

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Ciencias e Ingeniería**

***Evaluación del uso de hongos entomopatógenos con  
propiedades insecticidas para el control del minador  
(Liriomyza huidobrensis)***

**José Ricardo Dávalos Martín**

**Ingeniería en Agronomía**

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito  
para la obtención del título de  
Ingeniero Agrónomo

Quito, 7 de junio de 2021

# UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingeniería

## HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

*Evaluación del uso de hongos entomopatógenos con propiedades insecticidas  
para el control del minador (*Liriomyza huidobrensis*)*

**José Ricardo Dávalos Martín**

Nombre del profesor, Título académico

Antonio Héctor León Reyes, PhD.

Quito, 7 de junio de 2021

## © DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: José Ricardo Dávalos Martín

Código: 00141596

Cédula de identidad: 1716341332

Lugar y fecha: Quito, 7 de junio de 2021

## **ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN**

**Nota:** El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>

## **UNPUBLISHED DOCUMENT**

**Note:** The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad San Francisco de Quito, por guiarme y ayudarme en todo durante estos años de carrera. A mis profesores, en especial a Antonio León Reyes, Carlos Ruales y Mario Caviedes, por haber sido apoyo incondicional en mi desarrollo como estudiante, y por siempre estar ahí para prestar oído a mis problemas. A mis compañeros y amigos que han recorrido este camino conmigo, ya que no sabría donde hubiese acabado de no ser por ellos. A la empresa Florisol, en especial a Andrea, Kelly, Christian, Emma, David, Estefanía, Ricardo, Mario, Wilson, Consuelo... y tantas otras personas que me han ayudado enormemente, no solamente durante mi estadía allí, sino desde hace años atrás, con recomendaciones, consejos, apoyo, y anécdotas que jamás me permitiré olvidar.

## DEDICATORIA

*A Dios,*

*Porque aunque no viese la cima de la montaña,*

*Siempre me ha cargado en sus hombros*

*Cuando más dura ha sido la subida.*

*A mis padres,*

*Apoyo incondicional, sabios consejeros, soporte inquebrantable, hombro para llorar,*

*Brazos entrañables, sonrisa calurosa, y siempre, pero siempre,*

*Enseñanza y disposición para escuchar la voluntad de Dios.*

*A mis hermanos,*

*Los cinco,*

*Por siempre quererme y apoyarme, en todo, hacerme reír, llorar, pensar...*

*A mis amigos,*

*De un lado y otro del charco,*

*Por haber estado ahí siempre que lo he necesitado.*

*A mi hijo, mi pequeño,*

*Por ser mi escuela de enseñanza y aprendizaje,*

*Porque no sería nadie,*

*Y mi vida estaría vacía,*

*Si no estuvieses aquí.*

*Gracias.*

## RESUMEN

El minador de hoja *Liriomyza huidobrensis* es una plaga foliar causante de grandes problemas en varios cultivos en el Ecuador y a nivel internacional. En el presente estudio, y usando bioensayos de la plaga en cautiverio, se evaluó la eficacia de control usando ocho hongos entomopatógenos, colectados en la provincia de Pichincha, Quito, Ecuador, en la finca Florisol, ubicada en la parroquia de Chavezpamba. Se utilizaron dos cepas de *Isaria* sp. (antiguamente conocido como *Paecilomyces* sp.), una cepa de *Purpureocillium* sp. (antiguamente conocido como *Paecilomyces lilacinus*) dos de *Beauveria* sp, una de *Lecanicillium* sp. y dos de *Trichoderma* sp. Aquí, se preparó un inóculo a una dosis de  $1 \times 10^8$  esporas/mL preparadas por dilución seriada, en frascos de 350 mL de vidrio en donde se colocaron previamente 20 moscas adultas de la especie mencionada. El número de moscas muertas a las 24, 48 y 72 horas, y en cantidad de moscas con presencia de micelio fueron evaluadas. Los mejores tratamientos para el control de *Liriomyza huidobrensis* con respecto a la presencia de micelio fueron las cepas *Beauveria* sp. B1, con un porcentaje de control del 80%, seguida por *Beauveria* sp. 2, con un porcentaje de control del 70%, y con respecto a la mortalidad a las 24, 48 y 72 horas de aplicación del bioinsecticida, destacaron los tratamientos T1 (*Trichoderma* sp.), T2 (*Trichoderma* sp.) y L1 (*Lecanicillium* sp.). En el estudio se descubrió moscas minadoras con presencia de micelio de *Trichoderma*, tanto de la cepa T1 como de la cepa T2, por lo que se recomienda continuar con el estudio y probar el mismo en condiciones de campo.

**Palabras clave:** hongos entomopatógenos, laboratorio, *Liriomyza huidobrensis*, control, floricultura, manejo integrado de plagas.

## ABSTRACT

The leaf miner *Liriomyza huidobrensis* is a foliar pest that causes great problems in various crops in Ecuador and internationally. In the present study, and using bioassays of the plague in captivity, the control efficacy was evaluated using eight entomopathogenic fungi, collected in the province of Pichincha, Quito, Ecuador, at the Florisol farm, located in the parish of Chavezpamba. Two strains of *Isaria* sp. (formerly known as *Paecilomyces* sp.), a strain of *Purpureocillium* sp. (formerly known as *Paecilomyces lilacinus*) two from *Beauveria* sp, one from *Lecanicillium* sp. and two of *Trichoderma* sp. Here, an inoculum was prepared at a dose of  $1 \times 10^8$  spores / mL prepared by serial dilution, in 350 mL glass flasks where 20 adult flies of the mentioned species were previously placed. The number of flies killed at 24, 48 and 72 hours, and the number of flies with the presence of mycelium were evaluated. The best treatments for the control of *Liriomyza huidobrensis* with respect to the presence of mycelium were the *Beauveria* sp. B1, with a control percentage of 80%, followed by *Beauveria* sp. 2, with a control percentage of 70%, and with respect to mortality at 24, 48 and 72 hours of application of the bioinsecticide, the treatments T1 (*Trichoderma* sp.), T2 (*Trichoderma* sp.) and L1 (*Lecanicillium*) stood out. sp.). In the study, mining flies with the presence of *Trichoderma* mycelium were discovered, both from the T1 strain and the T2 strain, so it is recommended to continue with the study and test it under field conditions.

