



# ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

## DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

### CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

#### TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO

**TEMA: INCLUSIÓN DE *Beauveria bassiana* EN LA ROTACIÓN DEL  
CONTROL QUÍMICO PARA EL MANEJO DE *Tetranychus urticae* EN EL  
CULTIVO DE ROSA (*Rosa* sp.), VARIEDAD MONDIAL EN LA FINCA  
FLORIFRUT, TABACUNDO-ECUADOR”**

**AUTOR: MANTILLA AGUILAR, GABRIELA ESTEFANÍA**

**DIRECTOR: FALCONÍ SAA, CESAR EDUARDO, PhD.**

**SANGOLQUÍ**

**2020**



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**CERTIFICACIÓN**

Certifico que el trabajo de titulación, ***“INCLUSIÓN DE Beauveria bassiana EN LA ROTACIÓN DEL CONTROL QUÍMICO PARA EL MANEJO DE Tetranychus urticae EN EL CULTIVO DE ROSA (Rosa sp.), VARIEDAD MONDIAL EN LA FINCA FLORIFRUT, TABACUNDO-ECUADOR”*** fue realizado por la señorita ***Mantilla Aguilar, Gabriela Estefanía*** el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

**Sangolquí, 31 de enero del 2020**

**Falconí Saa, Cesar Eduardo, PhD**

C.I: 0601556459



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, *Mantilla Aguilar, Gabriela Estefanía*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: *Inclusión de Beauveria bassiana en la rotación del control químico para el manejo de Tetranychus urticae en el cultivo de rosa (rosa sp.), variedad Mondial en la finca Florifrut, Tabacundo-Ecuador*, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 31 de enero del 2020

  
.....  
**Gabriela Estefanía Mantilla Aguilar**  
C.I: 172753311-7



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

**AUTORIZACIÓN**

*Yo, Mantilla Aguilar, Gabriela Estefanía autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **Inclusión de Beauveria bassiana en la rotación del control químico para el manejo de Tetranychus urticae en el cultivo de rosa (rosa sp.), variedad Mondial en la finca Florifrut, Tabacundo-Ecuador en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.***

Sangolquí, 31 de enero del 2020

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Gabriela Mantilla', written over a horizontal dotted line.

Gabriela Estefanía Mantilla Aguilar

C.I: 172753311-7

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mi madre Silvia por su apoyo incondicional, por siempre estar junto a mí en todo momento, por sus palabras llenas de aliento y sobre todo por su amor.

A mi padre Luis por su esfuerzo para permitirme cumplir un sueño más y por aportar en mí el valor de la disciplina.

A mis hermanos y sobre todo a mis sobrinos José Esteban, Thais y Manú por ser mi centro y motivo de superación.

Finalmente quiero dedicar esta tesis a todos mis amigos, por apoyarme cuando más los necesité, por extender su mano en momentos difíciles y por el cariño.

*Gabriela Mantilla.*

## AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi gratitud a Dios, quien con su bendición llena siempre mi vida

A mis padres que, con su apoyo incondicional, amor y confianza permitieron que logre culminar mi carrera profesional.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, a sus autoridades y profesores, por abrir sus puertas y darme la confianza necesaria para triunfar en la vida y transmitir conocimiento para mi formación profesional.

A la empresa Florifrut S.A. especialmente a la Ing. Didriana Martínez por abrirme las puertas y permitirme realizar todo el proceso investigativo dentro de la florícola a la cual pertenece.

A la Ing. Germania Paillacho por abrirme las puertas de su laboratorio y compartir conmigo sus conocimientos, por su ayuda incondicional y por sus consejos en todo momento.

A mi director de tesis, Dr. Cesar Falconí, quien con su dirección, conocimiento, enseñanza y colaboración permitió el desarrollo de este trabajo.

También me gustaría agradecer a mis profesores que durante toda mi carrera profesional han aportado a mi formación.

A mis amigos Kevin, Sam, Luis Miguel, y José por su amistad y apoyo.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

### CARÁTULA

<b>CERTIFICACIÓN .....</b>	<b>i</b>
<b>AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD .....</b>	<b>ii</b>
<b>AUTORIZACIÓN .....</b>	<b>iii</b>
<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>iv</b>
<b>AGRADECIMIENTO .....</b>	<b>v</b>
<b>ÍNDICE DE CONTENIDOS .....</b>	<b>vi</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS .....</b>	<b>xii</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>xv</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>xvi</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xvii</b>

### CAPÍTULO I

#### INTRODUCCIÓN

1.1	Antecedentes .....	1
1.2	Justificación .....	2
1.3	Planteamiento del problema.....	3
1.3.1	Los efectos .....	3
1.3.2	Las causas .....	3
1.4	Objetivos .....	3
1.4.1	Objetivo general .....	3
1.4.2	Objetivos específicos .....	4
1.5	Hipótesis.....	4

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

2.1	Cultivo de rosa en Ecuador .....	5
2.2	Clasificación taxonómica de <i>Rosa</i> sp.....	7
2.2.1	Características de la rosa ecuatoriana .....	7
2.2.2	Variedad Mondial .....	7
2.3	Requerimientos climáticos .....	8
2.3.1	Temperatura .....	8
2.3.2	Iluminación .....	8
2.3.3	Humedad relativa .....	8
2.4	Plagas .....	9
2.4.1	Pulgones .....	9
2.4.2	Trips .....	9
2.4.3	Mosca blanca.....	10
2.4.4	Ácaros .....	10
2.4.5	Arañita Roja .....	11
2.4.5.1	Clasificación taxonómica.....	11
2.4.5.2	Ciclo de vida y apariencia.....	11
2.4.5.3	Tiempo de desarrollo .....	13
2.4.5.4	Reproducción y crecimiento de la población .....	13
2.4.5.5	Daños y síntomas .....	14
2.4.5.6	Umbral económico.....	15
2.5	Métodos de Control.....	15
2.5.1	Control químico .....	15
2.5.2	Control cultural .....	16
2.5.3	Control biológico .....	16
2.6	Hongos entomopatógenos .....	17
2.6.1	Mecanismo de acción.....	18
2.7	Productos estudiados.....	19



2.7.1	<i>Beauveria bassiana</i> .....	19
2.7.1.1	Compatibilidad con agroquímicos .....	20

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	Lugar de investigación .....	21
3.1.1	Fase de laboratorio .....	21
3.1.2	Fase de campo .....	21
3.2	Materiales .....	22
3.3	Fase de laboratorio .....	23
3.3.1	Reactivación de cepa de <i>Beauveria bassiana</i> .....	23
3.3.1.1	Preparación de medio de cultivo .....	23
3.3.1.2	Siembra del hongo entomopatógeno .....	23
3.3.1.3	Solución de esporas de <i>Beauveria bassiana</i> .....	24
3.3.1.4	Caracterización de <i>Beauveria bassiana</i> .....	24
3.3.1.5	Monocultivo de <i>B. bassiana</i> .....	25
3.3.1.6	Recuento de conidios .....	25
3.3.2	Viabilidad de cepa de <i>Beauveria bassiana</i> .....	26
3.3.3	Tiempo de letalidad al 50% (TL50) de la población expuesta .....	26
3.3.4	Conservación de la cepa de <i>Beauveria bassiana</i> .....	26
3.3.5	Pruebas de sensibilidad de <i>Beauveria bassiana</i> a diferentes agroquímicos (técnica sensidiscos) .....	27
3.3.6	Propagación de <i>Beauveria bassiana</i> , en arroz .....	29
3.3.7	Bancos de dilución (método de dilución y plateo) .....	31
3.3.8	Control de calidad de la producción del hongo .....	32
3.3.8.1	Concentración de esporas .....	32
3.3.8.2	Prueba de pureza .....	33
3.4	Fase de campo .....	33

3.4.1	Cosecha del hongo .....	34
3.4.2	Aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> en el cultivo de rosa .....	34
3.4.3	Aplicación de los tratamientos .....	34
3.4.4	Evaluación del ensayo.....	36
3.5	Diseño experimental .....	36
3.5.1	Fase de laboratorio .....	36
3.5.1.1	Factores de estudio.....	37
3.5.1.2	Tratamientos a comparar.....	37
3.5.1.3	Tipo de diseño .....	37
3.5.1.4	Características de las unidades experimentales .....	37
3.5.1.5	Esquema del análisis de varianza.....	38
3.5.1.6	Análisis funcional .....	38
3.5.1.7	Variables evaluadas.....	39
3.5.2	Fase de campo.....	39
3.5.2.1	Factores de estudio.....	39
3.5.2.2	Tratamientos a comparar.....	39
3.5.2.3	Tipo de diseño .....	40
3.5.2.4	Características de las unidades experimentales .....	40
3.5.2.5	Croquis experimental .....	41
3.5.2.6	Esquema del análisis de varianza.....	42
3.5.2.7	Análisis funcional .....	42
3.5.2.8	Variables evaluadas.....	42
3.6	Análisis económico .....	43

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADO Y DISCUSIÓN**

4.1	Pruebas de laboratorio.....	44
-----	-----------------------------	----

4.1.1	Identificación de <i>Beauveria bassiana</i> en el insecto plaga <i>Tetranychus urticae</i> en medio de cultivo PDA.....	44
4.1.2	Viabilidad y desarrollo del hongo <i>Beauveria bassiana</i> .....	44
4.1.3	Evaluación de la patogenicidad del hongo <i>Beauveria bassiana</i> sobre <i>Tetranychus urticae</i> .....	46
4.1.4	Bioensayos in vitro de la actividad entomopatógena del hongo reactivado .....	47
4.1.4.1	Prueba de población total.....	47
4.1.4.2	Prueba de germinación.....	48
4.1.4.3	Prueba de pureza .....	49
4.1.4.4	Prueba de patogenicidad .....	50
4.1.5	Análisis del crecimiento longitudinal de <i>Beauveria bassiana</i> .....	51
4.1.5.1	Crecimiento de <i>Beauveria bassiana</i> bajo tres métodos de aplicación de agroquímico ...	51
4.1.5.2	Crecimiento de <i>Beauveria bassiana</i> expuesto 23 agroquímicos. ....	53
4.1.5.3	Crecimiento de <i>Beauveria bassiana</i> bajo tres métodos de aplicación de agroquímicos .	55
4.2	Análisis de variables de campo .....	56
4.2.1	Pruebas de sensibilidad de <i>Beauveria bassiana</i> frente a productos químicos .....	56
4.2.2	Análisis de incidencia de <i>Tetranychus urticae</i> en campo .....	58
4.2.2.1	Pruebas de hipótesis marginales (Población de <i>Tetranychus urticae</i> ).....	58
4.2.2.2	Análisis de población de <i>Tetranychus urticae</i> bajo dos rotaciones de fumigación .....	58
4.2.2.3	Análisis de población de <i>Tetranychus urticae</i> por tercio de planta .....	59
4.2.2.4	Análisis de población de <i>Tetranychus urticae</i> en siete semanas .....	60
4.2.2.5	Análisis de población de <i>Tetranychus urticae</i> , interacción (rotación x semana).....	61
4.2.2.6	Análisis de población de <i>Tetranychus urticae</i> , interacción (tercio x semana).....	63
4.2.3	Análisis de severidad de <i>Tetranychus urticae</i> en campo .....	64
4.2.3.1	Pruebas de hipótesis marginales (Severidad).....	64
4.2.3.2	Análisis de severidad de <i>Tetranychus urticae</i> bajo dos rotaciones de fumigación.....	65
4.2.3.3	Análisis de severidad de <i>Tetranychus urticae</i> por tercio de planta.....	65
4.2.3.4	Análisis de severidad de <i>Tetranychus urticae</i> en siete semanas .....	66
4.2.3.5	Análisis de severidad de <i>Tetranychus urticae</i> , interacción (rotación x tercio).....	66

4.2.3.6	Análisis de severidad de <i>Tetranychus urticae</i> , interacción (rotación x semana) .....	67
4.2.3.7	Análisis de severidad de <i>Tetranychus urticae</i> , interacción (tercio x semana) .....	68
4.3	Análisis económico .....	69

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

5.1	Conclusiones .....	70
5.2	Recomendaciones.....	71
5.3	Bibliografía .....	72

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b>	<i>Duración de estadios de Tetranychus urticae a diferentes temperaturas en el rosal con una humedad relativa del 55-85%.....</i>	13
<b>Tabla 2</b>	<i>Lista de materias activas para el control de Tetranychus urticae .....</i>	16
<b>Tabla 3</b>	<i>Hongos entomopatógenos y sus hospederos .....</i>	17
<b>Tabla 4</b>	<i>Toxinas producidas por hongos entomopatógenos .....</i>	18
<b>Tabla 5</b>	<i>Escala para la evaluación de la capacidad antagónica de B. bassiana. ....</i>	28
<b>Tabla 6</b>	<i>Productos rotados en el plan de fumigación del bloque 5 (Plan de fumigación A) ..</i>	35
<b>Tabla 7</b>	<i>Productos rotados en el plan de fumigación del bloque 15 (Plan de fumigación B) ..</i>	35
<b>Tabla 8</b>	<i>Análisis de varianza del crecimiento de Beauveria bassiana, .....</i>	38
<b>Tabla 9</b>	<i>Descripción de los factores evaluados en el cultivo de rosa variedad Mondial.....</i>	39
<b>Tabla 10</b>	<i>Análisis de varianza de tratamientos evaluados. ....</i>	42
<b>Tabla 11</b>	<i>Mortalidad de Tetranychus urticae sometido a Beauveria bassiana.....</i>	46
<b>Tabla 12</b>	<i>Promedio±error estándar del crecimiento longitudinal (mm) del hongo (Beauveria bassiana) sometido a tres métodos de aplicación de agroquímico .....</i>	51
<b>Tabla 13</b>	<i>Promedio±error estándar del crecimiento longitudinal (cm) del hongo (Beauveria bassiana) .....</i>	54
<b>Tabla 14</b>	<i>Promedio±error estándar del crecimiento longitudinal (mm) del hongo (Beauveria bassiana) por los diferentes métodos de siembra .....</i>	56
<b>Tabla 15</b>	<i>Frecuencias de las medias de los agroquímicos evaulados con Beauveria bassiana.....</i>	57
<b>Tabla 16</b>	<i>Evaluación de elementos de variación.....</i>	58

<b>Tabla 17</b>	<i>Promedio ± error estándar del Número de ácaros sometido a dos tipos de rotación química de plantas de rosa variedad Mondial. ....</i>	<i>59</i>
<b>Tabla 18</b>	<i>Promedio ± error estándar del Número de ácaros evaluados en tres tercios de plantas de rosa variedad Mondial. ....</i>	<i>60</i>
<b>Tabla 19</b>	<i>Promedio ± error estándar del Número de ácaros evaluados en siete semanas en plantas de rosa variedad Mondial. ....</i>	<i>61</i>
<b>Tabla 20</b>	<i>Promedio ± error estándar del Número de ácaros evaluados en la interacción de rotación por el número de semanas. ....</i>	<i>62</i>
<b>Tabla 21</b>	<i>Promedio ± error estándar del número de ácaros evaluados en los tres tercios de las plantas de rosa variedad mundial ....</i>	<i>63</i>
<b>Tabla 22</b>	<i>Evaluación de elementos de variación. ....</i>	<i>64</i>
<b>Tabla 23</b>	<i>Promedio ± error estándar de la severidad de ácaros sometido a dos tipos de rotación química de plantas de rosa variedad Mondial. ....</i>	<i>65</i>
<b>Tabla 24</b>	<i>Promedio ± error estándar de la severidad de ácaros evaluados en tres tercios de de plantas de rosa variedad Mondial. ....</i>	<i>65</i>
<b>Tabla 25</b>	<i>Promedio ± error estándar de la severidad de ácaros evaluados en siete semanas en plantas de rosa variedad Mondial. ....</i>	<i>66</i>
<b>Tabla 26</b>	<i>Promedio ± error estándar de severidad, de la interacción entre rotación y tercio de la planta. ....</i>	<i>67</i>
<b>Tabla 27</b>	<i>Promedio ± error estándar de severidad de la interacción rotación x semana. ....</i>	<i>67</i>
<b>Tabla 28</b>	<i>Promedio ± error estándar de severidad de la interacción tercio x semana. ....</i>	<i>68</i>
<b>Tabla 29</b>	<i>Costos variables por tratamiento. ....</i>	<i>69</i>

**Tabla 30** *Análisis costo-beneficio por tratamiento* .....69

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Exportación total de flores 2009-2019(enero-septiembre) .....	5
<b>Figura 2</b>	Exportación por tipo de flor 2019 (enero-septiembre) .....	6
<b>Figura 3</b>	Ciclo de vida de <i>Tetranychus urticae</i> .....	12
<b>Figura 4</b>	Mapa de ubicación del proyecto en IASA I y ubicación de la empresa Florifrut S.A.....	22
<b>Figura 5</b>	Crecimiento radial de <i>B. bassiana</i> . .....	29
<b>Figura 6</b>	Metodología de sensibilidad de <i>Beauveria bassiana</i> a diferentes agroquímicos .....	29
<b>Figura 7</b>	Metodología Propagación de <i>Beauveria bassiana</i> , en arroz. ....	31
<b>Figura 8</b>	Distribución de los tratamientos en el laboratorio.....	38
<b>Figura 9</b>	a)Bio-ensayo de infección de <i>Beauveria bassiana</i> en <i>Tetranychus urticae</i> , crecimiento del hongo sobre toda la superficie de la caja Petri. b) momificación de ácaro.....	45
<b>Figura 10</b>	a) Cepa obtenida del inóculo de <i>Tetranychus urticae</i> b) Vista al microscopio del micelio de <i>Beauveria bassiana</i> , obtenido de la inoculación del acaro con el hongo. ....	45
<b>Figura 11</b>	Porcentaje de esporas presentes en diferentes diluciones .....	48
<b>Figura 12</b>	Porcentaje de esporas germinadas presentes en diferentes diluciones .....	49
<b>Figura 13</b>	Porcentaje de pureza presente en diferentes diluciones.....	49
<b>Figura 14</b>	Porcentaje de mortalidad de <i>Tetranychus urticae</i> presentes en diferentes diluciones.....	50



## RESUMEN

Una de las especies de ácaros que producen considerables pérdidas en el cultivo de rosas en Ecuador es *Tetranychus urticae* cuyo control con agroquímicos convencionales no es efectivo, por lo cual en el presente trabajo se evaluó la inclusión de *Beauveria bassiana* en rotación con el control químico para el manejo de *Tetranychus urticae* en el cultivo de rosa (*Rosa* sp.), variedad Mondial, a fin de conocer los agroquímicos que no afecten al crecimiento, dosis de *B. bassiana* y tiempo (siete semanas). La fase de laboratorio se realizó en la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE donde se efectuaron pruebas de viabilidad y patogenicidad de *B. bassiana* sobre *T. urticae* y pruebas de sensibilidad de *B. bassiana* a 23 agroquímicos. La fase de campo se realizó en la florícola Florifrut S.A., el experimento se dispuso en un diseño de bloque completamente al azar (DBCA) con arreglo factorial con 68 repeticiones, en donde se evaluó por siete semanas la incidencia y severidad de *Tetranychus urticae*, expuesto a dos planes de fumigación junto con la aplicación de *Beauveria bassiana*. Se determinó que el mayor número de individuos plaga ( $5,33 \pm 0,17$ ) y severidad ( $2,83 \pm 0,07$ ) se localizaron en el tercio bajo. La dosis óptima de aplicación de *Beauveria bassiana* es de  $1 \times 10^6$  en donde las semanas 5, 6 y 7 presentaron una disminución en incidencia ( $3,46 \pm 0,14$ )( $3,42 \pm 0,12$ )( $3,19 \pm 0,13$ ) y severidad ( $2,04 \pm 0,06$ )( $2,02 \pm 0,05$ )( $1,93 \pm 0,05$ ) de *Tetranychus urticae*.

