

ESTUDIO DE LA EFECTIVIDAD DEL CONTROL MICROBIOLÓGICO

DE Prosapia distanti Lall. EN PASTO KIKUYO

(Pennisetum clandestinum)

Tesis de Grado de Magister Scientiae

Javier Icaza Garcia



INSTITUTO INTERAMERICANO DE CIENCIAS AGRICOLAS DE LA OEA

Centro Tropical de Enseñanza e Investigación

Departamento de Cultivos y Suelos Tropicales

Turrialba, Costa Rica

Enero, 1974

ESTUDIO DE LA EFECTIVIDAD DEL CONTROL MICROBIOLÓGICO  
DE Prosapia sp. EN PASTO KIKUYO  
(Pennisetum clandestinum)

Tesis

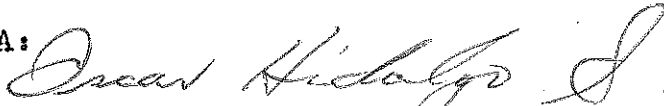
Presentada al Consejo de la Escuela para Graduados  
como requisito parcial para optar al grado de

Magister Scientiae

en el

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA

APROBADA:



Oscar Hidalgo-Salvatierra, Ph.D.

Consejero



Héctor Muñoz, Ph.D.

Comité



Gilberto Páez, Ph.D.

Comité



Jeremy Lawrence, Ph.D.

Comité

Enero, 1974

A mi madre: Graciela García  
A mi hermano: Reynaldo Icaza  
A mi tía: Rosa Matilde Duarte

A mi esposa: Rafaela Zapata de Icaza  
A mis hijos: Roberto y Alina

Al Dr. Oscar Hidalgo-Salvatierra

## AGRADECIMIENTO

El autor desea manifestar su agradecimiento a las siguientes personas:

A los miembros del Comité Consejero: Drs. Héctor Muñoz, Jeremy Lawrence y Gilberto Páez, por su asesoramiento y corrección del manuscrito.

A los Ings. Antonio Paredes y Emiro Pérez por su colaboración en la realización del presente trabajo.

Al señor Emilio Ortiz por los dibujos.

Al cuerpo de Profesores del IICA por su valiosa contribución para el terremoto de Managua en 1972.

Al señor Francisco Callejas cuya valiosa colaboración hizo este ensayo posible.

Al IICA-Zona Norte por la ayuda financiera y al Programa de Energía Nuclear por las facilidades prestadas.

Al Consejo Estudiantil del IICA-CTEI y, en especial, a su presidente, Amilkar Huertas, por la ayuda desinteresada que me han brindado.

Y a todas aquellas personas que de una u otra forma colaboraron en la elaboración de este trabajo.

## BIOGRAFIA

El autor nació el 29 de noviembre de 1943 en Managua, Nicaragua.

Cursó sus estudios en la Escuela Nacional de Agricultura y Ganadería, graduándose de Ingeniero Agrónomo en 1971.

Desde 1968 a 1970 trabajó como asistente en el Departamento de Suelos de Catastro y Recursos Naturales, Managua.

Durante el año de 1971 trabajó en el IICA-CTEI como Edafólogo en el Proyecto de Zonificación de Cultivos Básicos y de Exportación para Centroamérica.

En setiembre de 1971 ingresó al IICA-CTEI como estudiante graduado, egresando en enero de 1974.

## CONTENIDO

	<u>Página</u>
LISTA DE CUADROS	vii
1. INTRODUCCION	1
2. REVISION DE LITERATURA	3
2.1 Organismos Entomopatógenos	3
2.2 Características de <u>Metarrhizium anisopliae</u> (Metch.) Sorokin	3
2.3 Características de <u>Bacillus thuringiensis</u>	4
2.4 Características de <u>Beauveria bassiana</u> (Bál- samo) Vuillemin	6
2.5 Sintomatología de las Enfermedades en los Insectos	6
2.6 Patogenicidad en Insectos	7
2.7 Importancia de <u>Prosapia distanti</u> (Lall.)	8
2.8 Características de <u>Prosapia distanti</u>	10
3. MATERIALES Y METODOS	11
3.1 Localización del Estudio	11
3.2 Preparación de los Productos Insecticidas	11
3.2.1 Cultivo de la bacteria	11
3.2.2. Cultivo del hongo	11
3.3 Lote Experimental	12
3.4 Diseño Experimental y Tratamientos	12
3.5 Recolección de los Datos	14
3.6 Análisis Estadístico de los Resultados	14
4. RESULTADOS	15
4.1 Efecto de los Tratamientos sobre el Número de Ninfas	15
4.2 Efecto de los Tratamientos y de las Epocas	16
5. DISCUSION	18
6. CONCLUSIONES	24
7. RESUMEN	25
7a. SUMMARY	27
8. LITERATURA CITADA	29

## LISTA DE CUADROS

<u>Cuadro No.</u>		<u>Página</u>
1	Dosificación de los tratamientos por parcela y hectárea	13
2	Promedio de ninfas por tratamiento en cada fecha de muestreo, en pasto sin recortar	15
3	Promedio de ninfas por tratamiento en cada fecha de muestreo, en pasto recortado	15
4	Promedio de ninfas por tratamiento en cada fecha de muestreo, en pasto sin recortar	16
5	Promedio de ninfas por tratamiento en cada fecha de muestreo, en pasto recortado	16
6	Análisis de variancia del efecto de los tratamientos y de las épocas en la población ninfal de <u>P. distanti</u>	17

## 1. INTRODUCCION

"Baba de culebra", salivita, "Cigarrinha" o "espumita" son los nombres comunes con que generalmente se conoce a los insectos de la familia Cercopidae que atacan a diferentes cultivos, incluyendo la caña de azúcar y los pastos. Entre éstos, los géneros Aenolamia y Prosapia son los de mayor importancia económica, especialmente en los cañales y pastizales (11, 32).

Debido a su aparente predominancia y amplia distribución, Prosapia distanti (Lall.), constituye una de las plagas más perjudiciales en los pastizales de regiones altas, constituidas en su mayoría por pasto Kikuyo (Pennisetum clandestinum) (32).

Por lo general, la mayoría de los ganaderos usan insecticidas en el control de esta plaga y quizás por el uso continuo de éstos, podría ocurrir una acumulación excesiva en los pastos, que afectaría en una forma directa a los animales e indirectamente al hombre.

En la actualidad la lucha contra determinada plaga de un cultivo, no sólo se hace por medio de control químico y prácticas culturales, sino que también se emplea el control biológico que, bien podría ser la introducción de parásitos y predadores o el empleo de hongos entomopatógenos como, Metarrhizium, Uredinella, Beauveria. En el caso de P. distanti, Vargas (32) encontró insectos parasitados por la forma silvestre de Metarrhizium anisopliae, esto sugiere el posible uso de este hongo en el combate de la salivita de los pastos.

Los objetivos de este trabajo fueron:

1. Determinar la efectividad de Metarrhizium anisopliae, Bacillus thuringiensis y Beauveria bassiana como insecticidas



microbiológicos.

2. Determinar en que forma M. anisopliae es más efectivo, si en forma de espora o en forma de micelio.
3. Determinar el efecto residual de los tratamientos.

## 2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Organismos Entomopatógenos

Todos los insectos tienen enemigos naturales y parásitos, tales como virus, bacterias, protozoos, nemátodos y hongos que son usados en la lucha biológica para controlar determinada plaga.

Hongos entomopatógenos se encuentran entre los ficomicetos, ascomicetos y deuteromicetos. Algunos de éstos como: Cordyceps, Aschersonia, Uredinella, Ceolomomyces, Insecticola, Mycrophaga y Metarrhizium ocurren solo en insectos, mientras que otros patógenos de insectos ocurren en varios habitats y, solo algunas de las especies son entomófagas obligadas.