**Keywords:** entomopathogenic fungi, laboratory, *Liriomyza huidobrensis*, control, floriculture, integrated pest management.



## TABLA DE CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN .....	12
1.1	Planteamiento del problema.....	12
1.2	Justificación .....	12
II.	MARCO TEÓRICO .....	14
2.1	Descripción del crisantemo ( <i>Chrysanthemum</i> spp., <i>Dendranthema</i> spp.) .....	14
2.2	Descripción, problemática y alternativas de control de <i>Liriomyza huidobrensis</i> .	15
2.3	Control biológico usando hongos entomopatógenos .....	17
2.4	<i>Beauveria</i> sp.....	19
2.5	<i>Lecanicillum</i> sp.....	19
2.6	<i>Isaria</i> sp. y <i>Purpureocillium</i> sp.....	20
2.7	<i>Trichoderma</i> sp. ....	20
III.	OBJETIVOS E HIPÓTESIS .....	22
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
4.1	Material Biológico utilizado .....	23
4.2	Manejo del Experimento.....	25
4.2.1	Preparación de los hongos entomopatógenos.....	25
4.2.2	Bioensayo de moscas en cautiverio.....	26
4.3	Métodos Estadísticos .....	27
V.	RESULTADOS .....	28
5.1	Mortalidad.....	28
5.1.1	Mortalidad a las 24 horas .....	28
5.1.2	Mortalidad a las 48 horas .....	29
5.1.3	Mortalidad a las 72 horas .....	30
5.2	Presencia de micelio en moscas muertas .....	31
VI.	DISCUSIÓN.....	32
6.1	Efecto de <i>Beauveria</i> sobre minador <i>Liriomyza huidobrensis</i> .....	32
6.2	Efecto de <i>Isaria</i> y <i>Purpureocillium</i> sobre minador <i>Liriomyza huidobrensis</i> .....	33
6.3	Efecto de <i>Lecanicillum</i> sobre minador <i>Liriomyza huidobrensis</i> .....	34
6.4	Efecto de <i>Trichoderma</i> sobre minador <i>Liriomyza huidobrensis</i> .....	35
VII.	CONCLUSIONES.....	35
VIII.	RECOMENDACIONES.....	36
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	36
X.	ANEXOS .....	40

ANEXO A: Estructura y composición de la cutícula de insectos y forma de penetración de hongos entomopatógenos. Fuente: (Aguilar, Rodríguez-Herrera, González-Castillo, 2012) .....	40
ANEXO B: Material necesario para la realización de la dilución seriada y cámara de Neubauer .....	41
ANEXO C: Frascos de 350 mL .....	41
ANEXO D: Estructura de ANOVA para DCA.....	42
ANEXO E: Tabla con resultados de mortalidad a 24, 48 y 72 horas de medición.....	42
ANEXO F: Rangos y Medias de tratamientos a las 24 h de medición .....	42
ANEXO G: Rangos y Medias de tratamientos a las 48 h de medición .....	43
ANEXO H: Rangos y Medias de tratamientos a las 72 h de medición .....	43
ANEXO I: Tabla con resultados de presencia de micelio a las 96 horas .....	43
ANEXO J: Rangos y Medias de presencia de micelio a las 96 horas.....	44
ANEXO K: Espátula de acero inoxidable para raspado de colonia.....	44
ANEXO L: Método de siembra en platos Petri para esporulación de hongo .....	45
ANEXO M: ANOVA mortalidad 24 horas .....	45
ANEXO N: ANOVA mortalidad 48 horas .....	45
ANEXO Ñ: ANOVA mortalidad 72 horas .....	45
ANEXO O: ANOVA presencia de micelio 96 horas.....	45

**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1: Adulto de minador, picaduras y galerías en hoja de crisantemo .....	16
Figura 2: Tabla de asignación de códigos hongos entomopatógenos.....	23
Figura 3: Platos Petri, microscopía y descripción de hongos entomopatógenos.....	24
Figura 4: Aspiración y material necesario para obtención de minador adulto .....	27
Figura 5: Porcentaje de mortalidad a las 24 horas.....	28
Figura 6: Porcentaje de mortalidad a las 48 horas.....	29
Figura 7: Porcentaje de mortalidad a las 72 horas.....	30
Figura 8: Porcentaje de crecimiento de micelio a las 96 horas .....	31
Figura 9: Moscas con presencia de micelio .....	32

## **I. INTRODUCCIÓN**

### **1.1 Planteamiento del problema**

El minador de hoja *Liriomyza huidobrensis* es una plaga causante de varios problemas en el cultivo de crisantemo, tales como la defoliación de las hojas de las plantas por el exceso de lesiones en la hojas por los puntos de alimentación del adulto y de posturas de huevos. Estos pequeños dípteros de la familia Agromyzidae atacan a diferentes cultivos, ovopositando en las hojas de los mismos como en los crisantemos, y la gypsophilla, pero también atacan a diversas hortalizas y otras ornamentales. Entre los cultivos con mayores pérdidas económicas producidas por este insecto están la lechuga, la remolacha, el crisantemo, la espinaca, el guisante, el haba, el ajo, el pimiento y la papa (patata). Dentro de los cultivos que son atacados por esta plaga está el crisantemo (*Chrysanthemum* sp.), gerberas (*Gerbera L.*) y apio (*Apium graveolens*), entre otros (Peña, 1988; Morgan et al., 2000).

