UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA

"EVALUACIÓN DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana* EN LOS CUATRO ESTADÍOS DE DESARROLLO DE LA MOSCA BLANCA (*Bemisia tabaci)* EN LA GRANJA EXPERIMENTAL LA PRADERA"

Trabajo de grado previa a la obtención del Título de Ingeniero Agropecuario

AUTOR:

GUALSAQUI PANAMÁ JUAN GABRIEL

DIRECTOR:

ING. FRANKLIN EDUARDO SÁNCHEZ PILA MSc

Ibarra, 2022

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN

CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

ESCUELA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

"EVALUACIÓN DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana* EN LOS CUATRO ESTADÍOS DE DESARROLLO DE LA MOSCA BLANCA (*Bemisia tabaci)* EN LA GRANJA EXPERIMENTAL LA PRADERA"

Trabajo de grado revisado por el Comité Asesor, por lo cual se autoriza su presentación como requisito parcial para obtener Titulo de:

INGENIERO AGROPECUARIO

APROBADO:

Ing. Franklin Sánchez MSc _____

DIRECTOR FIRMA

Ing. Julia Prado PhD _____

MIEMBRO TRIBUNAL FIRMA

Lic. Ima Sánchez MSc. _____

MIEMBRO TRIBUNAL FIRMA

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
CÉDULA DE IDENTIDAD:	100402390-7		
APELLIDOS Y NOMBRES:	Gualsaqui Panamá Juan Gabriel		
DIRECCIÓN:	Av. 31 de octubre y calle Cristóbal Colón		
EMAIL:	jggualsaquip@utn.edu.ec		
TELÉFONO FIJO:		TELÉFONO MÓVIL:	0980384730

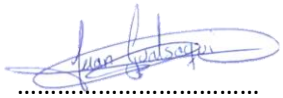
DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	"Evaluación del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana en los cuatro estadios de desarrollo de la mosca blanca (Bemisia tabaci) en la granja experimental La Pradera"
AUTOR :	Gualsaqui Panamá Juan Gabriel
FECHA: DD/MM/AAAA	31/01/2022
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO	
PROGRAMA:	☆ PREGRADO ☐ POSGRADO
TITULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniero Agropecuario
ASESOR /DIRECTOR:	Ing. Franklin Sánchez MSc

CONSTANCIAS

El autor Juan Gabriel Gualsaqui Panamá manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 31 días del mes de enero de 2022

EL AUTOR:



……

Juan Gabriel Gualsaqui Panamá

AGRADECIMIENTO

Un eterno agradecimiento a la prestigiosa Universidad Técnica del Norte, que a través de su Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuaria y Ambientales, me brindó la oportunidad de prepararme como profesional y persona de bien.

Agradezco al director de tesis Ing. Franklin Sánchez MSc su dedicación y apoyo en la elaboración de esta investigación y el privilegio de trabajar con él.

A todos los profesores a quienes les debo gran parte de mis conocimientos, gracias a su paciencia y enseñanza incondicional.

Muchas gracias a mis compañeros y compañeras por comprenderme y animarme a concluir este trabajo.

DEDICATORIA

Todo mi esfuerzo y trabajo puestos para la realización del presente proyecto de investigación lo dedico a Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo, fortaleciendo mi corazón e iluminar mi mente a todas las acciones de mi vida.

Esta tesis dedico en memoria de mis padres Lolita y Albertito por haberme dado la oportunidad de cambiar mi vida, quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han guiado y motivado alcanzar mis sueños, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía de no temer a las adversidades.

El presente trabajo también va dedicado a familiares como mi tío, tía, primos, primas a mi hermano Jefferson Gualsaqui y allegados Alberto y flia., Elizabeth y flia. gracias por su colaboración y apoyo en momentos difíciles de mi vida y por darme ánimos para salir adelante durante mi formación universitaria.

Además, aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante años de estudio como son: Ing. Angélica Morales, Ing. Diego Tocaín, Ing. Estefanía Canacuan, Ing. Verenice Bravo, Ing. Darwin Tigse, Ing. Amanda Campués, Ing. Tatiana Mendoza, Ing. Fernanda Cevellos.

TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTO 3
DEDICATORIA 5
ÍNDICE DE TABLAS III
ÍNIDICE DE FIGURAS IV
RESUMEN VI
ABSTRACT VII
CAPITULO I 8
1.1 Antecedentes 8
1.2. Problema de investigación 11
1.3. Justificación 13
1.4. Objetivos 15
1.4.1. Objetivo general 15
1.4.2 Objetivos específicos 15
1.5. Hipótesis o preguntas directrices 15
CAPITULO II 16
2.1. Generalidades de la mosca blanca 16
2.1.1. Morfología y ciclo de la mosca blanca (Bemisia tabaci) 17
2.1.2. ciclo de vida 17
2.1.3. Daños ocasionados. 22
2.1.3.1. Directos. 22
2.1.4. Manejo integrado de la mosca blanca 24
2.1.5. Hongos entomopatógenos 26
2.2. Marco legal 35
CAPITULO III 37
3.1. Descripción del área de estudio 37
3.1.2. Características climáticas 37
3.2. Materiales y métodos 38
3.2.1. Factores en estudio 39
3.2.2. Tratamientos 40

3.2.3. Diseño experimental. 41
3.2.4. Características del experimento 42
3.2.5. Análisis estadístico 43
3.2.8. Variables a evaluarse 43
3.3. Manejo del experimento 45
3.3.1. Reactivación de la cepa 45
3.3.2. Cría de insectos mosca blanca (Bemisia tabaci) 46
3.3.3. Preparación del medio de cultivo 47
3.3.4. Preparación de la solución madre 48
3.3.5. Elaboración de formulaciones 48
3.3.6. Inoculación en caja Petri 49
3.3.7. Comprobación de Beauveria bassiana 50
3.3.8. Preparación del sustrato para las matrices 52
3.3.9. Preparación de bolsas (matriz) 52
3.3.10. Inoculación de matrices 53
3.3.11. Incubación de bolsas 53
3.3.12. Cosecha del hongo entomopatógeno 54
3.3.13. Establecimiento del bioensayo 54
3.3.14. Selección de estados ninfales de Bemisia tabaci para su evaluación 55
3.3.15. Selección de mosca adulta Bemisia tabaci 55
CAPÍTULO IV 57
4.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 57
4.1.1. Porcentaje de mortalidad corregida 57
4.1.2. Porcentaje de supervivencia 62
4.1.3. Tiempo de infección 66
CAPÍTULO V 71
5.1 Conclusiones 71
5.2 Recomendaciones 72
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 73

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 16
Tabla 2 30
Tabla 3 38
Tabla 4 39
Tabla 5 39
Tabla 6 40
Tabla 7 40
Tabla 8 41
Tabla 9 42
Tabla 10 43
Tabla 11 43
Tabla 12 45
Tabla 13 67
Tabla 14 62
Tabla 15 63
Tabla 16 63

ÍNIDICE DE FIGURAS

Figura 1 17
Figura 2 18
Figura 3 19
Figura 4 19
Figura 5 20
Figura 6 20
Figura 7 21
Figura 8 22
Figura 9 23
Figura 10 31
Figura 11 37
Figura 12 42
Figura 13 46
Figura 14 47
Figura 15 48
Figura 16 48
Figura 17 49
Figura 18 50
Figura 19 51
Figura 20 51
Figura 21 52
Figura 22 52
Figura 23 53
Figura 24 54
Figura 25 54
Figura 26 55
Figura 27 56
Figura 28 57
Figura 29 59
Figura 30 60

Figura 31 61
Figura 32 64
Figura 33 65
Figura 34 67
Figura 35 69

“EVALUACIÓN DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana* EN LOS CUATRO ESTADÍOS DE DESARROLLO DE LA MOSCA BLANCA (*Bemisia tabaci)* EN LA GRANJA EXPERIMENTAL LA PRADERA.”

Autor: Juan Gabriel Gualsaqui Panamá

*Universidad Técnica del Norte

Correo: jggualsaquip@utn.edu.ec

RESUMEN

El fitófago *Bemisia tabaci* (Gennadius) es una plaga agrícola importante dentro de los insectos polífagos, siendo un vector de enfermedades y virus que afecta la calidad y rendimiento de cultivos hasta del 94%. Debido al uso indiscriminado de insecticidas, la mosca blanca ha desarrollado resistencia contra diferentes grupos de plaguicidas sintéticos por ello se requiere medidas de control eficaces que no causen efectos nocivos para el medio ambiente, la salud del hombre y la agricultura; entre estas alternativas se encuentra los biocontroladores microbianos que permite un manejo de plagas sostenibles y sustentables. Este estudio está enfocado en la aplicación del hongo entomopatógenos, *Beauveria bassiana* (Bálsamo) evaluando tres *tratamientos* en concentraciones de 1×10^6, 1×10^7 y 1×10^8 en las etapas fenológicas de *Bemisia tabaci* (ninfa I, ninfa II, ninfa III y adulto) en condiciones de laboratorio para determinar la patogenicidad y su efectividad. El estudio se realizó en la Granja Experimental la Pradera, ubicada en el cantón Antonio Ante. El diseño utilizado fue por bloques completamente al azar (DCA) con un arreglo en parcelas divididas y un tratamiento testigo absoluto, con un total de 48 unidades experimentales. Los resultados mostraron que *B. bassiana* con el tratamiento 1×10^6 mostro una superioridad en comparación con el resto de tratamientos alcanzando el máximo del 98% en el porcentaje de mortalidad a las 72 horas en ninfa II y en estado adulto alcanzando un máximo del 84% en el mismo tiempo, lo que se sugiere que puede controlar adecuadamente el desarrollo de ninfas y adulto siendo una alternativa de control biológico.

Palabras claves: *Bemisia tabaci*, polífagos, *Beauveria bassiana*,

“EVALUATION OF THE ENTOMOPATHOGEN FUNGUS Beauveria bassiana IN THE FOUR DEVELOPMENT STAGES OF THE WHITE FLY (Bemisia tabaci) IN THE EXPERIMENTAL FARM LA PRADERA.”

Autor: Juan Gabriel Gualsaqui Panamá

*Universidad Técnica del Norte

Correo: jggualsaquip@utn.edu.ec

ABSTRACT

The phytophagous Bemisia tabaci (Gennadius) is an important agricultural pest among polyphagous insects, being a vector of diseases and viruses that affects the quality and yield of crops up to 94%. Due to the indiscriminate use of insecticides, the whitefly has developed resistance against different groups of synthetic pesticides, which is why effective control measures are required that do not cause harmful effects to the environment, human health and agriculture; Among these alternatives are microbial biocontrollers that allow sustainable and sustainable pest management. This study is focused on the application of the entomopathogenic fungus, Beauveria bassiana (Bálsamo), evaluating three treatments at concentrations of 1×106, 1×107 and 1×108 in the phenological stages of Bemisia tabaci (nymph I, nymph II, nymph III and adult) under laboratory conditions to determine pathogenicity and effectiveness. The study was conducted at the La Pradera Experimental Farm, located in the Antonio Ante canton. The design used was completely randomized blocks (DCA) with an arrangement in divided plots and an absolute control treatment, with a total of 48 experimental units. The results showed that B. bassiana with the 1×106 treatment showed superiority compared to the rest of the treatments, reaching a maximum of 98% in the percentage of mortality at 72 hours in nymph II and in the adult stage, reaching a maximum of 84 % at the same time, which suggests that it can adequately control the development of nymphs and adults, being an alternative to biological control.

Keywords: *Bemisia tabaci*, polyphage, *Beauveria bassiana*

CAPITULO I

1.1 Antecedentes

La mosca blanca (*Bemisia tabaci)* (Gennadius) es considerada una de las plagas de mayor importancia económica a nivel mundial por causar daños a diversos cultivos como tomate (*Solanum lycopersicum*), algodón (*Gossypium* ssp), calabacitas (*Cucurbita pepo* L.) y a más de 500 especies de plantas ornamentales. El daño más importante es como vector de virus, bajo los sistemas convencionales de producción siendo de esta forma un factor limitante, mismo que se presenta año tras año en los cultivos (Ortega y Carpia, 2020).

En la actualidad esta plaga está distribuida en todas las regiones del mundo principalmente en las regiones tropicales y sub tropicales (Sánchez et al., 2018). El aparecimiento de las poblaciones de la mosca blanca en América Central estuvo relacionado el uso excesivo de pesticidas para contrarrestar la incidencia de esta plaga ya que se presentó asociada con la transmisión del virus provocando el enrollamiento de las hojas el cultivo del algodón (Estrada y Pavón, 2012).

Bemisia tabaci (Gennadius) es una especie ampliamente distribuida en sistemas agrícolas especialmente en regiones con temperaturas cálidas del mundo, este insecto ha logrado alimentarse en más de 600 especies de plantas producidas por el hombre y plantas silvestres, por lo cual se encuentra en todos los continentes (Martin et al., 2010). Siendo una plaga que ocasiona severas pérdidas a los agricultores de varios países, incluido Ecuador. Debido a que pueden llegar a reducir rendimientos, causando pérdidas cercanas al 50% en tabaco (Cuellar y Morales, 2006).

De las más de 1200 especies de moscas blancas descritas en el mundo, dos o tres especies recientemente han adquirido importancia económica, llegando a ser consideradas súper plagas en regiones como en California y otros lugares del sur de los Estados Unidos, y algunos países de la cuenca del Caribe y el Medio Oriente (Perring et al., 2012). *Bemisia argentifolii* muy similar morfológicamente a *B. tabaci,* pero con características de daño mucho más severas y responsable

por pérdidas de más de US$ 500 millones por año, en la producción agrícola de USA (Mound y Halsey, 2009).

Varios de los ecosistemas agrícolas de las regiones tropicales y subtropicales en el Ecuador han sido severamente afectados por algunas especies de mosca blanca. En las provincias de Manabí y Guayas, *Bemisia tabaci* representa el 42.7% como plaga en el algodón (*Gossypium*), mientras que con un 34% en la soya (*Glycine max*) en Quevedo (Los Ríos) y 50% en Boliche (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias [INIAP], 2010).

De igual forma *Bemisia tabaci* Gennadius y *B. argentifolii* Westwood han atacado los cultivos de: melón (*Cucumis melo* L.), sandía (*Citrullus lanatus* (Thunb.), pepino (*Cucumis sativus L.*), zapallo (*Cucurbita máxima* Duch.), tomate (*Solanum lycopersicum L.),* pimiento (*Capsicum annuum* L.), soya (*Glycine max (L.)* Merr), haba (*Vicia faba* L.), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), algodón (*Gossypium* hirsutum L.) y maní (*Arachis hypogaea* L.) (INIAP, 2010). En la Sierra, particularmente en los valles cálidos de la provincia de Imbabura, se registró *Trialeurodes vaporariorum*, afectando el cultivo del fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) arbustivo en 55% (Chumo, 2017).

Los daños directos causados por este insecto se deben a que su alimentación es a base de los nutrientes de la planta, provocando desordenes fisiológicos causados por el biotipo B, mientras que los daños indirectos se basan a la excreción de melaza por la mosca blanca y la habilidad de transmitir virus (Gennadius, 2009).

Durante los últimos 15 años las moscas blancas han pasado de ser plagas secundarias a ser las plagas de mayor importancia en un gran número de cultivos, tanto en campo abierto o bajo invernaderos alrededor del mundo (Centro Internacional de Agricultura Tropical [CIAT], 2010). La gravedad de los daños ocasionados por esta plaga y la dificultad para controlarla han obligado a los investigadores y productores, a grandes esfuerzos en la búsqueda de alternativas para su manejo.

Por ello el control biológico de plagas consiste en el uso de enemigos naturales y microorganismos con la capacidad de controlar los insectos plaga. El uso de entomopatógenos es una técnica milenaria que utilizaron culturas como la China en el siglo III (Mendoza, 2013). Sin

embargo, dejó de practicarse con el origen de la revolución verde, que utiliza el control químico de plagas, enfermedades y malezas. El uso del control biológico intenta restaurar el equilibrio ecológico mediante la utilización de organismos vivos para reducir los daños causados por organismos perjudiciales (Badii, 2006).

De acuerdo a Steinhaus (2011), la muscardina blanca fue observada en insectos muertos se trataba de una enfermedad que es producida por un hongo. En 1834, Agostino Bassi considerado el padre de la patología demostró la infección y patogenicidad natural de *B. bassiana* sobre el gusano de seda *Bombix mori*, quien también desarrolló medidas de control para dicha enfermedad.

Es conocida por su alta eficacia de hongos entomopatógenos sobre plagas en los países como Brasil, Colombia y Nicaragua los entomopatógenos más utilizados pertenecen a las especies como *Beauveria bassiana* y *Metarhiziun anisopliae (*Metchnikoff), y se han evaluado algunas cepas para controlar plagas que intervienen en la producción agrícola (Delgado y Ordoñez, 2011).

En honor a Bálsamo describió y nombró al hongo *Botrytis bassiana* (Bals), posteriormente Vuillemin en 1912, creó el género *Beauveria* y selecciona *bassiana* como especie típica. En 1954, varias especies fueron descritas en el género *Beauveria*, y ese mismo año Mac Leod redujo 14 de estas especies a tres (Tanada y Kaya, 2012). Dentro de los hongos entomopatógenos se toman en cuenta a *Beauveria* spp., *Paecilomyces* spp. y *Lecanicillium lecani* ya que son reconocidos como controladores biológicos para diferentes insectos plagas, en los que se encuentran a insectos de la familia *Aleyrodidae*, en cultivos tanto a campo abierto como a cultivos bajo invernadero, estos hongos tienen una eficiencia atacando a estadios ninfales (Wraight et al., 2008).

Estos microrganismos se encuentran de forma natural en suelos y sobre diversos órdenes de insectos (coleópteros, dípteros, heterópteros, homópteros, lepidópteros, tisanópteros). Se puede emplear como bioinsecticida pues tiene ventajas con respecto a otros microorganismos como *Bacillus thuringiensis* y los virus; las cepas aisladas de *Beauveria* tienen un rango de hospederos amplio e infectan por invasión de la cutícula, de tal forma que pueden atacar áfidos,

larvas de lepidópteros y coleópteros, y otros insectos masticadores y chupadores (Durán et al., 2017).

