiene muy poca cantidad de materia orgánica por lo que probablemente los adultos prefieren no poner huevos en suelos con bajo contenido de materia orgánica.

Cuadro 10. Resultado del muestreo de plagas.

Plaga	Plantación de 6 meses en Chorritos	Plantación mayor de 1 año en Ceibita
Gallina Ciega	25% de las plantas	5% de las plantas
Picudo Negro	0	0
Sinfílicos	0	5.6 por planta
Barrenador del fruto	0	0

Nota. Las especies de gallina ciega encontradas fueron: *Phyllophaga obsoleta*, *P. elenans*, *P. valeriana*. Identificación realizada por el Dr. Ronald Cave, Centro de Diagnostico de Zamorano.

4.8.4 Picudo Negro

En los muestreos que se hicieron no se encontró este insecto, tampoco los productores lo mencionaron como una plaga en su cultivo, por lo que es probable que este insecto no se encuentre hospedando el cultivo de la piña en esta zona. A este insecto le favorecen las condiciones de alta temperatura y por lo tanto tal vez las condiciones de Santa Cruz de Yojoa no lo favorezcan.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Los productos que en las pruebas *in vitro* mostraron mayor mortalidad de cochinillas fueron ajo, nim, jabón y cal. En el campo jabón no mostró eficacia, por lo que los productos que se recomiendan para el manejo de cochinilla en el campo son extracto de **ajo, nim (Azadirachtina)** y **cal** todos aplicados al área axilar de las plantas de piña.
2. En el laboratorio y campo ninguno de los tres entomopatógenos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Entomophthora virulenta* mostraron efecto en el control de la cochinilla, por lo que se recomienda hacer estudios con otras cepas, pues en Cuba se está usando *Beauveria bassiana* para el control de cochinillas.
3. Los niveles de infestación fluctúa según el estado de desarrollo de la planta y la precipitación pluvial que se presente, por lo que para realizar un manejo adecuado de la cochinilla en el cultivo de piña es necesario tomar en cuenta el estado de desarrollo de la planta y la cantidad de lluvia.
4. Durante la época seca se puede hacer uso de extractos de nim, ajo e incluso cal para el manejo de la plaga, pero es necesario aclarar que estos productos no deben mezclarse pues pueden darse reacciones que los inactiven, ya que la miscibilidad de éstos no ha sido muy bien estudiada. Después de aplicar cal no debe aplicarse ninguno de los otros dos productos hasta que los residuos de la cal desaparezcan de la planta ya que de aplicar nim o ajo sobre residuos de cal es muy probable que la cal los inactive. Después de usar nim o ajo si se puede usar cal, porque estos no dejan muchos residuos en la planta y de dejarlos no afectarían el efecto de la cal.
5. Durante la época lluviosa la población de cochinillas se redujo en plantaciones de aproximadamente un año o más de edad, por lo que en esta etapa no se requiere de control de cochinillas, pero las plantaciones jóvenes (menores de un año) pueden verse seriamente afectadas y deben realizarse acciones para el control.

6. Aunque en este estudio la aplicación de cal al follaje no mostró efectos negativos en el desarrollo de las plantas es necesario realizar estudios del efecto que este producto pueda tener en el desarrollo y producción de piña. Mientras no se conozca esto no es recomendable abusar de la cal para el manejo de la plaga, sobre todo no deben aplicarse grandes cantidades en época seca ya que la planta se encuentra en estrés y podría afectarle.
7. Aunque el ajo, nim y cal fueron efectivos en reducir la población es importante tomar en cuenta que ninguno de los productos realizó un 100% de control, por lo que siempre es necesario realizar otras prácticas culturales para evitar la infestación y dispersión de la plaga, como buena selección y desinfestación de los hijos, preparación de terreno e incorporación de rastrojos.
8. La cal aplicada al suelo reduce el porcentaje total de hijos pegados, por lo que no se recomienda su aplicación al pie de la planta. Cuando se necesite hacer correcciones de pH del suelo debe aplicarse la cal antes de la plantación incorporada al suelo para que no afecte el porcentaje de prendimiento.
9. Existe una íntima relación entre las hormigas y las cochinillas que influye en la capacidad de dispersión de esta plaga. Es necesario hacer más estudios para conocer la biología de las hormigas para poder realizar un control de las hormigas y con ello hacer un control indirecto de las cochinillas, asimismo es necesario hacer estudios para evaluar productos orgánicos para el control de las hormigas.
10. Aunque todavía no se ha confirmado la presencia del Virus del Marchitamiento de la Piña causado por cochinillas, se presentan síntomas en las plantas que hacen suponer que sí existe, pero es necesario un análisis de laboratorio para confirmarlo.
11. La cochinilla y la gallina ciega son las plagas percibidas como de mayor importancia en la zona de Santa Cruz de Yojoa. Los sínfilidos plaga desconocida por los piñicultores probablemente están ocasionando pérdidas, se recomienda hacer evaluaciones de productos para manejarlos.
12. Es probable que gran parte del amarillamiento observado en la piña se deba a sínfilidos y que también es atribuido a la cochinilla, por lo que es necesario realizar estudios de la magnitud de este problema, así como de productos y prácticas agrícolas para el manejo de esta plaga.