*Liriomyza huidobrensis* en su ciclo de vida tiene dos etapas en las que causa daño directo en el cultivo del crisantemo: en primer lugar, cuando la hembra ovoposita en el haz de la hoja, un huevo, del cual emerge una larva al cabo de 3 a 6 días, dependiendo de la época del año y de la temperatura (Lizárraga, 1990). Posteriormente la larva procede a comerse el interior de las hojas con sus ganchos cefalofaríngeos, característicos de las larvas de dípteros durante aproximadamente 10 a 13 días, haciendo así unas galerías en el interior de las hojas. Estos daños, son notorios para la planta, ya que reducen su capacidad fotosintética, y en el caso del crisantemo, se deben retirar las hojas que presenten “minas” o galerías hechas por las larvas de minador para poder exportar y, dependiendo del país de destino, se tienen políticas rígidas acerca del minador en las cajas de crisantemos. Además, las hembras adultas pinchan las hojas con el ovopositor para alimentarse de la savia, causando también un posible foco de infección o de entrada para otros agentes patógenos (De la Cruz, 1989; Silva et al., 2019).

### **1.2 Justificación**

La floricultura en el Ecuador es uno de los sectores agrícolas de exportación más importantes del país, con un total de 874 millones de dólares en exportaciones en el año

2019, representando casi el 1% del PIB (Producto Interno Bruto) total del Ecuador (Expoflores, 2019). La floricultura en la sierra ecuatoriana tiene una gran importancia, con una superficie cosechada de aproximadamente 4,300 hectáreas distribuidas entre casi 870 productores (INEC, 2002). Adicionalmente, el sector genera aproximadamente 110,000 puestos de trabajo, de forma directa e indirecta (Asobanca, 2021), son un promedio de 11 trabajadores por hectárea en este tipo de explotación. Cabe mencionar que, de estos trabajadores, el 51% aproximadamente son mujeres (Proecuador, 2019).

Dentro de este sector agrícola en el Ecuador, los crisantemos representan el 0.62% del total de flores exportadas en el año 2019 (Expoflores, 2019). Además, ya que *Liriomyza huidobrensis* también es una plaga de importancia en el cultivo de gypsophila, se debe considerar que este cultivo representó igualmente en el año 2019 alrededor del 8% de todas las exportaciones de flores de ese año. Entonces se está considerando una plaga que afecta alrededor del 9-10% de todas las exportaciones florícolas del país, sin considerar al resto de ornamentales y hortalizas a las que afecta. Esta plaga no altera directamente la producción, ya que está controlada debidamente para no obtener pérdidas, pero varios países importadores de este producto exigen al exportador ecuatoriano la completa erradicación de la presencia de este minador en el producto final, y no solamente en el crisantemo, sino en otros productos agrícolas de exportación. Por ende, se deben tomar medidas para controlar la plaga y alternativas para minimizar los costos de aplicación para su control. Se utilizan diferentes medidas para su control, entre estas las aspiraciones periódicas en cultivo, que consisten en la utilización de aspiradoras de mochila para “absorber” las moscas que estén en el cultivo en ese momento, además de aplicaciones de insecticidas a base de dimetoato (organofosforado), imidacloprid (neonicotenoide), cyromazina, abamectina y spinosad, que son productos con una alta toxicidad y residualidad, por lo que son considerados contaminantes, además de ser caros y causantes de que los minadores generen resistencias (Ferguson, 2004). Además, se debe mencionar que para el control de esta plaga se realizan labores culturales tanto en crisantemo como en gypsophila de erradicación manual, que consiste en identificar visualmente por parte de los trabajadores las hojas de las plantas que presenten galerías o picaduras de adultos para eliminarlas, causando esto que el costo para su control se incremente de forma considerable.

Por consiguiente, la realización de este estudio no solamente pretende evaluar la eficacia de los hongos entomopatógenos para el control de esta plaga, sino que presenta la importancia del control biológico, presentándolo como una herramienta importante aparte de las aplicaciones químicas, y no solamente como una posible alternativa de control (de la mano con otras labores como la aspiración) para el productor de crisantemo, sino también para control de la plaga en gypsophila y en la gran cantidad de hortalizas (apio, cebollín, lechuga, etc.) (Valenzuela, 2010) que también sufren el ataque de esta plaga. Además de una reducción de costos tanto en mano de obra como en insumos químicos como los insecticidas utilizados en grandes cantidades. Así también, como ya se mencionó anteriormente, se reducirá el impacto ambiental con la disminución del uso de estos insecticidas químicos, además de una menor necesidad de utilización de equipos de protección por parte de los fumigadores, y posibles períodos de rotación más largos, ya que los periodos de rotación actuales son de 3 meses aproximadamente (Fait et al., 2004).

## **II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1 Descripción del crisantemo (*Chrysanthemum* spp., *Dendranthema* spp.)**

**Reino:** Plantae

**División:** Magnoliophyta

**Clase:** Magnoliopsida

**Familia:** Asteraceae

**Género:** *Chrysanthemum* o *Dendranthema*

El crisantemo es una planta de día corto que se adapta muy bien cuando se cultiva en invernaderos, con un periodo de cosecha de 3 meses aproximadamente. La floricultura, con sus técnicas de producción masiva de plantas, tiene una gran cantidad de herramientas que permiten utilizar las variedades apropiadas para que florezcan en distintas épocas del año (Consultora profesional Agraria Sur, 2002). Las condiciones necesarias son exposición a más horas/luz, ya que, al ser un cultivo de día corto, florece rápidamente sin presentar un buen crecimiento vegetativo para su venta. Los crisantemos cultivados a nivel mundial son mucho más llamativos que sus parientes silvestres. Las flores tienen formas variadas, como pompones o botones, con diferentes colores (rojo, amarillo, blanco, verde, etc.) y aroma ligero (Shi et al., 2011).