Para utilizar hongos entomopatógenos como insecticidas se deben producir grandes cantidades del mismo para mantener su capacidad infectiva por un período de tiempo considerable. Por lo que Herrera et al. (1999) evaluaron aislamientos de *Beauveria* spp. y *Metarhizium anisopliae* bajo condiciones de laboratorio los cuales mostraron porcentajes de mortalidad superiores al 50% sobre *B. tabaci.*

De igual forma, en un estudio se evaluaron 50 aislamientos de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin sobre ninfas de *B. tabaci* encontrándose porcentajes de mortalidad que variaron entre el 10% y el 93% (Vidal et al. 2017). Por otro lado, Espinel et al. (2014) demostraron que *B. bassiana* se desempeñó como el mejor hongo entomopatógeno para el control de mosca blanca produciendo porcentajes de mortalidad entre el 58% y el 91% en el insecto.

En estudio realizado por Carraza y Krugg (2016), en el que se aplicó Tween 80 al 0.1%, suspensión de *B. bassiana* en una concentración de 10^7 conidios/ml y una suspensión de *M. anisopliae* a la concentración de 10^7 conidias/ml. Se observó que después de la inoculación con los hongos entomopatógenos, los especímenes de *Oligonychus* sp. presentaron síntomas como movimiento errático, alteración en el color del tegumento, momificación y muerte. Se obtuvo que el menor porcentaje de supervivencia del ácaro fue frente a *M. anisopliae* con un 8.33 %. En tanto, que con *B. bassiana* fue del 9.61 %. *Beauveria bassiana* y *M. anisopliae* tuvieron efectos entomopatógenos sobre las ninfas y adultos de *Oligonychus* sp. en condiciones de laboratorio.

1.2. Problema de investigación

Bemisia tabaci es una plaga que afecta a la mayoría de los cultivos en muchas regiones productoras del mundo (Evans, 2008). Este insecto provoca daños directos mediante la succión de savia e indirectos a través de la excreción del exceso de hidratos de carbono, donde se desarrollan hongos que producen fumagina, causante de la disminución de la capacidad fotosintética de la planta.

El bajo rendimiento debido a las plagas alcanza entre un 20-30% en la mayoría de los cultivos, a pesar del incremento esencial con en el uso de plaguicidas (cerca de 500 mil de toneladas de ingrediente activo a nivel mundial) siendo un síntoma de la crisis ambiental que afecta a la agricultura (Altieri y Nicholls, 2000). Por otro lado, las prácticas agrícolas modernas afectan negativamente a los enemigos naturales, los que a su vez no encuentran las condiciones necesarias para reproducirse (Burgos, Lara, 2016).

Los agricultores para controlar los insectos plagas que atacan sus cultivos han hecho uso de productos químicos sintéticos como es el caso de los organofosforados, clorados y piretroides, con estos plaguicidas tuvieron excelentes resultados sobre las plagas en sus primicias, por lo que minimizaron las pérdidas en las cosechas. Sin embargo, como era de esperarse por el exceso uso, e indiscriminado de los plaguicidas surgieron problemas que los insectos tomaron resistencia hacia dichos productos químicos, así también hay un incremento de las plagas y provocando una alteración al medio ambiente. Por lo que han tomado medidas de restricción para algunos plaguicidas como son paratión etílico, dieldrín, mirex, BHC, toxafeno y DDT (Morales et al., 2009).

En las últimas tres décadas, *Bemisia tabaci* ha causado millones de dólares en pérdidas de cultivos en agroecosistemas a lo ancho del mundo (Cuéllar y Morales, 2006). Por lo general, el insecto adquiere virus de malezas o plantas cultivadas infectadas, el cual puede ser transmitido en pocos minutos a plantas sanas o a plantas tan pronto surgen de la tierra. Subidia et al., (2007) los agricultores dedicados al cultivo de fréjol aplican grandes dosis de pesticidas, repitiendo los ingredientes activos aun cuando el nivel de ataque de la plaga no lo amerita “aplica por calendario, por costumbre y por si acaso” siendo unas cuatro veces por ciclo (García y Gonzales, 2010).

Sin embargo, han determinado que algunos compuestos químicos son nocivos para la salud y para la naturaleza eliminando los enemigos naturales resultando en la aparición de nuevos brotes de plaga además de producir el desarrollo de resistencia (Pérez et al., 2013). Sumado a esto, el uso de los agroquímicos ha promovido la contaminación del agua, la salinización y erosión del suelo (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO], 2015).

En el cultivo de la yuca (*Manihot esculenta*) en África, el problema más serio es la enfermedad del mosaico africano de la yuca *(African cassava mosaic disease),* causada por un complejo de begomovirus. Estos virus son transmitidos por *Bemisia tabaci.* Siendo un método de control, el uso de insecticidas para reducir las poblaciones de insectos plaga, sin embargo, se generan los problemas típicos del excesivo uso de plaguicidas con poco o nula reducción de los niveles de infestación de plantas (Urías et al., 2005).

En la provincia de Imbabura la expansión del monocultivo de fréjol es una de las más grandes preocupaciones que se ha generado actualmente con el uso excesivo e inadecuado de productos químicos por parte de los agricultores en la producción de fréjol siendo los más usados el cipernetrin, deltametrín, fenpropatrín, fluvalinato, bifentrín, permetrín, alfacipermetrín, cihelatrínlambda, ciflutrín. Sin ellos las pérdidas económicas a causa por la plaga de la "mosca blanca" oscilan entre el 25% y 50% del total de la cosecha.

1.3. Justificación

Actualmente se está utilizando el manejo integrado de plagas (MIP), que es el uso de diversas estrategias de control efectivas y menos contaminantes para el medio ambiente. Una de esas prácticas agrícolas es el control biológico con el uso de los enemigos naturales como organismos entomopatógenos (hongos, bacterias, nematodos y virus) (Monzón, 2010) que no representan un impacto para insectos benéficos, no estimulan el desarrollo de resistencia y no son tóxicos para los seres humanos, además constituye una alternativa viable para los productores.

El control biológico es un medio importante para el control, prevención o eliminar de forma natural de plagas en la agricultura, siendo una técnica amigable con el ecosistema (García y González, 2010).

Estudios realizados por Motta y Murcia (2011), sobre el control biológico de picudo del chile (*Anthonomus eugenii*) mostraron que *Beauveria bassiana* puede infectar pupas, larvas y adultos de este insecto, Además Nava et al. (2010), realizaron evaluaciones para el control de *Anthonomus grandis* con *Beauveria bassiana* donde obtuvieron resultados entre el 67 % y 100% de mortalidades.

Por los antecedentes expuestos sobre la gravedad de los daños ocasionados por la mosca blanca, la dificultad para combatirla y para combatir en los diferentes estadios (ninfa y adulto) con *Beauveria bassiana* el presente estudio está enfocado a la búsqueda de alternativas para su manejo, con el uso de *Beauveria bassiana* como biocontrolador, donde se evaluarán las diferentes dosis para su efecto en el control de ninfa y adulto de mosca blanca que afecta el cultivo de fréjol (Ortega y Carpia, 2020).

La utilización de hongos entomopatógenos como control biológico es una alternativa viable que está tomando hincapié y empieza asumir un rol importante en el campo de la agricultura sostenible para el control de plagas ya que se están emplean sustratos de bajo costo y de fácil acceso para elaborar bioplaguicidas desde el punto de vista económico ya que se puede reproducir a gran escala. Por lo que su aplicación les permitirá lograr buenos rendimientos de las cosechas sin alterar el medio ambiente.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Evaluar el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en los cuatro estadios de desarrollo de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*), en la Granja Experimental La Pradera.

1.4.2 Objetivos específicos

Determinar el efecto de 3 concentraciones de *Beauveria bassiana* en los estadios de mosca blanca.

Comparar el tiempo de infección de *Beauveria bassiana* en los estadios de mosca blanca.

1.5. Hipótesis o preguntas directrices

Ho: Las diferentes concentraciones del biocontrolador *B. bassiana* no tendrán efecto en el porcentaje de mortalidad corregido en los estadios del insecto mosca blanca.

Ha: Al menos una de las diferentes concentraciones de biocontrolador *B. bassiana* tendrá efecto en el porcentaje de mortalidad corregido en los estadios de insectos de mosca blanca.

CAPITULO II

2.1. Generalidades de la mosca blanca

La Mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemíptera: Aleyrodidae) del orden Homoptera, afecta a más de 600 especies de plantas hospederas (Mound y Halsey, 2009). Dentro de estos géneros se encuentran a 74 estirpes que incluye a plantas como ornamentales, hortalizas, a cultivos técnicos y a variedades silvestres (Espinoza, 2020).

En el pasado se consideraba a *B. tabaci* como una plaga sin mayor importancia. Sin embargo, en la actualidad es considerada como una de las plagas más destructivas. Además, Salguero (2014) menciona que en los últimos años se ha convertido en vector de algunos virus como el geminivirus que causa el mosaico dorado. La clasificación taxonómica de la mosca blanca se encuentra descrita en la Tabla 1.

Tabla 1

Clasificación taxonómica de Bemisia tabaci

Nivel taxonómico	Descriptor correspondiente
Reino	Animal
Phylum	Artrópodo
Clase	*Insecto*
Orden	*Homóptera*
Familia	Aleyrodidae
Subfamilia	Leyrodidae
Género	*Bemisia*
Especie	*B. tabaci*

Fuente: Salguero (2014)

La mosca blanca es un insecto pequeño, succionador que causa grandiosos daños a cultivos, al sacar alimento de la planta y transmitir enfermedades,

2.1.1. Morfología y ciclo de la mosca blanca (Bemisia tabaci)

La mosca blanca adulta (Figura 1) tiene un tamaño entre 1 y 1.5 milímetros de longitud, que presenta un color amarillo pálido en su cuerpo y un par de alas cubierta con un polvillo blanco, por lo cual se le ha dado su nombre. Su cuerpo está dividido en tres grandes zonas, que son cabeza, tórax y abdomen, posee en la parte baja tres pares de patas. La cabeza es relativamente larga y comprimida hacia el tórax, teniendo en la parte delantera de ella un aparato bucal picador-chupador, con él se encargan de succionar la savia de las plantas.

Figura 1

Mosca Blanca adulta (Bemisia tabaci).

2.1.2. ciclo de vida

Según Cardona (2005) la duración del ciclo total de vida (Figura 2) es de 24-48 días, siendo un insecto hemimetábolo (metamorfosis incompleta) empieza cuando el adulto o palomilla coloca huevos en el envés de las hojas.

El ciclo de vida de huevo a adulto puede completarse en dos a tres semanas en climas calientes, pero puede requerir hasta de dos meses en climas fríos. Presentan de 11 a 15 generaciones al año con reproducción predominantemente sexual, aunque pueden reproducirse por partenogénesis. Las temperaturas altas acortan la duración del ciclo y las bajas lo alargan. El desarrollo se incrementa al aumentar la temperatura hasta los 30 °C y luego decrecen a partir de los 32 °C. *T. vaporariorum* es afectada por temperaturas extremas (> 35 °C) y alta humedad, y detiene su desarrollo a 8 °C. La temperatura mínima para el desarrollo de huevo a adulto, para

varias especies de aleiródidos, varia de 10 a 13.2 °C y requieren de 250 a 315 unidades calor (UC) para completar su desarrollo (Nava et al. 2010).

Figura 2

Ciclo biológico de Bemisia tabaci.

Su ciclo puede durar con una temperatura entre 22-25 ºC, siendo óptimo para el desarrollo de esta plaga, sin embargo, suelen aparecer en los árboles con ramaje muy denso que no permite la entrada de la luz, en el interior de los invernaderos su multiplicación no se interrumpe. La reproducción es sexual, aunque también puede ser por partenogénesis arrenotóquica (huevos fecundados originan hembras, huevos sin fecundar originan machos). Las hembras suelen poner de 2 a 9 huevos/día (Porcuna, 2010). Por lo que es necesario para la mosca blanca las altas temperaturas que influyen negativamente y provocan una alta mortalidad de estados inmaduros: huevos y estadio larvario o ninfa, la temperatura para la ovoposición es de 14 ºC.

2.1.2.1. *Huevo*. El huevo de la mosca blanca se fija al envés de la hoja por medio de un pedicelo. El hueso es liso de forma alargada, gruesa, curva, lisa, sub elíptica. Está provisto en su base por un pedicelo corto de aproximadamente 300 micras que le sirve para adherirse a la superficie de la hoja y mantener sus niveles de humedad (Ortega y Carpia, 2020).

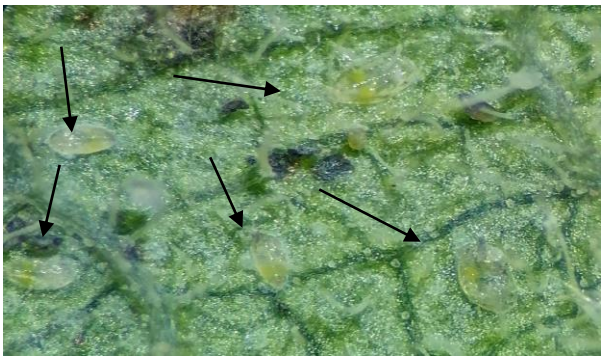
Figura 3

Huevo de Bemisia tabaci.

2.1.2.2. Primer estadío ninfal. Es elíptico, blanco-verdoso, ventralmente plano y dorsalmente convexo, con 0.3 mm de longitud. Patas funcionales, son poco móviles, fijándose, generalmente cerca del lugar de la ovipostura. Una vez fijada se produce la muda, transformándose en ninfa II, presentando antenas y patas modificadas. El rango de duración del primer estadio en los diferentes hospederos va de 2.40 ± 7.10 días, para pasar al segundo estadio (Ortega y Carpia, 2020).

Figura 4

Ninfa I de Bemisia tabaci.



2.1.2.3. Segundo estadío ninfal. Las ninfas son inmóviles, comienzan a manifestarse las ondulaciones que serán más apreciables en los últimos estadíos ninfales. A medida que avanza el desarrollo, aumenta de tamaño, a la vez que el color se vuelve más opaco y se hacen más gruesos (CIAT, 2010) El cuerpo es ovalado de color blanco verdoso, cristalino y aplanado al principio y

opaca y túrgida al final. El rango de duración es de 4.70 ± 1.9 días en frijol y 4.10 ± 1.70 en berenjena (Mound y Halsey, 2009).

Figura 5

Ninfa II de Bemisia tabaci.

2.1.2.4. Tercer estadío ninfal. Es oval, con margen crenulado y la constricción es menos conspicua que el estadio anterior, posee las mismas setas marginales que el segundo estadío, aunque las anterolaterales son poco visibles. El estadío dura de 5.9 ± 1.9 días en frijol y 6.1 ± 1.9 días en berenjena, miden 0.53 ± 0.03 mm de largo y 0.36 ± 0.02 mm de ancho (Ortega, 2008).

Figura 6

Ninfa III de Bemisia tabaci.

2.1.2.5. Pupa. De color más opaco que el adquirido en los estadíos ninfales previos, pudiendo observarse los ojos compuestos de color rojo. Pupa con fuertes ondulaciones asemejándose a una guitarra. El dorso se eleva en el centro, permaneciendo bajas las áreas

marginales. Setas marginales ausentes. La estructura pupal difiere dependiendo de la planta huésped. En hojas glabras las pupas no tienen alargadas las setas del dorso, sin embargo, en hojas pilosas se observan claramente siete pares. Las pupas parasitadas adquieren un color más oscuro que el normal (Nava et al., 2010). Tiene una duración 3 ± 6 días (*Lantana camara*), berenjena (*Solanum melongena*) y algodón (*Gossypium hirsutum*); y 4 ± 5 días en tabaco (*Nicotiana tabacum*) durante marzo - octubre. De noviembre a febrero tarda de 6 ± 10 días, de 8 ± 10 días en berenjena y 6 ± 11 días en algodón (Ortega, 2014).

Figura 7

Pupa de Bemisia tabaci.

2.1.2.6. Adulto. Poseen un color amarillo-azufre, los ojos son de color rojo oscuro a negros. Longitud de 0.9 a 1.0 mm, anchura 0.32 mm, longitud de la antena 0.29 mm. El macho sólo se diferencia de la hembra en la genitalia. *Bemisia tabaci* (Genn.), coloca sus alas en forma de tejado contra su abdomen, con un ángulo aproximado de 45º con la superficie de la hoja (Porcuna, 2010).

Figura 8

Etapas de desarrollo de Bemisia tabaci.

En fréjol común, los begomovirus del mosaico dorado y el mosaico dorado amarillo son los patógenos distribuidos por la mosca blanca que, causan pérdidas en rendimiento hasta del 100% (Cuéllar y Morales, 2006). Por ello las pérdidas económicas a nivel del Ecuador que son causadas por la plaga de la "mosca blanca" en los cultivos oscilan entre el 25 % y 50 % del total de la cosecha (Martin, 2007).

2.1.3. Daños ocasionados.

La mosca blanca es un insecto muy agresivo que ha provocado grandes pérdidas en el cultivo de fréjol desde que nacen las ninfas que al igual que los adultos chupan el jugo o savia de la planta, lo que repercute en el rendimiento del fréjol.

2.1.3.1. Directos. Los daños directos causados por este insecto se deben a su alimentación a expensas de los nutrientes de la planta y a desórdenes fisiológicos causados por el biotipo B. Cuando la población es alta alcanza a producir un debilitamiento en la planta dando señales como clorosis y desecación de las hojas (Martin, 2007). Además, la mosca blanca es la causante de desórdenes fisiológicos como: clorosis intensas de vainas peciolos de habichuelas, maduración irregular de los frutos de tomate y el síndrome de la hoja plateada en cucurbitáceas (Morales et al., 2006).

2.1.3.2. Indirectos. Esta plaga secreta sobre las hojas (envés) una sustancia azucarada denominada mielecilla, lo cual sirve de sustrato para el micelio de los hongos negros (fumagina) (Figura 9), pertenecientes a varios géneros, incluyendo *Cladosporium* y *Capnodium*. La fumagina tiene un efecto adverso en la fotosíntesis ya que impide la llegada de la luz a la superficie de la hoja.

Este hongo ensucia y torna pegajosa las hojas de las planas (hojas, flores y frutos) (Morales et al., 2006), provocando asfixia, reduciendo la tasa fotosintética, disminuye la calidad de la cosecha y el valor comercial y dificulta la penetración de productos agroquímicos por lo que es necesario abordar aspectos relacionados con sus hábitos y efectos, para definir estrategias para combatir su impacto.

Figura 9

Hongo Fumagina en el cultivo de fréjol.

Fuente: (Morales et al., 2006)

Transmisión de virus. Bemisia tabaci transmite virus pertenecientes a cuatro géneros; uno de estos es el de los begomovirus (Begomovirus: Geminiviridae) que es uno de los patógenos más importantes que produce pérdidas significativas tanto en cultivos alimenticios e industriales en agro ecosistemas tropicales y subtropicales a nivel mundial (Morales et al., 2009).