13. Es probable que el cultivar del tipo Cayena Lisa ayude a resolver muchos de los problemas actuales ya que este puede plantarse a mayor densidad y se considera menos atractiva para las cochinillas por su mayor cantidad de acidez. Se recomienda hacer evaluaciones de este cultivar en la zona del lago de Yojoa.
14. Las plantas de piña se hacen más susceptibles a la infestación por cochinillas y otras plagas cuando tienen un bajo nivel de fertilización. Cuando las plantas están bien fertilizadas, incluso el virus del amarillamiento de la piña (PMWaV) no es tan virulento, por lo que se recomienda realizar una mejor fertilización basada en los requerimientos de las plantas y en el nivel de fertilidad del suelo, práctica muy poco realizada en la zona del lago de Yojoa.

6. BIBLIOGRAFIA

1. BARRIENTOS, R. 1998. Eficacia de insecticidas microbiales, nim y jabón para el control de *Dysmicoccus brevipes* (homóptera: Pseudococcidae) en piña orgánica en el Lago de Yojoa, Tesis de Ing. Agr. E.A.P. El Zamorano. Honduras. 45 p.
2. BARTHOLOMEW, D.P. 1999. Pineapple. Dale O. Evans. Hawaii, U.S.A. Hawaii Institute of Topical Agriculture and Human Resources. 7 p.
3. GILLESPIE, A.T. 1988. Use of fungi to control pests of agricultural importance. In Fungi in biological control systems. Ed. by Burge, M. N. New York, U.S.A. Manchester University Press. 37-60.
4. HU, J. S.; SETHER, D.M.; ULLMAN, D.E; 1996. Detection of pineapple closterovirus in pineapple plants and mealybugs using monoclonal antibodies. Plant Pathology. (U.S.A.) 45: 829-836.
5. JOHNSON, M.W. 1999. Sustainable pineapple mealybug management via augmentative biological control. Honolulu, Hawaii, U.S.A. USDA, Tropical & Subtropical Agriculture Research. 2 p.
6. LAVERLAM, S.A. 1999. Destruxin® (*Metarhizium anisopliae* cepa LAVERLAM). Cali, Colombia. 5 p.
7. LAVERLAM, S.A. 1999. Vektor® (*Entomophthora virulenta* cepa LAVERLAM). Cali, Colombia. 5 p.
8. LAVERLAM, S.A.. 1999. Bauveril® (*Beauveria bassiana*-cepa LAVERLAM). Cali, Colombia. 4 p.
9. MAU, R.F.L.; KESSING, J.LM. 1999. *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell). Hawaii, U.S.A. Departamet of entomology. 5 p.