En este grupo tenemos Cephalosporium, Ophionectria, Podonec-  
tria, Spicaria, Beauveria y otros (23).

Dentro de las bacterias que forman cristales hay algunas que son patógenos para ciertas especies de algunos órdenes de insectos. Entre éstas tenemos las pertenecientes al Grupo Bacillus thurin-  
giensis como: B. thuringiensis var. thuringiensis, B. thuringien-  
sis var. amoscatotoxicus, B. thuringiensis var. galleriae, B. thurin-  
giensis var. anagastae, B. thuringiensis var. entomocidus (15).

2.2 Características de Metarrhizium anisopliae (Metch.) Sorokin (1)

M. anisopliae pertenece a la:

División:	Mycota
Subdivisión:	Deuteromycotina
Clase:	Hyphomycetes
Orden:	Hyphomycetales
Familia:	Moniliaceae
Género:	Metarrhizium

Especie: *anisopliae*

El género Metarrhizium comprende cuatro especies: anisopliae, album, brunneum y glutinosum (27).

Según Delacroix (8) los diferentes tamaños de esporas y la especificidad en el ataque de insectos se debe al origen de las cepas producidas por Metarrhizium anisopliae.

Respecto a su crecimiento en condiciones de laboratorio podemos decir que se adapta desde los 10 a 30 C, siendo su rango óptimo entre 24 y 26 C (26).

La longevidad de las conidias de M. anisopliae y B. bassiana es relevante en el uso de control biológico y disminuye cuando la temperatura de almacenamiento aumenta de 8 a 25 C (7).

La viabilidad de las esporas también es afectada por la temperatura, ya que a 8 C conservan su viabilidad por un período de 12 meses y, a 21 C aproximadamente 2,5 meses. La humedad es otro factor que afecta no sólo la formación y germinación de conidias, sino que también la esporulación del hongo, la ocurrencia de ésta, es por encima de 92,5 por ciento de humedad relativa (33).

### 2.3 Características de Bacillus thuringiensis

Según Heimpel y Angus (14) B. thuringiensis pertenece a la:

División:	Schyzomycota
Subdivisión:	Schyzomycotina
Clase:	Schyzomycetes
Orden:	Eubacteriales
Familia:	Bacillaceae
Género:	Bacillus
Especie:	thuringiensis

Se caracteriza por tener presente un cuerpo parasporal (cristal proteico) llamada endotoxina- $\delta$  (15). Las esporas son ovales y con un tamaño de 1  $\mu$  por 1,5  $\mu$  subterminales, usualmente se forma en 24 - 48 horas. Ocasionalmente las esporas son vistas tendidas oblicuamente en el esporangio, éste puede ser oval o cilíndrico. Un cuerpo parasporal se forma en cada esporangio (14).

Algunas variedades de B. thuringiensis son activas contra larvas de lepidópteros debido al efecto del cristal proteico, que desintegra el epitelio estomacal permitiendo el desarrollo del bacilo y, provocando una septicemia. Este cristal se forma bajo las condiciones de un medio nutritivo adecuado, incubado entre 28 y 35 C y, con suplencia adecuada de oxígeno. El cristal se produce en células vegetativas y cuando apenas es detectado ya está completamente formado.

En cultivos de B. thuringiensis, además de la exotoxina- $\beta$  y endotoxina- $\delta$ , también se han detectado otras toxinas las cuales han sido poco estudiadas. Aparentemente, la exotoxina- $\beta$  tiene un espectro mayor que la endotoxina- $\delta$ , afectando especies de los órdenes Coleoptera, Diptera, Himenoptera, Lepidoptera y Ortoptera (15).

En lo concerniente al mecanismo de producción y actuación de la exotoxina- $\beta$ , es menos conocido en comparación con la endotoxina- $\delta$ . Parece ser que la exotoxina- $\beta$  se encuentra en el sobrenadante del cultivo de la bacteria, es soluble en agua y resistente al calor.

Briggs (5) en un experimento con mosca doméstica, señala mayor actividad del cultivo completo, en oposición al polvo de esporas,

#### 2.4 Características de Beauveria bassiana (Bálsamo) Vuillemin

Beauveria bassiana pertenece a la misma familia que M. anisopliae (1).

Según el tipo de esporas, las especies de Beauveria pueden ser divididas en dos grupos, el primero incluye las especies, bassiana, effesa, globulifera y stephanoderis. En este grupo las esporas son globosas u ovals con 2  $\mu$  de largo y 7,5  $\mu$  de ancho. El segundo grupo incluye las especies de Beauveria tenella con esporas ovals o elipsoidales de 3  $\mu$  de largo y 2  $\mu$  de ancho (20).

#### 2.5 Sintomatología de las Enfermedades en los Insectos

La penetración del hongo al huésped puede ocurrir a) en forma directa, b) por aberturas naturales y c) por heridas. Según Madelin (20) el hongo puede penetrar, bien, a través de la parte del tegumento o de la pared del tubo digestivo. Los insectos atacados por hongos presentan síntomas característicos como: a) cambios de conducta, b) decoloración, c) cambios en su estructura y d) alteraciones fisiológicas. La mayor mortalidad causada por M. anisopliae y B. bassiana se presenta entre 4 y 7 días (21).

B. thuringiensis puede ser introducido dentro de un tejido susceptible a través de una herida o por el estómago. Si el organismo introducido no es vencido por las defensas del cuerpo, puede resultar una infección local o general (15).

La manifestación de los síntomas depende de la especie de insecto, pero en general se puede decir que hay poca movilidad, afa-  
gia, crecimiento reducido y ennegrecimiento. La muerte ocurre después de 48 - 72 horas de inanición.

## 2.6 Patogenicidad en Insectos

El amplio espectro de patogenicidad de M. anisopliae ha sido comprobado en varios experimentos (7, 17, 18, 25). En 1968, Zacharuck y Tinline (36) encontraron que todos los estadios de elatéricos de importancia económica eran susceptibles a M. anisopliae y que la resistencia era mayor en huevos y larvas que en pupas y adultos.

Las larvas de cuarta fase del escarabajo de la papa Leptinotarsa decemlineata, morían como consecuencia del ataque de M. anisopliae en un lapso de 7-10 días, con temperaturas de 22 y 26 C, alargándose este período a medida que disminuía la temperatura (25).

M. anisopliae y B. bassiana fueron evaluados en el laboratorio y campo como patógenos de la larva Curculio caryae (Horn.). La mayor mortalidad larval fue causada por B. bassiana a los 14 y 28 días después de aplicado en el campo (31).

Walstad y Anderson (34) encontraron que B. bassiana y M. anisopliae, resultaron efectivos contra Hylobius pales (Herbst.). Las dosis de esporas para el primero fueron 35, 44 y 142 lb/acre y produjeron 67, 77 y 100 por ciento de mortalidad respectivamente. Para el segundo con dosis de 35, 43 y 80 lb/acre se obtuvo 35, 43 y 80 por ciento de mortalidad respectivamente. Para ambos hongos el 100 por ciento de mortalidad ocurrió entre 5 y 6,8 días después de aplicados (34).

Brooks y Raum (6) señalan que B. bassiana ataca los huevos y el adulto de Diabrotica longicornis y solo el adulto de D. undecimopunctata. El porcentaje de infestación del picudo de la alfalfa (Hypera postica) causado por el hongo B. bassiana fue influenciado por la humedad relativa (98-100 por ciento) y temperaturas arriba de 24 C (13).

B. thuringiensis es patogénico para las especies del orden Lepidoptera, Hymenoptera, Diptera, Coleoptera y Ortoptera (15).

En el control de coleópteros es menos frecuente el uso de B. thuringiensis var. thuringiensis y, hay muchos casos en que los resultados obtenidos en el control son muy pobres. Sutter (29) al usar Thuricide 90 en dosis equivalentes a 0, 4, 8, 16 y 32 quintales/acre, para el control de Diabrotica undecimopunctata howardi (Baker), encontró que no tenían efecto sobre la población de larvas, a pesar de que, las dosis fueron más altas que las recomendadas para otros insectos.