En la actualidad, América Latina es la región más afectada por begomovirus transmitidos por la mosca blanca, provocando pérdidas en rendimiento de millones de hectáreas de tierra apta

para la agricultura en 20 países sufren el ataque de más de treinta begomovirus (Morales y Anderson 2001). Más de 100 especies de begomovirus son transmitidos por *B. tabaci* a más de 20 especies de plantas cultivadas. Algunos de los principales cultivos afectados por los begomovirus son: *Phaseolus vulgaris* L., *Phaseolus lunatus* L., *Lycopersicon esculentum* Mill., *Capsicum annuum* L., *Capsicum frutescens* L., *Cucumis melo* L., *Citrullus lanatus* (*Thunb*.), *Cucurbita pepo* L., *Manihot esculenta* Crantz, *Gossypium hirsutum* L. y *Nicotiana tabacum* L. (Martin, 2010).

De acuerdo a Aguilar et al. (2012) el fréjol es uno de los hospederos más afectados por los begomovirus en América Latina, donde varias epidemias han tenido lugar en las últimas décadas. De acuerdo a estos mismos autores, los virus del mosaico dorado y el mosaico dorado amarillo son los más devastadores y los que han representado la mayor amenaza a la producción de fréjol en los trópicos americanos.

2.1.4. Manejo integrado de la mosca blanca

En los últimos 20 años han sido abundantes los trabajos encaminados a buscar enemigos naturales y métodos alternativos para el control químico de *B. tabaci*, sobre todo para su aplicación en cultivos protegidos. Esto ha cobrado mayor importancia con la aparición y expansión de esta plaga. Sin embargo, dentro de los autóctonos almerienses, existen hasta la fecha pocos enemigos naturales identificados y pocas especies que hayan sido probadas para el control biológico de esta plaga. De acuerdo a Buenrostro (2012), el control integrado de plagas se basa en el uso de una combinación de prácticas culturales, químicas, físicas y biológicas para disminuir los daños como se mencionan a continuación:

2.1.4.1 Control cultural. Para el control de insectos de manera cultural es necesario el conocimiento del ciclo de vida del insecto para realizar las labores de cultivo en el momento más oportuno (Días et al., 2016) ya que es un método antiguo y muy efectivo, ya que utiliza implementos agrícolas ya sean manuales o mecánicos, se establecen de manera preventiva. En invernaderos se coloca mallas, doble puerta en las entradas o puerta y malla. También usar cintas adhesivas amarillas desde el inicio del cultivo.

2.1.4.2. Control botánico. Consiste en realizar remedios caseros que sirven para fortalecer a la planta, uno de estos es el purín de ortigas. También trata de utilizar plantas trampas como la berenjena o tabaco, que son plantas en las que se concentran las poblaciones de mosca blanca (Porcuna, 2010).

2.1.4.3. Control químico. López et al. (2010), proponen un plan de manejo responsable de los insecticidas para el control de mosca adulta, por lo que se considera lo siguiente:

- Primero: Tratar a la semilla con un insecticida sistémico ya que tiene el poder de envenenar la planta por dentro y así se protege el cultivo contra la mosca blanca, durante los primeros 25 días ya que la ninfa o el adulto chupa la savia de la hoja para alimentarse, se envenena y muere.
- Segundo: A los 25 días después de la siembra hacer aplicaciones con insecticida a toda la planta cuando este se encuentre con la cantidad de ninfas recién salidas de los huevos, lo que justifica hacer la aplicación (Buenrostro, 2012).

2.1.4.4. Control biológico. El control biológico de insectos plagas consiste en la aplicación de productos naturales con efecto plaguicida producidos por especies de plantas, animales, virus. bacterias, hongos y minerales que ayudarán a, repeler, eliminar o reducir el daño causados por los insectos plaga. Estos bio plaguicidas no intentan sustituir los plaguicidas

químicos, sino que busca métodos que sean más amigables con el medio ambiente y como un componente de manejo integrado de plagas (López et al., 2014).

La gran cantidad de adultos de mosca blanca es alarmante, pero esta plaga posee muchos enemigos naturales que regula sus poblaciones (Porcuna, 2010) como:

- Parasitoides*: Encarsia Formosa (Gahan), Eretmocerus mundus, Eretmocerus eremicus, Amitus* sp.
- Depredadores*: Macrolophus caliginosus, Nesidiocoris tenuis.*
- Entomopatógenos: *Heterorhabditis bacteriophora* (Pionar), *Steinernema carpocapsae* (Filipjev), *Verticillium lecanii* (Zimm.)

De la misma manera el uso excesivo de fungicidas e insecticidas reduce el número de enemigos naturales y las poblaciones de los insectos aumentan considerablemente.

2.1.5. Hongos entomopatógenos

Las plagas agrícolas son limitantes en la producción de cultivos por lo que el Ruso Metschenikoff en 1879 (Badilla, 2003) creó alternativas para la producción orgánica con organismos microscópicos entomopatógenos como virus, bacterias, hongos que se encuentran en el ambiente con poco sol, rastrojos de cultivos, en el suelo y en plantas, a su vez estos organismos pueden mantener a las plagas en niveles que no ocasionan daños económicos en cultivos. Durán et al. (2017), mencionan que dichos microorganismos adquieren su alimentación nutriéndose de insectos por lo que producen enfermedades hasta causarles su muerte. De igual forma, algunos hongos tienen peculiaridades especiales ya que pueden permanecer sobre los insectos de forma parasítica, también se encuentran en residuos vegetales en descomposición de forma saprofita (Cañedo y Ames, 2004).

Dentro de los organismos entomopatógenos, se encuentra el hongo *Beauveria bassiana,* estudios loreportan como un controlador biológico capaz de atacar más de 200 especies de insectos. Según Hernán y López (2017) indica que es un método de control biológico que ha

venido siendo efectivos contra insectos plaga, además su aplicación no contamina el medio ambiente como es el caso de los plaguicidas.

Los hongos entomopatógenos forman un conjunto de mayor relevancia para controlar insectos. Prácticamente los insectos plagas reportan una susceptibilidad en adquirir enfermedades producidas por hongos, bacterias etc. Se conoce que alrededor de 100 especies de entomopatógenos son los causantes de producir enfermedades a insectos, entre ellos los más importantes pertenecen a los géneros: *Beauveria*, *Metarrhizium*, *Fusarium*, *Verticillium* (Garcia y Maldonado, 2010). Los entomopatógenos más tratados esta *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, a los que se han evaluado varias cepas contra plagas de importancia agrícola. Estos hongos se pueden aplicar es dosis letales como insecticidas para lograr un efecto sobre la plaga sin provocar un efecto al hombre ni al medio ambiente (Motta y Murcia, 2011).

Estos hongos han sido reproducidos para usarlos como biocontroladores de plagas por más de un siglo. Para usar dichos hongos entomopatógenos como insecticidas previamente se debe producir grandes cantidades y mantener su capacidad virulenta por un largo periodo de tiempo. Por ello han utilizado diferentes técnicas de reproducción entre las que se conoce la técnica artesanal con el uso de sustratos a base de arroz, trigo y con técnicas sofisticadas en medios líquidos de cultivo **(**Cruz et al., 2006).

2.1.5.1. Ventajas del uso de los hongos entomopatógenos. De acuerdo al aporte de Agroware (2016), se mencionan los beneficios y las desventajas de uso de hongos entomopatógenos en la producción de cultivos:

- Alto poder patogénico, o existe resistencia adquirida por parte de los hospederos
- Capacidad de multiplicación y dispersión en el ambiente con poca tecnología y bajos costos.
- Inocuidad para insectos benéfico, ya que no dejan residuos tóxicos o algún contaminante que pudiera ser perjudicial para el medio ambiente, el hombre o algún animal superior.

- Crecen rápidamente en medios de cultivo, utilizados comúnmente en trabajos microbiológicos.
- Se pueden aplicar con equipos agrícolas convencionales.
- Tienen hospedero específico: Parasitan sólo a una especia, o bien, a un grupo de especies muy relacionadas
- Se reproducen por sí solos: el hongo entomopatógeno es persistente, y se reproduce y renueva en forma continua, por lo es innecesario hacer nuevas aplicaciones, siempre que se encuentre bajo las condiciones adecuadas para parasitar a su hospedero.

2.1.5.2. Desventajas del uso de hongos entomopatógenos.

- Acción lenta: No matan al instante, puesto a que se alcanzan buenos niveles de control al cabo de 1 a 3 semanas de la aplicación, pero el insecto deja de alimentarse mucho antes de morir, lo cual disminuye el daño. Esto depende de la plaga y del ambiente.

- Depende de factores ambientales: dado que durante las etapas de adhesión y penetración se encuentra expuesto, son sensibles a temperaturas extremas, desecación y luz ultravioleta. Además de temperaturas moderadas, también requieren alta humedad.

- No todas las plagas tienen enemigos biológicos eficientes y viables, desde un punto de vista económico (Monzón, 2010).

2.1.5.3. *Beauveria bassiana*. Es un hongo de la clase Hyphomucetes, orden Moniliales, familia Moniliaceae (Espinel et al., 2008), también conocida por muscardina blanca que fue la primera enfermedad observada en insectos producida por un hongo. Agostino Bassi en 1835, demostró la infección y patogenicidad natural de este hongo sobre el gusano de seda Bombix mori (*Linnaeus*), siendo este entomopatógeno empleado para el control biológico de plagas agrícolas que se caracteriza por la formación de micelio que contiene conidióforos que producen esporas de origen asexual conocidos como conidias.

- Las conidias pueden medir de 0.5 a 0.8 micras de diámetro (Guedez, 2014). Las cepas tienen un rango amplio de hospederos que infectan por invasión de la cutícula, atacando áfidos, larvas de lepidópteros, coleópteros, hasta insectos masticadores.

- Los conidios son lisos y hialinas, de forma globosa elipsoidales, su raquis termina en zíg-zag y su desarrollo en PDA como medio de cultivo como de color blanco, tomando pigmentos amarillentos en el envés de la placa cuando este ha pasado mucho tiempo.

- Las infecciones producidas se pueden detectar con facilidad debido al crecimiento de micelio en dichos insectos.

2.1.5.3.1. Clasificación taxonómica. En la tabla 2 se describe la taxonomía del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, de acuerdo al aporte de (Guedez, 2014).

Tabla 2

Clasificación taxonómica de Beauveria bassiana

Nivel	Descripción
Reino	Fungi
División	Amastigomycota
Sub división	Deuteromycotina
Clase de forma	Hyphomycetidae
Orden	Moniliales
Familia de forma	Moniliaceae
Género	*Beauveria*
Especie	*Beauveria bassiana*

Fuente.(Guedez, 2014).

2.1.5.3.2. Ciclo de vida. Para que el hongo *Beauveria bassiana* infecte a las plagas debe buscar las fases más susceptibles a la infección, para ello Tanada y Kaya (2012), mencionan que son las fases inmaduras (larvarias o ninfas); además indica que, en algunas especies, son las fases maduras o adultos son de mayor susceptibilidad. Los estados de huevo y pupa no son infectados comúnmente por los hongos (Figura 10).

Figura 10

Ciclo de vida de Beauveria bassiana.

Fuente: Tanada y Kaya (2012)

El entomopatógeno *Beauveria bassiana* presenta un alto grado de adaptabilidad para vivir en condiciones saprofitas y parasíticas. Esta condición le permite vivir libremente en el suelo y mantenerse en ausencia de los huéspedes por largo tiempo.

Estos organismos de vida libre en presencia de materia orgánica los conidios generan una red micelar filamentosa. No obstante, una vez colonizado el huésped, los conidios germinan formando una red de hifas, destruyendo el huésped y formando las blastósporas.

El ciclo de vida de *Beauveria bassiana* sobre el huésped se efectúa en cuatro fases: adherencia, germinación, diferenciación y penetración.

2.1.5.3.3. Modo de acción de Beauveria bassiana. Los hongos entomopatógenos infectan al hospedante a través de la cutícula externa por contacto entre el inoculo y el insecto; el contacto ocurre en un clima favorable, con la suficiente cantidad de inoculo de B bassiana. La relación entre el inóculo del biocontrolador y el insecto es fundamental para dar inicio el proceso infeccioso; ocurre al azar, con un clima favorable, con suficiente cantidad de conidos de B bassiana, con la existencia de suficientes insectos hospedantes (plaga), son los factores que favorecen infecciones fungosas (Badilla, 2003).

En el transcurso del proceso de infección de *Beauveria* sobre el insecto plaga, se puede apreciar tres etapas: a) germinación de la célula sexual sobre la cutícula del hospedero; b)

inserción de la envoltura del insecto a través del tubo germinativo; c) crecimiento del hongo en el interior del cuerpo del insecto y su propagación. En el transcurso de infección se llevan a cabo sucesos de: adhesión, crecimiento, inserción, propagación del hongo, así como la elaboración de toxinas, la muerte del insecto, su colonización, la fabricación de micelio hacia el exterior, esporulación y dispersión del hongo (Granda, 2014), que se detallan a continuación:

a) Adhesión.

En este proceso la adhiere los propágulos del hongo sobre la superficie del insecto. En este paso se establece uno de los procesos más importantes de infección que está relacionada con la especificidad del hospedante con el patógeno. Exclusivamente las cepas más virulentas alcanzan satisfactoriamente la adhesión. para dicho proceso intervienen sustancias proteicas como lectinas y mucopolisacáridos, conjuntamente con los lípidos. Estas secreciones por parte del hongo se liberan al entrar en contacto con el insecto. En el organismo del insecto hay zonas preferidas por el hongo para el proceso de la adhesión, como son las zonas intersegmentales, en donde su estructura es diferente al resto del organismo del insecto.

b) Germinación.

Después de la adhesión de la espora sobre la zona del integumento del insecto, entra en proceso de germinación por lo que emite un tubo germinativo, que luego formando un apresorio. Este tubo germinativo llega a ser largo o corto y en ocasiones no puede llegar a formarse. Para este proceso hay un rol importante de requerimientos nutricionales de la espora y condiciones ambientales favorables. Las esporas de *Beauveria bassiana* son más exigentes en carbono y energía que las esporas de *Metarhizium* sp.

c) Penetración.

Seguidamente de la germinación se originan transformaciones físicas y químicas, por parte del insecto, así como del hongo, ya que permiten al patógeno ingresar por la cutícula del hospedante. Los conidios pueden esporular sobre el insecto, sin embargo, al no presentarse las condiciones físicas y químicas como los estímulos necesarios no logra penetrar al insecto. Las

enzimas como proteasas, lipasas y quitinasas, que producen las hifas causan un cambio sobre la cutícula, facilitando el ingreso de la hifa.

d) Multiplicación del hongo en el hemocele.

Una vez que ha ingresado el hongo al insecto este empieza a reproducirse por el proceso de gemación, produciendo micelios libres y unicelulares llamadas blastosporas en los Deuteromycetes. *Beauveria bassiana* también puede formar en el interior del insecto hifas, protoplastos, así como también células sin pared.

Los insectos poseen un sistema inmunológico permitiéndoles reconocer y reaccionar contra extrañas partículas como propágulos excretados por parte de virus, hongos y bacterias en el hemocele del insecto, estos pueden llegar a ser fagocitadas, impidiendo el ingreso o la presencia de los microorganismos.

e) Producción de toxinas.

Los hongos sintetizan toxinas dentro del hemocele del insecto siendo estas sustancias con baja toxicidad para los mamíferos, pero si tóxicos para insectos, llegando a causar la muerte del insecto ya que posee propiedades como insecticidas, muchos hongos entomopatógenos causan la muerte a sus hospedantes tras haber crecido de manera limitada en el hemocele, además actúan como bloqueador sobre las reacciones del insecto como mecanismo de defensa. La elaboración de toxinas puede ser activas por ingestión, contacto o inyección directa en el hemocele. Las toxinas producidas pueden ser de dos tipos (Intagri, 2014):

- Macromoléculas proteicas: son enzimas producidas en grandes cantidades en laboratorio en medios de cultivo además se produce en el cuerpo de los insectos. Las proteinas sulfidrilproteasa y serilproteasa son aisladas del hongo *Metarhizium* sp; demás se han encontrado con más proteínas como son quitinasas, lipasas, glicogenasas, amilasas.
- Sustancias con bajo peso molecular: este pertenece a metabolitos secundarios, su producción se basa en propiedades genética de los hongos, que son afectada por factores como temperatura, nutrientes, pH, etc. Las toxinas comúnmente de este tipo son principalmente las protodextruxina, destruxinas y demetildextruxina.

f) Muerte del insecto.

Esto ocurre cuando el hongo coloniza en su totalidad el hemocele del insecto. Producido gracias a la acción de las toxinas que produce el hongo. Cuando el insecto muere esta fase parasítica termina y da inicio a la fase saprofítica. Transcurrido el tiempo cuando el insecto muere no se aprecia que el hongo sea el causante de la muerte, sino al transcurrir los días. El tiempo de la duración ara la muerte del insecto depende del tipo de cepa del hongo, su hospedero y también de las condiciones ambientales.

g) Colonización total.

Después de morir el insecto, el micelio cubre todas las partes internas del cuerpo, para dar inicio a cubrir el tejido graso. Hay órganos o tejidos que no llegan a ser colonizados por micelio. Una vez que el insecto ha alcanzado la colonización total, el insecto se ha convertido en una momia, permitiéndole ser resistente a la degradación por bacteriana, ya que supuestamente se ha liberado la acción de antibióticos que el hongo realiza en la muerte del insecto.

h) Emergencia del hongo hacia el exterior.

Concluida la fase de colonización, con las condiciones externas presentadas como es la baja humedad relativa, el hongo entomopatógeno llega a persistir en el interior del insecto. Si la baja humedad se mantiene el hongo surge del interior del cuerpo a través de las partes que presentan menos durabilidad.

i) Esporulación.

Después que las hifas atraviesan el integumento, si las condiciones son de alta humedad relativa, en un período de 24 a 48 horas ocurre la producción de esporas o conidios. Es en esta fase de esporulación que el insecto muerto adquiere una coloración característica de acuerdo al hongo, por ejemplo, verde si es *Metarhizium* sp y blanco si es *Beauveria* sp.

Condiciones para su desarrollo.

El agua libre y la humedad relativa elevada, son requeridas por los hongos para la germinación de los propágulos infectivos y la formación de las estructuras reproductoras fuera

del hospedante. *B. bassiana* requiere valores de humedad relativa no menos de 90% durante 10 horas para producir epizootias (Vidal et al., 2017).

2.2. Marco legal

La investigación está relacionada a leyes que protegen la naturaleza y le otorgan derechos para asegurar su preservación tal como lo estipula la Constitución de la República del Ecuador del 2008. Capítulo II, Sección Segunda: Ambiente Sano Art. 14.- Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, Sumak Kawsay, de acuerdo al aporte de la Asamblea Nacional Constituyente del Ecuador (2008).