10. MÜLLER, T. 1998. Evaluación de Garlic Barrier y Lonlife para el manejo *Bemisiatabaci* de tomate (*Licopersicon esculentum*). Tesis de Ing. Agr. E.A.P. El Zamorano. Honduras. 28 p.
11. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1992. Nim: a tree for solving global problems. Natioan Academy Press. Washinton D.C. (USA) 141 p.
12. PY, C. 1969. La piña tropical. Trad. Palomeque F. Barcelona, España. Blume. 278 p.
13. PY, C.; LACOEULHE, J.J.; TEISSON, C. 1987. The pineapple: cultivation and uses. Editions G-P. Maisnneuve & Larose. Paris, France. 568 p.
14. REBOLLEDO, M.A.; URIZA A.D.; REBOLLEDO M.L. 1998. Tecnología para la producción de piña en México. México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias; División Agrícola. 159 p.
15. REMAUDIERE, G.; LARGE, J.P. 1985. Importancia de los hongos patógenos de insectos (especialmente *Aphididae* y *Cercopidae*) eb Méjico y perspectivas de uso. Servicio de defensa contra plagas e inspección fitopatológica. (México) 11 (2): 217-225.
16. SINCLAIR, E. 1993. The pineapple planta. In Pineapple pests and disorders. Departament of Primary Industries. Ed. by Broadly, R.H; Roger, H. Queensland. P. 8-11.
17. SPECIAL NUTRIENTES, INC. sf. Garlic barrier® . Miami Florida, U.S.A. 15 p.
18. SPECIAL NUTRIENTES, INC. sf. Nutrisoap®: hoja de especificaciones. Miami Florida, U.S.A. 3 p.
19. SHER, D.M.; ULLMAN, D.E.; HU, J.S. 1998. Transmission of pineapple mealybug Wilt-Associated virus by two species of mealybug (*Dysmicoccus spp.*). Phytopathology (U.S.A.) 88 (11): 1224-1230.

20. VARGAS, S. E. 1999. Evaluación de efectividad de marcas, dosis y técnicas de aplicación de jabón para el control de zompopos (*Atta colombica*). Tesis de Ing. Agr. E.A.P. El Zamorano. Honduras. 58 p.
21. WAITE, G.R. 1993. Pests. In Pineapple pests and disorders. Department of Primary Industries. Ed. by Broadly, R.H; Roger, H. Queensland. P. 20-30.

8. ANEXOS

Anexo 1.

LAVERLAM	Recuento directo de conidias	Estandar No.:312 10 32 Serie: 0 Hoja: 1 de 3
	Control Biológico de productos agropecuarios	Establecido en:15/11/95 Revisado en:16/02/98

1. OBJETIVO

Determinar la cantidad de colonias típicas del hongo que están presentes en 1g del producto.

2. DEFINICION

El recuento directo es una prueba que permite establecer la concentración de colonias típicas del hongo analizado en 1 g del producto final, mediante una técnica cuantitativa empleando una cámara de Neubauer o hemocitómetro (ver gráfica 1)

3. MATERIALES Y EQUIPOS**3.1 EQUIPOS**

- Microscopio de Luz
- Contador de células
- Balanza de brazo
- Timer
- Cabina flujo laminar

3.2 MATERIAL DE LABORATORIO

- Pinzas Kelly estéril
- Pipetas x 1 ml estéril
- Pipetas pasteur
- Bajalenguas estériles
- Gasas estéril
- Recipiente para descartar pipetas

3.3 SOLUCIONES Y MEDIOS

- 1 frasco con 10 ml de solución de agua mas tween 80 al 1%
- 3 frascos con 9 ml de solución de agua mas tween 80 al 1%

4. METODO

Esta prueba se realiza por medio de diluciones conn base 10, hasta obtener las diluciones adecuadas (1) que se utiliza para realizar el conteo de conidias, colocando una muestra en la cámara de Neubauer y montándola en el microscopio de luz enfocando con el objetivo de 40X.

(1) Dilución para cada producto en el siguiente cuadro

PRODUCTO	DILUCION PARA CERTIFICAR RTO.	HONGO
BROCARIL	10^{-5}	Beauveria bassiana
DESTRUXIN	10^{-4}	Metarhizium anisopliae

LAVERLAM	Recuento directo de conidias	Estandar No.:312 10 32 Serie: 0 Hoja: 2
	Control Biológico de productos agropecuarios	Establecido en:15/11/95 Revisado en: 16/02 /98

BIOSTAT	10^{-4}	Paecilomyces lilacinus
BEAVERIL	10^{-4}	Beauveria bassiana
VERTISOL	10^{-3}	Verticilium Lecanii
VEKTOR	10^{-3}	Entomhoptera virulenta
TURILAV	10^{-4}	Bacillus turingiensis
FORMIDEX	10^{-3}	Beauveria bassiana
BIOGARD	10^{-4}	Metarhizium anisopliae

5. PROCEDIMIENTO

5.1 Preparar diluciones

- Calibrar balanza
- Pesar 1 g de producto para obtener una concentración de 10^0 .
- Adicionar 10 ml de solución agua tween 80 al 1% de producto terminado para obtener 10^{-1} .
- Tomar 1 ml de 10^{-1} y adicionar en 9 ml de solución agua tween 80 al 1% para obtener 10^{-2} y así sucesivamente hasta llegar a la dilución necesaria.