Los requerimientos agronómicos del crisantemo, de suelo, humedad relativa, temperatura, horas/luz, son mencionados por García (2014), en su Manual del Crisantemo, ocupando esta flor el 25.5% de la producción nacional florícola de México. Con respecto a los requerimientos del suelo, menciona la necesidad de un suelo con un 50% de tierra, 30% de agua y 20% de aire, con el uso opcional recomendado de materia orgánica, como la cascarilla de arroz, con un pH del suelo entre 6.2 a 7.0. La humedad del suelo y del ambiente en las edades tempranas de la planta debe ser alta (65-70%) para un óptimo desarrollo de las mismas, y reducirla periódicamente con respecto a la edad del cultivo, evitando así el desarrollo de hongos fitopatógenos. Con respecto a las horas de luz que debe recibir el crisantemo, recomienda un fotoperíodo de al menos 14 horas de luz para evitar la floración temprana en las plantas. En cuanto a la preparación del terreno, se debe realizar un subsolado, volteado, rastreo, nivelado, trazado de camas y desinfección del suelo previo a la siembra. La siembra de las variedades dependerá de la demanda del mercado, de la disponibilidad de proveedores de variedades y de la capacidad productiva de la plantación. Esta época de siembra deberá ir acorde a las épocas de alta demanda, para que así coincidan las celebraciones con mayor demanda con la cosecha de las variedades demandadas, así como las fechas de San Valentín, Semana Santa, día de la madre, entre otras fechas de importancia para la venta de flores (Gaytán et al., 2006).

## ***2.2 Descripción, problemática y alternativas de control de *Liriomyza huidobrensis****

**Reino:** Animalia

**Filo:** Arthropoda

**Clase:** Insecta

**Orden:** Diptera

**Familia:** Agromyzidae

**Género:** *Liriomyza*

**Especie:** *Liriomyza huidobrensis*

El adulto es una pequeña mosca de color negro con pequeñas manchas amarillas en el tórax y abdomen, de entre 1.5 a 2,5 mm de longitud. La hembra de esta mosca se diferencia del macho por presentar un ovopositor prominente al final del abdomen, y ser de mayor tamaño (Prando y Da Cruz, 1986; Steck, 1999). La hembra utiliza su ovopositor para realizar perforaciones en la hoja, inoculando un huevo por cada

perforación (Figura 1). La ovoposición la realiza en el envés de las hojas, probablemente para proteger los huevos de los rayos solares. Generalmente en el haz de las hojas del crisantemo las hembras realizan perforaciones conocidas como "picaduras de alimentación" con la ayuda del ovopositor. Después absorbe el jugo de la planta que queda expuesto posterior a la picadura con su proboscis (López et al., 2016).

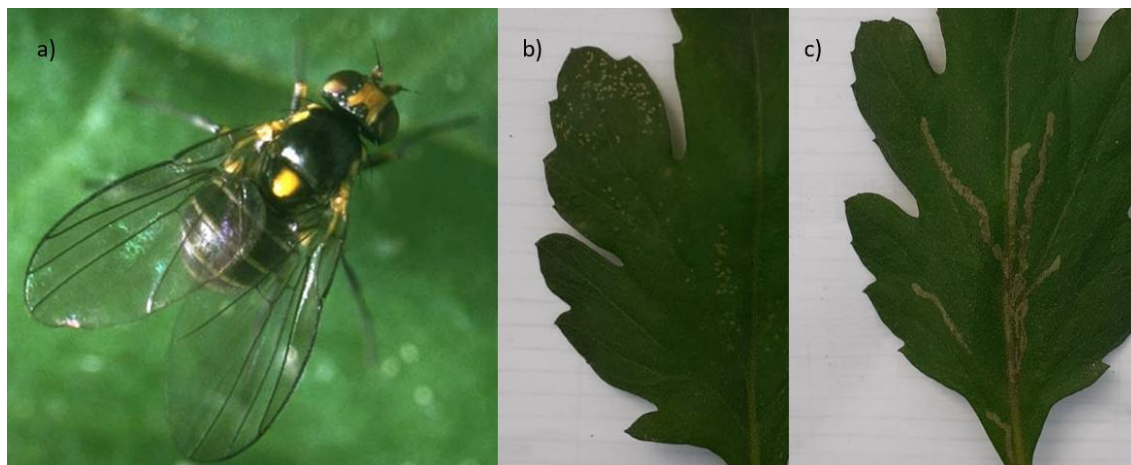


Figura 1: a) adulto de *Liriomyza huidobrensis* (Imagen obtenida de: agriculturers.com); b) picaduras de adulto en zona superior izquierda y en nervadura central de la hoja ocasionada por *Liriomyza huidobrensis* en hoja de crisantemo (Fotografía de autoría propia tomada en finca Florisol.); c) galerías de larva de *Liriomyza huidobrensis* en hoja de crisantemo (Fotografía de autoría propia tomada en

El huevo con forma ovalada, ligeramente alargado, sin ornamentos y de color opaco lechoso mide entre 0.29 a 0.16 mm de largo. La larva tiene una longitud de 3 mm aproximadamente, dependiendo de su estadio larval y de la calidad y cantidad de alimento que haya ingerido. Los ganchos cefalofaríngeos son medidos para determinar el estadio larval en el que se encuentra una larva de *Liriomyza huidobrensis*, que en el primer estadio miden aproximadamente 0.125 mm, 0.216 mm en el segundo y 0.310 mm en el tercero. El último estadio cuenta con dos fases, una de alimentación dentro de la hoja y otra de post-alimentación (período prepupal), realizado generalmente en el exterior de la hoja (Lizárraga, 1990). La larva es blanquecina, cilíndrica, sin patas ni ojos. Construye "minas" o galerías con dirección aleatoria y serpenteante en el interior de la hoja, de la cual consume el clorénquima (Figura 1c). Es bastante activa y prefiere alimentarse a lo largo de las nervaduras del foliolo de la hoja (Aguilera, 1972).