## PALABRAS CLAVE

- *Tetranychus urticae*
- *Beauveria bassiana*
- INCIDENCIA
- SEVERIDAD

## ABSTRACT

One of the mite species that produce considerable losses in the cultivation of roses in Ecuador is *Tetranychus urticae* where control with conventional agrochemicals is not effective; Therefore, in this work we evaluated the inclusion of *Beauveria bassiana* in the rotation of the chemical control for the management of *Tetranychus urticae* in the cultivation of rose (*Rosa* sp.), Mondial variety, in order to know the agrochemicals that are associated with fungus without causing any variation in its growth, dose of *B. bassiana* and time (seven weeks). The laboratory phase was carried out at the University of the Armed Forces ESPE where feasibility and pathogenicity tests of *B. bassiana* were performed on *T. urticae* and Sensitivity tests of *B. bassiana* at 23 agrochemicals. The field phase was carried out at Florifrut SA floricultural, the experiment was arranged in a completely randomized block design (DBCA) with factorial arrangement with 68 repetitions, where the incidence and severity of *Tetranychus urticae*, exposed, was evaluated for seven weeks to two fumigation plans together with the application of *Beauveria bassiana*. It was determined that the greatest number of plague individuals ( $5,33\pm 0,17$ ) and severity ( $2,83\pm 0,07$ ) were located in the lower third. The optimal dose of *Beauveria bassiana* application is  $1\times 10^6$  where weeks 5, 6 and 7 showed a decrease in incidence ( $3,46\pm 0,14$ ) ( $3,42\pm 0,12$ ) ( $3,19\pm 0,13$ ) and severity ( $2,04\pm 0,06$ ) ( $2,02\pm 0,05$ ) ( $1,93\pm 0,05$ ) of *Tetranychus urticae*.

## KEYWORDS

- *Tetranychus urticae*
- *Beauveria bassiana*
- INCIDENCE
- SEVERITY

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

### 1.1 Antecedentes

El sector agropecuario en el Ecuador ha presentado gran desarrollo por su ubicación geográfica y condiciones climáticas, promoviendo la exportación de productos como banano, cacao, camarón, atún y rosas, con gran aceptación en mercados internacionales (Perez, 2017). El cultivo de rosas inició en la década de los 80 hasta la actualidad, consolidándose como un rubro de exportación no tradicional con gran incidencia en la economía del país (Vásquez, 2016).

La comercialización de la rosa en diferentes mercados ha posicionado al país como el cuarto productor a nivel mundial; con una producción de 15 000 a 20 000 rosas al día, siendo las principales zonas dedicadas a esta actividad las provincias de Pichincha, Cotopaxi, Azuay, Carchi e Imbabura (Valdivia, 2015). Actualmente, la producción de la rosa ocupa una superficie de 3 950 ha y la demanda de los mercados internacionales es cada vez más exigente al momento de adquirir flores limpias y de calidad, que conlleva aspectos como el uso limitado de agroquímicos para el control de plagas y enfermedades, carencia de daños mecánicos o de plagas, cuidado del medio ambiente, entre otros (Zambrano, 2016)

Una de las causas para la pérdida de la rosa de exportación, se debe a los daños ocasionados por plagas, siendo una de las principales la araña roja (*Tetranychus urticae*) que ocasiona daños en las hojas, botones y tallos, afectando de forma directa a la producción y calidad por su resistencia a químicos (Argolo, 2012). Bajo estos aspectos el presente estudio tiene como objetivo evaluar la inclusión de *Beauveria bassiana* en la rotación del control químico para el

manejo de *Tetranychus urticae* en el cultivo de rosa (*Rosa* sp.), variedad Mondial en la finca FLORIFRUT, Tabacundo-Ecuador”

## 1.2 Justificación

El cultivo de la rosa ha mostrado ser el más importante de la producción agrícola de la región interandina, su gran demanda ha generado un monocultivo de diversas variedades, favoreciendo al desarrollo de plagas y enfermedades, constituyéndose así el ácaro (*Tetranychus urticae*) como la plaga que más amenaza al sector florícola, manifestándose así a través del tiempo. En un inicio esta se encontraba regulada de forma natural por los enemigos naturales que fueron desapareciendo por el uso irracional de agroquímicos, como única solución para su control inmediato pero esto ha ocasionado a largo plazo la resistencia de la arañita roja (Landeros, Cerna, & Badii, 2010).

En la actualidad los requisitos para la exportación a diferentes mercados son más exigentes especialmente en el tema de uso de agroquímicos, que implica la disminución de los mismos manteniendo la calidad es decir una “rosa limpia” o con menor residualidad, por lo cual los floricultores buscan nuevas estrategias amigables con el medio ambiente con la finalidad de proporcionar seguridad al consumidor y personal involucrado en la producción (García & Procel, 2011).

La propuesta de esta investigación se basa en el uso de hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* en una vinculación con sistema de producción que actualmente maneja la florícola FLORIFRUT S.A. para el control de arañita roja en la variedad Mondial.

### **1.3 Planteamiento del problema**

Dentro de las plagas que más afectan al cultivo de la rosa, se encuentra la arañita roja, plaga cosmopolita que ataca a 1100 especies vegetales de 140 familias ocasionando daños severos en la producción de rosa de corte, afectando la calidad de la flor y reduciendo la competitividad en mercados internacionales; los cuales exigen el cumplimiento de requisitos como el uso racional de químicos y la implementación de medidas amigables con el medio ambiente y con el ser humano (Robles, y otros, 2012).

#### **1.3.1 Los efectos**

La variedad Mondial del cultivo de rosa es una de las más susceptibles a daños provocados por *Tetranychus urticae* en el ciclo de producción, hechos que se ven reflejados en la calidad de la flor, registrando un 30% de pérdida de la rosa en post cosecha.

#### **1.3.2 Las causas**

El desarrollo de *Tetranychus urticae* depende de los factores climáticos especialmente de la temperatura y humedad que favorece el microclima que se genera en el invernadero y que a su vez estos aspectos son proporcionales a su ciclo de vida; también a esto se le suma la gran resistencia que ha desarrollado la arañita roja a diversos químicos.

### **1.4 Objetivos**

#### **1.4.1 Objetivo general**

Evaluar la inclusión de *Beauveria bassiana* en la rotación del control químico para el manejo de *Tetranychus urticae* en el cultivo de rosa (rosa sp.), variedad Mondial en la finca FLORIFRUT, Tabacundo-Ecuador”.

### 1.4.2 Objetivos específicos

- Determinar la tolerancia de *Beauveria bassiana* a diferentes agroquímicos in vitro
- Identificar los daños causados en la variedad Mondial por *Tetranychus urticae* con tratamientos de *Beauveria bassiana* y productos químicos mediante incidencia y severidad
- Establecer la factibilidad económica del empleo de hongos entomopatógenos para el control de *Tetranychus urticae*

### 1.5 Hipótesis

**Ho:** La inclusión de *B. bassiana* en la rotación química no tiene un efectivo control de *Tetranychus urticae*.

**Ha:** La inclusión de *B. bassiana* en la rotación química tiene un efectivo control de *Tetranychus urticae*.

**Ho:** *B. bassiana* en rotación química no presenta una reducción en el ámbito económico en comparación con el gasto habitual de insumos agrícolas utilizados contra *Tetranychus urticae* de la Finca FLORIFRUT S.A.

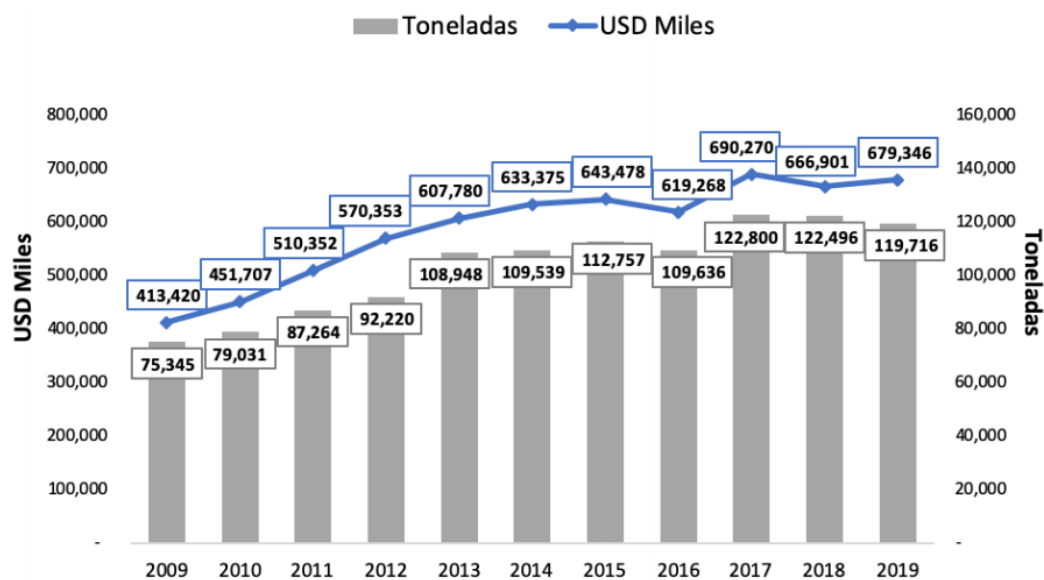
**Ha:** *B. Bassiana* en rotación química presenta una reducción en el ámbito económico en comparación con el gasto habitual de insumos agrícolas utilizados contra *Tetranychus urticae* de la Finca FLORIFRUT S.A.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Cultivo de rosa en Ecuador

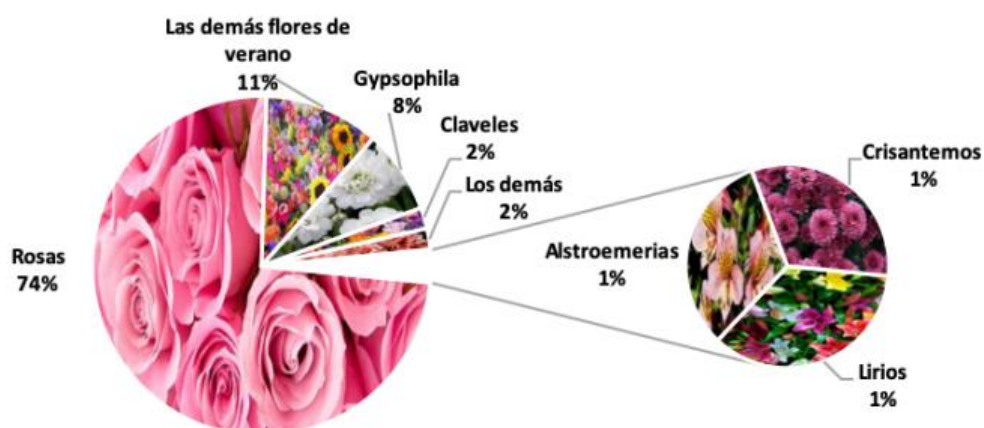
Según (Vásquez, 2016), a partir de los años 80 empezó el desarrollo de la producción de rosas en el Ecuador. Las flores ecuatorianas son consideradas una de las mejores del mundo, la variedad de flores que se cultivan, cautivan por su calidad y belleza. Poseen características únicas: tallos gruesos y largos, botones grandes con coloridos pétalos y hojas brillantes. Además, su prolongada vida en florero le convierte a Ecuador en el tercer exportador a nivel mundial, detrás de Holanda y Colombia. Los principales mercados son Estados Unidos con el 60% y el 40% a Rusia, Europa y Sudamérica. Este cultivo se produce en la Sierra, excepto las flores tropicales que por el clima se adaptan mejor a la Costa.



**Figura 1** Exportación total de flores 2009-2019(enero-septiembre)

Fuente: (EXPOFLORES, 2019)

Las exportaciones en 2019 alcanzaron los USD 679 millones (FOB), superando con 1,9% al del año 2018. Además, el volumen exportado en toneladas métricas, presentaron una disminución del 2,3% respecto al año 2018. En general las exportaciones en los últimos años han ido en aumento con algunas variaciones (EXPOFLORES, 2019)



**Figura 2** Exportación por tipo de flor 2019 (enero-septiembre)

Fuente: (EXPOFLORES, 2019)

La superficie plantada de flores en el año 2018 fue de 7.508 hectáreas, de las cuales 4.966 hectáreas son del cultivo de rosas, el cual representa el 74 % del total nacional de flores cultivadas, seguido de las flores de verano con 11%. La rosa es la flor de mayor producción con 3.199 millones de tallos cortados a nivel nacional (EXPOFLORES, 2019).



## 2.2 Clasificación taxonómica de *Rosa* sp.

La clasificación taxonómica de la (*Rosa* sp.) se presenta a continuación (Figueroa & García, 2002):

Reino:	Vegetal
División:	Embryophyta siphonogama
Subdivisión:	Angiospermae
Clase:	Dicotyledoneae
Orden:	Rosales
Familia:	Rosacea
Género:	<i>Rosa</i>
Especie:	<i>Rosa</i> sp.

### 2.2.1 Características de la rosa ecuatoriana

Las rosas que posee nuestro país, son el resultado de varios procesos de selección y cruzamientos, los cuales resultan en diferentes variedades, con características únicas que permiten un desarrollo óptimo del cultivo. Las flores se presentan en diferentes colores: rojo, blanco, rosa, amarillo, lavanda, etc., con diversas formas, distribución de pétalos, matices y sombras. Éstas nacen en tallos espinosos y verticales.

### 2.2.2 Variedad Mundial

Esta es una variedad híbrida, que pertenece a la clase de Súper Premium. La planta puede alcanzar tallos desde 50 a 90 cm de largo, los brotes son bastante fuertes y cubierto de abundante follaje. La flor presenta una forma de copa con 50 pétalos ondulados. El color del botón es blanco cremoso con ligeros tonos verdosos. Su vida en florero oscila entre 12 a 14 días (GREENSITE, 2019).

## **2.3 Requerimientos climáticos**

### **2.3.1 Temperatura**

Este factor se encuentra relacionado con el crecimiento y desarrollo vegetal del cultivo de rosa. Las temperaturas óptimas oscilan entre 17°C a 25°C, con un mínimo de 15°C en la noche y 28°C en el día. Temperaturas muy bajas retrasan el crecimiento de la planta, deformación del botón floral y temperaturas excesivas producen flores con botones muy pequeños y colores más cálidos (Taco, 2018)

### **2.3.2 Iluminación**

La luz es el factor de crecimiento que influye en el desarrollo del cultivo de rosa, la cantidad como su calidad son importantes en los procesos de fotosíntesis, en donde las hojas son los encargados de absorber la luz necesaria. A través de la clorofila que se encuentran en las hojas, además de la presencia de CO<sub>2</sub> y agua, la luz se transforma en los azúcares que necesita la planta. En los meses de verano, en donde la iluminación aumenta su intensidad, la producción de flores es más alta que durante los meses de invierno. Además, la variación de iluminación permite una mayor coloración de los pétalos. El fotoperiodo óptimo para un buen desarrollo del cultivo es de 5 – 6 horas/día (Jimenez, 2019) (Hidalgo, 2015).

### **2.3.3 Humedad relativa**

La humedad relativa es la cantidad de agua contenida en el aire, esta debe oscilar entre el 60 y 80% dentro del invernadero, este factor climático puede variar el rendimiento final del cultivo de rosa, si el valor disminuye las rosas tienden a producir tallos delgados y botones florales pequeños, además de la presencia de plagas como pulgón y ácaros, si el valor aumenta el

desarrollo de hongos como *Botrytis*. La humedad del cultivo se puede regular mediante la ventilación de los invernaderos o el humedecimiento de los pasillos durante las horas más cálidas del día (Jimenez, 2019) (Taco, 2018).

## **2.4 Plagas**

Las principales plagas que se presentan en el cultivo de rosa son pulgones, trips, mosca blanca y ácaros; su virulencia e infestación se incrementa dentro de un invernadero que en condiciones normales (Fainstein, 1997)

### **2.4.1 Pulgones**

El pulgón o áfido (*Macrosiphum rosae*) perteneciente al orden hemíptero y familia Aphididae presenta un cuerpo blando en forma ovoidal, sin distinción de partes regionales (cabeza, tórax, y abdomen) de color verdoso que puede alcanzar cuatro milímetros de longitud y pueden llegar a desarrollar alas completamente transparentes (Belda, 1991). Este insecto en la rosa, ataca los vástagos jóvenes y a las yemas florales; que posteriormente aparecen con manchas descoloridas hundidas en los pétalos, además secretan una sustancia azucarada que promueve el crecimiento de la fumagina y una simbiosis con hormigas, su mejor desarrollo se manifiesta en verano, al igual que otras plagas esta presenta una resistencia a los insecticidas químicos, excepto algunos piretroides.

### **2.4.2 Trips**

Los trips pertenecen al orden Thysanoptera y familia Thripidae, son de cuerpo alargado con dos pares de alas estrechas, su coloración variada desde amarillo a café y pueden medir entre 1-2 mm de longitud en donde la hembra es más grande que el macho; se presenta mayoritariamente

en verano. Los daños que ocasionan los trips se deben principalmente a su actividad alimenticia a través de su aparato bucal chupador-picador que ocasiona manchas decoloradas y bordes deformados en los lugares que se alimenta (hojas, tallos, yemas apicales y florales, etc) que suelen necrosarse posteriormente y en algunos casos los nuevos brotes pueden presentar aborto o deformaciones, reduciendo la calidad de la flor (Pujota, 2013).