Stern et al. (28) en un experimento para el control de larvas de tres lepidópteros (Colias eurythene, Spodoptera exigua y Prodenia praefica) aplicaron Thuricide DO 5712 ( $15 \times 10^9$  esporas viables por gramo) en dosis de 47 centilitros y dos cuartas de galón por acre. Con ambas dosis se obtuvo un control excelente de Colias eurythene, sin embargo no tuvieron efecto sobre las otras dos especies.

Para el control de Trichoplusia ni se empleó Thuricide ( $3 \times 10^9$  esporas por gramo) con un adherente en la proporción de 1 libra de polvo mojable por acre, obteniéndose una mortalidad significativamente diferente, respecto al testigo (35).

En el caso de Desmia funeralis (Hübner), B. thuringiensis ha resultado ser tan efectivo como los insecticidas (2).

## 2.7 Importancia de Prosapia distanti (Lall.)

Según Morales y Matarrita (22) el daño causado por los adultos de P. distanti en pasto Kikuyo se debe a que el insecto al alimentarse inyecta al follaje una sustancia tóxica que lo torna

clorótico, luego se dobla, amarillea y se seca comenzando por las puntas.

Taliaferro, Byers y Burton (30), consideran que la interrupción de la fotosíntesis en las partes aéreas de la planta es debido principalmente a la toxina, y como el insecto ataca año con año, reduce la productividad y persistencia del pasto.

Fagan y Vargas (9) al realizar un experimento con poblaciones conocidas de adultos de P. distanti en pasto Kikuyo, encontraron que el porcentaje de humedad disminuía con el número de adultos por caja y que no hay diferencias significativas en cuanto al contenido de proteínas, extracto etéreo, fibra cruda, extracto libre de nitrógeno y ceniza.

El ataque de esta plaga además de causar una baja en la producción, influye en la no aceptabilidad del pasto, debido quizás a la reducción del contenido de agua, o a la sustancia fitotóxica de la saliva que el insecto inyecta a la planta.

Actualmente los métodos empleados en la lucha contra esta plaga son roturación e insecticidas, presentando éste el inconveniente de que no se debe **pastorear** por varios días después de la aplicación.

Para el control de esta plaga Vargas (32) evaluó varios insecticidas, como, Thimet, Diazinón granulado, Dy-Systox y Solvirex granulado en dosis de 20,2, 22,6, 20,0 y 40 kg/ha respectivamente y encontró que Thimet aplicado en forma granular fue el mejor, al reducir significativamente la proporción de ninfas hasta por un período de dos y medio meses.



## 2.8 Características de *Prosapia distanti* (Lall.)

P. distanti es un Homoptero: Cercopidae y su ciclo biológico fue determinado por Vargas (32) bajo condiciones de laboratorio e invernadero.

Bajo condiciones de laboratorio los huevos eclosionaron entre los 18 y 21 días con una temperatura máxima de 26°C y mínima de 19,3°C y 95 por ciento de humedad relativa.

Antes de llegar al estado adulto pasa por cuatro fases ninfales, desde la eclosión del huevo hasta adulto dura aproximadamente 80 días. La longevidad del adulto varía de acuerdo al sexo, en machos fue de 12 días, con un mínimo de siete y un máximo de diecisiete días; en hembras fue de quince días con un mínimo de doce y un máximo de dieciocho.

La forma adulta presenta dos coloraciones, una café o parda que varía desde un color café claro hasta pardo oscuro, y la otra roja, que varía desde un color rojo escarlata hasta café rosado.

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 Localización del Estudio

Este trabajo se llevó a cabo en la finca "Evangelina", propiedad del señor Francisco Callejas, situada aproximadamente a 16 km al Noroeste de Turrialba, Costa Rica, y a 1440 m.s.n.m. Según el mapa ecológico de Costa Rica confeccionado por Holdridge (16) esta región corresponde a bosque húmedo montano de la región tropical.

#### 3.2 Preparación de los Productos Insecticidas

##### 3.2.1 Cultivo de la bacteria

Primero se preparó un cultivo de semilla que consistió en inocular 25 ml de caldo nutritivo (bacto de peptona 5 g y extracto de carne 3 g, en un litro de agua destilada), previamente esterilizado en autoclave con una colonia de B. thuringiensis var. kurstaki HD-1 e incubado por un período de 24 horas en una incubadora agitadora a 32 C y a 248 rpm. Luego se inoculó un litro de caldo nutritivo con 1 ml de esta suspensión saturada y se mantuvo por 72 horas en una incubadora agitadora bajo las mismas condiciones que para la preparación de la semilla.

##### 3.2.2 Cultivo del hongo

El micelio de M. anisopliae se obtuvo cultivando el hongo en Sabouraud líquido (5 g de bacto-peptona, 2 g de extracto de levadura y 20 g de dextrosa en un litro de agua destilada). A este medio previamente esterilizado, se le inocularon 5 ml de una suspensión de esporas de M. anisopliae y se mantuvo por un período de 72 horas en una incubadora-agitadora bajo las mismas condiciones que para el cultivo de la bacteria.

Las esporas de M. anisopliae se obtuvieron siguiendo la metodología empleada por Flores (10) que consiste en poner en vasos de vidrio 24 g de arroz crudo y 48 cc de agua destilada y después esterilizados en autoclave a una temperatura de 248 F y 15 lb/plg<sup>2</sup> de presión durante 15 minutos. Luego se inoculó el arroz con una suspensión preparada a partir de un cultivo puro. A los 21 días se cosechó el hongo, añadiendo a cada vaso 250 cc de agua destilada y después licuando con una batidora Osterizer. La concentración de esporas se determinó con un hemocitómetro, empleando la dilución  $10^{-2}$  de la concentración original de esporas.

Beauveria bassiana se aplicó en forma del producto experimental conocido como Biotrol FBB, gentilmente suministrado por la Thompson-Hayward Chemical Company.

Meta-systox fue suministrado por el propietario de la finca donde se realizó el experimento.

### 3.3 Lote Experimental

Se escogió un lote de 80 m de largo x 30 m de ancho, sembrado en pasto Kikuyo, en el que no se aplicó insecticida, ni se pastoreó, ni se fertilizó durante los tres meses anteriores al inicio del ensayo, con el objeto de tener una población insectil uniforme y evitar la influencia de alguna práctica cultural en particular.

### 3.4 Diseño Experimental y Tratamientos

El diseño utilizado en el experimento fue bloques al azar con seis tratamientos y cuatro repeticiones, y dos subtratamientos en parcelas divididas. La asignación de los tratamientos y subtratamientos se hizo al azar. La parcela total era un cuadrado de 6x6 m y la efectiva 5x5 m.

Los subtratamientos son: a) pasto sin recortar y b) pasto recortado (a una altura de 5 cm sobre la superficie del suelo).

La dosificación de los tratamientos se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Dosificación de los tratamientos por parcela y hectárea

Tratamientos	Dosis por parcela	Dosis por hectárea
1) <u>B. thuringiensis kurstaki</u> HD-1 incubado por 72 h	108 cc <sup>a/</sup>	30 litros de cultivo saturado <sup>b/</sup>
2) <u>M. anisopliae</u> en forma de micelio incubado por 72 h	108 cc <sup>a/</sup>	30 litros de cultivo saturado <sup>b/</sup>
3) <u>M. anisopliae</u> esporas en suspensión	$3,24 \times 10^{10}$ <sup>a/</sup>	$9 \times 10^{12}$ <sup>b/</sup>
4) Biotrol FBB ( <u>B. bassiana</u> ) $1 \times 10^9$ esporas por gramo	0,03 kg <sup>a/</sup>	1 kg <sup>b/</sup>
5) Meta-systox granulado	0,072 kg <sup>a/</sup>	20 kg
6) Testigo	3 litros de agua	900 litros de agua

a/ Diluidos en 3 litros de agua.

b/ Diluidos en 900 litros de agua.