Según Chirinos et al., (2014), existen alternativas para el control de minador en el cultivo de cebollín (*Allium fistulosum* L.), estudiando la población del insecto plaga sin el uso de insecticidas. En este estudio demostraron la efectividad de los parasitoides



naturales de la plaga *Liriomyza trifolii* para el control de su población, dejando claro que existen mejores opciones de control que el mero uso de insecticidas, ya que estos van generando resistencia periódicamente en los minadores, llegando a ser completamente obsoletos para el control del mismo. También existe la posibilidad de implementar un modelo matemático para controlar qué cantidad de mosca minadora hay presente en un cultivo (Hernández et al., 2009)

Igualmente, existen otras alternativas dentro del Manejo Integrado de Plagas, como la utilización de trampas pegantes de color amarillo específicas para esta especie de minador, para su monitoreo y conocimiento poblacional en la explotación, además de la reducción de su población (Robin y Mitchell, 1987; Gómez y Rodríguez, 2016).

Según una publicación de Huerta et al., (2003), las condiciones fitosanitarias del cultivo del crisantemo determinan el precio de esta flor, por su apariencia y por los costos utilizados para su producción. Este cultivo en la región de Texcoco, México, es afectado por varias plagas, entre ellas el minador de la hoja *Liriomyza* spp. En esta región se combate la plaga utilizando plaguicidas sintéticos y no se consideran otros métodos, por lo que en este estudio se probó el uso de la aspiradora entomológica. Los resultados del estudio indican que los daños por marcas de alimentación fueron 23,72% menores con el uso de la aspiradora que con el de ciromazina, y los daños por minas fueron 72,72% menores con el uso de la aspiradora que con las aplicaciones de insecticida. Económicamente, el costo de las aplicaciones de insecticidas con respecto a las aspiraciones fue alrededor de 13% mayor.

### **2.3 Control biológico usando hongos entomopatógenos**

En la investigación realizada por Aguilar et al., (2012) se aborda la importancia de los hongos entomopatógenos para el control de diversas plagas en diferentes cultivos. En el estudio se menciona que, comúnmente, el control de insectos plaga se realiza mediante la aplicación sistemática de insecticidas con alta toxicidad para el ser humano y el medio ambiente, y se propone el uso de diversos hongos entomopatógenos para evitar el uso masivo de este método químico de control. Existen varias alternativas para combatir diversas plagas, como la utilización de algunas bacterias con propiedades entomopatógenas, además de los hongos entomopatógenos, como *Beauveria bassiana*,

*Metarhizium anisopliae*, *Nomuraea rileyi*, *Isaria fumosorosea* (anteriormente conocido como *Paecilomyces fumosoroseus*), y *Lecanicillium lecanii* (anteriormente conocido como *Verticillium lecanii*). También hacen mención a diversas familias de viroides capaces de controlar poblaciones de insectos plaga en los cultivos.

Los hongos entomopatógenos tienen características que les permiten vivir como parásitos dentro y sobre sus hospedadores insectos, y de forma saprófita sobre material vegetal en proceso de descomposición (Giraldo, 2009). Al tener este tipo de comportamiento saprófita, se hace posible la reproducción de estos hongos entomopatógenos en laboratorio para su utilización en campo como controlador biológico de varias plagas agrícolas. De forma general, se menciona la acción de estos hongos para controlar las plagas en (Anexo A). Una vez que entran en contacto las esporas o conidias del hongo con el hospedero, estas germinan y comienzan a formar sus respectivos apresorios y estructuras de penetración, para una vez colonizado el interior del insecto, el hongo inicie su reproducción nuevamente generando esporas y estructuras reproductoras. La forma de dispersión de las esporas del hongo se puede realizar por medios de contaminación a través del viento, suelo, agua, lluvia o contacto entre insecto enfermo con sanos (Pucheta et al., 2006).

Esta infección ocurre por las propiedades físicas y químicas de las cutículas de los insectos, algunos de los cuales poseen receptores de glucoproteínas específicos para las esporas (Aguilar et al., 2012). El proceso de acción ocurre una vez las esporas se adhieren a la cutícula, comenzando su penetración al interior del insecto por medio de dos mecanismos: uno físico, que es la presión ejercida por la estructura de penetración, y la segunda por un mecanismo químico, el cual consiste en una acción enzimática, donde el hongo expulsa diversas enzimas como la lipasa, quitinasa o proteasa, para degradar los tejidos en la zona de penetración, causando descomposición en esta. Una vez dentro del insecto comienza la fase de colonización, en la cual el hongo comienza a formar sus hifas dentro del cuerpo del insecto, hasta causar la muerte de este. Una vez el insecto muere, se reduce el área de ocupación, el hongo comienza a formar nuevamente sus estructuras de reproducción.

La producción de toxinas es otro mecanismo insecticida, por medio la producción de las dextruxinas, cuya toxicidad es muy alta en insectos, ácaros y nemátodos, ya que inhiben la síntesis de ADN, ARN y proteínas en las células de los insectos (Aguilar et al., 2012). Para conocer si es que un insecto está infectado por un

entomopatógeno, este muestra síntomas, como la desorientación, cambio en su coloración, la falta de alimentación y otros. También se menciona que la acción de estos hongos entomopatógenos para el control de plagas es lenta, pero que depende de las condiciones edafoclimáticas (humedad y temperatura especialmente) en las cuales se utilice el hongo. Se menciona que puede tardar hasta una semana en eliminar al insecto, y se recomienda su uso con aplicaciones por introducción, manipulación ambiental o por aumento inoculativo como bioinsecticida (García y González, 2010).