### **2.4.3 Mosca blanca**

La mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) perteneciente al orden Hemiptera y familia Aleyrodidae, se caracteriza por tener el cuerpo y un par de alas cubiertos de un polvillo blanquecino, su tamaño no es mayor a 3 mm además cuenta con un desarrollado aparato bucal picador-chupador (Porcuna, 2011). Su amplia distribución geográfica y rango de hospederos cultivados y silvestres le han otorgado una gran importancia económica debido a los daños que esta provoca como su succión de savia del floema influyendo está en los procesos fisiológicos generando la reducción en el rendimiento de la planta también su producción de secreciones azucaradas afecta indirectamente la producción porque favorece el desarrollo de hongos (fumagina) que interfiere con la fotosíntesis (Cardona, Rodriguez, Bueno, & Tapia, 2005).

### **2.4.4 Ácaros**

Los ácaros constituyen la plaga más grave que ataca a diversos cultivos en el todo el mundo, comprendiendo entre el 15-20% de las especies con mayor incidencia económica. (García & Procel, 2011), mencionan que los grupos de mayor interés agronómico son los siguientes:

- Tetranychidos (Tetranychidae)- Arañas rojas y pardas
- Tarsonemidos (Tarsonemidae)- Arañas blancas

- Tenuipalpidos (Tenuipalpidae)- Falsas arañas rojas
- Eriofidos (Eriophyidae)

### 2.4.5 Arañita Roja

La arañita roja (*Tetranychus urticae*), es un ácaro tetraníquido, cosmopolita y muy polífago, que aparece cuando confluyen condiciones cálidas y sequedad ambiental que afecta a numerosos cultivos de importancia económica sea que estos se encuentren protegidos o al aire libre (Argolo, 2012).

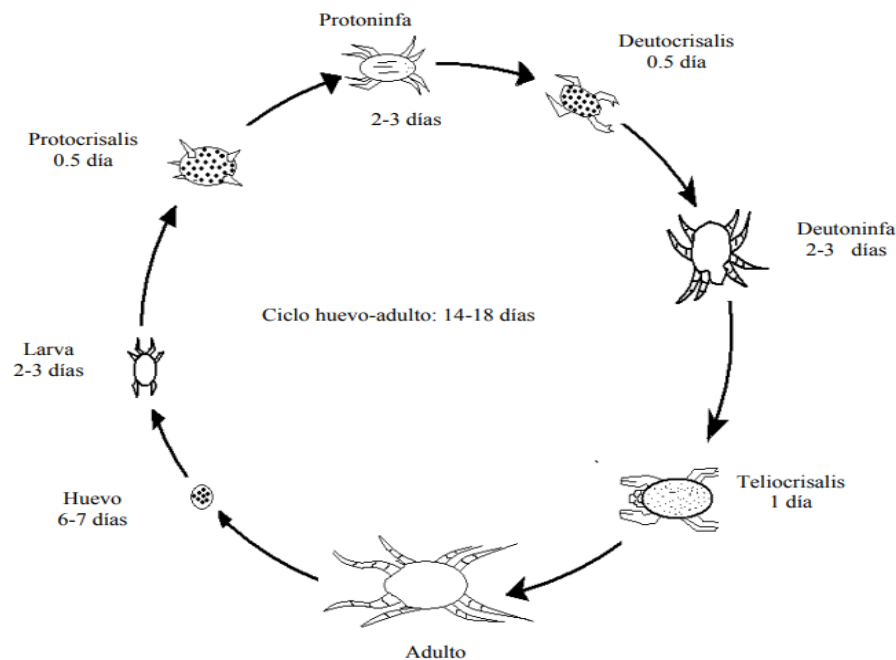
#### 2.4.5.1 Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de *Tetranychus urticae* se presenta a continuación (Figueroa & García, 2002):

Reino:	Animalia
Filo:	Arthropoda
Clase:	Arachnida
Subclase:	Acari
Familia:	Tetranychidae
Género:	<i>Tetranychus</i>
Especie:	<i>Urticae</i>
Nombre científico	<i>Tetranychus urticae</i>
Nombre común:	Araña roja, acaro rojo

#### 2.4.5.2 Ciclo de vida y apariencia

El ciclo de vida de *Tetranychus urticae*, posee cinco estadios que son: huevo, larva, protoninfa (primer estado ninfal), deutoninfa (segundo estado ninfal) y adulto (Araujo, 2008). Presentándose al termino de los estadios larval y ninfales, periodos inactivos denominados ninfocrisálida, deutocrisálida y teliocrisálida respectivamente (Páramo, Corredor, & Sánchez, 1986).



**Figura 3** Ciclo de vida de *Tetranychus urticae*

Fuente: (INTAGRI, 2017)

Según (Toapanta, 2013), los estadios poseen las siguientes características:

- *Huevo:* Los huevos son esféricos, lisos y transparentes de color amarillento que se van tornando a medida que desarrollan de color blanco y perlado; estos son puestos por las hembras en el envés de las hojas cerca de la nervadura central.
- *Larva:* La larva es de forma redondeada con tres pares de patas, de color amarillo pálido cuando recién eclosionan posteriormente se tornan de color salmón. En esta etapa se aprecia dos manchas oscuras que aparecen en el medio del cuerpo.
- *Ninfa:* Las ninfas poseen cuatro pares de patas, su color varío de color verde claro a oscuro con las dos manchas, pero más grandes y claras que en la etapa de la larva a medida que se desarrolla en estado de protoninfa ya se diferencia el macho de la hembra.

- *Adulto*: Los adultos al igual que las ninfas cuentan con cuatro pares de patas y dos manchas en el dorso lateral. El macho es de color amarillento con un cuerpo más aperado, y es ligeramente más pequeño y móvil que la hembra, mientras que la hembra suele ser de color rojizo anaranjado de forma redondeada.

### 2.4.5.3 Tiempo de desarrollo

El ácaro se presenta durante todo el año y se debe tomar en cuenta que los machos se desarrollan más rápido que las hembras, pero su tiempo de desarrollo para ambos se ve influenciado de manera directa por los factores climáticos principalmente la temperatura y humedad relativa y de manera secundaria también dependerá del cultivo y la edad de la hoja, todos estos aspectos serán los responsables en que se prolongue o acorte el ciclo de vida siendo la temperatura optima entre 28-30<sup>0</sup>C y una humedad relativa de 80%, para el crecimiento de colonias de la arañita roja en tan solo 7 días.

**Tabla 1**

*Duración de estadios de Tetranychus urticae a diferentes temperaturas en el rosal con una humedad relativa del 55-85%.*

<b>Temperatura °C</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>25</b>	<b>30</b>	<b>35</b>
Huevo	14.3	6.7	4.3	2.8	2.4
Larva	6.7	2.8	1.8	1.3	1
Protoninfa	5.3	2.3	1.5	1.2	1
Deutoninfa	6.6	3.1	2	1.4	1.3
Total huevo-adulto	32.9	14.9	9.6	6.7	5.7
Total huevo-huevo	36.4	16.6	10.5	7.3	6.3

**Fuente:** (INTAGRI, 2017)

### 2.4.5.4 Reproducción y crecimiento de la población

La reproducción por lo general es sexual, aunque también puede darse por partenogénesis y estas comienza cuando el macho fecunda a la hembra tras la emergencia, esto sucede debido a la

feromona que libera la hembra lo que hace que el macho se mantenga cerca de la misma antes de que esta emerja, luego de la copula se presenta el periodo de preovoposición que va a depender de las condiciones climáticas, la puesta como tal se realiza en diferentes sitios siendo el preferido las hojas nuevas cerca a la nervadura principal (Porcuna, 2011).

Como solo se requiere de una sola cópula para fertilizar a todos los huevos las hembras pueden producir más de 100 huevos a una tasa de 5 a 10 huevos por hembra por día. En una relación de macho-hembra aproximadamente de 1:3 respectivamente (Manzanares, 2016)

Las hembras que ponen huevos fertilizados o diploides que se convierten en hembras, mientras que los huevos sin fertilizar o haploides se convertirán en machos; en donde las hembras fertilizadas tendrán la capacidad de producir hembras como machos mientras que las hembras no fertilizadas o vírgenes solo producirán a machos (Landeros, Cerna, & Badii, 2010)

#### **2.4.5.5 Daños y síntomas**

Los daños provocados por *Tetranychus urticae* debido principalmente a su actividad alimenticia presentan dos efectos:

- *Efecto externo:* El mayor daño se puede apreciar en el follaje de la planta, pero en otros casos también se puede observar en los frutos y tallos. El daño aparece con puntos cloróticos en el haz de las hojas, que puede ser confundido con deficiencias, pero a medida que la colonia de ácaros aumenta se produce la desecación e incluso defoliación debido a que las células son destruidas debido a la acción de los estiletes (Porcuna, 2011).
- *Efecto fisiológico:* La penetración de los estiletes y la succión de las células epidérmicas y parenquimáticas conllevan a la muerte de la célula afectando la tasa de transpiración y



actividad fotosintética (Landeros, Cerna, & Badii, 2010) . En otros casos en plantas ornamentales se puede presentar la disminución en crecimiento de la planta, menor número de tallos, tallos cortos o delgados, botones pequeños, trastornos en la apertura de la flor y hojas distorsionadas (Zambrano, 2016).

#### **2.4.5.6 Umbral económico**

Económicamente en el caso del cultivo de rosas, las pérdidas por causa de la araña roja mensualmente en una florícola de 35 ha de producción asciende a 20,500 dólares, entre la inversión en los acaricidas aplicados y la poca efectividad de control que estos alcanzan (Toapanta, 2013).

### **2.5 Métodos de Control**

#### **2.5.1 Control químico**

Este método sigue siendo el más utilizado para controlar *Tetranychus urticae* tanto en campo como en viveros, este debe hacer siempre y cuando la densidad del acaro sobrepase el umbral económico de daño (UED), y no como forma preventiva o por observar sólo síntomas; sin embargo este método ha demostrado ser eficaz a corto plazo lo que conlleva a los productores a repetir los tratamientos de manera inadecuada o incluso al uso de sustancias no autorizadas que pueden causar serios problemas como la eliminación de fauna útil y resistencia por parte del acaro (Argolo, 2012).

La adquisición de resistencia del acaro presupone que este método se utilice con rotación por grupo químico (Cardona, Rodriguez, Bueno, & Tapia, 2005).

(Acosta, 1992), menciona que puede haber una mayor infestación del ácaro debido a que los piretroides pueden estimular la reproducción y también por la aplicación de insecticidas dirigidos a otras plagas.

**Tabla 2**

*Lista de materias activas para el control de Tetranychus urticae*

<b>Modo de acción</b>	<b>Materia activa</b>	<b>Plazo de seguridad (días)</b>
Activador del canal cloro	Abamectina	10
Inhibidores de crecimiento de ácaros	Clofentezin	21
	Hexitiazox	14
	Etoxazol	14
Inhibidores de transporte de electrones	Piridaben	15
	Tebufenpirad	7
	Fenpiroximato	14
Inhibidores de la síntesis de ATP mitocondrial	Propargita	14
Inhibidores de la síntesis de lípidos	Spirodiclofen	14
Físico, asfixia	Aceite mineral 79%	7

**Fuente:** (Argolo, 2012)

### 2.5.2 Control cultural

Este método utiliza técnicas o prácticas culturales a fin de prevenir los ataques de las plagas, es decir, hacer el ambiente menos favorable para su desarrollo o disminuir sus daños. Dichas técnicas son: la rotación de cultivos, las técnicas de fertilización y manejo del riego, el uso de variedades resistentes, la poda, la cobertura del suelo, etc. (Argolo, 2012).

### 2.5.3 Control biológico

En los últimos años se ha dado un gran énfasis a este método que presupone el uso de enemigos naturales, siendo las especies predadoras más usadas pertenecientes a los géneros

*Phytoseiulus*, *Ambliseius* y *Neoseiulus*, que se encuentran disponibles comercialmente (García & Procel, 2011).

Otros enemigos naturales importantes para el manejo de ácaros plagas de la familia Tetranychidae son los hongos entomopatógenos aunque sus estudios ha sido limitados, estos en condiciones favorables para su desarrollo pueden causar en el acaro cambios en el color natural, pérdida de movimiento, momificación y muerte (Acosta, 1992).

## 2.6 Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos son microorganismos filogenéticamente diversos, heterotróficos, eucariontes, unicelulares o hifales (filamentosos), que presentan reproducción por esporas sexuales, asexuales o ambas ; utilizados para el control biológico de insectos que pueden llegar a causar epizootias que regulan las plagas manteniéndolas en niveles adecuados (Araujo, 2008). Se han reportado más de 750 especies diseminadas en el medio ambiente y provocando infecciones fungosas a poblaciones de artrópodos. (Belda, 1991), menciona que los géneros de mayor importancia para el sector agrícola son *Metarhizium*, *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Rhizopus* y *Fusarium*.

**Tabla 3**

*Hongos entomopatógenos y sus hospederos*

Subdivisión	Clase	Entomopatógeno	Hospedante
Mastigomycotina	Chytridiomycetes	Coelomyces	Larvas mosquitos
	Oomycetes	Leptolegnia	Larvas mosquitos
		Lagenidium giganteum	
Zygomycotina	Zygomycetes	Mucor	Varios por heridas
		Entomophthorales	Diversos
Ascomycotina	Plectomycetes	Ascospaera	Abejas

CONTINÚA



Deuteromycotina	Pyrenomycetes	Cordyceps	Varios
	Coelomycetes	Ascbersonia	Cochinillas y moscas blancas
	Hyphomycetes	Beauveria	Varios
		Culicinomyces	Mosquitos
		Hirsutella	Ácaros
		Metarhizium	Varios
		Nomuraea	Noctuidos
		Paecilomyces	Varios
		Tolypocladium	Larvas mosquitos
		Verticillium	Cochinillas, moscas blancas, pulgones

Fuente: (Belda, 1991)

### 2.6.1 Mecanismo de acción

El mecanismo de invasión de los hongos entomopatógenos es único, debido a que no requieren ser ingeridos por el insecto que se va a controlar si no que lo hacen a través del tegumento mediante contacto (Motta & Murcia, 2011).

Los hongos entomopatógenos poseen diferentes mecanismos de acción para infectar a los insectos, pero en general el ciclo de vida inicia con la germinación de la espора y penetración en el hospedero a través de la cutícula, seguido de una rápida proliferación de las células fúngicas en el interior del insecto dando como resultado la muerte del insecto que puede ir seguida de la producción de esporas infectivas para repetir el ciclo (Araujo, 2008).

#### Tabla 4

*Toxinas producidas por hongos entomopatógenos*

Hongo Entomopatógeno	Toxinas producidas in vitro, in vivo o ambos
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Destruxinas (más de 27 tipos), swainsonone, cytochalasin C
<i>Beauveria bassiana</i>	Bassianin, beauvericin, Bassianolide, beauverolides, tenellin

CONTINÚA



	Oosporein
<i>Beauveria brongniartii</i>	
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Beauvericin, beauverolides, ácido piridino-2-6-dicarboxílico
<i>Verticillium lecanii</i>	Ácido dipcolónico, ácido hidroxicarboxílico, cyclosporin
<i>Tolypocladium spp.</i>	Cyclosporin, efrapeptinas (5 tipos)
<i>Hirsutella thompsonii</i>	Hirsutellin A y B, phomalactone

Fuente: (Araujo, 2008)

## 2.7 Productos estudiados

### 2.7.1 *Beauveria bassiana*

Es un hongo deuteromicete de estructura algodonosa y polvosa de color blanco que tiende a tornarse amarillento cuando la colonia está envejeciendo; se considera de gran importancia debido a su capacidad de infectar a más de 200 especies de insectos como moscas blancas, los áfidos, thrips, los escarabajos, etc., causando la enfermedad blanca de la muscardina (Chiriboga, Gomez, & Garcés, 2015). Se lo considera como facultativo, debido a su crecimiento en el hospedero como en medios artificiales, considerando para que este establezca su germinación requiere una humedad relativa del 92 % y temperatura de entre 23 a 25 °C (Pujota, 2013)

Su modo de acción inicia con la penetración del hongo en la cutícula del insecto aunque puede ocurrir por cualquier parte del insecto, incluyendo el ano o la boca, luego de la germinación de las conidias en la cutícula, los tubos germinativos penetran el integumento de éste, por acción mecánica y efectos enzimáticos (quitinasa, la proteasa y la lipasa), pasando a la hemolinfa donde ataca los tejidos por la producción de ciclo de psipéctidos que provoca que el insecto pierda la movilidad y cesa de alimentarse causando al final la muerte; la duración del ciclo del hongo dependerá de la especie y de las condiciones ambientales presentes durante la infección (Castillo, y otros, 2012)

### **2.7.1.1 Compatibilidad con agroquímicos**

*Beauveria bassiana* ha demostrado un efecto sinérgico con abamectina, mientras que para los ingredientes activos de etoxazol no se presentó un descenso en la germinación de las conidias (Manzanares, 2016).

*Beauveria bassiana* no presenta compatibilidad con fungicidas, sin embargo se presenta una germinación del conidio a largo plazo frente al uso de zineb y oxido cuproso (González, Lina, García, Nicao, & Rodríguez, 2011).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Lugar de investigación

##### 3.1.1 Fase de laboratorio

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria “IASA I” de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE hacienda El Prado, parroquia San Fernando, cantón Rumiñahui, provincia de Pichincha (Figura 3). Geográficamente se localiza a 78°24'44'' de longitud, 0°23'20'' Latitud y 2 748 m de altitud, con una temperatura promedio de 14°C, precipitación anual 1200mm.

##### 3.1.2 Fase de campo

Esta fase se realizó en la florícola Florifrut, cantón Pedro Moncayo, provincia Pichincha (Figura 4). Geográficamente se localiza a 78° 12' 36" Longitud, 0° 2' 24" de latitud y 2800 m de altitud. El presente proyecto de investigación estará ubicado ecológicamente en los siguientes parámetros que se describen a continuación (FLORIFRUT S.A., 2019):

- Precipitación media anual: 663,83 mm/año
- Temperatura media anual mínima: 8,12 ° C
- Temperatura media anual máxima: 19,44 ° C
- Humedad relativa media anual mínima: 49,37%
- Humedad relativa media anual máxima: 88,79%
- Zona de vida: Mesotérmico semi-humedo
- Suelo: pH: 6,3; CE: 0,8



**Figura 4** Mapa de ubicación del proyecto en IASA I y ubicación de la empresa Florifrut S.A

### 3.2 Materiales

Biológicos: Plantas de la variedad Mondial y Cepa de *Beauveria bassiana*

Campo: Flexómetro, cuaderno de campo, lápiz, esfero, borrador, corrector, cámara fotográfica, tijera podadora, rastrillo, guantes, plástico, grapadora, piola, escalera, letreros, cinta adhesiva de colores, bomba de fumigación, cintas de pH, papel hidrosensible.