5.2 Montaje de cámara de Neubauer

- Tomar la dilución final y agitar vigorosamente durante un minuto
- Tomar una pipeta pasteur para obtener la muestra de la dilución anterior
- Llenar las dos recámaras de la cámara de Neubauer con muestra
- Llevar la cámara del microscopio y enfocar con el objetivo de 40X
- Enfocar la recámara superior y proceder a la lectura

5.3 Lectura de conidias

- Las recámaras de la cámara de Neubauer constan de 25 cuadros, cada uno con 16 cuadritos, rodeados los primeros con un margen de tres líneas.
- Contar las conidias que se encuentran dentro de los 25 cuadros a excepción de las que estan en el margen de tres líneas que bordean la recámara
- Contar las conidias de la cámara superior, luego las de la cámara inferior, desmontar la cámara y repetir dos veces el montaje de muestras para obtener 6 resultados parciales diferentes

6. REGISTRO DE DATOS

- 6.1 Registrar los resultados anteriores en formato anexo
- 6.2 Sacar promedios con los resultados
- 6.3 Multiplicar el valor del promedio obtenido por el factor de la cámara (10^4), y este producto por el valor de la dilución escogida para la lectura y registrar el resultado

RECUESTO DIRECTO = $X \times 10^4 \times$ valor dilución

X = Promedio de los resultados

10^4 = Constante cámara de Neubauer

LAVERLAM	Recuento directo de conidias	Estandar No.:312 10 32 Serie: 0 Hoja: 3		
	Control Biológico de productos agropecuarios	Establecido en:15/11/95 Revisado en: 16/02/98		
<p>7. EVALUACION</p> <ul style="list-style-type: none"> - Si el resultado final del recuento es el establecido para el producto y su desviación estándar no difiere del 20%, se emite el fallo de aprobado por concepto de recuento directo. - Si las condiciones del producto difieren por exceso o defecto del valor establecido para el producto analizado, se repite la prueba. Si la repetición arroja los mismos resultados fuera de las especificación del producto por defecto con su concentración, este es reprobado por concepto de recuento directo. <p>Gráfica No. 1 Hemocitómetro: Cámara homologada</p>				
Elaborado por:	Aprobación:			
	Gerencia General	Gerencia de area	Jefe de area	Coord.Normaliz.

Anexo 2.

LAVERLAM	Recuento viable en hongos	Estandar No.:312 10 29 Serie: 0 Hoja: 1 de 3
	Control Biológico productos agrícolas	Establecido en:15/11/95 Revisado en:16/02/98

1. OBJETIVO

Determinar la cantidad de unidades formadoras de colonias típicas del hongo que están presentes en 1 ml del producto.

2. DEFINICION

El recuento viable es una prueba que permite establecer la concentración de colonias típicas del hongo en 1 mg del producto mediante una técnica cuantitativa empleando cinco cajas de petri con medio de cultivo para hongos.

3. MATERIALES Y EQUIPOS**3.1 EQUIPOS**

- Contador de colonias
- Balanza de brazo
- Timer
- Pipeteadora automática
- Cabina flujo laminar

3.2 MATERIALES

- Pinzas Kelly estéril
- Pipetas x 1 ml estéril
- Bajalenguas estériles
- Gasés estéril
- Recipiente para descartar pipetas

3.3 SOLUCIONES Y MEDIOS

- 5 cajas petri con medio de cultivo (agar-sabouraud)
- Muestra del producto
- 1 frasco con 10 ml de solución de agua tween al 1%
- 7 frascos de solución de agua tween 80 al 1%

4. METODO

Esta prueba se realiza por medio de diluciones con base 10, hasta obtener las diluciones adecuadas para recuento y verificación del recuento (1), con estas se siembran las 5 cajas petri así:

Tres cajas para recuento de colonias y 2 para certificar la lectura, luego de la siembra se dejan en incubación por periodo de 5 días a temperatura ambiente para su lectura posterior en el contador de colonias.

LAVERLAM	Recuento viable en hongos	Estandar No.:312 10 29 Serie: 0 Hoja: 2
	Control Biológico productos agrícolas	Establecido en: 15/11/95 Revisado en: 16/02 /98

(1) Diluciones para cada producto en la siguiente tabla.