#### **2.4 *Beauveria* sp.**

Este hongo ataca a más de 200 especies de insectos de diferentes órdenes, incluyendo plagas de gran importancia agrícola, entre las que están la broca del café, la palomilla del repollo y el picudo del plátano (Góngora et al., 2009). La colonia de *Beauveria* en PDA a los 14 días es algodonosa a polvorienta, blanca y a medida que va pasando el tiempo se vuelve amarillenta y cremosa. El revés es de color rojizo al centro y amarillento alrededor. Se caracteriza por presentar conidióforos sencillos. El género *Beauveria* está compuesto por varias especies, de entre las cuales las más estudiadas son *Beauveria bassiana* y *Beauveria brongniartii* (Alean, 2003).

Este género posee hifas cenocíticas, lisas, con las conidias formando densos racimos irregularmente agrupados. Las fiálides se encuentran hinchadas en la base que asemeja la estructura de un frasco globoso y se adelgazan hacia el raquis en forma de zigzag. Las conidias son hialinas, con forma globosa o elipsoidal, con un tamaño entre 2.2 a 3  $\mu\text{m}$  de diámetro (García et al., 2011).

Con respecto a *Beauveria*, Ríos et al., (2020) mencionan la efectividad de control de insectos plaga por parte de este entomopatógeno asociado con *Metarhizium anisopliae*. *Beauveria bassiana* presentó un 84% de mortalidad para la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) y el pulgón de las brásicas o de la col (*Brevicoryne brassicae* L.), plaga en las hojas de lechuga, resultando ser más efectiva con sus aplicaciones en el haz que las realizadas en el envés.

#### **2.5 *Lecanicillum* sp.**

Monzón (2001) menciona que este hongo ataca con frecuencia tanto a áfidos y escamas en zonas tropicales y subtropicales. Además, se ha encontrado sobre insectos

del orden Coleóptera, Díptera, Himenóptera y sobre algunas especies de ácaros. Los insectos infectados por este hongo presentan un micelio blanquecino. Este hongo en medio PDA presenta un color blanco amarillento compacto y revés amarillo intenso. Los conidióforos de las especies de *Lecanicillium* son poco diferenciados de las hifas vegetativas, las fiálides están en forma de verticilos de dos a seis, en parejas o solitarias sobre hifas o apicalmente sobre cortas ramificaciones, son ligeramente anchos en la base y van adelgazando hacia la punta. Las conidias de *Lecanicillium lecanii* son pequeñas, hialinas cilíndricas o elipsoidales y redondeadas en sus extremos. Son uniformes en cuanto a forma y tamaño dependiendo del aislamiento. Estas conidias nacen en forma de gotas filamentosas o en cadenas, salen del extremo de las fiálides en grupos formando cabezuelas. Miden desde 2 a 4 por 1 a 1.5  $\mu\text{m}$  (Alean, 2003; Cañedo y Ames, 2004).

### **2.6 *Isaria* sp. y *Purpureocillium* sp.**

Cañedo y Ames (2004) presentan reportes de cinco especies de *Paecilomyces* infectando ocho especies de insectos. Las infecciones causadas por *Isaria fumosorea* (anteriormente conocido como *Paecilomyces fumosoroseus*) son de color rosado pálido, mientras que en *Purpureocillium lilacinum* (anteriormente conocido como *Paecilomyces lilacinus*) son de color violeta claro. La especie más importante de este género es *Isaria fumosorea*. Sus colonias son inicialmente de color blanco en medio PDA, luego adquieren el tinte rosado característico. El revés de la colonia es al comienzo ligeramente amarillento, pero a medida que pasa el tiempo se vuelve de color anaranjado intenso. Sus conidióforos son generalmente terminales, pero también se pueden formar en cualquier parte del micelio. Llegan a medir hasta 100  $\mu\text{m}$  de largo y 1.5 a 3  $\mu\text{m}$  de diámetro. Sus fiálides presentan grupos compactos de tres a seis con forma de botella, midiendo de 5 a 7  $\mu\text{m}$  de largo y 2.5 a 3  $\mu\text{m}$  de diámetro, menor en el extremo superior. Las conidias de este género son cilíndricas a fusiformes con extremos redondeados, con dimensiones de 3 a 5 por 1 a 2  $\mu\text{m}$ , observándose en cadenas (Cañedo y Ames, 2004).

### **2.7 *Trichoderma* sp.**

Lorito (2006), menciona que *Trichoderma harzianum* es un hongo antagonista con características de control y prevención biológica para el control de enfermedades

fúngicas que afectan a varios cultivos de importancia económica. Este hongo estimula el crecimiento y desarrollo vegetativo de plantas jóvenes. Además, coloniza las raíces de las plantas, evitando que otros hongos infecten la raíz. Normalmente se utiliza este hongo como un agente de biocontrol de prevención, preparando a la planta ante cualquier posible infección fúngica, y si ya se ha producido la infección, la acción del hongo *Trichoderma* proporciona a la planta una ayuda fundamental para superar dicha infección, llegando en algunos casos a controlarla.

La mayoría de las colonias de *Trichoderma* en su inicio tienen color blanco, que se tornan a verde oscuro o amarillento con la densa esporulación del hongo. Los conidióforos son ramificados, con aspecto de árbol pequeño, que se presentan como penachos compactados formando anillos con un sistema de ramas irregular de manera piramidal. Estos terminan en fiálides donde se forman las conidias, de gran tamaño, con aproximadamente entre 3 a 5  $\mu\text{m}$ , con forma circular u ovalada (Benites y Marroquín, 2015).

El trabajo realizado por Infante et al., (2009) menciona los mecanismos de acción de los hongos antagonistas, en este caso *Trichoderma*, contra otras especies de hongos fitopatógenos. Los mecanismos utilizados son el micoparasitismo, parasitando las hifas de otros hongos, la competencia por espacio y nutrientes, la antibiosis, produciendo antibióticos fungotóxicos, y la simbiosis con bacterias del suelo y las raíces de la planta.