Insumos de laboratorio: Balanza, tubos de ensayo, vasos de precipitación, probetas, cajas Petri, medio papa dextrosa agar, autoclave, cámara de flujo laminar, alcohol 96%, ácido láctico, asa de inoculación, pinzas, tubo eppendorf, solución Tween al 0,1%, porta y cubre objetos, microscopio, cámara de crecimiento, fundas Polyfan alta resistencia, azul de lactofenol y crioviales



### **3.3 Fase de laboratorio**

*Tetranychus urticae*: Se colectó en estado adulto de las plantas de rosas de la variedad Mondial ubicada en la finca Florifrut. Los ácaros fueron colocados en cajas Petri con algodón humedecido, para conservarlos vivos y ser transportados hacia el laboratorio de Fitopatología de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria “IASA I”, En donde se seleccionaron aquellos que mostraron mayor movilidad.

Cepa de *Beauveria bassiana*: La cepa del hongo fue proporcionada por el laboratorio de la finca Florifrut, el cual fue aislado del suelo y conservado en medio PDA.

#### **3.3.1 Reactivación de cepa de *Beauveria bassiana***

Los ácaros se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0.5% por un minuto y posteriormente sumergidos en agua destilada, se dejó secar por 2 minutos en papel toalla. Se seleccionaron 10 individuos, los cuales fueron trasladados a la cámara de flujo laminar.

##### **3.3.1.1 Preparación de medio de cultivo**

Se preparó medio de cultivo PDA (39 gr de Agar PDA disueltos en 1Lt de agua destilada). Se llevó a esterilizar el medio de cultivo y se dejó enfriar en la cámara de flujo laminar hasta llegar a 30°C y se añadió 1,5 ml de Ácido láctico para bajar el pH a 3,5 y evitar contaminación, finalmente se dejó solidificar el medio.

##### **3.3.1.2 Siembra del hongo entomopatógeno**

Se desinfectó la cámara de flujo laminar con alcohol al 75% y con lámpara de radiación de luz UV-C por 15 minutos con las medidas de seguridad correspondientes. Se usó un mechero para

esterilizar el ambiente y disminuir la presencia de otros microorganismos. Finalmente se esterilizó el material de siembra (asa de inoculación, pinzas, etc.).

### **3.3.1.3 Solución de esporas de *Beauveria bassiana***

Se preparó una solución Tween 20 al 0,1% (10ml de Tween en 90ml de agua destilada, de la solución se tomó 1ml y se añadió 99 ml de agua destilada para obtener el 0,1%), finalmente se llevó a esterilizar la solución. Para la preparación de la suspensión de esporas del hongo *Beauveria bassiana* se tomó un tubo eppendorf con 1ml de la solución Tween al 0,1% y se añadió una porción del hongo, además se llevó al agitador por 10 minutos para dispersar las esporas en la solución Tween. La inoculación del hongo entomopatógeno se realizó aplicando sobre cada ácaro tres micro litros de la suspensión de conidias  $1 \cdot 10^6$  UFC y finalmente se llevó a incubar por 72 horas a la cámara de crecimiento a 24°C.

La evaluación se realizó 3 días después de la aplicación con un microscopio y se registró la presencia y caracterización de *B. bassiana*.

### **3.3.1.4 Caracterización de *Beauveria bassiana***

A partir de las 72 horas, posteriores a la activación del hongo se llevó muestras de *B. bassiana* al microscopio para realizar su caracterización morfológica. Además, se evaluó la patogenicidad del hongo frente al ácaro.

### 3.3.1.5 Monocultivo de *B. bassiana*

Se realizó un re aislamiento del hongo a partir de la primera siembra en cajas Petri (reactivación de *B. bassiana*). Así se logró tener una cepa pura del hongo. Para este aislamiento se preparó medio de cultivo PDA.

### 3.3.1.6 Recuento de conidios

Posterior a las 48 horas de la siembra del hongo, se preparó una solución de conidios, se pesó 0,5 g de hongo y se depositó sobre 0,45 ml de PBS contenido en un tubo de ensayo. Se llevó a agitación por 2 minutos. Luego se realizaron diluciones sucesivas hasta llegar a  $1 \times 10^8$ . Posterior se tomaron alícuotas de la suspensión de cada una de las diluciones, se colocó en la cámara de Neubauer y de la siguiente manera se contaron las conidias por milímetro.

El conteo se realizó en cámara de Neubauer mediante el siguiente protocolo:

- Se preparó una suspensión de conidias en PBS con Tween 20 al 0.1%.
- Con una micro pipeta se llenó la cámara con la suspensión de conidias y fue cubierto con el cubreobjetos.
- Posterior se llevó al microscopio utilizando el aumento conveniente de acuerdo al tamaño de la estructura.
- Se contó las conidias presentes en los cuadrados elegidos (4 cuadros de los extremos y uno central)
- Finalmente se determinó el número de conidias por ml y el número total de conidias utilizando la siguiente fórmula:

- $C = \text{Número de esporas contadas} * \text{Factor de dilución} * \text{Factor de la cámara de Neubauer}$

### 3.3.2 Viabilidad de cepa de *Beauveria bassiana*

Para determinar el porcentaje de germinación, de las diluciones  $1 \cdot 10^1$  hasta  $1 \cdot 10^8$  conidios por ml (tomado del recuento de conidios), se depositó 20 ul en 4 puntos de las cajas Petri con medio PDA, dejándose en incubación a 24°C por 48 horas, luego se añadió a cada placa gotas de azul de lactofenol para detener la germinación y poder observar los conidios por contraste al microscopio. La zona del agar que tuvo la alícuota del hongo fue cortado y colocado en un portaobjeto y observado en el microscopio. El porcentaje de germinación se determinó mediante la fórmula:

$$V = \frac{\text{Número de colonias contadas} * \text{Factor de dilución}}{\text{Volúmen de la sln sembrada} * \text{peso de la muestra}}$$

### 3.3.3 Tiempo de letalidad al 50% (TL50) de la población expuesta

Esta variable se estableció para encontrar el tiempo que tarda *B. bassiana* en matar al 50% de *Tetranychus urticae* en cada unidad experimental.

### 3.3.4 Conservación de la cepa de *Beauveria bassiana*

La técnica que se aplicó fue de crioconservación [ultracongelación a -85 °C y nitrógeno líquido -196 °C].

Se buscó garantizar la preservación de las características morfológicas y genéticas, y por ende de entomopatogenicidad.

- Se tomó pequeñas muestras del monocultivo de hongo (re aislamiento ya evaluado), el cual era un cultivo maduro con esporulación.
- Previo a iniciar el proceso de crioconservación se prepararon crioviales que contenían criobolas. Todos estos se encontraban estériles.
- En condiciones de esterilidad se realizaron cortes al cultivo esporulado y enseguida se depositó en viales.
- Se realizó la congelación de manera gradual a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 12 horas y luego finalmente a  $-80^{\circ}\text{C}$  para ultracongelación (colocados en el crioconservador).

### **3.3.5 Pruebas de sensibilidad de *Beauveria bassiana* a diferentes agroquímicos (técnica sensidiscos)**

#### **Día 1**

- Se preparó medio PDA (500ml)
- Se vertió el medio en cajas Petri (25 cajas)
- Una vez solidificado el medio de cultivo, se colocó de 3 a 4 gotas de ácido láctico al 25% (inhibidor de bacterias)
- Luego se preparó la dosis recomendada (Vademécum) para 50 ml de agua, con cada uno de los diferentes agroquímicos (Starmite, Dicarzol y Melt Down)
- Se marcaron 4 puntos en la superficie externa inferior de la caja Petri que corresponde a los sitios en los cuales se depositarán las alícuotas con esporas de *B. bassiana* y 4 puntos donde se ubicarán a los “sensidiscos”

- Se realizó perforaciones de 5mm en papel filtro Whatman convencional, para sumergirlos en las soluciones de agroquímicos.
- Cuatro “sensidiscos” se depositaron en cada caja Petri (posicionados a distancias iguales de 1cm de largo y ancho)
- Se colocó 10 ul de *Beauveria bassiana* ( $1 \times 10^6$  células/mL cuantificadas con un hematocitómetro), en 4 sitios de la caja Petri, a una distancia de 1 cm de los sensidiscos con agroquímico
- Se dejaron las cajas Petri de 2 a 4 horas en la cámara de flujo laminar para evitar que se disperse el contenido de *B. bassiana* y el agroquímico
- Finalmente, se incubó durante 4 a 6 días a 25<sup>a</sup> C.

#### Día 7 – 10

- Se midió el crecimiento longitudinal y radial
- Una vez desarrollada *B. bassiana*, se ejecutaron las pruebas, empleando la siguiente escala.

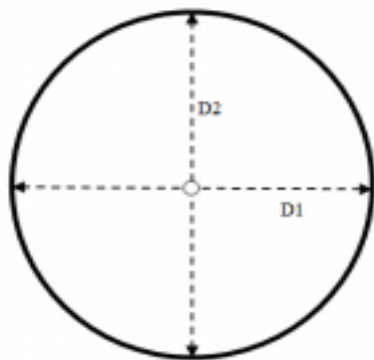
**Tabla 5**

*Escala para la evaluación de la capacidad antagónica de B. bassiana*

<b>Escala</b>	<b>Descripción</b>
1	<i>B. bassiana</i> sobrecrece completamente al agroquímico y cubre totalmente la superficie del medio
2	<i>B. bassiana</i> sobrecrece las dos terceras partes de la superficie del medio
3	<i>B. bassiana</i> crece aproximadamente la mitad de la superficie
4	<i>B. bassiana</i> no crece

**Fuente:** Escala de Bell et al. (1982)

- 72 horas después de la siembra puntual de *B. bassiana* se tomarán dos medidas: crecimiento longitudinal (D1) y crecimiento transversal (D2) del hongo.



**Figura 5** Crecimiento radial de *B. bassiana*.



a)

b)

c)

**Figura 6** Metodología de sensibilidad de *Beauveria bassiana* a diferentes agroquímicos a) Etiquetado de cajas Petri, b) Aplicación de sensidiscos de agroquímicos y alícuota de *B. bassiana*, c) Incubación de muestras.

### 3.3.6 Propagación de *Beauveria bassiana*, en arroz

#### Día 1

- Se aisló la cepa de *B. bassiana*, en cajas Petri con PDA
- Se dejó en incubación a 25°C por 15 días.

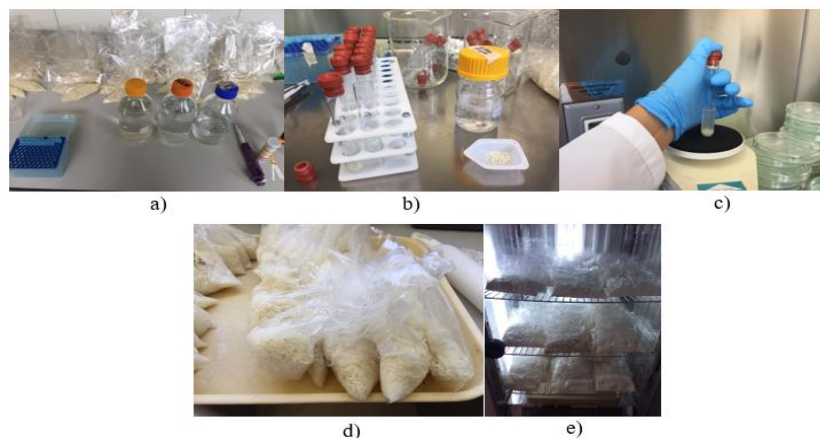
**Día 15**

- En fundas Polyfan alta resistencia, se agregó 80 gramos de arroz.
- Se preparó una solución madre acidificada al 10% (en 450ml de agua destilada, se agregó 50 g de ácido cítrico)
- Posteriormente se añadió 40 ml de agua acidificada en las fundas (a partir de la solución madre acidificada al 10%, se tomó 2,5 ml y se añadió a 1 litro de agua destilada el cual permite reducir el pH a 3,5.
- Se cerraron las fundas con ligas, en paquetes de 5.
- Se llevó a autoclavar los paquetes a 121°C, 1.5p.s.i, por 15 min.
- Las fundas fueron llevadas a la cámara de flujo laminar, hasta que alcancen la temperatura ambiente y posterior se las abrió.
- Las fundas de arroz fueron disgregadas, debido a que, al esterilizarlas, el arroz se compacta.
- Se tomó una muestra de la cepa de *B. bassiana*, utilizando un sacabocados, un disco de 5 mm de diámetro que contiene un fragmento de agar y el hongo benéfico.
- Se cerraron las fundas, con dos grapas
- Finalmente, se ingresó a la cámara de crecimiento de 7 a 10 días con un fotoperíodo de 12:12 y una humedad relativa de 50 +- 10 %.



## Día 22 – 32

- Se midió el crecimiento de *B. bassiana*, en sustrato alternativo (arroz), a partir del método de disolución y plateo.



**Figura 7** Metodología propagación de *B. bassiana*, en arroz

a) Preparación del sustrato (arroz), b y c) Dilución de esporas de *B. bassiana*, d) Inoculación del hongo en arroz estéril y e) Fundas de arroz inoculadas con el hongo en cámara de crecimiento.

### 3.3.7 Bancos de dilución (método de dilución y plateo)

- *Preparación de solución PBS*: Se pesó 27,2g de fosfato monopotásico y se añadió a un litro de agua destilada (solución A), 34,8g de fosfato dipotásico y se añadió a 1litro de agua destilada (solución B). La solución se obtuvo con 70 ml de la solución A, 30ml de solución B y 300 ml de agua destilada. Finalmente se llevó a esterilizar la solución y se la conservó en refrigeración.

- *Dilución:* Se depositó 4,5ml de PBS en 7 tubos de ensayo con tres repeticiones cada uno. Además, se preparó una solución de conidios, en el cual se pesó 0,5 g de hongo y se depositó sobre 0,45 ml de PBS contenido en un tubo de ensayo ( $1 \cdot 10^1$ ). Se llevó a agitación por 2 minutos. Posterior se tomó 0,5ml de la solución conidial antes mencionada y se depositó en el primer tubo de ensayo con PBS (4,5ml), la cual perteneció a la segunda dilución ( $1 \cdot 10^2$ ) y así se repitió el procedimiento hasta llegar a la dilución  $1 \cdot 10^8$ .
- *Platéo:* Se preparó 24 cajas Petri con PDA (preparación descrita anteriormente), se dejó gelificar el medio de cultivo y posterior se depositó 20ul de la segunda dilución ( $1 \cdot 10^2$ ), con ayuda de asa de inoculación hizo un estriado de la solución conidial para permitir un crecimiento homogéneo del hongo, se realizó el mismo procedimiento con los tubos con las diferentes diluciones hasta llegar a la dilución  $1 \cdot 10^8$ . Finalmente se llevó a incubar las cajas Petri a 25°C por 48 horas (Yáñez & Falconí, 2018).

Se evaluó contando las unidades formadoras de colonia. Para conocer cuál es la concentración óptima del hongo y dosificar en campo.

### **3.3.8 Control de calidad de la producción del hongo**

#### **3.3.8.1 Concentración de esporas**

- Se pesó 0.5 g de sustrato colonizado y se colocó 0.45ml de PBS + solución Tween 20.
- La muestra fue agitada en el vortex por 5 minutos (hasta que el hongo se haya desprendido del sustrato)
- Se tomó 20 ul de la solución y se realizó el conteo en cámara de Neubauer.
- Además, se realizaron diluciones seriadas  $1 \cdot 10^1$  hasta llegar a  $1 \cdot 10^8$ .

- Finalmente se registró los valores de cada conteo, para conocer la población total y con dilución y plateo conocer la población viable.
- De acuerdo a dichos datos se pudo calcular la concentración de la solución madre y por dilución se obtuvo la concentración del inóculo requerido para cada aplicación.

### **3.3.8.2 Prueba de pureza**

Se preparó PDA más cloranfenicol (1ml por cada litro de PDA), luego se realizó bancos de dilución de las fundas de arroz (con el hongo en estado óptimo de crecimiento.), se agitó en un vortex durante un minuto; se inoculó 20ul de la dilución en las cajas Petri con PDA y dispersando el inóculo con la ayuda de un rastrillo de vidrio. Las cajas de Petri se sometieron a incubación a una temperatura de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Diariamente y durante siete días se contabilizó el número de unidades formadoras de colonias (Falconí, 1998).

### **3.4 Fase de campo**

Para la fase de campo se realizó una multiplicación masiva del hongo. Se trabajó con los sustratos orgánicos arroz en fundas de Polyfan. Estas fundas fueron inoculadas con una pequeña porción del hongo esporulado extraído de las cajas de Petri. Se duplicaron las concentraciones para aumentar la capacidad de inóculo, aplicando las recomendaciones de Mena (1999), quien menciona que bajo condiciones menos controladas pueden existir factores que contribuyan a disminuir la viabilidad de las esporas de los hongos a evaluar como humedad, microorganismos, pH y temperatura.

### **3.4.1 Cosecha del hongo**

Para la cosecha de *B. bassiana*, en las fundas que contenían 80g de arroz, se añadió 10 ml de aceite vegetal emulsionable de uso agrícola. Cenicafé (1992) menciona que este aceite no tiene un efecto adverso sobre la viabilidad de las conidias, además proporciona una película que protege las conidias de la radiación solar y mayor tiempo de supervivencia en el campo.

Todo el contenido del arroz con el aceite fue lavado con agua para separar el hongo del sustrato, y fue vertido por medio de un colador para no permitir el paso del arroz. Finalmente fue envasado en frascos de un litro.

### **3.4.2 Aplicación de *Beauveria bassiana* en el cultivo de rosa**

La solución de *B. bassiana* contenidas en las botellas de 1 litro fue agitada y depositada sobre un tanque con 150 litros de Agua (regulado el pH a 5,5 con ácido cítrico). La dosis aplicada fue de 4ml de la solución de hongo por cada litro de agua, dado que allí se obtuvo una concentración de  $1 \times 10^6$  esporas/ml, dato analizado en laboratorio en el cual se determinó 2ml. La bomba usada para la aplicación del ensayo, con aplicador de lanza con 4 boquillas, usó 18 litros por cama, es así que por cama se usó 72 ml del hongo. Para ello los equipos fueron calibrados previamente.

### **3.4.3 Aplicación de los tratamientos**

Para los tratamientos se diseñó un plan de aplicación de siete semanas en los bloques 5 y 15, los cuales fueron desarrollados basándose en los resultados del ensayo de laboratorio (pruebas de sensibilidad del hongo a diferentes agroquímicos usados en la finca).