PRODUCTO	DILUCION PARA EL RECUESTO COLONIAS	DILUCION PARA CERTIFICAR RTO.	HONGO
BROCARIL	10^{-7}	10^{-6}	Bauveria bassiana
DESTRUXIN	10^{-6}	10^{-5}	Metarhizium anisopliae
BIOSTAT	10^{-7}	10^{-6}	Paecilomyces lilacinus
BEAUVERIL	10^{-7}	10^{-6}	Beauveria bassiana
VERTISOL	10^{-6}	10^{-5}	Verticilium Lecanii
VEKTOR	10^{-5}	10^{-4}	Entomophotera virulenta
TURILAV	10^{-7}	10^{-6}	Bacillus turingiensis
FORMIDEX	10^{-6}	10^{-5}	Beauveria bassiana
BIOGARD	10^{-7}	10^{-5}	Metarhizium anisopliae

5. PROCEDIMIENTO

5.1 Preparar diluciones

- Equilibrar balanza
- Pesar 1 gr de producto para obtener una concentración de 10.
- Adicionar 10 ml de solución agua tween 80 al 1% de producto terminado para obtener 10^{-1} .
- Tomar 1 ml de 10^{-1} y adicionar en 9 ml de solución agua tween 80 al 1% para obtener 10^{-2} y así sucesivamente hasta llegar a la dilución 10^{-6} .
- Tomar la dilución adecuada para el recuento y sembrar en espiral del centro hacia fuera 0.2 ml por caja en tres de las cinco.
- Tomar la dilución adecuada para certificación del recuento y sembrar en espiral del centro hacia fuera 0.2 ml por caja en las dos restantes.
- Incubar 5 a 10 días y después hacer la lectura de colonias en el contador.

6. REGISTRO DE DATOS

- 6.1 Registrar la lectura de las 3 cajas de recuento en el formato
- 6.2 Sacar el promedio de las 3 cajas anteriores
- 6.3 Multiplicar el valor del promedio por cinco para obtener el resultado por mililitro y este producto multiplicarlo por el valor de la dilución escogida para el recuento. (2).
- 6.4 Registrar el resultado final

(2) RTO VIABLE = $X \times 5 \times$ valor dilución escogida

LAVERLAM	Recuento viable en hongos	Estandar No.:312 10 29		
	Control Biológico productos agrícolas	Serie: 0 Hoja: 3	Establecido en:15/11/95 Revisado en: 16/02/98	
<p>7. EVALUACION</p> <p>Si el resultado final del recuento es el establecido para el producto y su desviación estándar no difiere del 20% se considera que el producto cumple con la especificación y se emite un fallo de aprobado para recuento viable.</p> <p>Si las condiciones del producto difieren por exceso o defecto del valor establecido, la prueba se repite, si la repetición de la prueba arroja los mismos resultados de incoherencia del producto por defecto con relación a sus unidades formadoras de colonias, éste es rechazado.</p>				
Elaborado por: _____	Aprobación:			
	_____ Gerencia General	_____ Gerencia de area	_____ Jefe de area	_____ Coord.Normaliz.