El ensayo comenzó el 15 de junio y finalizó el 14 de setiembre de 1973. El 15 de junio se hizo el conteo inicial de ninfas y después se realizó el recorte del pasto. El 16 de junio los tratamientos 1, 2, 3, 4 y 6 se aplicaron con una bomba de espalda de 16 litros de capacidad y el no. 5 se aplicó con la mano esparciéndolo al voleo sobre cada parcela. En vista de que a los 55 días no se observó la efectividad de los tratamientos, el 10 de agosto se recortó nuevamente el pasto y se efectuó una segunda aplicación de los tratamientos, procurando mantener las mismas dosis que en la primera vez.

### 3.5 Recolección de los Datos

Antes de aplicar los tratamientos se realizó un conteo inicial de ninfas, el cual se repitió cada cinco días durante el desarrollo del experimento. Para el contaje de ninfas se tomó como unidad muestral  $0,25 \text{ m}^2$  ( $0,5 \times 0,5 \text{ m}$ ), la localización de ésta en la parcela efectiva se realizó mediante un sistema de coordenadas, determinadas con una tabla de números aleatorios y para cada fecha de muestreo se tomó una muestra por parcela.

Las ninfas recolectadas en el campo se pusieron en platos de petri (identificados con el correspondiente tratamiento) recubiertos en su interior con papel filtro humedecido y hojas de pasto Kikuyo, con el objeto de poder identificar de acuerdo a los síntomas característicos si la causa de su muerte se debía al bacilo o los hongos.

### 3.6 Análisis Estadístico de los Resultados

Los datos entomológicos fueron transformados a  $\sqrt{x+0,5}$  para estabilizar la variancia. El análisis de variancia se realizó de acuerdo al diseño utilizado en el experimento, para discriminar los efectos debidos a los tratamientos y subtratamientos sobre la variable estudiada.

## 4. RESULTADOS

4.1 Efecto de los Tratamientos sobre el Número de Ninfas

Los Cuadros 2 y 3 muestran el promedio de ninfas por tratamiento en cada una de las épocas o fechas de muestreo, después de la primera aplicación de los tratamientos. Al comparar los promedios por tratamiento en cada época de muestreo del pasto sin recortar y pasto recortado es notoria la influencia que tuvo esta práctica en la reducción de la población insectil.

Cuadro 2. Promedio de ninfas por tratamiento en cada fecha de muestreo en pasto sin recortar

T*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	$\bar{X}$
1	6,50	5,50	6,75	7,00	12,75	11,25	9,25	13,00	16,25	16,25	8,00	
2	4,25	3,00	4,00	5,25	9,50	13,00	7,25	8,75	6,50	17,25	6,00	
3	5,75	5,75	8,75	6,25	28,75	12,00	8,50	12,25	11,75	5,50	21,75	
4	6,50	4,75	8,75	8,00	8,00	11,25	7,50	20,50	17,50	12,25	12,75	
5	5,50	12,00	3,50	7,50	19,50	6,25	9,50	7,50	7,75	7,00	7,00	
6	7,75	6,25	6,25	9,00	19,00	5,50	8,50	13,00	10,25	12,75	10,75	
$\bar{X}$	6,04	6,21	6,33	7,16	16,25	9,87	8,41	12,50	11,66	11,83	11,04	9,75

Cuadro 3. Promedio de ninfas por tratamiento en cada fecha de muestreo, en pasto recortado

T*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	$\bar{X}$
1	9,25	4,75	6,75	5,00	11,50	9,25	7,75	9,75	8,25	7,50	3,00	
2	4,75	3,75	3,50	5,75	21,25	13,75	3,00	11,75	9,00	4,00	2,50	
3	2,50	6,25	8,25	3,25	8,00	11,00	3,75	8,50	3,25	6,75	3,50	
4	12,00	4,25	4,50	5,25	45,25	5,25	2,50	6,75	11,25	3,75	4,75	
5	5,00	1,25	3,00	3,50	4,00	4,00	2,25	5,25	6,00	4,50	2,75	
6	3,50	4,25	3,25	6,25	14,50	5,75	7,00	6,00	5,25	1,75	4,50	
$\bar{X}$	6,16	4,08	4,87	4,83	17,41	8,16	4,37	8,00	7,16	4,70	3,50	6,65

\* T = Tratamiento número

1 = 15-junio-73    4=1-julio-73    7=16-julio-73    10=31-julio-73  
 2 = 21-junio-73    5=6-julio-73    8=21-julio-73    11= 5-agosto-73  
 3 = 26-junio-73    6=11-julio-73    9=26-julio-73

Los Cuadros 4 y 5 muestran el promedio de ninfas por tratamiento en cada una de las épocas o fechas de muestreo, después de la segunda aplicación de los tratamientos.

Cuadro 4. Promedio de ninfas por tratamiento en cada fecha de muestreo, en pasto sin recortar

Tratamiento	E P O C A S <i>a</i> '							$\bar{X}$
	1	2	3	4	5	6	7	
1	11,00	4,25	8,50	5,25	7,00	4,25	2,25	
2	8,00	7,75	7,25	5,00	5,25	3,25	5,00	
3	10,50	9,00	8,00	4,00	4,00	2,00	3,50	
4	10,75	11,50	7,75	3,50	2,00	3,00	5,25	
5	10,00	4,75	0,75	1,00	0,50	0,00	0,25	
6	12,75	7,50	3,75	4,75	2,00	0,75	1,75	
	10,50	7,46	6,00	3,92	3,46	2,21	3,00	5,22

Cuadro 5. Promedio de ninfas por tratamiento en cada fecha de muestreo, en pasto recortado

Tratamiento	E P O C A S <i>a</i> '							$\bar{X}$
	1	2	3	4	5	6	7	
1	3,25	1,25	1,75	0,75	0,50	0,50	0,75	
2	1,75	0,75	1,25	0,75	0,75	0,25	0,50	
3	4,00	1,25	1,50	1,00	1,00	0,00	0,00	
4	3,50	1,25	1,25	1,00	0,00	0,75	0,00	
5	2,00	1,00	0,75	0,75	0,50	0,25	1,00	
6	1,50	1,25	7,75	2,00	0,25	0,50	0,50	
$\bar{X}$	2,67	1,13	2,38	1,04	0,50	0,38	0,46	1,22

*a*' 1 = 15-agosto-73                      4 = 30-agosto-73                      7 = 14-setiembre-73  
 2 = 20-agosto-73                      5 = 4-setiembre-73  
 3 = 25-agosto-73                      6 = 9-setiembre-73

#### 4.2 Efecto de los Tratamientos y de las Epocas

En el Cuadro 6 se presenta el análisis estadístico del efecto de los tratamientos y de las épocas en la población de P. distanti. En general los tratamientos microbiológicos y químicos resultaron

Cuadro 6. Análisis de variancia del efecto de los tratamientos y de las épocas en la población ninfal de P. distanti

F. de V.	GL	SC	CM	
Repeticiones (R)	3	7,10	2,36	ns
Tratamientos (T)	5	28,60	5,72	ns
Manejo (M)	1	126,73	126,73	**
M x T	5	2,59	0,51	ns
Error (a)	33	179,37	5,43	
Epoca (E)	16	362,29		
E <sub>1</sub> vs E <sub>2</sub>	1	223,00		
E <sub>1</sub>	9	82,98	9,22	**
E <sub>2</sub>	6	56,30	9,38	**
ME <sub>1</sub>	9	13,04	1,44	*
ME <sub>2</sub>	6	8,51	1,41	ns
Error (b)	737	516,32	0,70	
Total	815	1244,58		

ns = no significativo

\* = significativo al 5%

\*\* = significativo al 1%

inefectivos. Al observar los tratamientos 2 y 3 (Cuadro 2) que corresponden a la diferente forma de aplicación de M. anisopliae, los promedios presentan diferencias en cada una de las épocas de muestreo, sin embargo no existen diferencias significativas.