Para este estudio se utilizó dos bloques de la finca Florifrut (B5 y B15), en los cuales se encontraba la variedad Mondial que fue evaluada. En cada bloque se tomó al azar 5 camas (señaladas con un cartel C1, C2, C3, C4 y C5) y dentro de estas camas se etiquetó 17 plantas al azar (muestra), las cuales serían evaluadas en el transcurso de la aplicación del ensayo. En las camas 1, 2, 3 y 4 se estableció un plan de fumigación A con la aplicación de *B. bassiana* y la cama 5 representó el testigo con el plan de fumigación A, pero sin la aplicación del hongo. Así también se diseñó el bloque 15 con la diferencia que en este fue aplicado el plan de fumigación B.

**Tabla 6**

*Agroquímicos rotados en el plan de fumigación del bloque 5 (Plan de fumigación A)*

<b>Producto</b>	<b>Control</b>	<b>Dosis</b>
Starmite	Acaricida	0.35 c/l
Melt down	Acaricida	0.5 cc/l
Agrothiazox	Acaricida	0.5 g/l
Vertimec	Acaricida	0.5 cc/l
Stroby	Fungicida	0.3 g/l
New mectin	Biológico	0.5 cc/l
<i>Beauveria bassiana</i>	Biológico	4 cc/l

**Tabla 7**

*Agroquímicos rotados en el plan de fumigación del bloque 15 (Plan de fumigación B)*

<b>Producto</b>	<b>Control</b>	<b>Dosis</b>
Nissorun	Acaricida	0.5 g/l
Kanemite	Acaricida	0.45 cc/l
Acramite	Acaricida	0.3 cc/l
Polo	Insecticida	1 cc/l
Mildex	Fungicida	1 g/l
New mectin	Biológico	0.5 cc/l
<i>Beauveria bassiana</i>	Biológico	4 cc/l

Los días lunes, martes, jueves y sábado fueron aplicadas las rotaciones de fumigación con los productos establecidos en las tablas anteriores. Los días miércoles y viernes fue aplicado únicamente *B. bassiana*, en las camas de cultivo establecidas (anteriormente descritas).

#### **3.4.4 Evaluación del ensayo**

La evaluación del ensayo se lo realizó antes de iniciar la aplicación de los tratamientos (semana 1), durante las semanas que se aplicó y al finalizar el ensayo en la semana 7.

El reporte de los datos evaluados fue registrado con una matriz de Excel en la cual consta la fecha, número de bloque, número de cama, número de planta, el tercio evaluado (superior, medio y bajo), el número de ácaros presentes en una hoja y el porcentaje de infestación del ácaro en la hoja, para posteriormente calcular la incidencia y severidad de *Tetranychus urticae*. Con los datos recolectados, se realizó un análisis de varianza y para detectar el mejor tratamiento se realizó la prueba de Duncan ( $p > 0,05$ ).

### **3.5 Diseño experimental**

#### **3.5.1 Fase de laboratorio**

En esta fase se evaluó la dosis de los 23 Agroquímicos, una dosis de *Beauveria bassiana*, análisis de sensibilidad, crecimiento radial y longitudinal, propagación en sustrato y dosis del producto final.

### **3.5.1.1 Factores de estudio**

Cepa de *B. bassiana*, aislada del suelo de Florifrut, 23 Agroquímicos y el tipo de siembra del Agroquímico en la caja Petri.

### **3.5.1.2 Tratamientos a comparar**

Los tratamientos se obtuvieron al relacionar la cepa de *B. bassiana*, dosis de los Agroquímicos y tipo de aplicación del Agroquímico en la caja Petri: Agroquímico disuelto en PDA, *Beauveria bassiana* -sensidisco (48 h) y *Beauveria bassiana* –sensidisco, resultando 69 tratamientos más un testigo, con 12 repeticiones cada uno, total de 840 unidades experimentales.

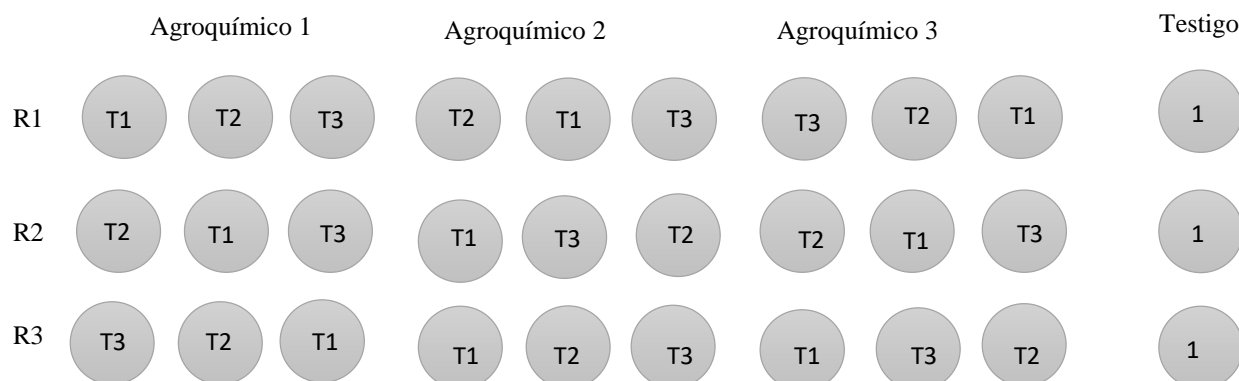
### **3.5.1.3 Tipo de diseño**

El experimento se dispuso en un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial con 12 repeticiones.

### **3.5.1.4 Características de las unidades experimentales**

Se contó con 216 cajas Petri, las cuales tenían dispuestas dentro de ellas 4 alícuotas de *B. bassiana*  $1 \times 10^6$  UFC/ ml dispuestas a un centímetro de distancia y posterior fueron aplicados los agroquímicos con sus dosis correspondientes y el tipo de aplicación (3 tipos). Los agroquímicos fueron evaluados en grupos de tres.

Croquis experimental: Esquema de disposición de tratamientos en cada evaluación (grupo de 3 agroquímicos), así hasta completar los 23 Agroquímicos más el testigo.



**Figura 8** Distribución de los tratamientos en el laboratorio.

### 3.5.1.5 Esquema del análisis de varianza

**Tabla 8**

*Análisis de varianza del crecimiento de *B. bassiana*, bajo el efecto de diferentes tratamientos con 23 agroquímicos*

Fuentes de Variación (F.V.)	Grados de Libertad (gl)
<i>Beauveria bassiana</i> (B)	1
Agroquímico (Q)	23-1=22
B*Q	22
Error	24
Total	69

### 3.5.1.6 Análisis funcional

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) para diseños factoriales y pruebas de comparación de medias con Duncan para establecer diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos en el software estadístico INFOSTAT y finalmente se usó estadística descriptiva.



### 3.5.1.7 Variables evaluadas

Crecimiento radial y longitudinal de *Beauveria bassiana*: Esta variable se determinó a partir de las 72 horas de sembradas las alícuotas del hongo y puestas en cámara de crecimiento. Se midió la longitud y radio del hongo.

### 3.5.2 Fase de campo

En esta fase se evaluó la incidencia y severidad de *Tetranychus urticae*, expuesto a diferentes planes de fumigación con la aplicación de *Beauveria bassiana*.

#### 3.5.2.1 Factores de estudio

Producto de *Beauveria bassiana* a una dosis de  $1 \times 10^6$  células/ml, dos planes de fumigación, tercio de la planta y la semana de evaluación.

**Tabla 9**

*Descripción de los factores evaluados en el cultivo de rosa variedad Mondial*

	<b>Tercio</b>	<b>Semana</b>
1	Superior	1
2	Medio	2
	Bajo	3
		4
		5
		6
		7

#### 3.5.2.2 Tratamientos a comparar

Los tratamientos se obtuvieron al relacionar el producto final de *Beauveria bassiana* ( $1 \times 10^6$ ), rotación de fumigación de agroquímicos, tercio de la planta y semana de evaluación, resultando

42 tratamientos más un testigo. Donde cada tratamiento contó con 4 camas y dentro de ellas 17 plantas evaluadas (repeticiones).

### **3.5.2.3 Tipo de diseño**

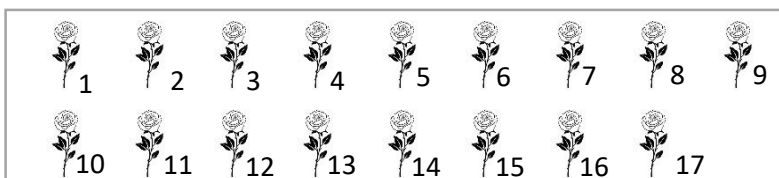
El experimento se dispuso en un diseño de bloque completamente al azar (DBCA) con arreglo factorial con 68 repeticiones.

### **3.5.2.4 Características de las unidades experimentales**

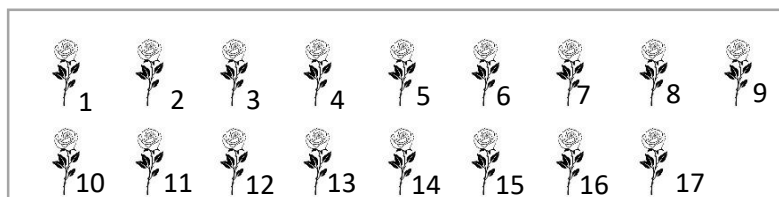
Se contó con 170 unidades experimentales presentadas por cada una de las camas y dentro de ellas las 17 plantas etiquetadas y en cada planta el tercio superior, medio e inferior.

### 3.5.2.5 Croquis experimental

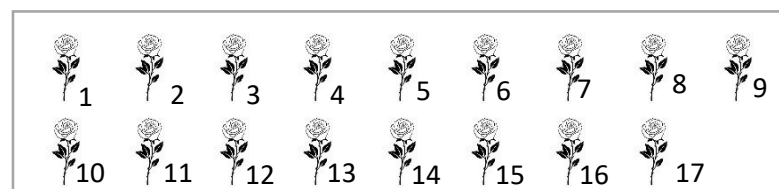
Rotación de fumigación 1



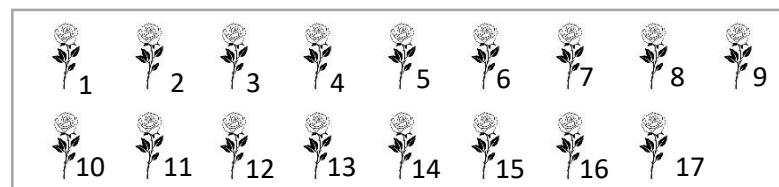
C1



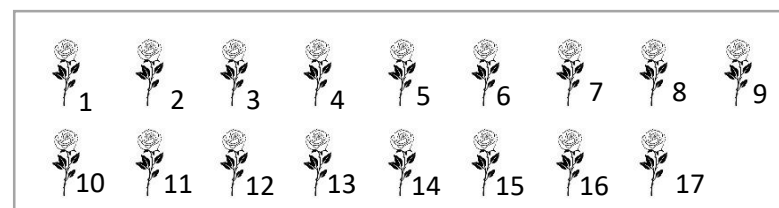
C2



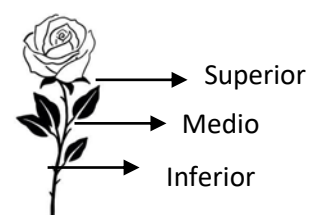
C3



C4



C5 (Testigo)



### 3.5.2.6 Esquema del análisis de varianza

**Tabla 10**

*Análisis de varianza de tratamientos evaluados*

<b>Fuentes de Variación (F.V.)</b>	<b>Grados de Libertad (gl)</b>
Rotación de fumigación	2-1=1
Tercio de planta	3-1=2
Semana	7-1=6
Rotación*Tercio	2
Rotación*Semana	6
Tercio*Semana	12
Rotación*Tercio*Semana	12
Error	1
Total	42

### 3.5.2.7 Análisis funcional

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) para diseños factoriales y pruebas de comparación de medias con Duncan para establecer diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos en el software estadístico INFOSTAT y se usó estadística descriptiva.

### 3.5.2.8 Variables evaluadas

Incidencia y severidad de *Tetranychus urticae*, bajo dos rotaciones de fumigación alternativas con la adhesión de *Beauveria bassiana*. Datos obtenidos en cada tercio de la planta por siete semanas de evaluación (antes, durante y después de la aplicación de los tratamientos).

### 3.6 Análisis económico

La finca Florifrut S.A. tiene un área de 27,7 hectáreas, en las que se produce anualmente alrededor de 27.843.926 tallos, obteniéndose una productividad de 100,51 tallos/m<sup>2</sup>.

Cada cama tiene un área de 10,5 m<sup>2</sup> en los cuales se aplicó 72 ml de la solución de *Beauveria bassiana* ( $1 \cdot 10^6$ ). Así la aplicación por hectárea del producto fúngico fue de 68,57 litros. El costo de producción de cada litro de la solución del hongo fue de 2,03 USD.

El porcentaje de pérdida producido por *T. urticae* redujo el 5%.

De acuerdo a (Perrin, Winkelman, Moscardi, & Anders, 1976) del análisis de presupuesto parcial, se identificó los rubros importantes por tratamiento y se los analizó. Se estimó el costo de producción por tallo, y costos variables en los cuales consta el valor de producción de *Beauveria bassiana*, uso de equipos y mano de obra extra. Finalmente se estimó el rendimiento ajustado, beneficios brutos y netos. Para conocer el análisis de dominancia de cada tratamiento.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADO Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Pruebas de laboratorio

##### 4.1.1 Identificación de *Beauveria bassiana* en el insecto plaga *Tetranychus urticae* en medio de cultivo PDA

En la figura se muestra la colonización en *Tetranychus urticae* por *Beauveria bassiana*, sembrado en medio PDA, en el laboratorio de fitopatología. La muestra del hongo entomopatógeno fue obtenida de un aislamiento realizado en suelos de la finca FLORIFRUT. Se colectaron 10 ácaros que fueron sometidos a los análisis mencionados.

##### 4.1.2 Viabilidad y desarrollo del hongo *Beauveria bassiana*

Para determinar la viabilidad y desarrollo del hongo, se tomó una muestra de 10 ácaros, los cuales fueron sembrados en medio PDA e inoculados con dosis de  $1 \cdot 10^6$  del hongo entomopatógeno.

De las valoraciones realizadas en el ensayo se llegó a identificar el hongo *Beauveria bassiana* por sus características morfológicas, el cual al ser analizado por el microscopio muestra su micelio blanco y conidios globosas (Figura 9).

En el bio-ensayo se determinó que el hongo *Beauveria bassiana* puede adaptarse fácilmente al medio PDA.

Características de *Beauveria bassiana*:

- Crecimiento circular y uniforme.
- Micelio blanco cuando es joven y tomando coloración amarillenta cuando el hongo es maduro.
- Crecimiento hasta 35 mm en 7 días.

Las características evaluadas en las cajas Petri de colonias tipo rosetas, de coloración blanca al inicio del crecimiento y cremoso en la maduración de los conidios con aspecto polvoriento son típicas del genero *Beauveria* (Leucona, 1996) (Quiroz, 1994).



**Figura 9** a) Bio-ensayo de infección de *Beauveria bassiana* en *Tetranychus urticae*, crecimiento del hongo sobre toda la superficie de la caja Petri, b) momificación de ácaro.



**Figura 10** a) Cepa obtenida del inculo de *Tetranychus urticae*, b) Vista al microscopio del micelio de *Beauveria bassiana*, obtenido de la inoculación del acaro con el hongo.

La cepa de *Beauveria bassiana* obtenida del suelo de Florifrut (Figura b) resalta las características propias del género que posee conidias globosas a subglobosas y las estructuras conidióforas forman densos grupos, como lo describe (Samson, Evans, & Latge, 1988).

#### 4.1.3 Evaluación de la patogenicidad del hongo *Beauveria bassiana* sobre *Tetranychus urticae*

La evaluación de la patogenicidad del hongo *Beauveria bassiana* permitió conocer la capacidad que posee el hongo de matar y colonizar a *Tetranychus urticae*, se tomó una muestra de 5 ácaros a las que se les infectó con el hongo, sumergiéndolos y aplicando vortex por 10 segundos.

Este bio-ensayo mostró que *Beauveria bassiana* posee una capacidad efectiva sobre la muerte y colonización de *Tetranychus urticae*.

**Tabla 11**

*Mortalidad de Tetranychus urticae sometido a Beauveria bassiana*

Cepa	Población de ácaro	Mortalidad a las 120 hrs (%) (5 días)
<i>Beauveria bassiana</i> (Florifrut)	5	100
<i>Beauveria bassiana</i> (Florifrut)	5	60
<i>Beauveria bassiana</i> (Florifrut)	5	80
<i>Beauveria bassiana</i> (Florifrut)	5	80
<i>Beauveria bassiana</i> (Florifrut)	5	100
<i>Beauveria bassiana</i> (Florifrut)	5	60
<i>Beauveria bassiana</i> (Florifrut)	5	100
<i>Beauveria bassiana</i> (Florifrut)	5	80
<i>Beauveria bassiana</i> (Florifrut)	5	100
<i>Beauveria bassiana</i> (Florifrut)	5	100
Total mortalidad causada	43/50	86%

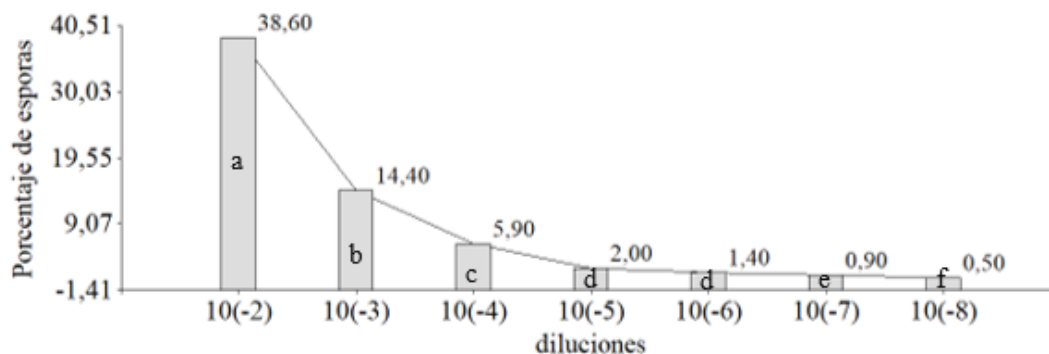


La mortalidad de adultos de *Tetranychus urticae* causada por la cepa de *Beauveria bassiana* (FLORUFRUT), en el lapso de 120 horas presentó una mortalidad del 86%, el cual en este tiempo se pudo visualizar que los ácaros perdieron movilidad hasta ser momificados por el hongo. Este resultado indica que la cepa *Beauveria bassiana* de la finca FLORIFRUT es una alternativa para el control de *Tetranychus urticae* (Castro, 2012), menciona que la mortalidad de *Heliothis virescens* un insecto plaga controlado con *Beauveria bassiana*, se presenta en un 53,33% en un tiempo de 72 horas y (Jimenez J. , 1992), menciona que varias cepas de *B. bassiana* mataron en menos de 120 horas al 50% de los insectos tratados.