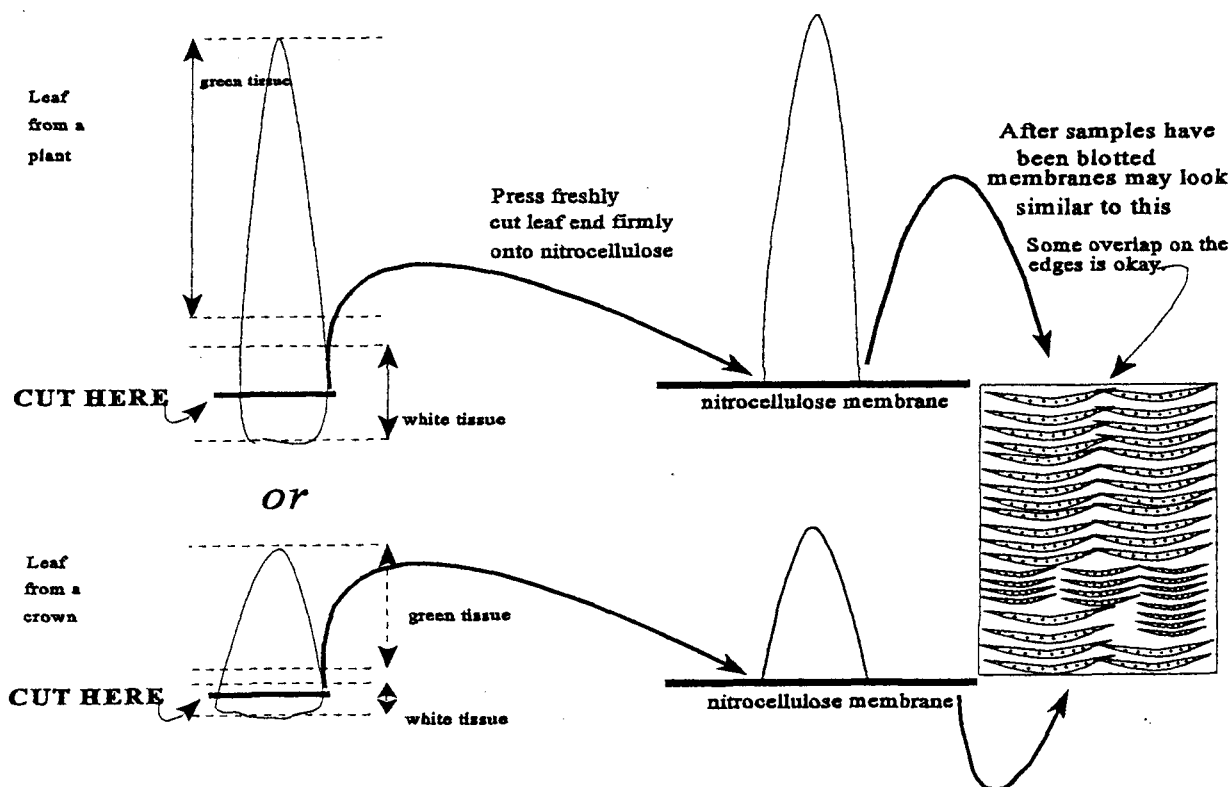
Anexo 3.

PROTOCOL FOR BLOTTING PINEAPPLE SAMPLES.

1. Pineapple plant with no crown:
Pull out a leaf between 25 and 35 cm long
- OR Pineapple plant with a crown:
Pull out a leaf from the top 1/3 of the crown.

Wipe off any soil, debris, or water drops clinging to the leaves.

2. The bottom of the leaves will have a white area. Visually divide the lower portion of **white** area in half and, using a sharp razor blade, cut off the **lower half** of the **white** area and discard.
3. Firmly press the freshly cut leaf end onto the nitrocellulose membrane. Press for 3 to 5 seconds then remove, being careful not to tear the nitrocellulose membrane. After blotting, the outline and internal structure of the leaf should be apparent on the membrane.
4. Repeat steps 2 and 3 until all the samples have been blotted once. It is important that the sample leaves not sit for more than 24 hours before blotting and that the cut made through the white tissue be made immediately before blotting.
5. Please make a map or guide to the samples blotted so that we know what we are probing. The information that would be helpful to us would include variety name, age of plant (crown, plant crop plant, first ratoon, second ratoon, etc.) After blotting simply mail the membrane back to us for probing.



The objective of this study is to determine how widespread the Hawaiian isolate of closterovirus is in pineapple grown throughout the world. Shipping plant material between the countries is strictly regulated, therefore, we require your assistance. We have developed a tissue blotting system for detection of a Hawaiian isolate of closterovirus found in pineapple. By having you do the blotting, we avoid the problems with shipping plant material. It also gives you the freedom of selecting which pineapple plants you would like tested. We are particularly interested in plants exhibiting classic "mealybug wilt" symptoms, although seemingly healthy, nonsymptomatic plants also need to be tested. Approximately half symptomatic and half nonsymptomatic samples would be ideal.

Enclosed is a cardboard "sandwich" which has four rectangular areas containing nitrocellulose membrane. Nitrocellulose, as you know, is very brittle. **Please do not remove it from the cardboard holder.** The holder is needed to protect the membrane during shipping. Avoid touching the membrane as it will interfere with detection. Also, please avoid getting any dirt or debris on the membrane. If something does get on the membrane simply blow it off. Do not attempt to brush it.

We would like you to blot as many pineapple samples as you can on the four membranes enclosed. For each sample blotted it would be helpful to know plant variety, stage of plant (plant crop, crown, first ratoon, etc.), condition of plant (whether showing wilt symptoms, for instance) and any other pertinent information regarding collection location, elevation, history of field, etc. Generally, we can get about 50 samples on each membrane but this will vary depending on the size of the leaves sampled. It is okay if the extreme edges of the individual leaf blots overlap some as long as the majority of the leaf blot remains unobscured (see illustration of sample blot).