En lo que respecta al efecto residual de los tratamientos principales, en las Figuras 1 y 3 se puede notar que no hay una tendencia definida sino que más bien presenta las fluctuaciones características de toda población. Para manejo y la interacción manejo-época si hay diferencias estadísticas significativas al 1 y 5 por ciento respectivamente, al comparar las Figuras 3 y 4 se hace notoria la influencia que tuvo el recorte del pasto al mantener la población entre 0,25 y 3,25 ninfas por 0,25 m<sup>2</sup>, a través del período de muestreo.

En este análisis sólo se consideraron los muestreos realizados después que se aplicaron los tratamientos y subtratamientos.



## 5. DISCUSION

Esta es la primera prueba que se realiza, empleando insecticidas microbiológicos en la lucha contra Prosapia distanti.

En el Cuadro 6 observamos que no hay diferencias estadísticas en cuanto a la efectividad de los tratamientos, ni a la forma de aplicación de M. anisopliae, esto se puede notar al analizar la Figura 1, donde las fluctuaciones poblacionales de ninfas son más o menos parecidas a través del tiempo, excepto para la época 4 de muestreo, que presenta un pico bien marcado, también cabe hacer mención de que el insecticida a partir de la sexta fecha de muestreo, mantuvo la población por debajo de la media poblacional general, podríamos decir que aparentemente ejerció mejor efecto que los otros tratamientos, sin embargo no se detectaron diferencias significativas.

La ineffectividad de los productos microbiológicos usados se puede deber a que P. distanti no es susceptible a estos patógenos o que las condiciones climáticas prevalecientes durante el tiempo en que se efectuó dicho experimento, no fueron favorables al desarrollo de los patógenos. Uno de los componentes del clima que afecta grandemente los productos microbiológicos es la radiación solar la cual es mayor en lugares más elevados, a este factor habría que añadirle la alta humedad que favorece la susceptibilidad de las esporas a la radiación (24).

Biotrol FBB es un producto experimental y como producto microbiológico, también es afectado por las condiciones climáticas. M. anisopliae fue usado con éxito en la lucha contra la candelilla de la caña (Aenolamia postica Homoptera:Cercopidae), y se logró un control hasta del 80 por ciento de ninfas, y adultos, 20 días después de la aplicación (12), sin embargo en nuestro caso este hongo resultó ineffectivo.

Número de ninfas por 0.25 m<sup>2</sup>

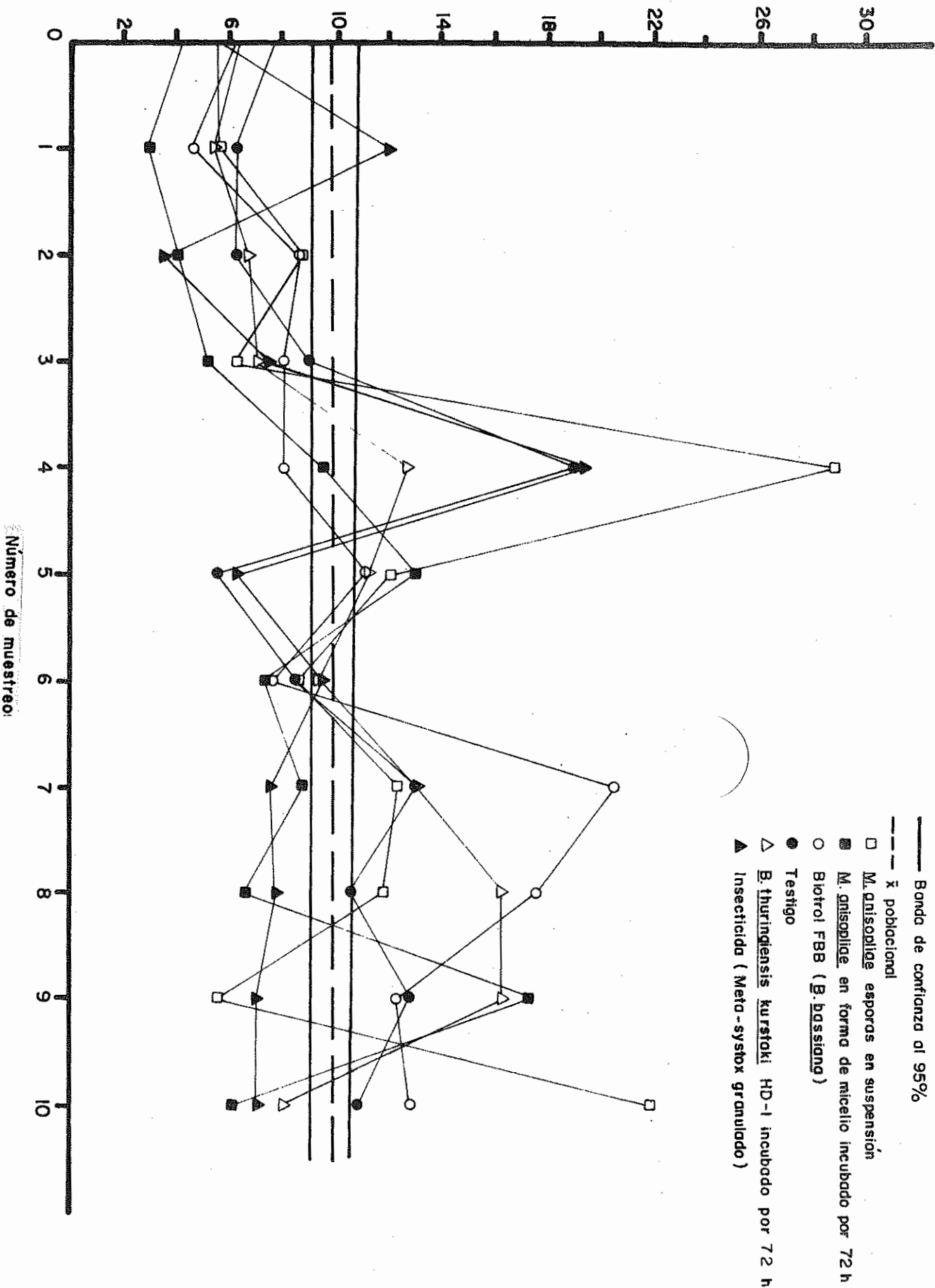


Fig. 1 Fluctuación poblacional de ninfas después de la primera aplicación en pasto sin recortar