De igual forma la Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo (2017) menciona en el Plan Nacional de Desarrollo (2017-2021) vigente, en el Eje 1: Derechos para todos durante toda la vida, Objetivo 3: Garantizar los derechos de la naturaleza para las actuales y futuras generaciones, apoyará el fomento de una agricultura sustentable que integre los distintos sistemas productivos y respete las áreas bajo sistemas de protección, para garantizar la soberanía alimentaria con base en buenas prácticas y principios agroecológicos, basados en la premisa de no agotar los recursos naturales productivos (suelo, agua, y sus entornos). La investigación esta abarcada en este enunciado debido que se propone utilizar microorganismos biológicos como controladores de plagas, para disminuir el uso desmedido de insecticidas y plaguicidas.

En tanto que, el Texto Unificado Legislación Secundaria del Medio Ambiente (TULSMA), publicado el 16 de diciembre de 2002. Contiene siete anexos de los cuales seis se refieren a las normas de calidad ambiental para los diferentes recursos (agua, aire y suelo). Para la presente investigación se ha tomado el Anexo 2: Norma de calidad ambiental del recuso suelos y criterios de remediación para suelos contaminados. De las actividades que degradan la calidad del suelo los productores agrícolas, están en la obligación de utilizar técnicas que no degraden la calidad del suelo agrícola, así como también deberán implementar procedimientos técnicos respecto al uso racional de plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas, este tipo de productos deberán ser manejados mediante buenas prácticas y métodos establecidos en las Normas Técnicas y Reglamentos aplicables y vigentes en el país, de acuerdo al aporte del LIBRO VI TULSMA (2015).

Consecuentemente el Eje 2: Economía al servicio de la sociedad, en el Objetivo 6: Desarrollar las capacidades productivas y del entorno, para lograr la soberanía alimentaria y el Buen Vivir Rural, del plan nacional toda una vida. Brindar la posibilidad de aplicar nuevas técnicas productivas que incluyan el rescate y vigencia de las prácticas ancestrales, además de innovaciones institucionales que viabilicen las transformaciones requeridas en la Agricultura Familiar Campesina y sistemas agrícolas de subsistencia en general. Los procesos de difusión, con la transferencia tecnológica, deben replicar experiencias exitosas, en ocasiones desde otros países, e identificar y difundir experiencias locales, que por lo general son de menor costo y fácil aplicación (SENPLADES, 2017).

CAPITULO III

La presente investigación se realizó en la granja experimental “La Pradera”, a una altitud de 2376 msnm, bajo condiciones controladas mediante el uso de un controlador biológico *Beauveria bassiana.*

3.1. Descripción del área de estudio

Esta investigación se llevó a cabo bajo condiciones climáticas controladas en la granja experimental “La Pradera” que se encuentra ubicada en la parroquia San José de Chaltura, cantón Antonio Ante, provincia Imbabura Figura 11.

Figura 11

Mapa de ubicación del área de estudio.

3.1.2. Características climáticas

De acuerdo al Gobierno Autónomo Descentralizado-GAD Chaltura (2017), la Granja Experimental tiene las siguientes condiciones climáticas que se describen en la Tabla 3.

Tabla 3

Localización geográfica del ensayo

Descripción	
Latitud	00º - 21’- 20’’ N
Longitud	78º - 12’- 20’’ W
Altitud	2362 msnm
Precipitación Anual	750 mm
Temperatura media anual	16.4ºC
Humedad Relativa	68.9 %
Coordenadas geográficas	Latitud 0º21.412´N Longitud 78º12.397´O

3.2. Materiales y métodos

En la evaluación del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en los cuatro estadíos de desarrollo de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*), se utilizaron los materiales, equipos, insumos y herramientas, los cuales se encuentran descritos a continuación respectivamente:

En la tabla 4, se encuentran detallados los materiales a empleados en este estudio los mismos que facilitaron el correcto desarrollo y la obtención de resultados verídicos, mismo que estarán expresados en el Capítulo IV del documento.

Tabla 4

Listado de equipos, materiales, insumos y herramientas empleados en el estudio.

Materiales	Equipos	Insumos	Herramientas
Libreta de campo Computador Cajas Petri Erlenmeyer Mechero Bolsas auto lavables	Medidor de humedad Cámara de flujo Cámara fotográfica Balanza gramera (cambri) Calculadora Estereoscopio Autoclave	Reactivos Alcohol Arroz *Beauveria bassiana* hipoclorito de sodio al 5% Agua destilada	Cinta de colores atomizador Tijeras Cinta adhesiva Tela de organza

3.2.1. Factores en estudio

En la evaluación del hongo entomopatógeno en los cuatro estadíos de desarrollo de la mosca blanca *Bemisia tabaci*, siendo ninfa I, II, III y adulto, se evaluaron diferentes concentraciones de *Beauveria bassiana* en 3 diferentes tiempos, por ellos se empleó tres factores de estudios los cuales se describen a continuación:

El factor A. Corresponde a las concentraciones de hongo entomopatógeno Beauveria bassiana que se aplicaron en el presente estudio, se detallan con claridad en la Tabla 5.

Tabla 5

Descripción de las diferentes dosis de Beauveria bassiana

Niveles	Dosis	Nomenclatura
Nivel 1	1×10^6 conidios/ml	D 1
Nivel 2	1×10^7 conidios/ml	D 2
Nivel 3	1×10^8 conidios/ml	D 3
Nivel 4	Testigo	D 4

El factor B. Corresponde a los estadios de la mosca blanca que se detalla en la tabla 6.

Tabla 6

Estadios de mosca blanca (Bemisia tabaci)

Nombre	Nomenclatura
Ninfa I	N I
Ninfa II	N II
Ninfa III	N III
Adulto	AD

El factor C. Corresponde a los diferentes tiempos que se evaluó el desarrollo del hongo entomopatógeno sobre los estadios de la mosca blanca y se detallan en la tabla 7.

Tabla 7

Diferentes tiempos de evaluación

Tiempos	Nomenclatura
Tiempo I	24 horas
Tiempo II	48 horas
Tiempo III	72 horas

3.2.2. Tratamientos

Los tratamientos de esta investigación son el resultado de la combinación de los dos factores en estudio, los cuales se encuentran descritos en la tabla 8.

Tabla 8

Descripción y concentraciones de los tratamientos en estudio

Tratamiento	Nomenclatura	Dosis/Tratamiento	Descripción
T1	D1 NI	$1*10^6$ conidias/ml	Beauveria + ninfa I
T2	D2 NI	$1*10^7$ conidias/ml	Beauveria + ninfa I
T3	D3 NI	$1*10^8$ conidias/ml	Beauveria + ninfa I
T4	D4 NI	SN	Beauveria + ninfa I
T5	D1 NII	$1*10^6$ conidias/ml	Beauveria + ninfa II
T6	D2 NII	$1*10^7$ conidias/ml	Beauveria + ninfa II
T7	D3 NII	$1*10^8$ conidias/ml	Beauveria+ ninfa II
T8	D4 NII	SN	Beauveria + ninfa II
T9	D1 NIII	$1*10^6$ conidias/ml	Beauveria+ ninfa III
T10	D2 NIII	$1*10^7$ conidias/ml	Beauveria+ ninfa III
T11	D3 NIII	$1*10^8$ conidias/ml	Beauveria+ ninfa III
T12	D4 NIII	SN	Beauveria + ninfa III
T13	D1 AD	$1*10^6$ conidias/ml	Beauveria + Adulto
T14	D2 AD	$1*10^7$ conidias/ml	Beauveria + Adulto
T15	D3 AD	$1*10^8$ conidias/ml	Beauveria+ Adulto
T16	D4 AD	SN	Beauveria + Adulto

3.2.3. Diseño experimental.

Se usó un diseño por bloques completamente al azar con un arreglo en parcelas divididas con 4 tratamientos y 3 repeticiones con un total de 48 unidades experiméntales como se muestra en la figura 12.

Figura 12

Diseño experimental del área del estudio.

	Ninfa 1	Ninfa 2	Ninfa 3	Adulto
Bloque 1	D1 D4 D2 D3	D3 D1 D4 D2	D4 D2 D3 D1	D2 D3 D4 D1
Bloque 2	D3 D1 D2 D4	D4 D2 D1 D3	D3 D1 D2 D4	D3 D1 D2 D4
Bloque 3	D3 D2 D4 D1	D1 D3 D2 D4	D2 D4 D1 D3	D1 D4 D3 D2

3.2.4. Características del experimento

El diseño de la Unidad Experimental para la determinación de dosis por estadio de mosca blanca en las cajas Petri, con las siguientes características (Tabla 9)

Tabla 9

Características de la unidad experimental en las cajas Petri

Descripción	Total
Unidades Experimentales	12
Diámetro de la caja Petri	80.5 mm
Número de ninfas por caja Petri	10
Número de ninfas por unidad experimental	40
Total número de ninfas	120
Total de cajas Petri	36

El diseño de la unidad experimental para la determinación de dosis para el estado adulto de mosca blanca en vasos de precipitación, la característica se muestra en la (tabla 10).

Tabla 10

Características de la unidad experimental en vasos de precipitación

Descripción	Total
Unidades Experimentales	12
Diámetro de los vasos de precipitación	43 mm
Número de insectos adultos por vasos de precipitación	10
Número de ninfas por unidad experimental	40
Total número de adultos	120
Total de vasos de precipitación	12

3.2.5. Análisis estadístico.

Para el análisis estadístico de esta investigación se utilizará el programa Infostat versión 2017. Además, se usará la prueba de medias LSD Fisher al 5%. El esquema del análisis de varianza ADEVA se detalla en la tabla 11.

Tabla 11

Análisis de varianza (ADEVA) a un diseño en bloques con parcelas divididas

Fuente de variación	Fórmula	valor
Total	(NxR)-1	47
Tratamientos	(N-1)	7
Bloques	(R-1)	2
Error experimental	(N-1)(R-1)	6

3.2.8. Variables a evaluarse

En la presente investigación se evaluaron tres variables en laboratorio, como se las describe a continuación.

- **Porcentaje de mortalidad corregido de la Mosca blanca.**

La evaluación se realizó por medio de la determinación del porcentaje de mortalidad en los estadios del insecto: ninfa I, II, III y adulto; cada dosis se corrigió de acuerdo al porcentaje de mortalidad del control. Para esto se utilizó la fórmula propuesta Abbott, después que se aplicó las dosis del entomopatógeno sobre los estadios de mosca blanca para determinar el espécimen más susceptible.

$$\%\text{MC} = \frac{(\%\ de\ ninfas\ vivas\ control - \%\ de\ ninfas\ vivas\ tratadas)}{\%\ de\ ninfas\ vivas} * 100$$

Donde:

%MC= porcentaje de mortalidad corregida

Si el porcentaje de mortalidad en el control excede el 20 %, se debe descartar el bioensayo para ser repetido nuevamente (Barranco et al., 1997)

- **Porcentaje de supervivencia.**

Para el análisis de los datos obtenidos se utilizó la fórmula de Henderson y Tilton (1955), el mismo procedimiento para corregir los datos respecto al testigo y establecer el porcentaje de eficiencia de cada tratamiento, dado que la población del insecto puede aumentar o decrecer por arribo de la plaga según su biología y comportamiento, lo cual hace variar los datos respecto a la actividad del entomopatógeno en evaluación (Barranco., 1997):

$$\boldsymbol{E = \left(1 - \frac{Td}{Cd} * \frac{Ca}{Ta}\right) * 100}$$

Donde:

Td = número de insectos recolectados después del tratamiento.

Ta = número de insectos recolectados antes del tratamiento.

Cd = número de insectos después de la aplicación en el testigo.

Ca = número de insectos recolectados antes de la aplicación en el testigo.

E = porcentaje de supervivencia.

Los datos se analizaron mediante un diseño de bloques al azar (ANOVA) y prueba de medias por diferencia mínima significativa (DMS) en un paquete de diseños experimentales de cómputo para determinar los mejores tratamientos.

- **Tiempo de infección**

Para la obtención de los datos se colocó una hoja con presencia de ninfa I, ninfa II y ninfa III en cajas petri determinando el área con el estadio correspondiente y para el estado adulto se hizo el conteo de 10 adultos y se colocó en un vaso de precipitación, Para cada tratamiento las concentraciones fueron de 1x106, 1x107 y 1x108 conidias/ml con tres repeticiones. Después de aplicar *Beauveria bassiana* se realizaron muestreos de post aplicación a las 24, 48 y 72 horas, registrando el número de individuos vivos para establecer la eficacia de los tratamientos.

3.3. Manejo del experimento

Para el presente estudio se trabajó con el hongo entomopatógeno del género *Beauveria* compuesto por la especie *Beauveria bassiana* (Carreño, 2003). En el laboratorio de la granja experimental "La Pradera" de la Universidad Técnica del Norte.

Se obtuvo la cepa comercial del hongo entomopatógeno con nombre de *Beauveria bassiana* con las siguientes características tabla 12:

Tabla 12

Ficha técnica de Beauveria bassiana

Ficha Técnica		
Nombre comercial	Beauveria bassiana	
Descripción	*Beauveria bassiana*	
Propiedades fisicoquímicas	Olor	Suigeneris
	Estado	Sólido
	Color	Blanca
	pH	7
Control de calidad biológico	pureza	≥ 95%
	viabilidad	≥ 95%

Fuente: (Carreño, 2003)

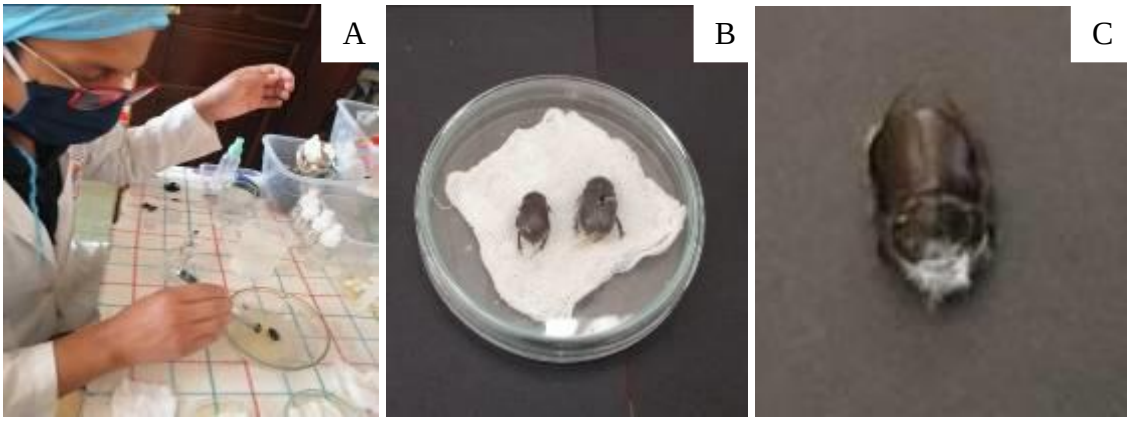
3.3.1. Reactivación de la cepa

La reactivación del carácter de virulencia del hongo entomopatógeno se realizó por medio de un hospedante, para ello se usaron escarabajos por su facilidad de germinación de la cepa, se sumergieron los insectos por 2 minutos en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 0.5 % para esterilizarlos, se enjuago tres veces en agua destilada estéril (ADE), luego se colocó sobre papel toalla para eliminar el exceso de humedad.

Posteriormente se realizó la infección de los escarabajos por inmersión durante dos minutos en 15 ml de la solución madre, finalmente se dejó incubar en una caja Petri con una gasa húmeda acondicionada como cámara húmeda por tres días a una temperatura de 23°C (Lucero et al., 2004).

Figura 13

A) inmersión de los escarabajos en la solución madre, B) colocación en cámara húmeda, C) escarabajo infectado con el hongo entomopatógeno



3.3.2. Cría de insectos mosca blanca (Bemisia tabaci)

Con la finalidad de tener una población de *Bemisia tabaci* se estableció cámaras de cría que fueron elaboradas con tela de organza fina, en el interior estuvo constituida por una planta de fréjol (*Phaseolus vulgaris*) variedad Canario.

En campo se colectaron hojas de un cultivo de fréjol (*Phaseolus vulgaris*) con presencia de mosca blanca. Estas hojas con insectos de mosca blanca fueron recolectadas en frascos que

contenía material vegetal para que los insectos se mantuvieran vivos, fueron llevadas al laboratorio lugar donde se realizó el sexado tomando en cuenta que la hembra es más pequeña que el macho, además la hembra posee alas completamente blancas, posterior mente fueron colocados 2 machos y 2 hembras en el interior de una cámara de cría que contenía plantas de fréjol de 15 días después de la siembra (primera hoja trifoliada). Después de 40 días se obtuvo la nueva generación de adultos de mosca blanca las cuales fueron utilizadas para establecer en las cámaras de cría del ensayo.

Figura 14

A) Recolecta de mosca blanca, B) Cámara de cría

3.3.3. Preparación del medio de cultivo

El medio de cultivo es una sustancia que permite el desarrollo de microorganismos para ello en un frasco se añadió 500 ml de agua destilada estéril (ADE) más 5.6 gramos del reactivo PDA (papa dextrosa agar), se agitó la mezcla hasta obtener una suspensión homogénea y se colocó en la estufa por 30 minutos para esterilizarle. Cuando la temperatura permitió la manipulación antes que inicie la solidificación del agar se vertió aproximadamente unos 15cc del medio de cultivo en cada caja Petri.

Figura 15

A) Esterilización del medio de cultivo, B) colocación en cajas Petri

3.3.4. Preparación de la solución madre

Para preparar la solución madre se utilizó un frasco Erlenmeyer en él se añadió agua destilada estéril (ADE) la cantidad de 600 ml, más 23.4 gramos de *Beauveria bassiana* y 0.5 ml de tween 80. Luego se puso en la estufa por 30 minutos para esterilizarle.