#### **4.1.4 Bioensayos in vitro de la actividad entomopatógena del hongo reactivado**

##### **4.1.4.1 Prueba de población total**

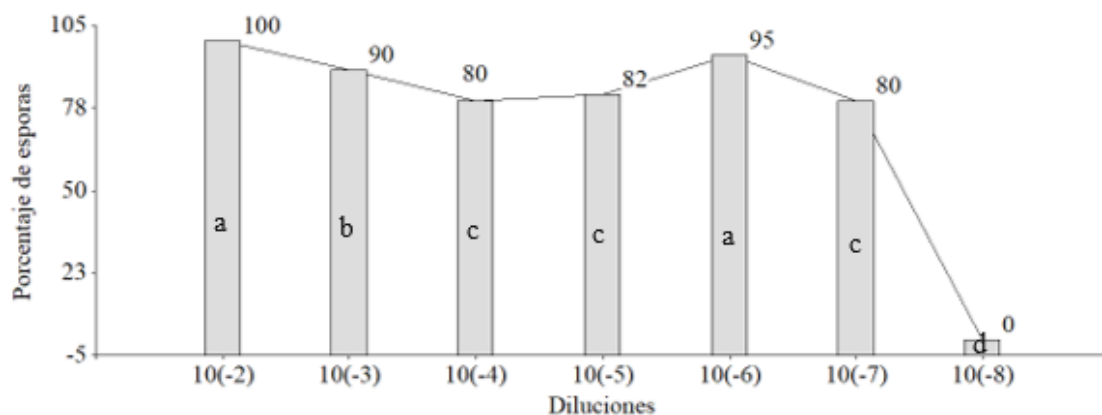
Se encontró que la concentración con mayor número de esporas fue la de  $1 \cdot 10^2$  equivalente a  $2,17 \cdot 10^8$  esporas/ml y la menor concentración de esporas fue  $1 \cdot 10^8$  con  $3 \cdot 10^{12}$  esporas/ml. Así a mayor dilución, menor es la concentración de esporas por ml (Zambrano, Duarte, & Reyes, 2013), menciona que el porcentaje de esporas en las disoluciones evaluadas presentó 25,33% de esporas de *Beauveria bassiana* en la dilución  $1 \cdot 10^2$  y 5,17 % en la dilución  $1 \cdot 10^4$



**Figura 11** Porcentaje de esporas presentes en diferentes diluciones

#### 4.1.4.2 Prueba de germinación

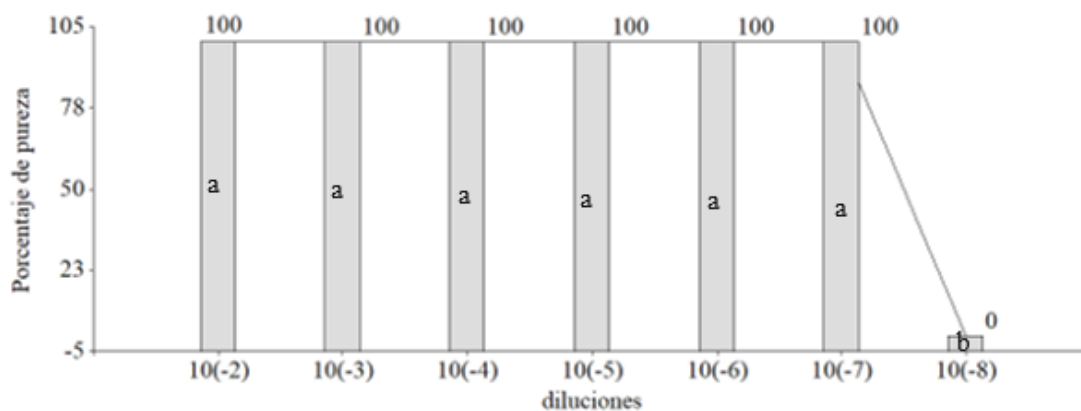
Los valores obtenidos en esta prueba, demuestran que el rango de germinación fue entre 0% y 100%. La dilución  $1 \cdot 10^2$  fue la que presentó el mayor porcentaje de germinación, seguida de las diluciones  $1 \cdot 10^6$  y  $1 \cdot 10^3$  que presentaron un 95 y 90% de germinación a diferencia de la dilución  $1 \cdot 10^8$  que no presentó germinación (Figura 12), lo que concuerda con (Bustillo, 1993), quien menciona que las pruebas de viabilidad realizadas a las suspensiones de conidias dieron porcentajes de germinación superiores al 80%, lo cual indica la buena calidad biológica del patógeno evaluado en el experimento. Además (López, 2017), presentó en su estudio una germinación promedio de conidias mayor a 90%.



**Figura 12** Porcentaje de esporas germinadas presentes en diferentes diluciones

#### 4.1.4.3 Prueba de pureza

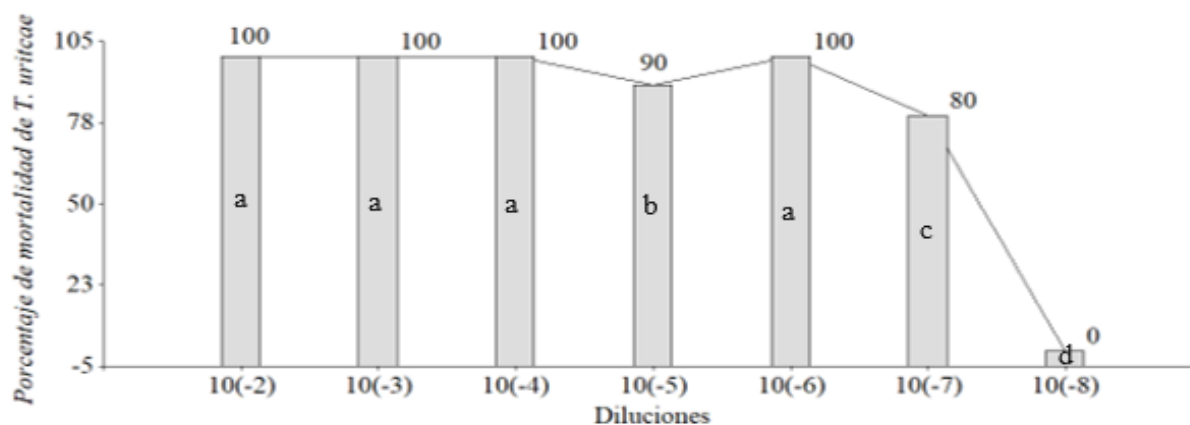
Los valores obtenidos en esta prueba, demuestran que todas las diluciones sembradas en medio PDA, presentaron el 100% de pureza, excepto la dilución  $1 \cdot 10^8$ , debido a que este no presentó germinación de *Beauveria bassiana*. (Figura 13), así Zambrano, Duarte, & Reyes, (2013) en su estudio observó que el porcentaje de pureza del hongo tuvo un rango entre 89 % a 100% en las cajas estudiadas.



**Figura 13** Porcentaje de pureza presente en diferentes diluciones

#### 4.1.4.4 Prueba de patogenicidad

Para esta prueba se tomó 7 diluciones desde  $1 \cdot 10^2$  hasta  $1 \cdot 10^8$  y a partir de ello se inoculó sobre *Tetranychus urticae*. De acuerdo al gráfico, la concentración que obtuvo una respuesta mayor en la mortalidad del acaro fue de  $1 \cdot 10^2$ ,  $1 \cdot 10^3$ ,  $1 \cdot 10^4$  y  $1 \cdot 10^6$  alcanzando el 100% de efectividad, mientras que las concentraciones  $1 \cdot 10^5$  y  $1 \cdot 10^7$  presentaron menor porcentaje de mortalidad con 90% y 80%, finalmente la concentración  $1 \cdot 10^8$  no presentó mortalidad del ácaro (Figura 14), así (Garcia, Villamizar, & Torres, 2006) menciona que la actividad patogénica de algunos hongos entomopatógenos, depende de las características genéticas, el origen, el hospedero, esporulación, y viabilidad de conidias.



**Figura 14** Porcentaje de mortalidad de *Tetranychus urticae* presentes en diferentes diluciones

#### 4.1.5 Análisis del crecimiento longitudinal de *Beauveria bassiana*

##### 4.1.5.1 Crecimiento de *Beauveria bassiana* bajo tres métodos de aplicación de agroquímico

El crecimiento longitudinal del hongo entomopatógeno expuesto a 23 agroquímicos y 3 métodos de siembra en medio PDA, presentaron un efecto significativo ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 12**

*Promedio  $\pm$  error estándar del crecimiento longitudinal (mm) del hongo (*Beauveria bassiana*) sometido a tres métodos de aplicación de agroquímico*

	<b>Tratamiento</b>	<b>Longitud (mm)</b>	
Sarmite	Agroquímico disuelto en PDA	6,22 $\pm$ 0,47	a
Dicarzol	<i>Beauveria</i> -sensidisco (48 h)	5,45 $\pm$ 0,47	b
Melt down	<i>Beauveria</i> -sensidisco (48 h)	5,44 $\pm$ 0,47	b
Sarmite	<i>Beauveria</i> -sensidisco (48 h)	5,37 $\pm$ 0,47	b
Acramite	Agroquímico disuelto en PDA	5,33 $\pm$ 0,47	b
New mectin	Agroquímico disuelto en PDA	5,21 $\pm$ 0,47	b
Vertimec	Agroquímico disuelto en PDA	5,18 $\pm$ 0,47	b
Melt down	Agroquímico disuelto en PDA	5,17 $\pm$ 0,47	b
Agrothiazox	Agroquímico disuelto en PDA	5,16 $\pm$ 0,47	b
Nissorun	Agroquímico disuelto en PDA	5,07 $\pm$ 0,47	b
Agrothiazox	<i>Beauveria</i> -sensidisco (48 h)	5,03 $\pm$ 0,47	b
	<b>TESTIGO</b>	5,02 $\pm$ 0,47	b
Prosper	<i>Beauveria</i> -sensidisco (48 h)	5,00 $\pm$ 0,47	b
Agrothiazox	<i>Beauveria</i> -sensidisco	4,99 $\pm$ 0,47	b
Arado	<i>Beauveria</i> -sensidisco (48 h)	4,97 $\pm$ 0,47	b
Polo	<i>Beauveria</i> -sensidisco (48 h)	4,96 $\pm$ 0,47	b
Kanemite	<i>Beauveria</i> -sensidisco (48 h)	4,90 $\pm$ 0,47	b
Vertimec	<i>Beauveria</i> -sensidisco (48 h)	4,90 $\pm$ 0,47	b
Nissorun	<i>Beauveria</i> -sensidisco (48 h)	4,89 $\pm$ 0,47	b
Luna	<i>Beauveria</i> -sensidisco (48 h)	4,83 $\pm$ 0,47	b
Kanemite	Agroquímico disuelto en PDA	4,81 $\pm$ 0,47	b
Dalac	<i>Beauveria</i> -sensidisco (48 h)	4,77 $\pm$ 0,47	b
Nissorum	<i>Beauveria</i> -sensidisco	4,76 $\pm$ 0,47	b
Meltatox	<i>Beauveria</i> -sensidisco (48 h)	4,74 $\pm$ 0,36	b
Polo	<i>Beauveria</i> -sensidisco	4,73 $\pm$ 0,47	b
New mectin	<i>Beauveria</i> -sensidisco (48 h)	4,71 $\pm$ 0,47	b
New mectin	<i>Beauveria</i> -sensidisco	4,71 $\pm$ 0,47	b

CONTINÚA



Luna	Beauveria -sensidisco	4,70±0,47	b
Mildex	Beauveria -sensidisco (48 h)	4,70±0,47	b
Meltatox	Beauveria –sensidisco	4,69±0,36	b
Stroby	Beauveria -sensidisco (48 h)	4,69±0,47	b
Vertimec	Beauveria –sensidisco	4,68±0,47	b
Topas	Beauveria -sensidisco (48 h)	4,64±0,47	b
Micoraflora	Beauveria -sensidisco (48 h)	4,59±0,47	b
Yoke	Beauveria -sensidisco (48 h)	4,59±0,47	b
Kanemite	Beauveria –sensidisco	4,58±0,47	b
Mildex	Agroquímico disuelto en PDA	4,58±0,47	b
Stroby	Agroquímico disuelto en PDA	4,48±0,47	b
Polo	Agroquímico disuelto en PDA	4,46±0,47	b
Topas	Beauveria –sensidisco	4,41±0,47	b
Silvacur	Beauveria -sensidisco (48 h)	4,32±0,47	b
Stroby	Beauveria –sensidisco	4,24±0,47	b
Mildex	Beauveria –sensidisco	4,24±0,47	b
Mirror	Beauveria -sensidisco (48 h)	4,22±0,47	b
Prosper	Beauveria –sensidisco	4,17±0,47	b
Acramite	Beauveria -sensidisco (48 h)	4,15±0,47	b
Dalac	Beauveria –sensidisco	4,11±0,47	b
Micoraflora	Beauveria –sensidisco	3,99±0,47	b
Mitac	Beauveria -sensidisco (48 h)	3,89±0,47	b
Mirror	Beauveria –sensidisco	3,86±0,47	b
Starmite	Beauveria –sensidisco	3,84±0,47	b
Mitac	Beauveria –sensidisco	3,82±0,47	b
Dicarzol	Beauveria –sensidisco	3,68±0,47	b
Melt down	Beauveria –sensidisco	3,59±0,47	b
Arado	Beauveria –sensidisco	3,42±0,47	b
Acramite	Beauveria –sensidisco	3,30±0,47	b
Silvacur	Beauveria –sensidisco	2,32±0,47	c
Yoke	Beauveria –sensidisco	2,29±0,47	c
Micoraflora	Agroquímico disuelto en PDA	1,00±0,47	c
Dalac	Agroquímico disuelto en PDA	1,00±0,47	c
Mitac	Agroquímico disuelto en PDA	1,00±0,47	c
Topas	Agroquímico disuelto en PDA	1,00±0,47	c
Yoke	Agroquímico disuelto en PDA	1,00±0,47	c
Mirror	Agroquímico disuelto en PDA	1,00±0,47	c
Silvacur	Agroquímico disuelto en PDA	1,00±0,47	c
Prosper	Agroquímico disuelto en PDA	1,00±0,47	c

CONTINÚA



Luna	Agroquímico disuelto en PDA	1,00±0,47	c
Meltatox	Agroquímico disuelto en PDA	1,00±0,36	c
Dicarzol	Agroquímico disuelto en PDA	1,00±0,47	c
Arado	Agroquímico disuelto en PDA	1,00±0,47	c

*Medias con una letra común no son estadísticamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

De acuerdo con la tabla anterior, los experimentos in vitro de cultivos duales de *Beauveria bassiana* y agroquímicos presentaron un crecimiento constante, la mayor longitud  $6,22\pm 0,47$  mm de crecimiento del hongo se presentó bajo la influencia del producto STARMITE el cual tiene un efecto acaricida, seguido de 10 agroquímicos cuyo efecto principal es acaricida e insecticida, bajo el método de siembra sensidisco y sensidisco con un tiempo de espera de 48 horas. Los 12 agroquímicos cuyo efecto es fungicida bajo el método disuelto en PDA, presento los más bajos crecimientos longitudinales  $1\pm 0,47$  mm del hongo, así (Damicone, 2004) menciona que la resistencia a fungicidas se manifiesta como una variación genética en un hongo que resulta en la reducción de su sensibilidad a una molécula química, por lo que el 50% de agroquímicos presentaron un crecimiento considerable en lo que respecta a la germinación o infección del patógeno.

#### **4.1.5.2 Crecimiento de *Beauveria bassiana* expuesto 23 agroquímicos.**

En la tabla, se muestra el crecimiento longitudinal de *Beauveria bassiana* respecto a la aplicación de diferentes agroquímicos.

**Tabla 13***Promedio ± error estándar del crecimiento longitudinal (cm) del hongo (Beauveria bassiana)*

	<b>Agroquímico</b>	<b>Longitud (mm)</b>	
Acaricida	Starmite	5,71±0,06	a
Acaricida	Melt down	5,31±0,06	b
Acaricida	Agrothiazox	5,08±0,03	c
Acaricida	Vertimec	4,91±0,03	d
Acaricida	Nissorun	4,91±0,02	d
Biológico	New mectin	4,87±0,02	d
Acaricida	Kanemite	4,79±0,05	e
Acaricida	Acramite	4,77±0,05	e
Insecticida	Polo	4,74±0,03	e
Fungicida	Stroby	4,52±0,04	f
Fungicida	Mildex	4,49±0,04	f
Insecticida	Dicarzol	3,93±0,04	g
Fungicida	Luna	3,51±0,03	h
Fungicida	Meltatox	3,47±0,01	h
Fungicida	Prosper	3,43±0,05	h
Fungicida	Topas	3,30±0,02	i
Fungicida	Dalac	3,29±0,01	i
Fungicida	Micoraflora	3,20±0,02	i
Fungicida	Arado	3,20±0,14	i
Fungicida	Mirror	3,01±0,03	j
Insecticida	Mitac	2,90±0,02	k
Fungicida	Yoke	2,69±0,14	l
Fungicida	Silvacur	2,51±0,14	l

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

En la tabla anterior se muestra que el agroquímico Starmite cuyo control es acaricida, permite un mayor crecimiento del hongo 5,71±0,06 mm; respecto a los demás agroquímicos evaluados. Los agroquímicos con control acaricida, biológico e insecticida también presentaron un alto grado de compatibilidad con el hongo entomopatógeno, y los valores de crecimiento longitudinal más bajos son los expuesto a fungicidas, excepto los agroquímicos Mitac y Dicarzol. Los fungicidas Stroby y Mildex presentaron un crecimiento de 4,52±0,04 mm y 4,49±0,04 mm, los



cuales pueden ser considerados para la planificación de fumigación, debido a que su crecimiento no se afectó. (Domenico & Dorta, 2010) menciona que si bien el conocimiento del efecto in vitro de un agroquímico sobre un organismo biocontrolador es una información fundamental, no determinan por completo el éxito de la aplicación conjunta. Algunos agroquímicos como el fungicida en combinación con otros, reduce las condiciones para un óptimo control de plagas.