Número de ninfas por 0.25 m<sup>2</sup>

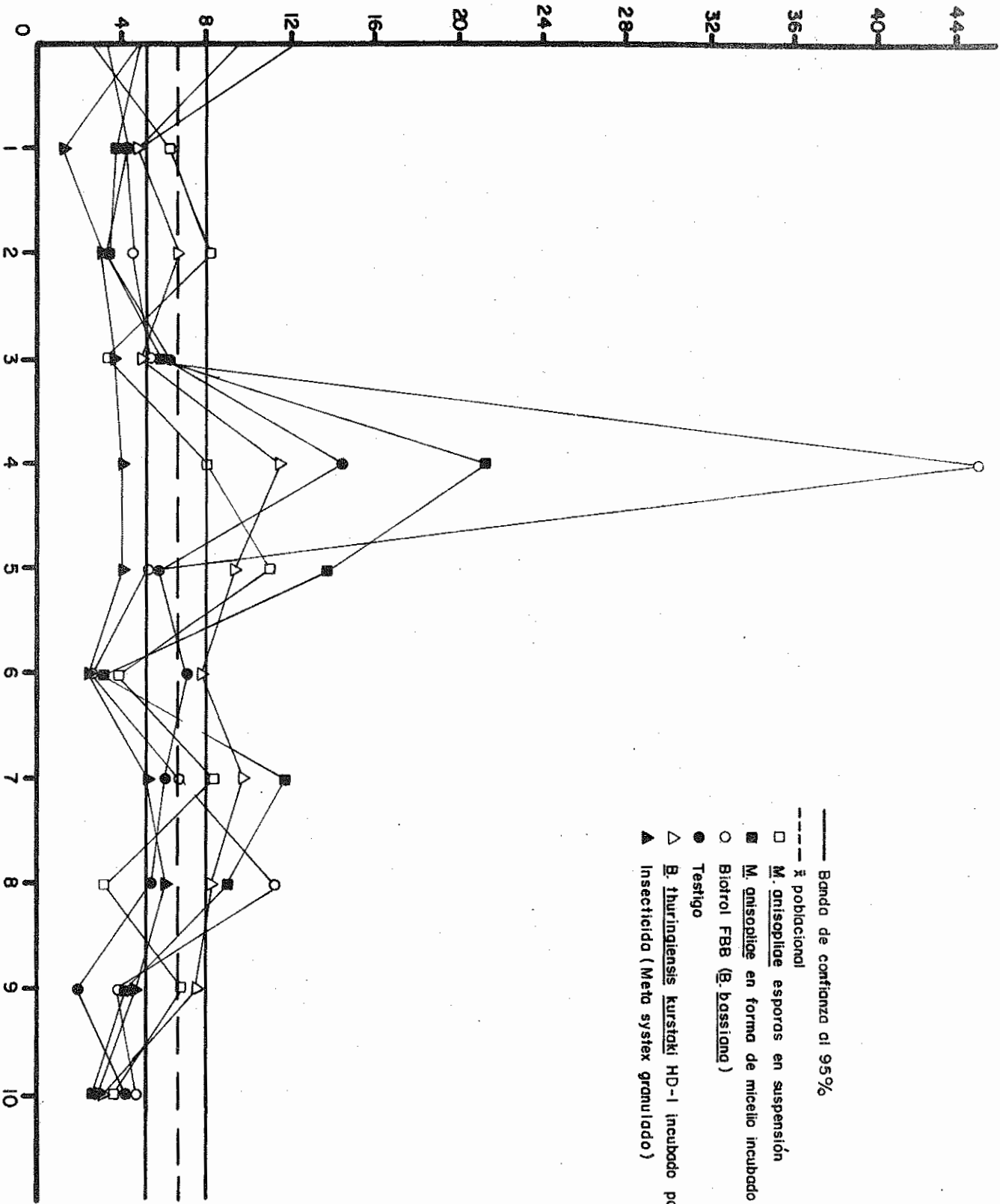


Fig. 2 Fluctuación poblacional de ninfas después de la primera aplicación en pasto recortado

De los tratamientos empleados sólo manejo resultó significativo al 1 por ciento. La influencia que tuvo este tratamiento en la reducción de la población ninfal se puede observar al comparar las Figuras 2 y 1, donde vemos que la media poblacional en el pasto recortado fue inferior a la del pasto sin recortar.

En la Figura 4 se nota con mayor énfasis el control que ejerce la práctica de recortar el pasto, ya que para este período la población osciló entre leve e incipiente, mientras que en el pasto sin recortar (Figura 3) la infestación se mantuvo entre mediana y fuerte.

En la práctica ésto indicaría que cuando hayan altas infestaciones, la pauta a seguir por el ganadero podría ser sobrepastoreo, que serviría no sólo para reducir la densidad de la plaga, sino que se traduciría en una mayor utilidad desde el punto de vista económico, no sólo en aquellas áreas dedicadas al pastoreo, sino que también en las áreas de pasto para corte.

Otra práctica cultural comúnmente usada en el control de esta plaga es la roturación, al respecto Vargas (32) señala que resultó tan efectiva como los insecticidas, y podría ser que manejo o sea recorte de pasto a baja altura vendría a ser equivalente a sobrepastoreo y permita una recuperación más rápida del pasto.

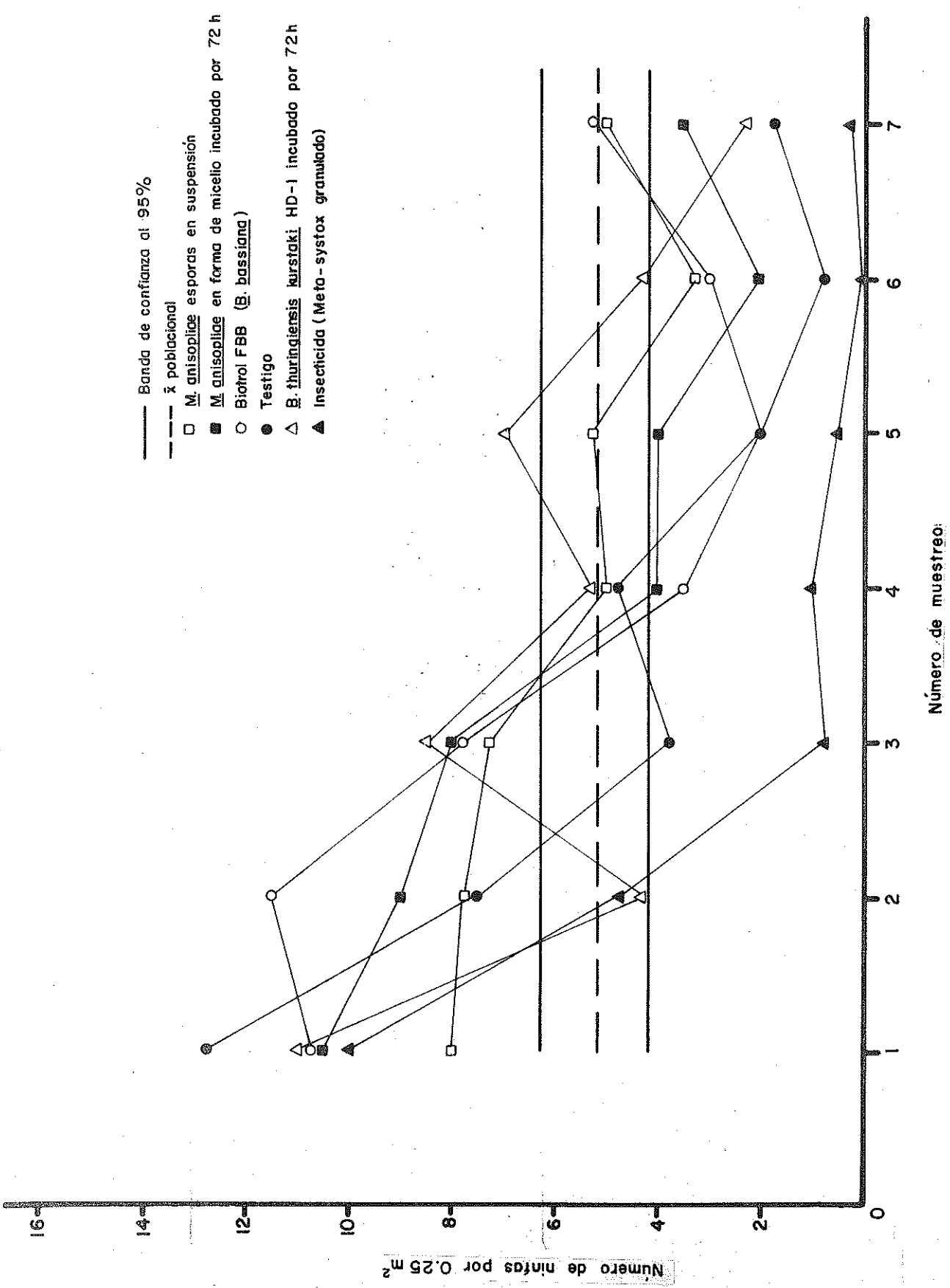


Fig. 3 Fluctuación poblacional de ninfas después de la segunda aplicación en pasto sin recortar