Figura 16

Esterilización de la solución madre

3.3.5. Elaboración de formulaciones

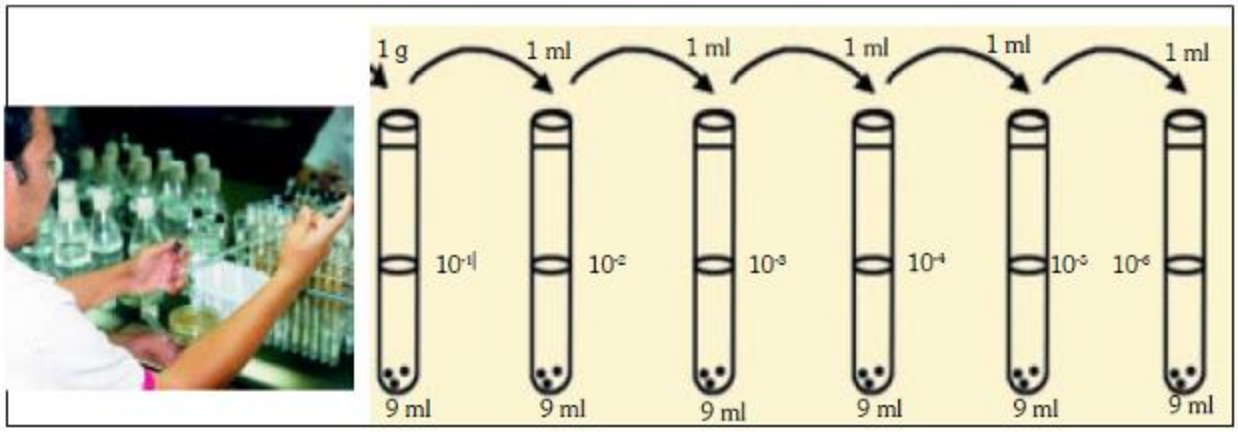
A partir de la solución madre, se prepararon diluciones en serie (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6} 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}, 10^{-10}). La primera dilución (10^{-1}) se obtuvo transfiriendo con una pipeta

estéril 1 ml de la solución madre a un tubo que contiene 9 ml de agua destilada estéril con 0.01 % de Tween 80, éste se agito fuertemente durante 1 minuto, luego se tomó 1 ml de esta suspensión y se colocó en otro tubo de ensayo que contenía 9 ml de agua destilada estéril con 0.01 % de Tween 80, obteniendo de esa forma la segunda dilución.

Este ejercicio se realizó varias veces hasta lograr obtener una serie de diluciones (10^{-1} hasta10^{0}). Para realizar la siembra del hongo en cajas Petri se utilizó las diluciones (10^{6}, 10^{7}, 10^{8}); para reducir los riesgos de contaminación con otros microorganismos.

Figura 17

Dilución seriada.



Fuente: (Marin, y Bustillo, 2002)

A partir de las disoluciones correspondientes para este estudio se procedió a su inoculación en el medio de cultivo.

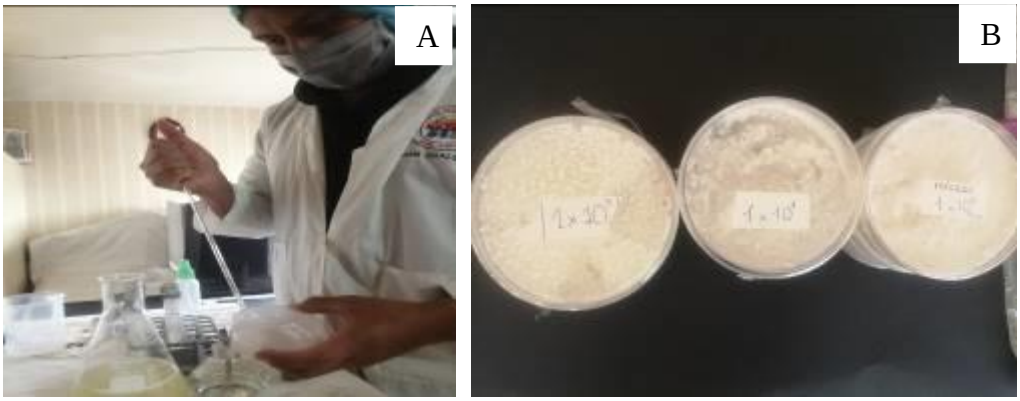
3.3.6. Inoculación en caja Petri

Para la inoculación, con la ayuda de una pipeta estéril se tomó 1ml de cada tubo de ensayo (10^{6}, 10^{7}, 10^{8}) para ser sembradas en cada caja Petri que contenía PDA (papa, dextrosa, agar), y con la ayuda de un esparcidor se realizó la siembra directamente utilizando la técnica del rayado sobre el medio de cultivo, luego se selló con plástico film. Posteriormente los platos Petri se colocaron en un lugar de crecimiento a una temperatura de 27 °C, se revisaron las cajas Petri diariamente, para seleccionar las cajas de buena calidad y eliminar las que presentaron

contaminantes. En el transcurso 15 días se observó el crecimiento de micelio y la producción de conidios.

Figura 18

A) Inoculación de dosis en cajas Petri, B) esporulación de Beauveria



3.3.7. Comprobación de Beauveria bassiana

Según Cañedo y Ames (2004), las características macro y microscópicas de *Beauveria bassiana* se describen a continuación:

- La colonia en PDA a los 14 días es algodonosa a polvorienta, blanca. A medida que va pasando el tiempo se vuelve amarillenta, cremosa. El revés es de color rojizo al centro y amarillento alrededor.
- El tamaño de los conidióforos es de 1-2µ de diámetro donde nacen células conidiógenas en grupos grandes.
- Las células conidiógenas (c.cs.) están agrupadas formando grupos compactos grandes y a veces solitarias, en forma de botellitas de 3 a 6 × 3 a 5µ. En ciertos casos, las c.cs. se ramifican formando c.cs secundarias. Al final de las c.cs se forma un raquis que sostiene las conidias.
- El tamaño del Raquis llega hasta 20µ de longitud y 1µ de diámetro, denticulado, que sostiene una conidia en cada dentícula.
- Las hialinas, globosas a sub globosas, de 2 a 3 × 2 a 2.3µ. que se insertan sucesivamente en el raquis en forma opuesta (Figura 19).

Figura 19

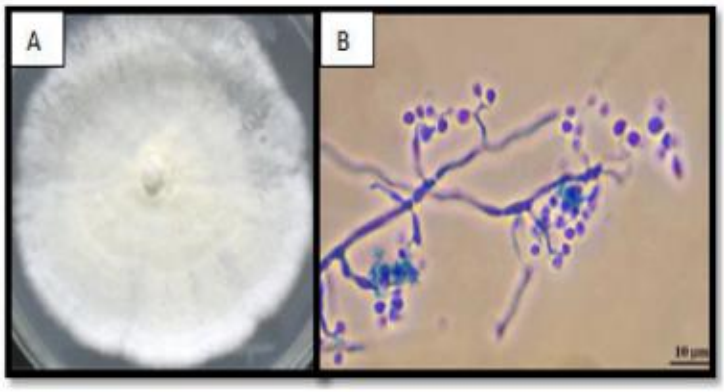
Descripción de Beauveria bassiana.

Fuente: Carreño (2003)

Además, Carreño (2003) indica que las estructuras están irregularmente agrupadas o en grupos verticilados, en algunas especies hinchados en la base y adelgazándose hacia la porción que sostiene la conidia, la cual se presenta en forma de zig-zag, después de que varias conidias se producen; las conidias son hialinas, redondeadas a ovoides y unicelulares, miden aproximadamente de 2 a 3 × 2 a 2.5 µ (Cañedo y Ames, 2004). Como se puede evidenciar a continuación de acuerdo al aporte de Echeverría (2006) A y Luque (2011) B, respectivamente (Figura 20).

Figura 20

Morfología macroscópica y microscópica de Beauveria bassiana.



Fuente: Echeverría (2006) A y Luque (2011) B

3.3.8. Preparación del sustrato para las matrices

Se utilizó arroz precocido, para ello se pesó 1 kilo de arroz, se lavó tres veces para eliminar las impurezas, se colocó un recipiente con agua en la estufa por un tiempo de 5 minutos, cuando el agua comienza a hervir (punto de ebullición), se depositó el arroz y se mantuvo hasta que presentó una consistencia suave. Posteriormente el arroz se puso a escurrir en una zaranda para eliminar el exceso de humedad y enfriarlo, para que las matrices no adquieran humedad durante su incubación.

Figura 21

Cocción del sustrato

3.3.9. Preparación de bolsas (matriz)

El objetivo de la matriz es reproducir el agente patógeno en un sustrato para obtener las unidades infectivas del entomopatógeno. Para ello se depositó 100 gramos del arroz precocido en bolsas plásticas ziploc se selló herméticamente haciendo tres dobleces para ser esterilizadas en olla de presión durante 15 minutos. Luego de esterilizar las bolsas, se agitó con el objetivo de evitar aglomeraciones y facilitar el crecimiento del hongo.

Figura 22

Preparación de bolsas.

3.3.10. Inoculación de matrices

En este proceso de producción, tuvo como objetivo reproducir masivamente el hongo, para la inoculación de la matriz se utilizó un aro esterilizado de 1 diámetro para la transferencia de conidios, se tomó una parte del inoculo del cultivo puro (PDA) que esté libre de contaminantes y de buena calidad. se selló, se agito para que el inóculo se distribuya uniformemente con el arroz y se obtenga un crecimiento homogéneo.

Figura 23

Inoculación del hongo entomopatógeno

3.3.11. Incubación de bolsas

Las bolsas inoculadas se ubicaron en un sitio obscuro a una temperatura de 28 °C por 3 días, pasado ese tiempo se removió el contenido de las fundas para lograr un crecimiento uniforme y se trasladó a un sitio de crecimiento a una temperatura de 25 °C para completar su crecimiento donde permanecieron por un período 17 días tiempo en el cual se observó el desarrollo de conidios. Se revisaron las bolsas diariamente, para seleccionar las bolsas de buena calidad y eliminar las bolsas que presentaron crecimiento lento y las bolsas con presencia de contaminantes.

Figura 24

Inoculación del hongo entomopatógeno.

3.3.12. Cosecha del hongo entomopatógeno

Después del periodo de incubación de 15 días finalmente se llevó a cabo la cosecha la cual consistió en recolectar de forma líquida. Para ello se tomó una matriz, se colocó en un vaso de licuadora previamente esterilizado se agregó 100 ml de agua destilada y se procedió a licuar, seguidamente se depositó en un tamiz, luego por agitación y frotación se obtuvo conidias en forma líquida. El material retenido por el tamiz se descartó y el líquido obtenido se depositó en recipientes.

Figura 25

A) Separación de conidios del sustrato de arroz, B) producto cosechado.

3.3.13. Establecimiento del bioensayo

Al finalizar el proceso de producción se procedió a evaluar las distintas dosis mediante la aplicación en las unidades experimentales.

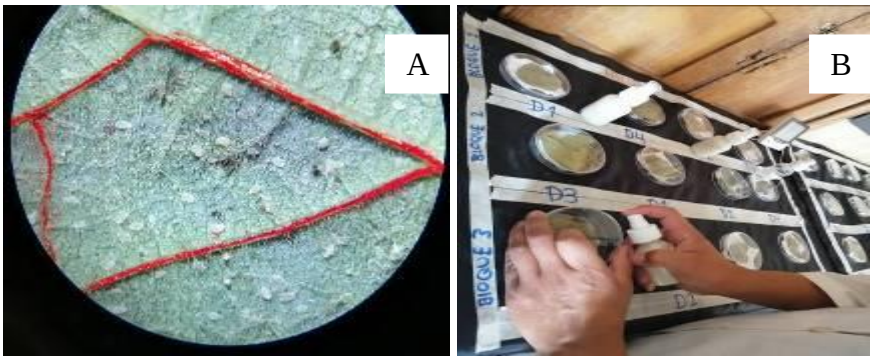
3.3.14. Selección de estados ninfales de Bemisia tabaci para su evaluación

Se seleccionaron hojas de la zona media de la planta de fréjol verificando que estén sanas sin problemas de enfermedades, pero con presencia de estados ninfales, siendo estas unidades experimentales de los tratamientos. Se identificó y señalo la zona afectada por los distintos estados ninfales Se colocó en cada caja Petri que contenía una gasa húmeda para mantener la humedad a 85 %.

Luego con la ayuda de un atomizador pequeño se realizó una aplicación por aspersión procurando una cobertura homogénea a cada unidad experimental y las cajas se colocó a temperatura ambiente, en el lugar destinado para realizar el seguimiento correspondiente al bioensayo.

Figura 26

A) Identificación de estados ninfales, B) aplicación de los tratamientos



3.3.15. Selección de mosca adulta Bemisia tabaci

Se utilizó frascos de vidrio de 500 ml previamente esterilizados, se seleccionaron hojas sanas de la planta de fréjol sin problemas de enfermedades y sin presencia de insectos. Se colocó en cada frasco que contenía una gasa húmeda para mantener la humedad a 85 %. Se colocaron 10 insectos adultos de mosca blanca y se cubrió con nylon.

Luego con la ayuda de un atomizador pequeño se realizó una aplicación por aspersión de a cada unidad experimental y los frascos se colocó a temperatura ambiente, en el lugar destinado para realizar el seguimiento correspondiente al bioensayo.

Figura 27

Establecimiento de mosca adulta

CAPÍTULO IV

4.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al realizar la evaluación del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en los cuatro estadíos de desarrollo de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*), en la Granja Experimental La Pradera. Se evaluó las variables porcentaje de infestación del hongo entomopatógeno y el porcentaje de mortalidad corregida en los cuatros estadíos de la mosca blanca, Ninfa I, Ninfa II, Ninfa III y adulto, los resultados se describen a continuación.

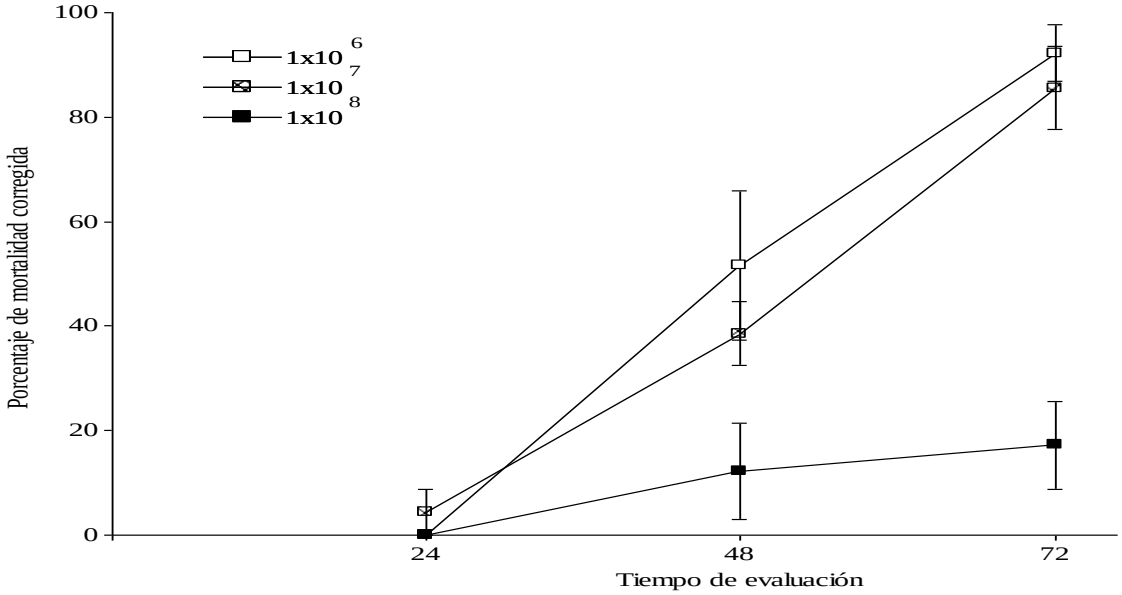
4.1.1. Porcentaje de mortalidad corregida

El porcentaje de supervivencia se evaluó en los cuatro estadíos de la mosca blanca (*Bemisia tabaci)*, siendo el comportamiento del entomopatógeno *Beauveria bassiana* en cada una de las etapas diferente.

4.1.1.1. Porcentaje de mortalidad corregido de Ninfa I. En la figura 28 se observa el porcentaje de mortalidad en el estadio de ninfa I, donde se observa la efectividad de infección de las dosis 1 en la plaga a las 72 horas como el de mayor mortalidad.

Figura 28

Porcentaje de mortalidad corregida de ninfa I.



Los resultados para la aplicación de los tratamientos 1 (1×10^6), 2 (1×10^7) y 3 (1×10^8) de *Beauveria bassiana* fue relativamente bajo con un promedio del 5% a las 24 horas. No obstante, a las 48 horas se observó un incremento de mortalidad de las ninfas, obteniéndose un 52% con la aplicación de la dosis 1 (1×10^6), seguido del 39% en la dosis 2 (1×10^6) y un 12% con dosis 3 (1×10^8). La superioridad de la dosis 1 (1×10^6) al comparar con las dosis 2 (1×10^7) y 3 (1×10^8) fue del 25% y 77%, respectivamente.

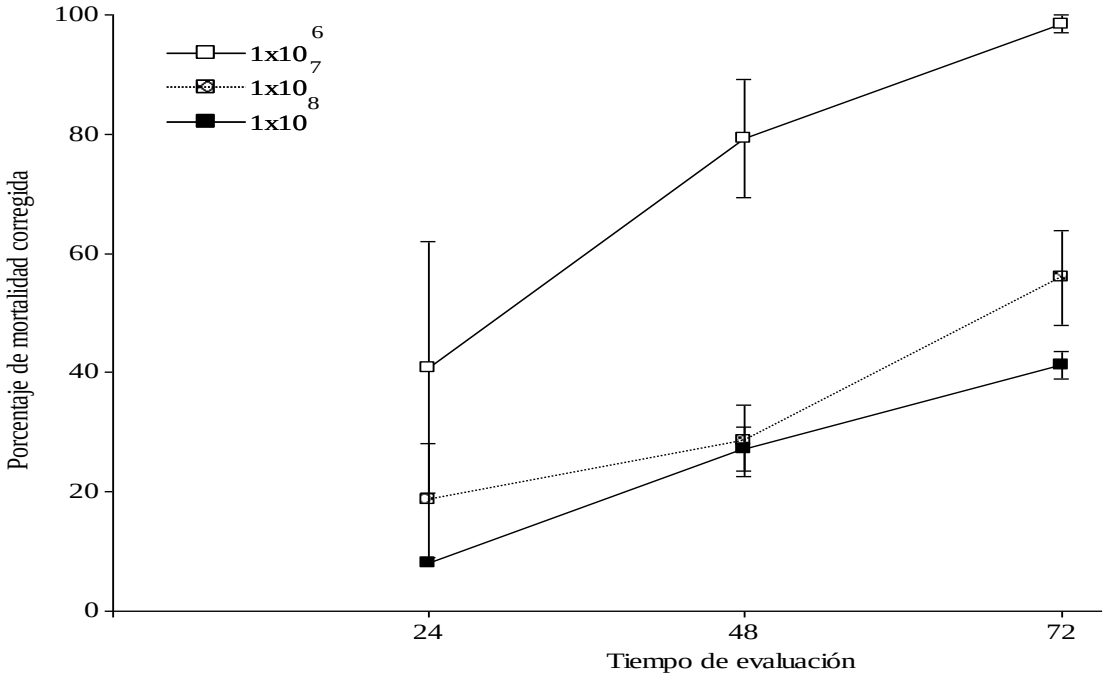
A las 72 horas, la mortalidad incrementó un 43% con respecto de los datos obtenidos a las 48 horas. Se observó una mortalidad elevada con la aplicación de la dosis 1 (1×10^6) que alcanzó el 92%, mientras que con la aplicación de la dosis 2 (1×10^7) se obtuvo 85%. En tanto, que la dosis 3 (1×10^8) resulto con el menor porcentaje que fue del 17 %. El resultado obtenido con la dosis 1 (1×10^6) fue superior en un 8% con respecto a la dosis 2 (1×10^7), mientras que con la dosis 3 (1×10^8) la superioridad fue del 82% (Figura 28).