El ingrediente activo Tebuconazol presentó el 100% de inhibición del crecimiento micelial de *Beauveria bassiana* a todas las concentraciones del fungicida en estudio, el cual corrobora los resultados realizados en laboratorio en el cual se muestra que los agroquímicos Yoke, Mirror, y Silvacur, presentaron el menor crecimiento del hongo. (Castellanos, Muiño , Lorenzo, Rodríguez , & Gómez, 2011) menciona que ebuconazol presentó el 100% de inhibición del crecimiento micelial de *Beauveria bassiana* a todas las concentraciones del fungicida en su estudio.

#### **4.1.5.3 Crecimiento de *Beauveria bassiana* bajo tres métodos de aplicación de agroquímicos**

Al analizar el efecto de los tres métodos de aplicación del agroquímico in vitro, se pudo encontrar diferencias significativas entre los mismos ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 14**

*Promedio  $\pm$  error estándar del crecimiento longitudinal (mm) del hongo (*Beauveria bassiana*) por los diferentes métodos de siembra*

<b>Método de siembra</b>	<b>Longitud (mm)</b>	
<i>Beauveria</i> -sensidisco (48 h)	4,76 $\pm$ 0,02	a
<i>Beauveria</i> -sensidisco	4,37 $\pm$ 0,02	b
Agroquímico disuelto en PDA	2,94 $\pm$ 0,02	c

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

Se encontró que el método de aplicación de agroquímico sobre sensidiscos con un tiempo de espera de 48 horas presento un mayor crecimiento longitudinal 4,76 $\pm$ 0,02 mm y el menor crecimiento longitudinal 2,94 $\pm$ 0,02 mm se presentó bajo el método de aplicación agroquímico disuelto en PDA, (Luz , Basto, & Nunes, 2007) mencionan que, si se aplica un insecticida en conjunto con algún hongo entomopatógeno y el primero es capaz de disminuir en gran medida la población del insecto, la adición del producto biológico a la mezcla podría ser en vano, ya que el hongo no tendría a la disposición ninguna población para atacar. Es imprescindible que antes de realizar este tipo de mezclas, se tenga en cuenta toda la información necesaria (compatibilidad in vitro e información ecológica) para poder obtener el máximo provecho a cada aplicación.

## **4.2 Análisis de variables de campo**

### **4.2.1 Pruebas de sensibilidad de *Beauveria bassiana* frente a productos químicos**

El análisis realizado para elegir el grupo de agroquímicos que se utilizaron en las planificaciones de fumigación se presentan a continuación:

**Tabla 15***Frecuencias de las medias de los agroquímicos evaluados con Beauveria bassiana*

<b>Variable</b>	<b>Clase</b>	<b>LI - LS</b>	<b>MC</b>	<b>FA</b>	<b>FR</b>
Medias	1	(4,91 - 5,71)	5,31	3	0,13
Medias	2	(4,11 - 4,91)	4,51	8	0,35
Medias	3	(3,31 - 4,11)	3,71	4	0,17
Medias	4	(2,51 - 3,31)	2,91	8	0,35

LI: Límite inferior; LS: Límite superior

Para la selección de agroquímicos se tomó el promedio de crecimiento longitudinal (mm) del hongo en las evaluaciones in vitro, utilizando el 48% de productos que corresponden a los siguientes: Starmite, Melt down, Agrothiazox, Vertimec, Nissorun, New mectin, Kanemite, Acramite, Polo, Stroby y Mildex. Los mencionados agroquímicos se utilizaron para la planificación de fumigación en la finca Florifrut.

Así, (Mochi, Monteiro, De Bortoli , Dória , & Barbosa, 2006) establecieron que los plaguicidas pueden inhibir el crecimiento y esporulación, además causar mutaciones genéticas y afectar el desarrollo de los hongos entomopatógenos, resultando en una baja viabilidad de los conidios, lo que coincide con los resultados obtenidos en esta investigación en los cuales no se pudo tomar todos los agroquímicos en las pruebas de campo por cuanto su crecimiento no fue óptimo en las pruebas de laboratorio. Sin embargo, estas consecuencias pueden variar según la naturaleza y concentración del producto químico, de la especie del hongo y su genética.

## 4.2.2 Análisis de incidencia de *Tetranychus urticae* en campo

### 4.2.2.1 Pruebas de hipótesis marginales (Población de *Tetranychus urticae*)

**Tabla 16**

*Evaluación de elementos de variación*

<b>Fuentes de variación</b>	<b>gl</b>	<b>F-valor</b>	<b>p-valor</b>
Rotación	1	1,26	0,2645
Tercio	2	113,14	<0,0001
Semana	6	9,37	<0,0001
Rotación: Tercio	2	2,98	0,0546
Rotación: Semana	6	8,43	<0,0001
Tercio: Semana	12	2,19	0,0160
Rotación: Tercio: Semana	12	0,44	0,9465

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

La rotación de agroquímicos aplicada en los bloques 5 y 15 no presentaron diferencias significativas en el índice de severidad *T. urticae* ( $P > 0,05$ ).

En las siete semanas y los tres tercios de las plantas evaluadas se encontró diferencia significativa. Las interacciones rotación x semana y tercio x semana presentaron diferencia significativa. La interacción doble rotación x tercio al igual que la interacción triple Rotación x Tercio x Semana no presento un efecto significativo ( $P > 0,05$ ).

### 4.2.2.2 Análisis de población de *Tetranychus urticae* bajo dos rotaciones de fumigación

Transcurrido 7 semanas después de la primera aplicación, se evidenció que no existe un efecto significativo de la rotación química (planificación de agroquímicos) ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 17**

*Promedio  $\pm$  error estándar del número de ácaros sometido a dos tipos de rotación química de plantas de rosa variedad Mondial.*

<b>Rotación</b>	<b>Número de ácaros</b>	
15,00	4,03 $\pm$ 0,12	a
5,00	3,85 $\pm$ 0,10	a

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

En la (tabla 19), se observa que la rotación de agroquímicos aplicada al bloque 15 y 5 de rosas variedad Mondial no afecta la presencia de ácaros con una media de 4,03 $\pm$ 0,12 y 3,85 $\pm$ 0,10 respectivamente, y esto se debe a que se tomaron los agroquímicos que permitieron mayor crecimiento del hongo respecto a los agroquímicos en la fase de laboratorio, (Cuthbertson , Walters , & Deppe, 2005) menciona que como parte del desarrollo efectivo de un MIP, donde se use los hongos entomopatógenos como una estrategia dentro del control biológico, se debe tener claro el efecto de los insecticidas sobre los hongos que se vaya a utilizar, de manera que exista la posibilidad de aplicarlos en conjunto dentro del sistema, así el ensayo realizado demuestra que las dos rotaciones establecidas con diferentes agroquímicos (seleccionados en las pruebas de laboratorio) son viables y se puede optar por cualquier rotación.

#### **4.2.2.3 Análisis de población de *Tetranychus urticae* por tercio de planta**

Para el muestreo del número de ácaros se dividió la planta de rosa en tres partes iguales, las cuales se denominaron tercio bajo, medio, superior presentando un efecto significativo ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 18**

*Promedio  $\pm$  error estándar del número de ácaros evaluados en tres tercios de plantas de rosa variedad Mondial.*

<b>Tercio</b>	<b>Número de ácaros</b>	
Bajo	5,33 $\pm$ 0,17	a
Medio	3,95 $\pm$ 0,14	b
Superior	2,55 $\pm$ 0,09	c

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

Teniendo en cuenta el tiempo transcurrido desde la primera aplicación se observó un mayor número de ácaros 5,33 $\pm$ 0,17 en el tercio bajo, mientras que el menor número 2,55 $\pm$ 0,09 se encontró en el tercio superior del cultivo de rosas.

(Molina , Zaldúa, González , & Sanfuentes, 2006) en su estudio realizado para la selección de hongos antagonistas para el control biológico de *Botrytis cinerea* en viveros forestales en Chile mostró que, en los tercios evaluados presentaron diferencias significativas para el caso de fungicida, hongo y control.

#### **4.2.2.4 Análisis de población de *Tetranychus urticae* en siete semanas**

La evaluación de la colonización de los hongos controladores sobre los ácaros en un tiempo de siete semanas presento un efecto significativo ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 19**

*Promedio  $\pm$  error estándar del número de ácaros evaluados en siete semanas en plantas de rosa variedad Mondial.*

<b>Semana</b>	<b>Número de ácaros</b>	
1,00	5,08 $\pm$ 0,30	a
3,00	4,87 $\pm$ 0,33	a
4,00	3,88 $\pm$ 0,17	b
2,00	3,69 $\pm$ 0,19	b c
6,00	3,46 $\pm$ 0,14	b c d
5,00	3,42 $\pm$ 0,12	c d
7,00	3,19 $\pm$ 0,13	d

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

En la tabla anterior se muestra que el número de ácaros a la primera semana es 5,08 $\pm$ 0,30 y a la séptima semana de aplicación se evidencio una disminución del 37,20% de ácaros. Las semanas 5,6 y 7 presentaron diferencia significativa respecto a las demás semanas. Además, que la semana 7 presentó menor número de ácaros respecto a la semana 1,2,3 y 4. Esto concuerda con (González & Rugama, 2016) en su estudio, el cual demuestra que la población adultos de mosca blanca tuvo un comportamiento variable en el tiempo para todos los tratamientos establecidos.

#### **4.2.2.5 Análisis de población de *Tetranychus urticae*, interacción (rotación x semana)**

Los datos obtenidos de la interacción entre la rotación química (planificación de agroquímicos) y el tiempo transcurrido desde la primera aplicación presentaron un efecto significativo ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 20**

*Promedio  $\pm$  error estándar del Número de ácaros evaluados en la interacción de rotación por el número de semanas.*

<b>Rotación</b>	<b>Semana</b>	<b>Número de ácaros</b>	
15,00	3,00	5,70 $\pm$ 0,52	a
15,00	1,00	5,30 $\pm$ 0,47	a b
5,00	1,00	4,86 $\pm$ 0,38	a b c
15,00	4,00	4,29 $\pm$ 0,25	b c d
5,00	3,00	4,03 $\pm$ 0,39	c d e
15,00	2,00	4,00 $\pm$ 0,28	c d e
5,00	7,00	3,91 $\pm$ 0,20	d e
5,00	6,00	3,78 $\pm$ 0,22	d e f
5,00	5,00	3,52 $\pm$ 0,17	e f g
5,00	4,00	3,47 $\pm$ 0,22	e f g
5,00	2,00	3,39 $\pm$ 0,25	e f g
15,00	5,00	3,33 $\pm$ 0,16	e f g
15,00	6,00	3,13 $\pm$ 0,18	g
15,00	7,00	2,47 $\pm$ 0,15	h

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

Los resultados de la interacción mostraron que en los bloques 5 y 15, el número de ácaros disminuyó a partir de la cuarta semana de aplicación, y progresivamente fue disminuyendo hasta la séptima semana donde se evidenció un descenso del 56,66% de ácaros.

En cada una de las evaluaciones durante las siete semanas la estrategia de control que corresponde a las dos alternativas de rotación química más *Beauveria bassiana*, presentó un menor índice de severidad en las últimas semanas.

En cada una de las estrategias de control (rotación) el índice de severidad de *T. urticae* decreció a medida del tiempo (semanas). Este decrecimiento del acaro se debe a que la combinación de los agroquímicos junto al hongo entomopatógeno actúan sobre todos los estadios de esta plaga. Sobre todo, en huevos y estados inmaduros. Así (Hidalgo, 2015) menciona en su



estudio que en cada una de las estrategias de control el índice de severidad de *T. urticae* decreció a medida que se incrementó el tiempo de evaluación.

#### 4.2.2.6 Análisis de población de *Tetranychus urticae*, interacción (tercio x semana)

El análisis de la interacción del tercio de la planta y la semana de evaluación presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ).

**Tabla 21**

*Promedio  $\pm$  error estándar del número de ácaros evaluados en los tres tercios de las plantas de rosa variedad Mondial*

Tercio	Semana	Numero de ácaros	
Bajo	3,00	6,51 $\pm$ 0,78	a
Medio	1,00	5,83 $\pm$ 0,63	a b
Bajo	4,00	5,55 $\pm$ 0,38	a b
Bajo	1,00	5,37 $\pm$ 0,54	a b
Bajo	6,00	5,27 $\pm$ 0,33	a b
Bajo	5,00	5,23 $\pm$ 0,26	a b
Bajo	2,00	4,77 $\pm$ 0,41	b c
Bajo	7,00	4,59 $\pm$ 0,27	b c
Medio	3,00	4,56 $\pm$ 0,46	b c
Superior	1,00	4,04 $\pm$ 0,36	c d e
Medio	2,00	3,82 $\pm$ 0,32	c d e
Medio	4,00	3,78 $\pm$ 0,26	d e
Superior	3,00	3,53 $\pm$ 0,37	d e f
Medio	5,00	3,51 $\pm$ 0,19	e f
Medio	6,00	3,22 $\pm$ 0,21	e f g
Medio	7,00	2,95 $\pm$ 0,20	f g h
Superior	2,00	2,49 $\pm$ 0,22	h i
Superior	4,00	2,32 $\pm$ 0,19	i j
Superior	7,00	2,04 $\pm$ 0,16	i j
Superior	6,00	1,88 $\pm$ 0,16	j k
Superior	5,00	1,53 $\pm$ 0,14	k

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

Las evaluaciones del número de ácaros realizada en el tercio bajo de las plantas desde la primera semana hasta la sexta semana no presentaron diferencias significativas, al igual el número de ácaros en el tercio superior desde la cuarta a séptima semana.

### 4.2.3 Análisis de severidad de *Tetranychus urticae* en campo

#### 4.2.3.1 Pruebas de hipótesis marginales (Severidad)

**Tabla 22**

*Evaluación de elementos de variación*

Fuentes de variación	gl	F-valor	p-valor
Rotación	1	1,22	0,2707
Tercio	2	115,66	<0,0001
Semana	6	9,47	<0,0001
Rotación: Tercio	2	3,22	0,0431
Rotación: Semana	6	8,64	<0,0001
Tercio: Semana	12	2,27	0,0122
Rotación: Tercio: Semana	12	0,48	0,9259

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

La rotación de agroquímicos aplicada en los bloques 5 y 15 no presentaron diferencias significativas en el índice de severidad *T. urticae* ( $P > 0,05$ ).

En las siete semanas y los tres tercios de las plantas evaluadas se encontró diferencia significativa. Las interacciones rotación x tercio, rotación x semana y tercio x semana presentaron diferencia significativa. La interacción Rotación x Tercio x Semana no presentó un efecto significativo ( $P > 0,05$ ).

#### 4.2.3.2 Análisis de severidad de *Tetranychus urticae* bajo dos rotaciones de fumigación

**Tabla 23**

*Promedio ± error estándar de la severidad de ácaros sometido a dos tipos de rotación química de plantas de rosa variedad Mondial*

<b>Rotación</b>	<b>Severidad</b>	
15,00	2,28±0,05	a
5,00	2,21±0,04	a

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

El índice de severidad no presentó un efecto significativo en las dos alternativas de rotación (planificación de fumigación bloque 5, 15) evaluadas en la finca Florifrut.

#### 4.2.3.3 Análisis de severidad de *Tetranychus urticae* por tercio de planta

**Tabla 24**

*Promedio ± error estándar de la severidad de ácaros evaluados en tres tercios de plantas de rosa variedad Mondial.*

<b>Tercio</b>	<b>Severidad</b>	
Bajo	2,83±0,07	a
Medio	2,25±0,06	b
Superior	1,65±0,04	c

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

El índice de severidad, evaluado en los tres tercios de la planta, presentó diferencia significativa, evidenciando que el tercio bajo es la zona con mayor afectación por *Tetranychus urticae* a comparación del tercio superior que presentó un índice de severidad de ácaros menor en 41,69%.

(Zhang, 2003), Manifiestan que la distribución de las poblaciones de *T. urticae*, tienden a alcanzar altas densidades poblacionales al formar focos, aplicando algunos productos comerciales de uso común en cultivos de rosa.

#### 4.2.3.4 Análisis de severidad de *Tetranychus urticae* en siete semanas

**Tabla 25**

*Promedio ± error estándar de la severidad de ácaros evaluados en siete semanas en plantas de rosa variedad Mondial*

<b>Semana</b>	<b>Severidad</b>	
1,00	2,72±0,13	a
3,00	2,63±0,14	a
4,00	2,22±0,07	b
2,00	2,14±0,08	b c
6,00	2,04±0,06	b c d
5,00	2,02±0,05	c d
7,00	1,93±0,05	d

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).*

El índice de severidad presentó diferencia significativa en las siete semanas evaluadas, en donde la semana uno (2,72±0,13) y tres (2,63±0,14) obtuvo mayor presencia de *Tetranychus urticae* a comparación de la semana cinco (2,02±0,05), seis (2,04±0,06) y siete (1,93±0,05) en el que disminuyó notablemente su presencia.

(Villegas , y otros, 2010) manifiesta que la plaga aumenta debido a que no todas las fases del ciclo requieren del mismo tipo de acaricida, lo que favorece el desarrollo de numerosas y superpuestas poblaciones en corto tiempo.

#### 4.2.3.5 Análisis de severidad de *Tetranychus urticae*, interacción (rotación x tercio)

La interacción Rotación x Tercio, presentó diferencia significativa en el índice de severidad de *Tetranychus urticae*, la rotación del bloque 5 y 15 del tercio superior, presentó 47,58 % índice de severidad menor con respecto a la rotación del bloque 5 del tercio bajo.

**Tabla 26**

*Promedio  $\pm$  error estándar de severidad, de la interacción entre rotación y tercio de la planta.*

<b>Rotación</b>	<b>Tercio</b>	<b>Medias</b>	
5,00	Bajo	2,90 $\pm$ 0,10	a
15,00	Bajo	2,76 $\pm$ 0,10	a
15,00	Medio	2,30 $\pm$ 0,09	b
5,00	Medio	2,20 $\pm$ 0,07	b
15,00	Superior	1,78 $\pm$ 0,06	c
5,00	Superior	1,52 $\pm$ 0,05	d

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

#### 4.2.3.6 Análisis de severidad de *Tetranychus urticae*, interacción (rotación x semana)

**Tabla 27**

*Promedio  $\pm$  error estándar de severidad de la interacción rotación x semana*

<b>Rotación</b>	<b>Semana</b>	<b>Medias</b>	
15,00	3,00	2,99 $\pm$ 0,22	a
15,00	1,00	2,82 $\pm$ 0,19	a b
5,00	1,00	2,63 $\pm$ 0,16	a b c
15,00	4,00	2,39 $\pm$ 0,11	b c d
5,00	3,00	2,28 $\pm$ 0,16	c d e
15,00	2,00	2,27 $\pm$ 0,12	c d e
5,00	7,00	2,23 $\pm$ 0,08	d e
5,00	6,00	2,19 $\pm$ 0,08	d e f
5,00	5,00	2,07 $\pm$ 0,07	e f g
5,00	4,00	2,05 $\pm$ 0,09	e f g
5,00	2,00	2,01 $\pm$ 0,11	e f g
15,00	5,00	1,98 $\pm$ 0,07	e f g
15,00	6,00	1,90 $\pm$ 0,07	g
15,00	7,00	1,62 $\pm$ 0,06	h

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

Se encontró diferencia significativa en la interacción Rotación x Semana con  $P < 0,05$ ; la rotación del bloque 15 aplicada en la primera y tercera semana al igual que la rotación del bloque 5 aplicada en la primera semana presentó mayor índice de severidad (45,81%) que la rotación del bloque 15 en la séptima semana.