Según Chávez (2007), *Trichoderma* sp., es uno de los hongos más empleados en la agricultura en los últimos años ya que es un excelente antagonista de hongos fitopatógenos del suelo, actuando por competencia por espacio y nutrientes, además de producción de toxinas con propiedades antibacterianas. Asimismo, este hongo es relativamente fácil de propagar, es inocuo para el ser humano y presenta buenos resultados, tanto como antagonista como inductor de crecimiento en las plantas inoculadas, así como también inductor de resistencia para las mismas.

Cabe mencionar que según Martínez et al., (2013), dentro del género *Trichoderma* también existen especies y cepas diferentes con funciones de controlador biológico sobre nemátodos y no solamente sobre hongos de suelo, sino también sobre hongos causantes de enfermedades foliares, además de los beneficios mencionados anteriormente de *Trichoderma* sp., en su uso para la protección de los cultivos. Se

menciona en esta investigación que *Trichoderma* tiene una tasa de crecimiento acelerada en general, además de una alta producción de conidias y esporas, incluyendo una amplia gama de producción de enzimas, que les permite una alta adaptabilidad para muchos suelos agrícolas y otros ambientes.

### **III. OBJETIVOS E HIPÓTESIS**

(Hernández y Mendoza, 2018).

- General
  - Determinar la capacidad insecticida de los hongos entomopatógenos *Isaria*, *Purpureocillium*, *Beauveria*, *Trichoderma* y *Lecanicillium* para el control de minador en el cultivo de crisantemo.
- Específicos
  - Comparar la eficiencia de control entre los diferentes entomopatógenos cuantificando la mortalidad de los insectos en diferentes períodos de tiempo.
  - Comparar la eficacia de control entre los diferentes entomopatógenos utilizando el crecimiento de micelio en los insectos muertos.
- Hipótesis
  - Los diferentes entomopatógenos presentan un control eficaz del minador (*Liriomyza huidobrensis*) en el cultivo del crisantemo

#### IV. MATERIALES Y MÉTODOS

##### 4.1 Material Biológico utilizado

En la figura 2 se explica la sustitución de los nombres de las cepas utilizadas en este estudio que, por simplificación, se decidió cambiar los nombres de las cepas por códigos.

CÓDIGO	GÉNERO	CEPA	FUENTE
B1	<i>Beauveria</i>	BSB	aislado previamente por (Fonte Cuascota, 2021)
B2	<i>Beauveria</i>	BMHR	aislado previamente por (Fonte Cuascota, 2021)
T1	<i>Trichoderma</i>	T. Ensayo	aislado de ensayo de finca Florisol
T2	<i>Trichoderma</i>	TSO2	aislado de suelo de finca Florisol
P1	<i>Purpureocillium</i>	Pacelotyc	aislado de producto Pacelotyc
P2	<i>Isaria</i>	PM2	aislado de producto Mayestik
P3	<i>Isaria</i>	PMHB	aislado previamente por (Fonte Cuascota, 2021)
L1	<i>Lecanicillum</i>	Leca 1	aislado de producto Lecanityc

Figura 2: Tabla de asignación de códigos para las diferentes cepas utilizadas en la experimentación. Elaboración: propia autoría.

	Vista arriba	Vista abajo	Microscopía	Descripción
a) <i>Lecanicillium</i> sp. Cepa Leca 1 (L1)				Conidióforos poco diferenciados de las hifas vegetativas. Conidias pequeñas, con forma de basidio y redondeadas en sus extremos, uniformes en cuanto a forma y tamaño, saliendo del extremo de las fiálides en grupos formando cabezuelas. Miden desde 2 a 4 por 1 a 1.5 $\mu\text{m}$ .
b) <i>Trichoderma</i> sp. Cepa T. Ensayo (B1)				Conidióforos ramificados, con aspecto de árbol pequeño. Estos terminan en fiálides donde se forman las conidias, de gran tamaño, con aproximadamente entre 3 a 5 $\mu\text{m}$ , con forma circular u ovalada.
c) <i>Trichoderma</i> sp. Cepa TSO2 (B2)				Conidióforos ramificados, con aspecto de árbol pequeño. Estos terminan en fiálides donde se forman las conidias, de gran tamaño, con aproximadamente entre 3 a 5 $\mu\text{m}$ , con forma circular u ovalada.
d) <i>Beauveria</i> sp. Cepa BSB (B1)				Hifas cenocíticas, lisas, con conidias formando densos racimos irregularmente agrupados. Fiálides hinchadas en la base y adelgazan hacia el raquis en forma de zigzag. Conidias hialinas, con forma globosa o elipsoidal, con un tamaño entre 2.2 a 3 $\mu\text{m}$ de diámetro.
e) <i>Beauveria</i> sp. Cepa BMHR (B2)				Hifas cenocíticas, lisas, con conidias formando densos racimos irregularmente agrupados. Fiálides hinchadas en la base y adelgazan hacia el raquis en forma de zigzag. Conidias hialinas, con forma globosa o elipsoidal, con un tamaño entre 2.2 a 3 $\mu\text{m}$ de diámetro.