La mortalidad en el primer estadio ninfa l por el uso del hongo entomopatógeno se puede relacionar con dos factores, la hora de la aplicación y la patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Vázquez et al., 2008). Estos factores pudieron incidir en la mortalidad obtenida en el presente trabajo, en especial al momento de la aplicación de los tratamientos ya que correspondió a un estado inicial del desarrollo ninfa l que por sus características morfológicas y fisiológicas son más susceptibles a cualquier tipo de agente nocivo.

4.1.1.2. Porcentaje de mortalidad corregida de Ninfa II. En la figura 29 se observa el porcentaje de mortalidad en el estadio de ninfa II, donde se observa la efectividad de infección de las dosis 1 sobre la plaga a las 72 horas como el de mayor mortalidad.

Figura 29

Porcentaje de mortalidad corregida de mosca blanca (Bemisia tabaci), Ninfa II.



A las 24 horas el porcentaje de mortalidad de la dosis 1 (1×10^6) fue del 41 %, resultando con una amplia diferencia con respecto a las dosis 2 (1×10^7) y 3 (1×10^8) que obtuvieron un 19% y 8% respectivamente. Claramente se observa la superioridad en la mortalidad de ninfas con la aplicación de la dosis 1 (1×10^6) en relación de las dosis 2 (1×10^7) y 3 (1×10^8), que fue del 54% y del 80%, respectivamente.

A las 48 horas, el tratamiento de la dosis 1 (1×10^6) logró una mortalidad del 79%, siendo el porcentaje más elevado, puesto que las dosis 2 (1×10^7) y 3 (1×10^8) obtuvieron el 28% de mortalidad, resultado que fue similar entre estos dos tratamientos.

Finalmente, al transcurrir las 72 horas se observó que el porcentaje de mortalidad sobre el fitófago con la aplicación de la dosis 1 (1×10^6) obtuvo un ligero incremento del 19 % con respecto a las 48 horas, llegando así a un 98% de mortalidad; por otro lado, con la aplicación de la dosis 2 (1×10^7) resultó con un incremento de mortalidad alcanzando el 56 % y la dosis 3 (1×10^8) también evidenció un ligero incremento en mortalidad, llegando al 41%. En esta fase se

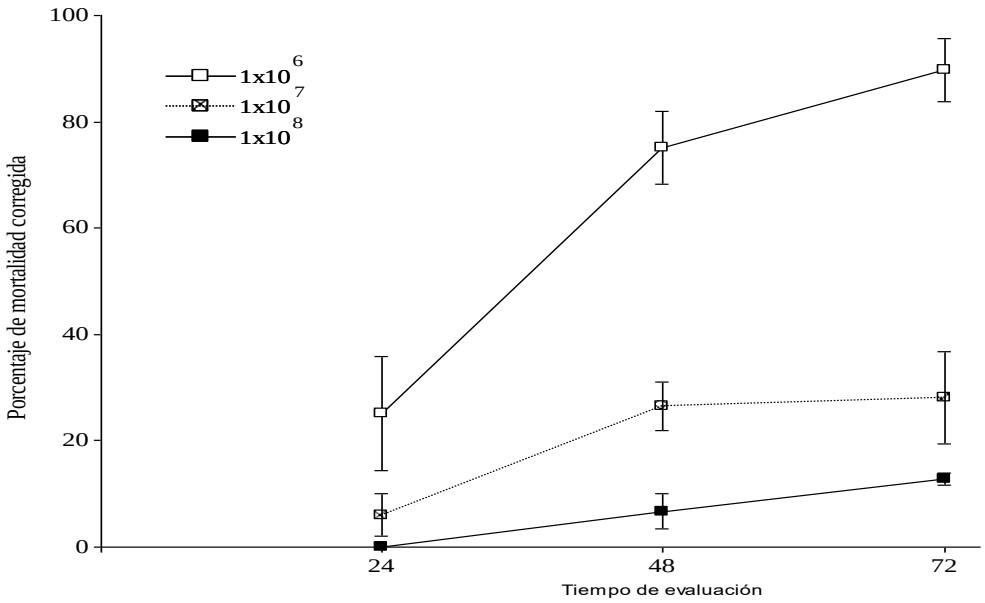
evidencia una superioridad de la dosis 1 (1×10^6) ante las dosis 2 (1×10^7) y 3 (1×10^8) con un 43% y 58%, respectivamente.

Quesada-Moraga et al. (2006) informa que las concentraciones letales medias (CL 50) de cuatro aislamientos de *Beauveria bassiana* variaron de 1.1×10^5 a 6.2×10^6 conidios / ml y el tiempo medio de supervivencia (AST) de las ninfas tratadas fue de 5.9 a 7.4 días. Estos resultados difieren con los obtenidos en el presente estudio puesto que se alcanzó hasta un 98.45% de infestación en tres días y utilizando dosis más bajas.

4.1.1.3. Porcentaje de mortalidad corregida de Ninfa III

Figura 30

Porcentaje de mortalidad corregida de mosca blanca (Bemisia tabaci), Ninfa III.



En la figura 30 se representa los resultados de la aplicación del entomopatógenos estudiado en la etapa de ninfa III, en donde sobresale el tratamiento I. El resultado a las 24 horas de la dosis 1 (1×10^6) fue del 37% siendo superior en comparación con la dosis 2 (1×10^7) que alcanzó el 15 % y con la dosis 3 (1×10^8) no se obtuvo efecto.

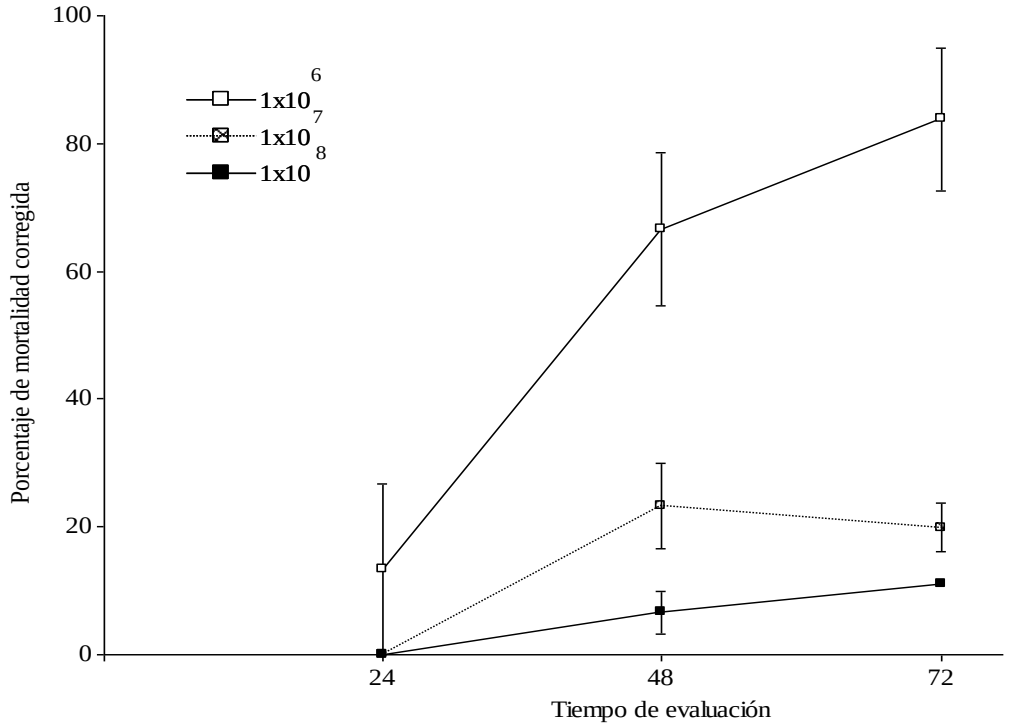
A las 48 horas, la dosis 1 incrementó la mortalidad con respecto al resultado de la fase anterior y alcanzó el 84%; en tanto que las dosis 2 (1×10^7) y dosis 3 (1×10^8) obtuvieron un

promedio del 31%. En la evaluación a las 72 horas, con la utilización de la dosis 1 (1×10^6) se obtuvo un porcentaje de mortalidad superior al 96%, por otro lado, con las dosis 2 (1×10^7) y 3 (1×10^8) se registró 41% y 14% de ninfas muertas respectivamente. La superioridad de la dosis 1 (1×10^6) en esta fase fue del 57% y 85% al comparar con las dosis 2 (1×10^7) y 3 (1×10^8).

4.1.1.4. Porcentaje de mortalidad corregida del Adulto

Figura 31

Porcentaje de mortalidad corregida de mosca blanca (Bemisia tabaci), Adulto.



El porcentaje de mortalidad en adultos de mosca blanca, a las 24 horas fue del 13%. Por el contrario, con las dosis 2 (1×10^6) y 3 (1×10^8) no existió mortalidad. En tanto, que a las 48 horas la mortalidad se incrementó en todos los tratamientos, siendo más representativo el 67% de la dosis 1 (1×10^6) y del 23% y 7% en las dosis 2 (1×10^7) y 3 (1×10^8), respectivamente. Asimismo, la superioridad de la dosis 1 (1×10^6) respecto de las dosis 2 (1×10^7) y 3 (1×10^8) fue del 66% y del 98%, correspondientemente.

A las 72 horas, prevaleció la dosis 1 alcanzando una mortalidad del 84%, en cambio con la aplicación de las dosis 2 (1×10^7) y 3 (1×10^8) el porcentaje de moscas adultas muertas fue del

20% y 11%, correspondientemente. Las dosis 2 (1×10^7) y 3 (1×10^8) fueron inferiores en un 76% y 87%, respectivamente comparadas a la dosis 1 (1×10^6) (Figura 31).

De acuerdo a un estudio realizado por Castro y Martínez (2019), con la implementación de tres tratamientos $1x10^5$, $1x10^7$ y $1x10^8$, obtuvo mayor mortalidad corregida en mosca blanca con el 15 % en Ninfa I con la dosis $1x10^8$, con respecto a los estadios de Ninfa II y III, no hubo diferencia entre los tratamientos y la mortalidad fue del 9%. Dichos resultados son inferiores en un 80% a los obtenido en este estudio, ya que la mortalidad alcanzada en esta investigación es del 90%.

4.1.2. Porcentaje de supervivencia

Al realizarse el análisis estadístico se determinó que no existe interacción entre el tiempo de infestación, las dosis del biocontrolador y el estadio del fitófago (F=1.18; gl= 18,94; P=0.2897). Sin embargo, se observó una interacción entre la dosis de *Beauveria bassiana* y los estadíos *de Bemisia tabaci* (F=3.79; gl= 9,94; P=0.0004). Además, se evidencia diferencias estadísticas entre el tiempo de infestación y la dosis de *Beauveria bassiana* (F=12.79; gl= 6,94; P=<0.0001) como se observa en la tabla 14.

Tabla 13

Análisis del porcentaje de supervivencia de la mosca blanca

Fuentes de variación	Grados de libertad	Grados de libertad del Error	Valor de F	Valor de P
Tiempo	2	94	109.82	<0.0001
Dosis	3	94	135.88	<0.0001
Estadio	3	94	7.03	0.0003
Tiempo: Dosis	6	94	12.79	<**0.0001**
Tiempo: Estadio	6	94	1.83	0.1024
Dosis: Estadio	9	94	3.79	**0.0004**
Tiempo: Dosis: Estadio	18	94	1.18	0.2897

El porcentaje de supervivencia de *Bemisia tabaci* mantiene una tendencia descendente con respecto de las horas de evaluación, siendo a las 24 horas donde alcanza una media de 91.31%, reduciendo a un 68.54% a las 48 horas y finalmente a las 72 horas registra un 52.49%, lo cual determina un rango diferente a los tres periodos, como se observa en la tabla 15.

Tabla 14

Análisis de medias para los periodos de evaluación

Tiempo	Medias	S.E.	Rango		
24	91.31	2.24	A		
48	68.54	2.24		B	
72	52.49	2.24			C

Con respecto a las dosis usadas del entomopatógeno se observa, que, la dosis 3 ($1x10^8$) y dosis 4 (control) se encuentran dentro de un mismo rango, pero la dosis 2 ($1x10^7$) y la dosis 1 ($1x10^6$) difieren, siendo la dosis 1 ($1x10^6$) la que registra menor supervivencia con 36.5%.

Tabla 15

Análisis de medias para las dosis del entomopatógenos

Dosis	Medias	S.E.	Rango		
4	90.95	2.49	A		
3	87.88	2.49	A		
2	67.79	2.49		B	
1	36.50	2.49			C

La tabla 17 se registra los resultados según los estadios de la mosca blanca en donde destaca la fase de adultos que registra un mayor porcentaje de supervivencia con el 78.33% en el rango A, mientras que los estadios ninfales presentan los resultados más bajos de este análisis asi como poca variación; por lo tanto, es necesario destacar que *Bemicia tabaci* en sus estadios ninfales muestra menor supervivencia en comparación a su estadio adulto, por lo tanto los controles deberán enfocarse en estas fases del fitófago.

Tabla 17

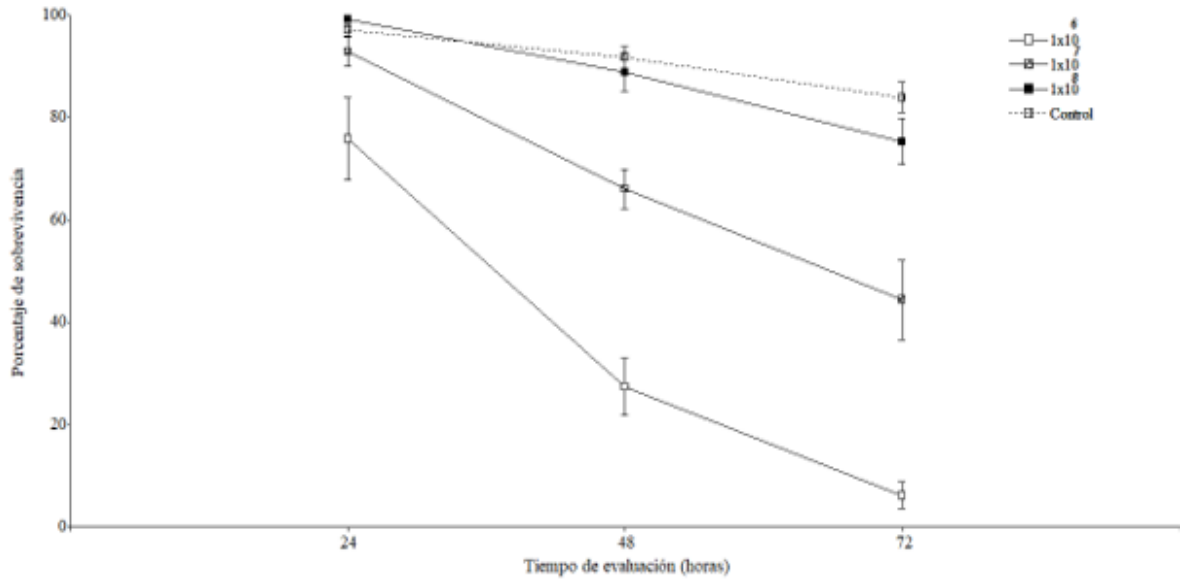
Análisis de medias para supervivencia en los estadios de mosca blanca

Estadio	Medias	S.E.	Rango		
Adulto	78.33	2.49	A		
Ninfa I	71.20	2.49		B	
Ninfa III	68.83	2.49		B	C
Ninfa II	64.75	2.49			C

Quesada (2006), reporta que el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* causo una mortalidad del 85% en ninfas de tercer estadio de *Bemisia tabaci* con una concentración de 1 × 10^7 conidios / ml en un lapso de 5.9 a 7.4 días, valores superiores a los obtenidos en la presente investigación con respecto a la mortalidad que en ninfas III, que fue del 68.83; cabe recalcar que con respecto al tiempo se obtiene una mejor eficiencia de control, pues la toma de datos se la realizó a las 24, 48 y 72 horas.

Figura 32

Análisis del porcentaje de supervivencia en el tiempo de evaluación.

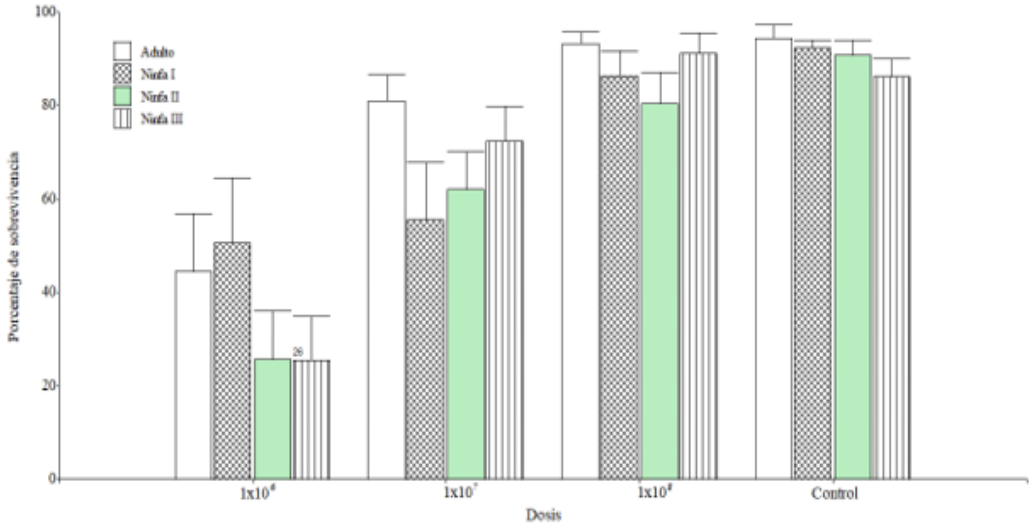


En la figura 32, se observa que el porcentaje de supervivencia en las primeras 24 horas es alto en todas las dosis con una media de 91.30 %. A las 48 horas los datos variaron drasticamente tomando en cuenta que la dosis 1 ($1x10^6$) bajo a 27%, con respecto a la dosis 2 ($1x10^7$) que fue de 66%, la dosis 3 ($1x10^8$) tuvo un 88% y la dosis que menos disminuyo fue la 4 (control) con 91.69%. A las 72 horas la dosis 1 ($1x10^6$) habria tenido una supervivencia de tan solo el 6.20% siendo esta la menor, mientras la dosis 2 ($1x10^7$) alcanzo el 44%, la dosis 3 ($1x10^8$) un 75% y finalmente y con una mayor supervivencia es la dosis 4(control) con 84.00% siendo esta la más alta en este periodo de tiempo.