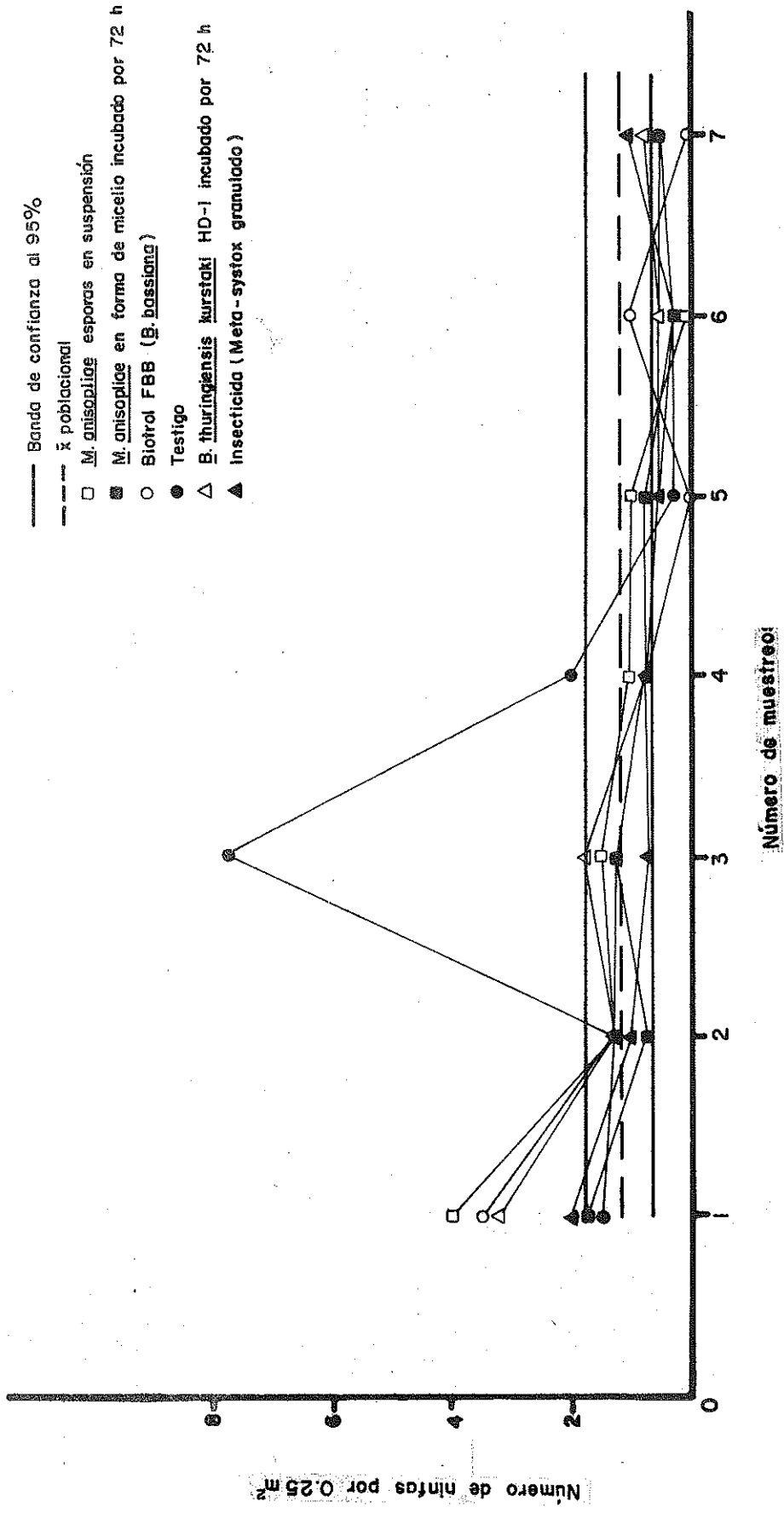


Fig. 4 Fluctuación poblacional de ninfas después de la segunda aplicación en pasto recortado

## 6. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en esta investigación podemos decir que:

- 1- Manejo o sea recorte del pasto es la mejor forma para reducir la población ninfal.
- 2- Ninguno de los tratamientos microbiológicos y químicos resultó efectivo en la lucha contra esta plaga.
- 3- La forma de aplicación de M. anisopliae, tanto en forma de espora o de micelio, no influyó en su efectividad como agente microbiológico.

## 7. RESUMEN

"Baba de culebra", "salivita" o "espumita de los pastos" son los nombres vernaculares con que generalmente se conoce a varias especies de insectos de la familia Cercopidae, del orden Homoptera.

En Costa Rica los pastizales de regiones altas formadas en su mayoría por pasto Kikuyo (Pennisetum clandestinum) son atacados por Prosapia distanti Lall. y talvez este es el insecto de mayor importancia económica por su aparente predominancia en las poblaciones presentes y su amplia distribución.

Desde el punto de vista económico, cuando ocurre un ataque fuerte del insecto en pasto Kikuyo los daños producidos dan como resultado el deterioro completo del pasto.

La presente investigación se realizó en la finca Evangelina, propiedad del señor Francisco Callejas situada a 16 km al N.O. de Turrialba y a 1440 m.s.n.m.

Los objetivos de este trabajo fueron:

- a) Determinar la efectividad de Metarrhizium anisopliae, Bacillus thuringiensis y Beauveria bassiana como insecticidas microbiológicos.
- b) Determinar en que forma M. anisopliae es más efectivo, si en forma de espora o en forma de micelio.
- c) Determinar el efecto residual de los tratamientos.

El diseño experimental fue bloques al azar con 6 tratamientos y 4 repeticiones y dos subtratamientos en parcelas divididas. La parcela total era un cuadrado 6x6 m y la efectiva 5x5 m. Los subtratamientos son: a) pasto sin recortar y b) pasto recortado a



una altura de 5 cm sobre la superficie del suelo.

La dosis por Ha de los tratamientos aplicados fue:

- 30 litros de cultivo saturado de B. thuringiensis var. kurstaki HD-1 incubado por 72 h.
- 30 litros de cultivo saturado de M. anisopliae en forma de micelio incubado por 72 h.
- $9 \times 10^{12}$  esporas de M. anisopliae en suspensión acuosa
- 1 kg de Biotrol FBB (B. bassiana)  $1 \times 10^9$  esporas por gramo
- 20 kg de meta-systox granulado
- 500 litros de agua en el testigo.

Se concluyó que el manejo o sea recorte del pasto, es la mejor forma para reducir la población ninfal y que ninguno de los tratamientos biológicos y químicos resultó efectivo en la lucha contra esta plaga.

## 7a. SUMMARY

Spittle-bug is the common name given to several species of the Cercopidae family of the order Homoptera.

High altitude pastures of Costa Rica, made up mostly of Kikuyo grass (Pennisetum clandestinum) are damaged by Prosapia distanti Lall. which may be the insect of greatest economic importance due to its apparent predominance in the existing populations and its wide distribution.

From the economic point of view, when an attack occurs on Kikuyo grass the damage caused results in a complete deterioration of the grass.

This research was carried out in the farm 'Evangelina', owned by Mr. Francisco Callejas, which is located at 16 km N.W. of Turrialba and at 1440 m above sea level.

The objectives of this work were:

- a) To determine the effectivity of Metarrhizium anisopliae, Bacillus thuringiensis and Beauveria bassiana as microbiological insecticides.
- b) To determine whether M. anisopliae is more effective as a spore or a micellium.
- c) To determine the residual effect of the treatments.

The experimental design was randomized blocks with 6 treatments with 4 repetitions and two subtreatments in split plots. The total area was a square 6x6 m and the effective plot was 5x5 m. The subtreatments were: a) pasture without mowing and b) pasture mowed 5 cm above the ground surface.