#### 4.2.3.7 Análisis de severidad de *Tetranychus urticae*, interacción (tercio x semana)

**Tabla 28**

*Promedio  $\pm$  error estándar de severidad de la interacción tercio x semana*

<b>Tercio</b>	<b>Semana</b>	<b>Medias</b>	
Bajo	3,00	3,33 $\pm$ 0,32	a
Medio	1,00	3,04 $\pm$ 0,26	a b
Bajo	4,00	2,92 $\pm$ 0,16	a b
Bajo	1,00	2,85 $\pm$ 0,23	a b
Bajo	6,00	2,81 $\pm$ 0,13	a b
Bajo	5,00	2,79 $\pm$ 0,11	a b
Bajo	2,00	2,59 $\pm$ 0,17	b c
Bajo	7,00	2,52 $\pm$ 0,11	b c
Medio	3,00	2,51 $\pm$ 0,20	b c d
Superior	1,00	2,28 $\pm$ 0,16	c d e
Medio	2,00	2,19 $\pm$ 0,13	c d e
Medio	4,00	2,18 $\pm$ 0,11	d e
Superior	3,00	2,07 $\pm$ 0,16	d e f
Medio	5,00	2,06 $\pm$ 0,08	e f
Medio	6,00	1,97 $\pm$ 0,09	e f g
Medio	7,00	1,82 $\pm$ 0,08	f g h
Superior	2,00	1,63 $\pm$ 0,10	h i
Superior	4,00	1,56 $\pm$ 0,08	i
Superior	7,00	1,44 $\pm$ 0,07	i j
Superior	6,00	1,35 $\pm$ 0,06	j k
Superior	5,00	1,22 $\pm$ 0,06	k

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

Se encontró diferencia significativa en la interacción Tercio x Semana ( $P < 0,05$ ), en la sexta y séptima semana en el tercio superior se presentó un menor índice de severidad de *Tetranychus urticae*, respecto al tercio bajo de la primera, tercera hasta sexta semana.

### 4.3 Análisis económico

**Tabla 29**

*Costos variables por tratamiento*

Tratamiento	Costos fijos/tallo (USD)	Total costos que varían/tratamiento/ha (USD)	Costo promedio de venta tallo (USD)	Rendimiento /ha	Rendimiento corregido Tasa de ajuste 15%
Testigo (R1)	0,09	0	0,18	83 766	71 201,1
R1B1	0,09	1113,57	0,18	92 142	78 320,7
Testigo (R2)	0,09	0	0,18	83 766	71 201,1
R2B1	0,09	1113,57	0,18	87 954	74 760,9

USD: Dólares americanos

**Tabla 30**

*Análisis costo-beneficio por tratamiento*

Tratamiento	Beneficio Bruto	Total costos que varían/tratamiento/ha (USD)	Beneficio Neto	▲ BN Marginal	▲ CV Marginal	TRM
Testigo (R1)	12 816,19	0	12 816,19	167,95	1 113,57	0,15
R1B1	14 097,72	1113,57	12 984,15			
Testigo (R2)	12 816,19	0	12 816,19	-472,80	1 113,57	-0,42
R2B1	13 456,96	1113,57	12 343,39			

BN: Beneficio Neto; CV: Costos Variables; TRM: Tasa de Retorno Marginal.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

- La mortalidad de adultos de *Tetranychus urticae* causada por la cepa de *Beauveria bassiana* (FLORUFRUT), en el lapso de 120 horas presentó una mortalidad del 86%, el cual en este tiempo se pudo visualizar que los ácaros perdieron movilidad hasta ser momificados por el hongo.
- El método de aplicación de agroquímico sobre sensidiscos con un tiempo de espera de 48 horas presentó un mayor crecimiento longitudinal  $4,76 \pm 0,02$  mm y el menor crecimiento longitudinal  $2,94 \pm 0,02$  mm se presentó bajo el método de aplicación agroquímico disuelto en PDA.
- Starmite cuyo control es acaricida, permitió un mayor crecimiento del hongo  $5,71 \pm 0,06$  mm, respecto a los demás agroquímicos evaluados. Además, los acaricidas Melt down, Agrothiazox, Vertimec, Nissorun, Kanemite, Acramite, Polo, New mectin (Biológico), presentaron un alto grado de compatibilidad con el hongo entomopatógeno, Los fungicidas Stroby y Mildex presentaron un crecimiento de  $4,52 \pm 0,04$  mm y  $4,49 \pm 0,04$  mm, los cuales pueden ser considerados para la planificación de fumigación, debido a que su crecimiento no se afectó.
- La incidencia de ácaros a la primera semana es  $5,08 \pm 0,30$  y a la séptima semana de aplicación de la rotación de fumigación se evidenció una disminución del 37,20% de ácaros. Las semanas



6 y 7 presentaron diferencia significativa respecto a las demás semanas. Además, que la semana 7 presentó menor número de ácaros respecto a la semana 4.

- El índice de severidad presentó diferencia significativa en las siete semanas evaluadas, en donde la semana uno ( $2,72 \pm 0,13$ ) y tres ( $2,63 \pm 0,14$ ) se obtuvo mayor presencia de *Tetranychus urticae* a comparación de la semana cinco ( $2,02 \pm 0,05$ ), seis ( $2,04 \pm 0,06$ ) y siete ( $1,93 \pm 0,05$ ) en el que disminuyó notablemente su presencia.
- El análisis económico mostró que se puede pasar del método de control convencional realizado por la finca al método de control evaluado en este estudio (rotación de agroquímicos 1 mas *Beauveria bassiana*) con una Tasa de Retorno Marginal de 0,15.

## 5.2 Recomendaciones

- Aislar la cepa de *Beauveria bassiana*, del suelo de la finca en el cual se aplicará el producto, pues el hongo se encuentra acondicionado al clima y suelo, propias del lugar.
- *Beauveria bassiana* con  $1 \cdot 10^6$  UFC, la dosis ideal de aplicación en capo es de 4ml por litro de agua.
- En la rotación de agroquímicos con material biológico (*Beauveria bassiana*) se recomienda aplicar los productos acaricidas Starmite, Melt down, Agrothiazox, Vertimec, Nissorun, Kanemite, Acramite, Polo, New mectin (Biológico) y los fungicidas Stroby y Mildex, pues no mostraron cambio en el desarrollo normal del hongo.
- Con la finalidad de conservar *Beauveria bassiana*, se recomienda cada seis meses reactivar la cepa del hongo para mantener los genes de virulencia sobre *Tetranychus urticae*.

### 5.3 Bibliografía

- Acosta, A. (1992). Control Biológico De Ácaros Tetranychidae. *Agronomía Colombiana*, 9, 202–206.
- Araujo, E. (2008). Hongos Entomopatógenos: Importante Herramienta Para El Control De “Moscas Blancas” (Homoptera: Aleyrodidae). *Anais Da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*, 5(5), 209-242.
- Argolo, P. (2012). Gestión integrada de la araña roja *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae): optimización de su control biológico en clementinos. *Tesis Doctoral*.
- Belda, J. (1991). *Áfidos o Pulgones*. Obtenido de Plagas Del Tomate: Bases Para El Control Integrado:  
<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Áfidos+o+Pulgones#3>
- Bustillo, A. (1993). Bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). *Revista colombiana de entomología* 19(4), 123-130.
- Cardona, C., Rodríguez, I., Bueno, J., & Tapia, X. (2005). *Biología y manejo de la mosca blanca Trialeurodes vaporariorum en habichuela y frijol*. Colombia: CIAT. Obtenido de <http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=ZERwcoGwY24C&oi=fnd&pg=PA1&dq=Biología+y+Manejo>
- Castellanos, L., Muiño, B., Lorenzo, M., Rodríguez, A., & Gómez, M. (2011). Efecto in vitro de siete fungicidas químicos sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. *Scielo* 15(1), 31-38.
- Castillo, C., Cañizalez, L., Jean, R., Guedez, C., Olivar, C., Morillo, R., & Morillo, S. (2012). Caracterización morfológica de *Beauveria bassiana*, aislada de diferentes insectos en Trujillo. *ACADEMIA XV*, 275-281.
- Castro, L. (2012). Evaluación de aislamientos nativos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control del gusano del fruto *Heliothis virescens* (Fabricius 1771) en el cultivo de tomate *Solanum lycopersicum* (Mill). Guasave, Sinaloa.
- Cuthbertson, A., Walters, K., & Deppe, C. (2005). Compatibility of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* and insecticides for eradication of sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*. *Mycopathologia* 160, 35-41.

- Chiriboga, H., Gomez, G., & Garcés, K. (2015). Protocolos para formulación y aplicación del bio-insumotrichoderma spp. para el control biológico de enfermedades (No. IICA H20). *IICA, Asunción*.
- Damicone, J. (2004). Fungicide Resistance Management. *Oklahoma State University*, 7.
- Domenico, P., & Dorta, B. (2010). Efecto de agroquímicos sobre el desarrollo del hongo entomopatígeno *Nomuraea rileyi* y su virulencia sobre *Spodoptera frugiperda*. *Bioagro* 22(2), 105-114.
- EXPOFLORES. (19 de 12 de 2019). Obtenido de <https://expoflores.com/inteligencia-de-mercados/>
- EXPOFLORES. (25 de 12 de 2019). *Exportaciones de rosas del Ecuador*. Obtenido de <https://sway.office.com/WoLI8EgugHWeIXhu?accessible=true>
- EXPOFLORES. (19 de 12 de 2019). *Exportaciones sector florícola*. Obtenido de Informes económicos: <https://expoflores.com/inteligencia-de-mercados/>
- Fainstein, R. (1997). Manual para cultivo de rosa en Latinoamérica, Ecuador. *Ecuoffset*, 247.
- Falconí, C. (1998). Phytopathology Practice. *EdiEspe*, 118.
- Figuerola, C., & García, C. (2002). Aislamiento e identificación de *Botrytis* sp en áreas de invernadero y postcosecha en un cultivo de rosa de la sabana de Bogotá mediante el empleo de placas petrifilm .
- García, D., & Procel, D. (2011). Evaluación de cuatro extractos en el control de *tetranychus* sp, ácaro, en rosas de exportación en la Empresa Guanguilqui Agroindustrial SA. Quito.
- García, M., Villamizar, L., & Torres, L. (2006). Efecto de subcultivos sucesivos de *Beauveria bassiana* sobre sus características y actividad contra *Premnotrypes vorax*. *Manejo ntegrado de Plagas y Agroecología No.77*, 50 -56.
- González, M., & Rugama, G. (2016). Frecuencias de aplicaciones de hongos entomopatógenos y azufre para el manejo de ácaro (*Polyphagotarsonemus latus* Bank.) (Aracnida: Tarsonemidae) y mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.) (Hemíptera: Aleyrodidae) vs manejo químico en el cultivo de chiltoma. *Universidad Nacional Agraria*, 55.
- González, L., Lina, B., García, M., Nicao, M., & Rodríguez, A. (2011). Efecto in vitro de siete fungicidas químicos sobre *Beauveria bassiana* (BALS.). *VUIL. Fitosanidad*, 15(1), 31-38.

- González, L., Nicao, E., & Muiño, L. (2013). Compatibilidad de cuatro plaguicidas de diferentes grupos químicos con *Lecanicillium lecanii* ( Zimm ). *Zare y Gams* , 28(3), 199-203.
- GREENSITE. (25 de 12 de 2019). *GREENSITE*. Obtenido de <https://es.greensite.sk/como-cultivar-un-te-agraciado-hibrido-rosa-mondial-en-el-pais-617>
- Hidalgo, G. (2015). Optimización del control biológico del ácaro del rosal *Tetranychus urticae* Koch mediante el ácaro *Neoseiulus californicus* y su comparación con tratamientos químicos en la variedad Freedom. 50-89.
- INTAGRI. (2017). Manejo integrado de Araña Roja en hortalizas bajo invernadero. 10.
- Jimenez. (2019). Respuesta del cultivo de rosa sp. variedad Freedom al tercer y cuarto ciclo de aplicación de un bioestimulante. 36.
- Jimenez, J. (1992). Patogenicidad de diferentes aislamientos de *Beauveria bassiana* sobre la broca del café. *Cenicafé* 43(3), 84 - 98.
- Landeros, J., Cerna, E., & Badii, M. (2010). Regulación Poblacional de Ácaros Plaga de Impacto Agrícola. *International Journal of Good Conscience*, 5(1), 270–302.
- Leucona, R. (1996). *Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga*. Argentina: 338 p.
- López, C. (2017). Patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei* en generaciones reproductivas. *Revista de la Carrera de Ingeniería Agronómica - UMSA* 3(3), 639-651.
- Luz , C., Basto, M., & Nunes, L. (2007). In vitro susceptibility to fungicides by invertebrate pathogenic and saprobic fungi. *Mycopathologia* 164, 39-47.
- Manzanares, B. (2016). Análisis de la interacción de acaricidas de nueva generación con los agentes de control biológico *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) y *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae) para su correcta incorporación al Manejo Integrado de *Tetranychus*. España.
- Mochi, D., Monteiro, A., De Bortoli , S., Dória , H., & Barbosa, J. (2006). Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) in Soil with different pesticides. *Neotropical Entomology* 35(3), 382-389.

- Molina , G., Zaldúa, S., González , G., & Sanfuentes, E. (2006). Selección de hongos antagonistas para el control biológico de *Botrytis cinerea* en viveros forestales en Chile. *Bosque* 27(2), 126-134.
- Motta, P., & Murcia, B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Ambiente & Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 6(2), 77–90.
- Páramo, G., Corredor, D., & Sánchez, M. (1986). Tabla de vida y parámetros poblacionales fundamentales de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) sobre Rosa sp. en condiciones de laboratorio. *Agronomía Colombiana*, 3(1), 83-96.
- Perez, K. (2017). *La industria de las rosas en el Ecuador*. Recuperado el 20 de agosto de 2018, de <http://puceae.puce.edu.ec/efi/index.php/economia-internacional/14-competitividad/171-la-industria-de-las-rosas-en-el-ecuador>
- Perrin, R., Winkelman, D., Moscardi, E., & Anders, J. (1976). Formulación de recomendaciones a partir de datos agronómicos: un manual metodológico de evaluación económica. . *CIMMYT, México DF, MEX.*, 54.
- Porcuna, J. (2011). *Acaros: Panonychus citri, Tetranychus urticae Tetranychus evansi, Aculops lycopersici*. Recuperado el 20 de septiembre de 2018, de [http://www.agroecologia.net/recursos/Revista\\_Ae/Ae\\_a\\_la\\_Practica/fichas/N4/ficha-revista-AE-4-insectos.pd](http://www.agroecologia.net/recursos/Revista_Ae/Ae_a_la_Practica/fichas/N4/ficha-revista-AE-4-insectos.pd)
- Pujota, A. (2013). Sistematización del manejo integrado de *Frankliniella occidentalis*, en el cultivo de rosas bajo invernadero en el sector de Tabacundo. Pedro Moncayo .
- Quiroz, I. (1994). *Disponibilidad de aislados patogenicidad de Hongos entomopatogenos para el manejo de plagas insectiles de importancia de la región. Editado por CATIE-INTA/MIP. (NORAD-ASDI). Informe final del proyecto hongos entomapatogenos Centro Nacional de Diagnostico . Nicaragua.*
- Robles, A., Robles, G., Rodríguez, J., Santillán, C., Lagunes, Á., Flores, R., & Cambero, J. (2012). Resistencia de cuatro poblaciones del acaro (*Tetranychus urticae* Koch.) a propargite en en rosa de corte (Rosa x hybrida). *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(4), 785-795.
- Samson, R., Evans, H., & Latge, J. (1988). *Atlas of Entomopathogenic Fungi*. Springer-Verlag, Berlin.

- Taco, J. (2018). Determinación de la acumulación de grados día desarrollo en seis estados fenológicos de cinco variedades de *Rosa* sp. 13-14.
- Toapanta, E. (2013). Control biológico de araña roja (*Tetranychus urticae*), en tres variedades de rosas (*Rosa* sp) de exportación a través de dos depredadores biológicos en la empresa Texas Flowers S.A. 118. Cotopaxi.
- Valdivia, C. (2015). *El país de la rosa | Expedición Tahina-Can*. Recuperado el 29 de agosto de 2018, de <http://www.tahina-can.org/reportajes/el-pais-de-la-rosa>
- Vásquez, C. (2016). *Cultivos de rosas en el Ecuador*. Recuperado el 13 de septiembre de 2018, de <http://puceae.puce.edu.ec/efi/index.php/economia-internacional/14-competitividad/177-cultivos-de-rosas-en-el-ecuador>
- Villegas, S., Rodríguez, J., Rosales, S., Sánchez, H., Hernández, J., & Muñiz, R. (2010). Resistencia a Acaricidas en *Tetranychus urticae* (Koch) asociada al cultivo de fresa en Zamora, Michoacán, México. *Agrociencia* vol.44, 75-81.
- Yáñez, V., & Falconí, C. (2018). Efficacy of *Bacillus* spp. to biocontrol of anthracnose and enhance plant growth on Andean lupin seeds by lipopeptide production. *Biological control* 122, 67-75.
- Zambrano. (13 de marzo de 2016). *El cultivo de flores pierde 550 hectáreas*. Recuperado el 30 de agosto de 2018, de <http://www.expreso.ec/economia/el-cultivo-de-flores-pierde-550-hectareas-EN834204>
- Zambrano, C., Duarte, F., & Reyes, L. (2013). Evaluación del efecto de *Beauveria bassiana* en el control biológico de *Varroa destructor*, parásito de la abeja melífera (*Apis mellifera*) en la finca Felisa en el municipio de los Patios, Norte de Santander. *Innovaciencia*, 18-22.
- Zhang, Z. (2003). Mites of Green houses. Identification, biology and control. School of Life Sciences, Fudan University. *CABI Publishing*, 256.