Zaki, (1998) realizó una investigación donde obtuvo una supervivencia de 0% en un lapso de 2,2 días con una concentración de 1 (2.7×10^7 conidias), siendo estos valores superiores a los encontrados, mencionando que nuestros datos son mucho menores debido a la concentración.

Figura 33

Porcentaje de supervivencia según las dosis utilizadas.



El porcentaje de supervivencia con la dosis 1 ($1x10^6$) es la que obtiene valores más bajos para adultos y ninfa I con una media de 47.48 %, mientras que para ninfa II y ninfa III alcanza una media del 25.50 %. Seguidamente la dosis 2 ($1x10^7$) se observa que en el estadio de adultos

alcanza el 81.11%, en las ninfas I se observa el 55.50%, las ninfas II alcanzo el 62.09% y las ninfas III un 72.47%, continuando con la dosis 3 ($1x10^8$) con el 93.33% en adultos, 86.48% en ninfas I, 80.44% ninfas II y 91.25% para ninfas III, finalmente con la dosis 4 (control) el porcentaje de supervivencia tiende a una media del 90.95 %

Se observa que indistintamente de la dosis en estado adulto es donde existe una mayor supervivencia, a excepción de la dosis 1 ($1x10^6$) donde el estadio ninfa I es donde existe una mayor supervivencia, mientras que con la dosis 2 ($1x10^7$) este mismo estadio tiene el menor porcentaje. Determinando así que la concentración es fundamental para tratar adultos de *Bemisia tabaci* como lo muestra Zaki, (1998), quien encontró que con una concentración de 1 ($2.7x10^7$ conidias) llega a tener un 0% de supervivencia y con 0.063 la supervivencia es del 88%.

Mientras en ninfas de III estadio con la dosis 1($1x10^6$) se obtuvo 25.38% de supervivencia datos inferiores nos muestra conidios/ml.

4.1.3. Tiempo de infección

En la evaluación del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* sobre el periodo del estadio de *Bemisia tabaci* en condiciones controladas se observó en el análisis de varianza que no existió interacción entre el tiempo de infección, el estadio del fitófago y las dosis del biocontrolador (F=1.52; gl= 18,94; P=0.0995). Sin embargo, se evidenció una interacción entre las dosis de *Beauveria bassiana* y los estadios *de Bemisia tabaci* (F=3.42; gl= 9,94; P=0.0011). De igual forma, existió diferencias estadísticas entre el tiempo de infección y la dosis de *Beauveria bassiana* (F=13.40; gl= 6,94; P=<0.0001) como se observa en la tabla 13.

Tabla 16

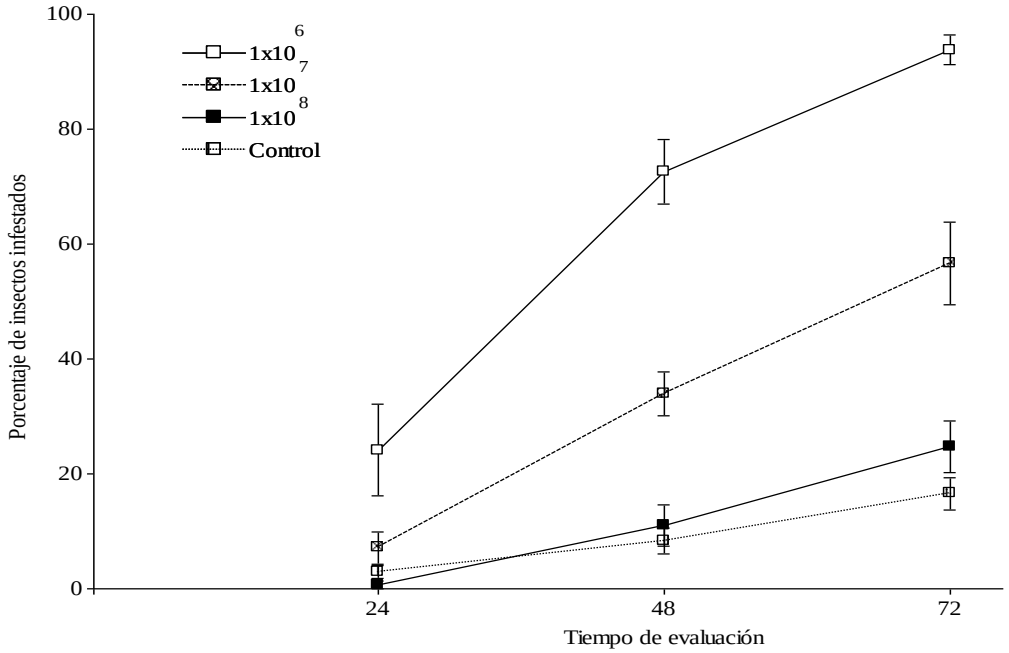
ADEVA del tiempo de infección de Beauveria bassiana

Fuentes de variación	Grados de libertad	Grados de libertad del Error	Valor de F	Valor de P
Tiempo	2	94	82.18	<0.0001
Estadio	3	94	6.37	0.0006
Dosis	3	94	115.33	<0.0001
Tiempo: estadio	6	94	0.80	0.5741
Tiempo: Dosis	6	94	13.40	**<0.0001**
Estadio: Dosis	9	94	3.42	**0.0011**
Tiempo: estadio: Dosis	18	94	1.52	0.0995

El tiempo de infección de *Beauveria bassiana* mantiene una tendencia ascendente con respecto de las horas de evaluación, sobresaliendo la dosis 1 (1×10^6) la cual mantiene los porcentajes más altos en los tres periodos de evaluación. El crecimiento de la infección sobre *Bemisia tabaci* con la dosis mencionada presenta gran actividad entre las 24 horas y 48 horas puesto que este porcentaje se llega a triplicar con un resultado del 94%.

Figura 34

Porcentaje de infección de Beauveria bassiana (tiempo dosis).*



El tiempo de infección del biocontrolador en los estadios del insecto plaga, en las primeras 24 horas fue del 25% con la aplicación de dosis 1 (1×10^6). En tanto que, con la incorporación del resto de dosis la infección alcanzó un 4%. La superioridad obtenida con la dosis 1 fue del 97% comparado con la dosis 3(1×10^8) del entomopatógeno.

A las 48 horas, todos los tratamientos evidencian un incremento del porcentaje de infección del biocontrolador, donde se confirma que la dosis 1 (1×10^6) tiene mayor efectividad y alcanza un porcentaje superior al 73% y la diferencia con la dosis 2 (1×10^7) alcanza el 34%. Con respecto a las dosis 3 (1×10^8) presentó una media del 10%. Es importante recalcar la superioridad de la dosis 1 (1×10^6), la cual fue de un 86% al contrastar con las dosis 3 (1×10^8).

A las 72 horas se confirmó la tendencia, con un incremento de la contaminación de *Beauveria bassiana* sobre *Bemisia tabaci* pues la dosis 1 (1×10^6) presentó una media del 94%, seguida de la dosis 2 (1×10^7) con el 57%. Por otro lado, las dosis 3 (1×10^8) presentó un menor porcentaje de infección con media del 25%.

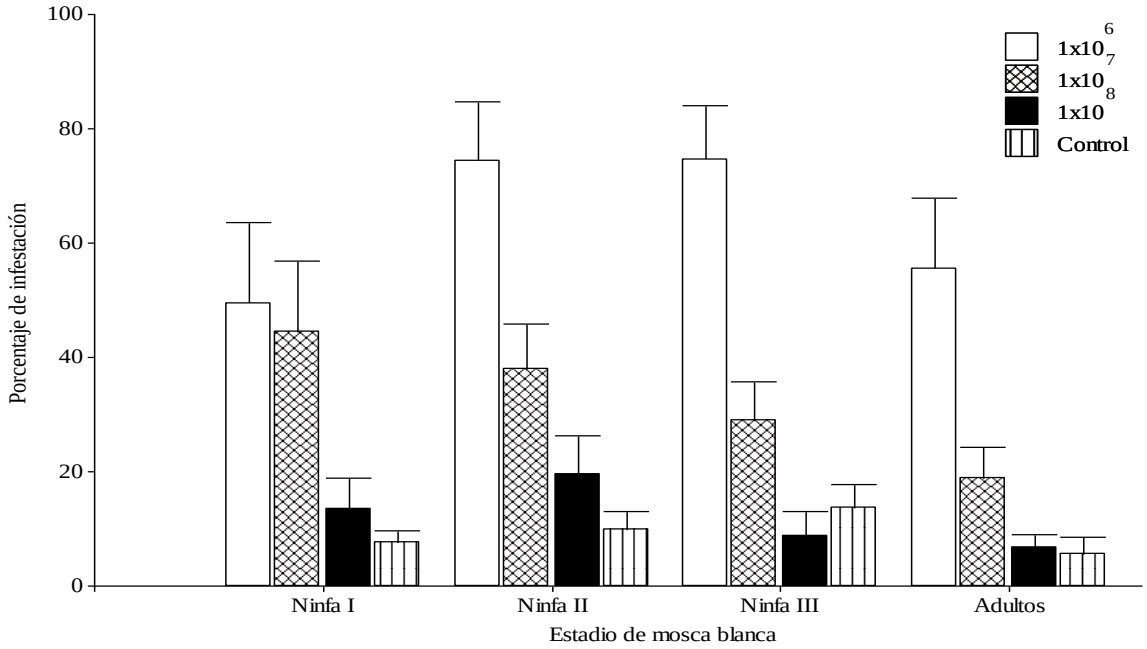
De acuerdo a Albuquerque y Albuquerque, (2009), el período de infección, germinación y penetración de *Metarhizium anisopliae,* y *Beauveria bassiana* se presenta en un lapso de tiempo de 18 horas, posteriormente, ocurre la colonización y esporulación del hongo después de entrar en contacto con su blanco biológico. Lo mencionado concuerda con lo obtenido, puesto que al menos con la dosis 1 (1×10^6), se registró infestación desde las primeras 24 horas.

En un estudio realizado por Santamaría et al. (2008), en el cultivo de cítricos al aplicar dosis similares y tiempo de evaluación de 24, 48 y 72 horas, obtuvieron porcentajes de infestación del 20%, 70% y del 95%, respectivamente con la dosis de 1 $x10^6$. Dichos resultados fueron similares a los obtenidos en la presente investigación, puesto que la dosis mencionada a las 72 horas alcanza una infestación del 94%.

En la figura 29 se observa el porcentaje de infestación de *Beauveria bassiana* por cada estadio de desarrollo del fitófago, donde se vuelve a confirmar la efectividad de infección de las dosis 1 y 2 en la plaga, puesto que en los cuatro estadios los porcentajes son superiores al resto de tratamientos.

Figura 35

Tiempo de infección de Beauveria bassiana (estadío dosis).*



En la interacción resultante entre los estadíos de *Bemisia tabaci*, y dosis del biocontrolador, se determinó que en ninfa I con las dosis 1 (1×10^6) y 2 (1×10^7) presentaron una similitud estadística y superioridad, alcanzando una media del 47%. En tanto, que con la aplicación de las dosis 3 (1×10^8) la infección de *Beauveria bassiana* fue similar, con una media del 8.75%. Es importante, destacar que el efecto registrado con las dosis 1 (1×10^6) y 2 (1×10^7) fue superior en un 77% en comparación de las dosis 3 (1×10^8).

En Ninfa II, el tiempo de infección por cada tratamiento fue diferente, siendo el más elevado el resultado de la dosis 1 (1×10^6) con el 74%, mientras que la dosis 2 (1×10^7) obtuvo el 38%. El tratamiento 3 (1×10^8) presentó un menor porcentaje de contaminación, llegando al 20%. La dosis 1 (1×10^6) mostró una supremacía de infestación del 49% y 73% al contrastar con las dosis 2 (1×10^7) y 3 (1×10^8), respectivamente.

En Ninfa III y Adultos, la dosis 1 (1×10^6) y 2 (1×10^7) sobresalieron con tiempo de infección del biocontrolador alcanzando el 75% y 29%, respectivamente; en tanto que el resultado para la fase adulta fue del 56% y 19%, por cada dosis. Por otro lado, con la aplicación

de la dosis 3 (1×10^8) se observó una infección con un promedio del 12%. Finalmente es importante destacar que con la incorporación de la dosis 1 (1×10^6) se obtuvo una mayor eficiencia de infección del entomopatógeno en los cuatro estadios de mosca blanca (Figura 29).

Santamaría et al. (2008), en su estudio del control de mosca blanca en brotes de cítricos, obtuvieron infección del 65% en Ninfa I, 90% en Ninfa II, 88% para Ninfa III y del 82% en adultos. Comparando estos resultados con los obtenidos en esta investigación se evidencia la siguiente superioridad para cada instar 62%, 19%, 15% y 65% a favor del presente estudio. Es probable que el mejor desenvolvimiento del biocontrolador sea por haber utilizado una cepa con mayor agresividad en contra del fitófago.

De acuerdo a Murata et al. (2006) y Silva et al. (2006) que obtuvieron un bajo porcentaje de infección en Ninfa I (25%) y adulto (29%), puede estar relacionada a la no infección a los diferentes mecanismos de defensa que presentan las larvas de la familia Aleyrodidae y Chrysopidae puesto que producen patogénesis, que es un proceso en donde se desarrolla la melanización, fagocitosis, nodulación y encapsulamiento que pueden inhibir el crecimiento de entomopatógenos como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*; razón por la cual se han considerado como hongos entomopatógenos relativamente seguros para enemigos naturales e insectos benéficos (Thungrabeab y Tongma, 2007).

CAPÍTULO V

5.1 Conclusiones

Con los resultados en el porcentaje de supervivencia se determinó que la dosis 2 ($1x10^7$) no muestra un efecto en el control de la mosca blanca ya que es el porcentaje de supervivencia más elevado de todos los tratamientos.

Se determinó que al menos una de las dosis del biocontrolador bajo las condiciones evaluadas tuvo un efecto significativo en los tres estadios ninfales y en adultos de mosca blanca (*Bemisia tabaci),* se logró observar la acción entomopatógena, siendo la dosis 2 1×10^7 la que obtuvo mejores resultados.

La letalidad de *Beauveria bassiana* con la concentración 1×10^6 conidias/ml alcanzó un mínimo de 24% de infección a las 24 horas y un máximo de 98% de infestación en un periodo de tiempo de 72 horas, superando al resto de concentraciones que mostraron resultados inferiores.

Todos los tratamientos tuvieron un efecto significativo sobre los estados ninfales de la mosca blanca (*B. tabaci),* sin embargo, el tratamiento 1×10^6 obtuvo una mayor curva de mortalidad especialmente en los estadios de ninfa I y II. Por lo que la implementación de *Beauveria bassiana* con dicha concentración puede llegar a ser una estrategia de manejo viable para el control de *Bemisia tabaci.*

En el estadio ninfal III a las 72 horas con la utilización de la dosis 1 (1×10^6) se obtuvo un porcentaje de mortalidad superior al 96% siendo el más elevado en comparación con el resto de las dosis y en fase adulta la efectividad del biocontrolador con la dosis 1 alcanzó una mortalidad del 84%, siendo superior al resto de dosis. Las dosis 2 y 3 pueden ser utilizadas como manejo preventivo del ataque del fitófago.

B bassiana son una alternativa viable para ser utilizado dentro del manejo integrado de plagas (MIP). Su uso le permite mantener la productividad del campo sin contaminar el medio ambiente y sin poner en riesgo la salud de la población. Por otro lado, este entomopatógenos han demostrado que al ser utilizado en forma adecuada favorece la práctica de una agricultura sustentable con menos empleo de insecticidas químicos.

5.2 Recomendaciones

Al momento de realizar el proceso de inoculación de las conidias sobre el sustrato de arroz, mantener toda el área estéril y trabajar todo el tiempo junto a un mechero para así evitar el ingreso de agentes patógenos y tener pérdidas en la multiplicación del hongo entomopatógeno.

Es necesario realizar ensayos adicionales en condiciones de campo, para aprobar el uso del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* para realizar un control biológico para el manejo de la mosca blanca de *Bemisia tabaci* en el cultivo de fréjol.

Realizar capacitaciones a productores donde su fuente de trabajo es la producción de fréjol sobre los métodos de control biológico con el uso de hongos entomopatógenos particularmente la cepa que se evaluó en este ensayo.

Seguir con estudios sobre alternativas de control biológico para conocer el comportamiento de insectos hospedero ante el uso de entomopatógenos ya que son un limitante en la producción de diferentes especies de cultivos que se realiza en nuestro país.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguilar, G., Peña, C., García, R., Ramírez, P., Benedicto, G., y Molina, J. (2012). Rendimiento de frijol (*Phaseolus vulgaris l.*) en relación con la concentración de vermicompost y déficit de humedad en el sustrato. *Agro ciencia, 46*, 37-50.

Agroware (2016). El software de los sistemas agrícolas, producción de hongos entomopatógenos, segunda edición. Recuperado de http://sistemaagricola.com.mx/blog/hongos-entomopatogenos-en-control-biologico-de-plagas-2/

Albuquerque, E. y Albuquerque, A. (2009). Hongos entomopatógenos: importante herramienta para el control de "moscas blancas" (Homóptera: *Aleyrodidae*). *Academia Pernambucana de ciencia agronómica*.*5* (6):209-242.

Altieri, M., Nicholls C. I. 2000. Agroecología: Teoría y práctica para una agricultura sustentable. Serie textos básicos para la formación ambiental. Primera edición. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Red de Formación Ambiental para América Latina y el Caribe. 250 p

Asamblea Nacional Constituyente del Ecuador (2008). Decreto Legislativo o Registro Oficial 449 de 20-oct-2008 Ultima modificación: 13-jul-2011 Estado: Vigente

Badii, M. H. (2006). Control biológico una forma sustentable de control de plagas. *International Journal of Good Conscience*, (*1).* 82-89.