After blotting your samples just place the cardboard holder with membrane along with sample information into the preaddressed envelope, apply postage and mail back to us. Please **DO NOT INCLUDE ANY PLANT MATERIAL.** Thank you in advance for your participation.

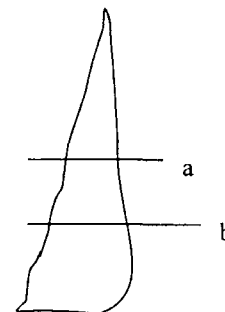
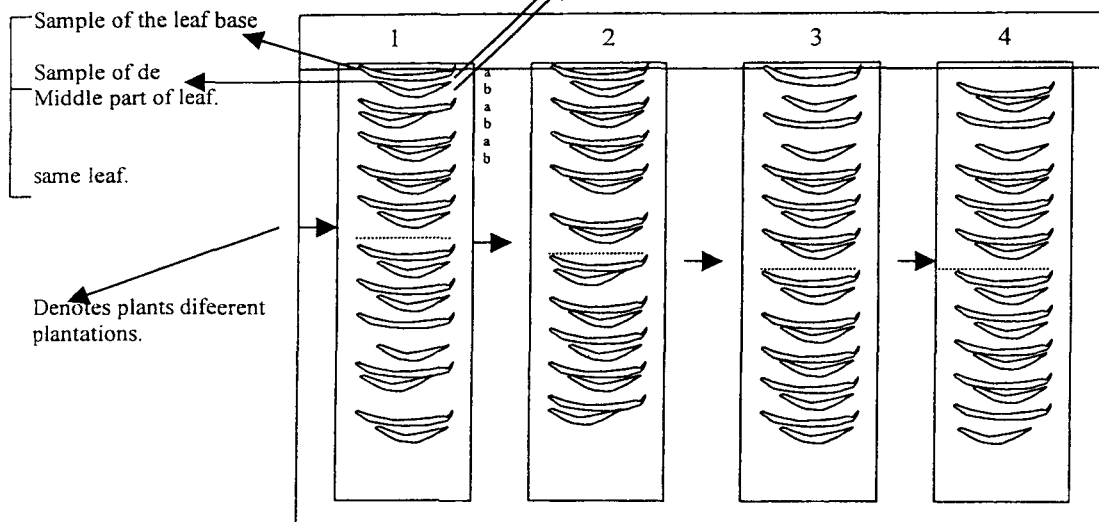
Sample of pineapple's leaves.
 Oscar Ll. Vasquez Ayala.
 E.A.P., D.P.V.
oliva@yahoo.com or 97057@zamorano.edu.hn

Samples of:
 Santa Cruz de Yojoa, Cortes, Honduras, C.A.
 Cultivar: Montufar. Date: Mayo/25/1999.
 Mealybug: *Dysmicoccus brevipes*.

The samples are leaf as follows:
 Each leaf has 2 samples, one constitutes the base and the other in the middle part of de leaf.

Later on the explanation thes will be called marks.

Leaf:



Rectangles 1-4 denote plants from different plantations (2 per rectangle) with different type of symptoms

EXPLANATION:

Rectangle N. 1.

The first 5 leaves (10 marks) correspond to the following:

- Plants without symptoms of yellowing but with the presence of mealybugs. Plantation, aproximately 2 years old.

The following 5 leaves (10 marks)

- are also plantas without symptoms os yelowing and with the presence of mealybugs. Pantation, aproximately 6 months old.

Rectangle N. 2.

First 5 leaves (10 marks)

- Plants with symtoms of yellowing with presence of mealybugs. Plantation , aproximately 2 years old.

Following 5 leaves,

- plantas with symptoms and with mealybugs. Pantation, aproximately 6 months old.

Rectangle N. 3.

Firts 5 leaves.

- Plants without symptoms(yellowing) and without mealybugs. Pantation, aproximately 6 months old.

Following 5 leaves.

- plantas without symptoms and without mealybugs. Plantation, aproximately 2 years old.

Rectangle N. 4.

Firts 5 leaves.

- plants with symptoms but without mealybugs. Pantation, aproximately 6 months old.

Following 5 leaves.

- plants with symptoms of yellowing and without mealybugs. Plantation , aproximately 2 years old.