The per hectare dose of the applied treatments was:

- 30 liters of saturated B. thuringiensis var. kurstaki HD-1 culture incubated during 72 h.
- 30 liters of saturated M. anisopliae culture as micellium incubated during 72 h.
- $9 \times 10^{12}$  M. anisopliae spores in aqueous suspension.
- 1 kg of Biotrol FBB (B. bassiana)  $1 \times 10^9$  spores per gram.
- 20 kg of granulated meta-systox.
- 900 liters of water in the control.

It was concluded that mowing the pasture was the best way to reduce the nymphal population and that none of the biological or chemical treatments were effective in the war against this pest.

## 8. LITERATURA CITADA

1. AINSWORTH, G. C. Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi. 5 ed. Kew, Surrey, Commonwealth Mycological Instituto, 1961. 564 p.
2. ALINIAZEE, M. T. y JENSEN, F. L. Microbial control of the grape leafholder with different formulations of Bacillus thuringiensis. Journal of Economic Entomology 66(1): 157-158. 1973.
3. ANGUS, T. A. The use of Bacillus thuringiensis as a microbial insecticide. World Review of Pest Control 7(1): 11-26. 1968.
4. BERRIOS, F. Estudio de la susceptibilidad del barrenador de las meliáceas Hypsipyla grandella Zeller al hongo Metarrhizium anisopliae (Metchnikoff) Sorokin. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1972. 70 p.
5. BRIGGS, J. D. Reduction of adult house-fly emergence by the effects of Bacillus spp. on the development of immature forms. Journal of Insect Pathology 2:418-432. 1960.
6. BROOKS, D. L. y RAUM, E. S. Entomogenous fungi from corn insects in Iowa. Journal of Invertebrate Pathology 7: 79-81. 1965.
7. CLERK, G. C. y MADELIN, M. F. The longevity of conidia of three insect parasitizing hyphomycetes. Transactions of the British Mycological Society 48(2):193-309. 1965.
8. DELACROIX, M. Oospora destructor, champignon produisant sur les insectes la muscardine verte, et Isaria dubia m.s.p. Bulletin Societé Mycologique Française 9:260-264. 1893.
9. FAGAN, E. B. y VARGAS P., O. The influence of adult Prosapia distanti feeding on the forage quality of Kikuyu grass in Costa Rica. Turrialba 21(2):181-183. 1971.
10. FLORES, F. Producción en escala mayor del hongo Metarrhizium anisopliae y su uso en el control de las plagas de los pastos. Trabajo de Problema Especial. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1972. (Mecanografiado)
11. GUAGLIUMI, P. Las plagas de la caña de azúcar en Venezuela. Maracay, Venezuela, Ministerio de Agricultura y Cría, 1962. v. 1, pp. 171-173.
12. \_\_\_\_\_. Lucha integrada contra las 'cigarrinhas' (Homoptera: Cercopidae) en el noroeste del Brasil. Revista Peruana de Entomología 14(2):361-368. 1971.

13. HEDLUND, C. R. y PASS, C. B. Infection of the alfalfa weevil (Hypera postica), by the fungus Beauveria bassiana. *Journal of Invertebrate Pathology* 11:25-34. 1968.
14. HEIMPEL, A. M. y ANGUS, T. A. On the taxonomu of certain entomogenous crystalliferous bacteria. *Journal of Insect Pathology* 2:311-319. 1960.
15. \_\_\_\_\_. A critical review of Bacillus thuringiensis var. thuringiensis Berliner and other crystalliferous bacteria. *Annual Review of Entomology* 12:287-322. 1967.
16. HOLDRIDGE, L. R. Mapa ecológico de Costa Rica. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1959. Escala 1:750.000. Color.
17. JAQUES, R. P., STULTZ, H. T. y JUSTON, F. The mortality of the pale leaf roller and winter moth by fungi and nematodes applied to soil. *Canadian Entomologist* 100(8): 813-818. 1968.
18. LATCH, M. C. Metarrhizium anisopliae (Metchnikoff) Sorokin strains in New Zealand and their possible use for controlling pasture inhabiting insects. *New Zealand Journal of Agriculture Research* 8:384-396. 1964.
19. McCAULEY, V.J.E. y ZACHARUCK, R. Y. Histopathology of green muscardine in larvae of four species of Elateridae (Coleoptera). *Journal of Invertebrate Pathology* 12:444-459. 1968.
20. MacLEOD, D. M. Investigations on the genera Beauveria bassiana Vuill and Tritirachium limber. *Canadian Journal of Botany* 32(6):818-893. 1954.
21. MADELIN, M. F. Los hongos endoparásitos de insectos. *Endeavour* 19(75):181-190. 1960.
22. MORALES, E. y MATARRITA, A. La baba de culebra en pastos. *Suelo Tico (Costa Rica)* 13(47):16-20. 1961.
23. NARASIMHAN, J. M. Entomogenous fungi and possibility of their use for biological control of insect pests in India. *Indian Phytopathology* 23(1):16-26. 1960.
24. PINNOCK, D. E., BRAND, R. J. y MILSTEAD, J. E. The field persistence of Bacillus thuringiensis spores. *Journal of Invertebrate Pathology* 18(3):405-411. 1971.
25. ROBERTS, W. D. Toxins from the entomogenous fungus Metarrhizium anisopliae. II. Symptoms and detection in moribund host. *Journal of Invertebrate Pathology* 8:227. 1966.

26. SHAERFFENBERG, B. Biological and environmental conditions for the development of mycose caused by the fungi Beauveria barriana and Metarrhizium anisopliae. Journal of Insect Pathology 6(1):8-10. 1964.
27. STEINHAUS, E. A. Principles of insect pathology. New York, McGraw-Hill, 1949. pp. 318-398.
28. STERN, V. M., et al. Effect of Naled, Trichloroform, and Bacillus thuringiensis on three species of Lepidopterous larvae attacking alfalfa in California. Journal of Economic Entomology 61(5):1324-1327. 1968.
29. SUTTER, G. R. Treatment of corn rootworm larvae and adults with Bacillus thuringiensis and B. populliae. Journal of Economic Entomology 62(3):756-757. 1969.
30. TALIAFERRO, C. M., BYERS, R. A. y BURTON, W. G. Effects of spittle-bug injury on root production and sod-reserves of Coastal Bermuda grass. Agronomy Journal 50:530-532. 1967.
31. TEDDERS, W. L., WEAVER, D. J. y WEHUNT, E. J. Pecan weevil: suppression of larvae with the fungi Metarrhizium anisopliae and Beauveria bassiana and the nematode Neraplectana dutkyi. Journal of Economic Entomology 66(3):723-725. 1973.
32. VARGAS, P. O. Estudio sobre la baba de culebra Prosapia distanti (Homoptero:Cercopidae) y un ensayo sobre su combate en el pasto Kikuyu (P. clandestinum Hochst). Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica, 1970. 70 p.
33. WALSTAD, J. D., ANDERSON, R. E. y STAMBAUGH, W. S. Effects on environmental conditions on two species of muscardine fungi (Beauveria bassiana and Metarrhizium anisopliae). Journal of Invertebrate Pathology 16(2):221-226. 1970.
34. \_\_\_\_\_ y ANDERSON, R. F. Effectiveness of Beauveria bassiana and Metarrhizium anisopliae as control agents for the pales weevil. Journal of Economic Entomology 64(1):322-323. 1971.
35. WOLFENBERGER, D. A. Polyhedrosis - virus - surfactant and insecticide combinations, for cabbage looper control. Journal of Invertebrate Pathology 7:33-38. 1965.
36. ZACHARUCK, R. y TINLINE, R. D. Pathogenicity of M. anisopliae and other fungi for five elaterids (Coleoptera) in Saskatchewan. Journal of Invertebrate Pathology 12(3):294-309. 1968.