Badilla, F. (2003). Utilización de hongos entomopatógenos en el Control de Insectos. *Investigación y Extensión de La Caña de Azúcar (DIECA)*, *5*,1–10.

Barranco, P., Belda, T., Carrasco, J. y Carreño, R. (1997). Análisis de eficiencia de productos fitosanitarios. *PYTOMA.* La Revista profesional en producción vegetal. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Tomas_Cabello/publication/256445492_Analisis_de_eficacia_de_productos_fitosanitarios/links/54c76c2f0cf289f0cecd1c7d/Analisis-de-eficacia-de-productos-fitosanitarios.pdf

Buenrostro, G. (2012). Aislamiento y efectividad de Beauveria bassiana villemin para el control biológico de la cucaracha urbana periplaneta americana l. (Tesis de Doctorado) Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

Burgos, C., Lara, V. y Recinos, W. (2016). *Hongos entomopátogenos para el control de mosca blanca Bemisia tabaci (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) en el cultivo de chile dulce (Capsicum annuum* L.*) bajo condiciones protegidas* (Tesis de Pregrado), Universidad de El Salvador, Cuba.

Cañedo, V. y Ames, T. (2004). Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. *Bioctenología al Día*. 5(3).

Cardona,C. y Bueno, I. (2005). Manejo de la mosca blanca. Biología de la Mosca Blanca *Trialeurodes vaporariorum* en Habichuela y Frijol CO: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIA1); Department for International Development (DFID), 50 p. (Publicación CIAT; Nº. 345)

Carranza, J. y Krugg, J. (2016).Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre adultos y ninfas de *Oligonychus* sp. en condiciones de laboratorio. *REBIOL*. 36(1),. 51-58.

Castro, A. y Matinez, J. (2019). Compatibilidad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* con *Chrysoperla* externa depredador de *Trialeurodes vaporariorum. Revista Chilena de Ciencias Agrícolas y Animales. 35*(1):3

Celis, V. R. (2008). Variabilidad morfológica seminal y del vigor inicial de germoplasma mejorado de frijol. *Agronomía mesoamericana,* 179 - 193.

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). (2010). Etapas de desarrollo en la planta de frijol y judia. Ciencia y tecnología agrícola para la vitalización rural y la seguridad alimentaria mundial. *Agricultura Tropical. 5*(2). NO creo que un centro publique en una revista por lo general lo que publican son libros … revisar

Chumo, H. (2017). *Determinación de los daños de Bemisia tabaci (Mosca blanca) ocasionados en la producción de Citrullus lanatus (Sandía)* (Tesis de Pregrado), Universidad Estatal de Manabí, Ecuador.

Cruz, I., Fernandez, V., y Ramirez, C. (2006). Obtención de esporas entomopatógenas por fermentación en estado sólido. Colegio Mexicano de Ingenieros Bioquímicos.*Revista Mexicana, 5*(3).

Cruz, I. (2012). *Uso de hongos entomopatogenos en el control de plagas*. La Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Recuperado de UNAN - OEA: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/53520/1/Uso-hongos.pdf

Cuellar, E. y Morales, F. (2006). La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) como plaga vectora de virus en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Colombiana de Entomología*, *32*(1), 1-9.

Delgado, P. A. y Ordoñez, B. M. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Revista Ambiente y Agua, 6*(2), 77-90. doi:10.4136/ambi-agua.187

Días, C., Flores, V. y Hernandez, W. (2016). Hongos entomopátogenos para el control de mosca blanca (*Bemisia tabaci)* en el cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.) bajo condiciones protegidas. *SciELO*.*3*(1).

Durán, C., Mendoza, D., Juárez, O., Sandoval, P., Camacho, O. y Hernández, D. (2017). *Eficacia de entomopatógenos en el control de Mosca Blanca* (*Bemisia argentifolli,* Bellows y Perring), *en algodonero en el DDR 014*: OmniaScience

Echeverría, F. (2006). Caracterización biológica y molecular de aislamientos del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana (Bálsamo) Vuillemin. Tesis de Licenciatura en Ingeniería en Biotecnología. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Escuela de Biología. pp 105.

Espinel, C., Torres, L. y Cotes, A. (2014). Efecto de hongos entomopatógenos sobre estados de desarrollo de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: *Aleyrodidae*). *Revista Colombiana de Entomología*, *35*(1), 18- 21.

Espinoza, H. (2020). Variables morfológicas de gerbera (*Gerbera hybrida*) asociadas a la incidencia de mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*). [Tesis de pregrado, Universidad Autónoma del Estado de México] Repositorio institucional. http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/105905

Evans, G. (2008). The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of the word and their host plants and natural enemies. http:/www.sel.barc.usda.gov:591/1WF/World-whitefly-catalogo.pdf, 23/09/08.

Estrada, M. y Pavón, J. (2012*). Uso de hongos entomopatógenos para el control de mosca blanca (Bemisia tabaci) en diferentes especies de plantas hospederas bajo condiciones de invernadero*. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional Agraria] Facultad de Agronomía, Nicaragua. https://repositorio.una.edu.ni/id/eprint/2169

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO. (12 -13 de Octubre de 2009). *La agricultura mundial en la perspectiva del año 2050.* Obtenido de Foro de expertos de alto nivel: http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/Issues_papers/Issues_papers_SP/La_agricultura_mundial.pdf

FAO. (4 de Diciembre de 2015). *Los suelos están en peligro, pero la degradación puede revertirse.* Obtenido de FAO: http://www.fao.org/news/story/es/item/357165/icode/

García, C. y González, M. (2010). Uso de bioinsecticidas para el control de plagas de hortalizas en comunidades rurales. *Ra Ximhai*, *6*(1), *17*-22.

Gobierno Autónomo Decentralizado-GAD Chaltura (2017). *Datos geográficos anuales de San José de Chaltura*. Recuperado de https://es.climate-data.org/america-del-sur/ecuador/provincia-de-imbabura/san-jose-de-chaltura-180912/

Gennadius, P. (2009). Disease of tobacco plantations in the trikonia. *The aleurodid of tobacco.*, 1-3. Ellenike Georgia, Grecia. *Enthomoly resources*. 5(1)

Gutiérrez, J., España, L.,y Herrera, F. (2017). La chicharrita empoasca kraemeri (ross y moore) (*hemiptera: cicadellidae*) y su parasitoide nativo anagrus sp. haliday, 1833 (hymenoptera: mymaridae) en el cultivo de frijol en zacatecas. *AGROECOLOGÍA*, 46-49.

Guedez, C. (2014). Caracterización morfológica de *Beauveria bassiana*, aislada de diferentes insectos en Trujillo- Venezuela. *Revista academia*, 15(23), 275-281.

Granda, D. (2014). Producción y uso de hongos entomopatógenos. In Departamento de Protección Agrícola y Forestal (Ed.) (p. 63).

Hernández, J. (2009). Manual de Recomendaciones Técnicas : Cultivo de Frijol *(Phaseolus vulgaris).*CENADIN. Recuperado de http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/hidalgo/Documents/Agricultura Familiar/CENADIN-Manual de cultivo de hortalizas.pdf

Hernán, L. y López, B. (2017). Esporulación de conidias *de Beauveria bassiana* en sustratos de arroz. *Revistas Bolivianas Apthapi*, *3*(2), 500 - 513.

Herrera, F., Carballo, M., y Shannon, P. (1999). Eficacia de cepas nativas de hongos entomopatógenos sobre Bemisia tabaci en el laboratorio. *Manejo integrado de plagas (CATIE),* (54), 37-43.

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias-INIAP. (2016). Departamento Nacional de Protección Vegetal. *(Informe Anual).* stación Experimental Boliche, Los Ríos, Ecuador.

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias-INIAP. (2010). *Departamento Nacional de Protección Vegetal,Sección Entomología, Estación Experimenta Portoviejo. Departamento Nacional de Protección Vegetal*. Portoviejo, Ecuador.

Intagri (2014). Beauveria bassiana en el Control Biológico de Patógenos. Recuperado de https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/beauveria-bassiana-en-el-control-biologico-de-

Lezcano, B. (2010). Biología de Amphidees latifrons (*Sharp*) y susceptibilidad de larvas a insecticidas (*Coleoptera:Curculionidae*) en la Sierra de Arteaga. *MX, UAAAN*, 111.

López, Banda, de la Cruz, Salcedo, Barragán (2014). Efecto de Beauveria bassiana sobre la mosca *Anastrepha* sp. y larvas del cogollero *Spodoptera frugiperda* en condiciones de laboratorio. *Revista REBIOLEST.2* (1).

López, S., Riquelme, M., y Boltto, E. (2010). Integración del control biológico y químico de la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (*Hemiptera: Aleyrodidae*). *Revista Colombiana de Entomología, 36*(2), 190-194.

Lucero, A., L. Peña, y T. Bacca. 2004. Evaluación de la actividad biocontroladora de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre larvas de Ancognatha scarabaeiodes (Coleoptera: Scarabaeidae). Revista Corpoica: Cienc. Tecnol. Agropecuaria 5(1):43 - 48.

Luque, A. (2011). Micología. Centro de Referencia de Micología. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas UNR. pp 34.

Martin, J., Mifsud, D. y Rapisarda, C. (2010). The whiteflies (Hemiptera:Aleyrodidae) of Europe and Mediterranean basin. *Bulletin of Entomological Research*, 407-448.

Martin, J. (2007). Giant whiteflies (*Sternorrhyncha, Aleyrodidae*): a discussion of their taxonomic and evolutionary significance, with the description of a new species of *Udamoselis* Enderlein from Ecuador. *Tijdschrift voor Entomologie,* 150, 13-29.

MARIN, P y BUSTILLO, A. 2002. Pruebas microbiológicas y físico-químicas para el control de calidad de hongos entomopatógenos. In. Memorias del Curso Internacional Teórico – Práctico sobre Entomopatógenos, Parasitoides y otros Enemigos de la Broca del Café. CENICAFE, Chinchiná, Colombia, marzo 11 al 15 del 2002. 72-116 p

Mendoza, A. (2013). Controladores biológicos de plagas. Boletín Hortícola. Recuperado https://www.agro.unlp.edu.ar/sites/default/files/paginas/boletin_horticola_nro_51_0.pdf

Monzón, M. (2010). Producción uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas 63*, 95-103.

Morales, F. J. y Anderson, P.K. (2001). The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. *Archives of Virology 146*: 415- 441.

Morales, V., Garay, B., Romero, A. y Sánchez, J. (2009). Insecticidas biológicos en el control de insectos plaga: agrícolas, forestales de almacén y urbanas en México. *Instituto de Investigaciones Químico Biológicas,* 1-5.

Mound, L. y Halsey, S. (2009). Whitefly of the World: A systematic catalogue of the Aleyrodidae (Homóptera) with host plant and natural enemy data. 340. *British Museum (Natural History). 6*(2).

Motta, P. y Murcia, B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. Ambiente y Agua. *An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 6(2), 77-90.

Murata, A., Caetano, C., Bortoli, S y Brito, A. (2006). Capacidad de consumo de Chrysoperla externa (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) en diferentes presas. *Revista. Caatinga* 19:304-309

Nava, U., Riley, A. y Harris, M. (2010). Temperature and plant effects on development, survival, and fecundity of *Bemisia argentifolii* (Homóptera: *Aleyrodidae*). *Environmental Entomology, 30*(1), 55- 63.

Ortega, L. y Carpia, V. (2020). Moscas blancas (Hemiptera: Aleyrodidae) en México: estatus, especies, distribución e importancia. *Universidad de Guadalajara, Dugesiana 27*(1), 37-54.

Ortega, A., Lagunes, A., Rodriguez, J., Rodriguez, C., Alatorre, R., y Barcenas, N. (2015). Susceptibilidad a insecticidas en adultos de mosquita blanca Trialeurodes vaporariorum (West.)(Homóptera: Aleyrodidae) de Tepoztlán, Morelos, México. *Agrociencia*.(1), 249-254.

Ortega, A., (2008). Bioecología de moscas blancas In: S. Infante G. (Ed.). *Moscas Blancas: Temas selectos sobre su manejo*. Colegio de Postgraduados, Editorial: Mundi Prensa, México.

Pérez, M., Ruiz, D., Schneider, M., Autino, J. y Romanelli, G. (2013). La química verde como fuente de nuevos compuestos. *Revista Ciencia en Desarrollo para el control de plagas agrícolas*, *4*(2), 83-91.

Perring, T., Farrar, T., Cooper, D. y Rodriguez, R. (2012). Identification of a whitefly species by genomic and behavioral studies and evidence for a new species of Whitefly: UCR findings and implications. *California Agriculture*. University of California USA. 74-77.

Porcuna, J. (2010). Moscas blancas. Ficha Técnica de insectos- Servicios de sanidad Vegetal. *Revista Agroecológica Española*. Recuperado del sitio web

https://www.agroecologia.net/recursos/Revista_Ae/Ae_a_la_Practica/fichas/N2/Revista_AE_N%C2%BA2_ficha_insecto.pdf

Quesada-Moraga, E. E. A. A., Maranhao, E. A. A., Valverde-García, P., & Santiago-Álvarez, 8C. (2006). Selection of Beauveria bassiana isolates for control of the whiteflies Bemisia tabaci and Trialeurodes vaporariorum on the basis of their virulence, thermal requirements, and toxicogenic activity. Biological control, 36(3), 274-287.

Salguero, V. (2014). Manejo de mosca blanca y acolchado de tomate. Programa de investigación Agrícola ARF. Recuperado de http://www.sidalc.net/REPDOC/A6257E/A6257E.PDF

Sánchez, O., Carapia, V., García, O. y Castillo, A. (2018). Primer registro para México de *Aleurothrixus myrtacei* Bondar, 1923 (Hemiptera: Aleyrodidae), sus hospederos y distribución. *Acta zoológica Mexicana, 34.*

Santamaría, A., Costa, J., Martínez, A y Ferrer, J. (2008). Ensayo del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin para el control de la mosca blanca de los cítricos *Aleurothrixus floccosus* (Maskell) (Homoptera: *Aleyrodidae*) y su acción sobre el parásito *Cales noacki* (Howard) (*Hymenoptera: Aphelinidae*). *Boletín vegetal Sanitario de plagas, 24*, 695-706.

Steinhaus, E. (2011). Nutritional requirements for conidial germination and hyphal growth of *Beauveria bassiana.* Bio Uruguay. Programa de Control Biológico. Recuperado de https://www.biouruguayinternacional.com/control-biologico/

Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo- SENPLADES (2017). Plan Nacional de Desarrollo 2017 – 2021 Toda una Vida. Secretaria Técnica de planificación. Recuperado de https://www.planificacion.gob.ec/plan-nacional-de-desarrollo-2017-2021-toda-una-vida/

Silva, A., Reis, S., Souza, B., Carvalho, C., Carvalho, G y Cosme, A. (2006). Fluctuación poblacional de adultos de *Chrysoperla* externa (Hagen, 1861) (Neuroptera: *Chrysopidae*) en cafeteros conducidos en sistemas orgánico e convencional. Manejo Integrado de Plagas 77:44-49.

Subía G., C., Peralta L., E., Falconí C., E., Pinzon Z., J., Mooney, D., y Swinton, S. (2007). *Diagnósto sobre el cultivo de fréjol arbustivo y el uso de pesticidas en el sistema deproducción, en los valles del Chota y Mira.* Quito: tecnigrava.

Suquilanda, M. (2016). Agricultura Orgánica. Quito - Ecuador: Ediciones Universidad Partilicular Salesiana.

Tamayo M., y Londaño Z., (2001). Manejo integrado de enfermedades y plagas del fríjol Manual Técnico de campo para su reconocimiento y control. Boletin Técnico Nº 10, Rionegro: CORPOICA. Recuperado de http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/6409/1/Manejo%20integrado%20de%20plagas%20y%20enfermedades%20en%20frijol.pdf

Tanada, Y. y Kaya, H. (2012). *Insect Patology*. Editorial: Academic Press. Recuperado de https://www.elsevier.com/books/insect-pathology/tanada/978-0-08-092625-4

Texto Unificado Legislación Secundaria del Medio Ambiente (TULSMA) (2002). Texto Unificado Legislación Secundaria, Medio Ambiente, Parte I Decreto Ejecutivo 3516 Registro Oficial Suplemento 2 de 31-mar-2003 Ultima modificación: 14-ago-2012 Estado: Vigente.

Thungrabeab, M. y Tongma, S. 2007. Efecto de hongos entomopatógenos, *Beauveria bassiana* (Bálsamo) y *Metarhizium anisopliae* (Metsch) en insectos no objetivo. *KMITL Science and Technology Jornada*. 7: 8-12.

Urías, M., Murphy, K. y Berber, G. (2005). Incidencia de Mosquita Blanca(Hemiptera: Aleyrodidae), Áfidos(Hemiptera:Aphididae) y Virosis en melón de Jalisco. *Folia Entomológica Méxicana*,*44.* 321-337.

Valarezo, O., Cañarte, E., Navarrete, B., Guerrero, J. M., y Arias, B. (2013). Diagnóstico de la " mosca blanca "- Perspectivas de la ecología del paisaje en entomología aplicada en Ecuador. *Revista Agrosavia*. 13–20. Recuperado en http://revista.corpoica.org.co/index.php/revista/oai?verb=ListRecords&metadataPrefix=oai_dc&set=revista:SVPC

Valladares, C. (2010). *Fundamentos fisiológicos del fréjol.* MCgraw hill interamerica. Recuperado del sitio web http://www.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/WEBFV_2010/do

Vázquez, L., C. Murguido, A. Elizondo, O. Elósegui, y F. Morales. 2007. Control biológico de la mosca blanca Bemisia tabaci. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV). Publicación CIAT 355:1-56.

Velásquez, J., y Giraldo, P. (2005). *Posibilidades competitivas de productos prioritarias de Antoquia.* Antoquia: Gobernación de Antioquia Departamento de Planificación-Secretaría de productividad y competitividad.

Vidal, C., Lacey, L., y Fargue, J. (2017). Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: *Hyphomycetes*) against *Bemisia argentifolii* (Homoptera: *Aleyrodidae*) with a description of a bioassay method. *Journal of Economic Entomology*, *90*(3), 765-772.

Wraight, S., Carruthers, R., Bradley, C., Jaronski, S., Lacey, L., Wood, P., y Galini. (2008). Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly Bemisia argentifolli. *Journal of Invertebrate Pathology*, 71(3), 217-226.