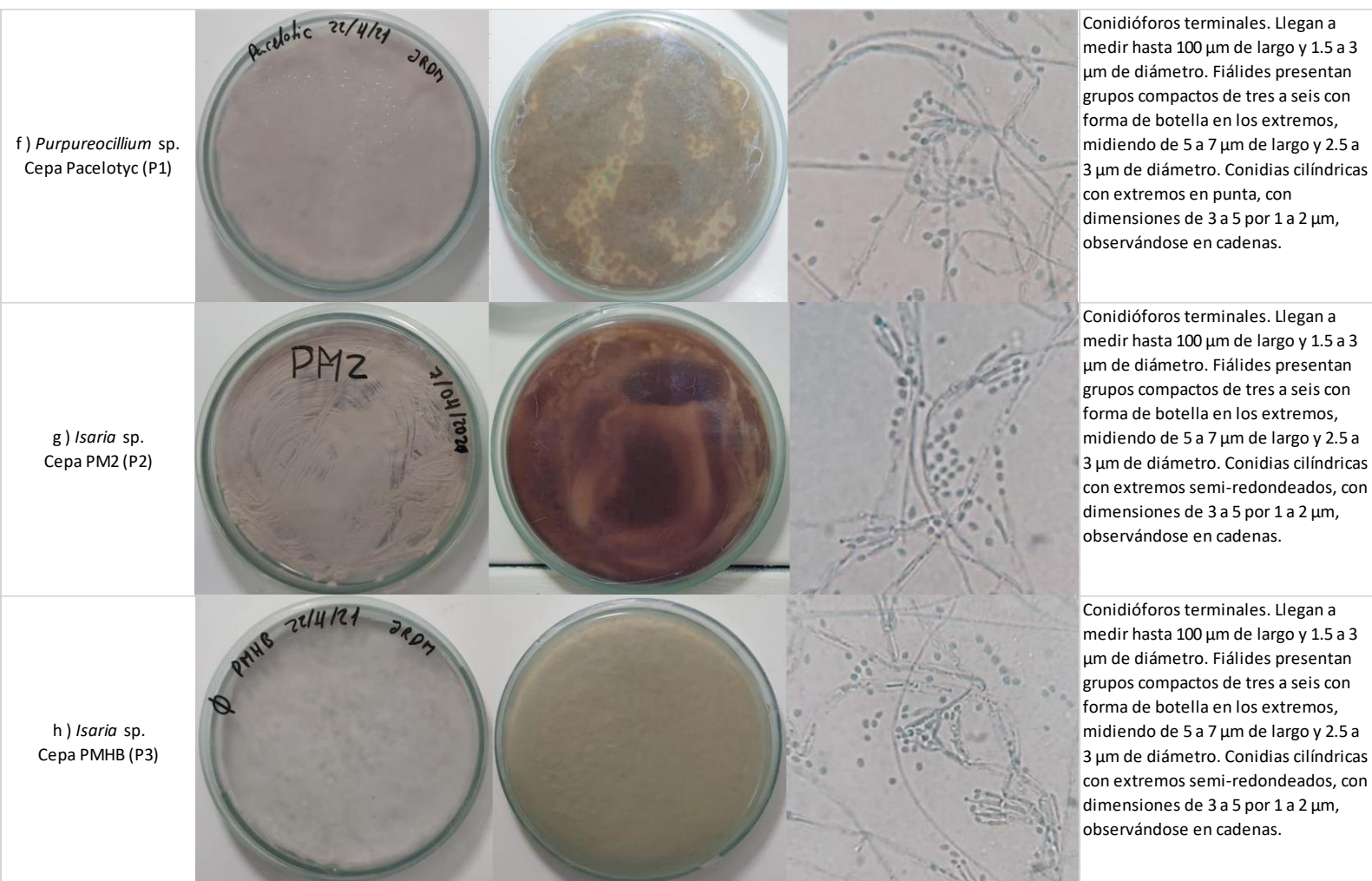


Figura 3: a) Vista arriba, vista abajo, microscopía y descripción de L1; b) Vista arriba, vista abajo, microscopía y descripción de T1; c) Vista arriba, vista abajo, microscopía y descripción de T2; d) Vista arriba, vista abajo, microscopía y descripción de B1; e) Vista arriba, vista abajo, microscopía y descripción de B2; f) Vista arriba, vista abajo, microscopía y descripción de P1; g) Vista arriba, vista abajo, microscopía y descripción de P2; h) Vista arriba, vista abajo, microscopía y descripción de P3. Fotografías de autoría propia tomadas en finca Florisol.

## 4.2 Manejo del Experimento

### 4.2.1 Preparación de los hongos entomopatógenos

Cada cepa de hongo entomopatógeno fue reactivada mediante su siembra en platos Petri con medio PDA (Papa Dextrosa Agar) previamente autoclavados y cultivada en sus condiciones ideales, siendo esta una temperatura promedio de  $28^{\circ}\text{C} \pm 2$ , con una humedad relativa promedio de  $60\% \pm 5\%$  y un ciclo de luz/oscuridad de 6/18 horas para *Lecanicillium* y *Beauveria*, 5/19 horas para *Paecilomyces* (*Isaria* sp.y *Purpureocillium* sp), y 14/10 horas para *Trichoderma*. Pasados entre 7 a 10 días de su

siembra en las platos Petri con PDA, se procedió a realizar la dilución seriada para la aplicación de las soluciones con esporas a las moscas minadoras (Anexo B). La dilución seriada fue preparada en primer lugar con las cajas madre (platos Petri con los hongos sembrados; Figura 3) de los hongos a utilizar, en este caso los 8 hongos diferentes, con la aplicación de 10 mL de Tween (coadyuvante) al 0.5% en las platos Petri dentro de la cámara de flujo laminar para evitar contaminación cruzada (Ávila, 2000). Las diluciones de *Trichoderma* fueron preparadas en la cámara de flujo laminar de *Trichoderma*, ya que este hongo es muy agresivo e invasivo, para evitar contaminación. Una vez aplicado el volumen de 10 mL de Tween en las cajas, se procedió a remover la colonia con una espátula de acero inoxidable para homogenizar las muestras (Anexo K). Cada plato Petri de hongo fue removido con una espátula de acero inoxidable diferente autoclavada para evitar contaminación (Ávila, 2000). Una vez se tuvo una muestra bien homogenizada, se procedió a la extracción de 1 mL de la solución con una micropipeta, para introducir este volumen en un tubo de ensayo con 9 mL de agua destilada autoclavada. Este primer paso da como resultado una primera solución de  $10^{-1}$  esporas/mL, por lo que se realizaron dos diluciones más para obtener una solución de  $10^{-3}$  esporas/mL. Una vez obtenido este número de esporas por mL, y realizado su conteo en la cámara de Neubauer, se procedió a la utilización de una fórmula de reajuste de conteo de esporas, la cual dio como resultado una concentración final de  $10^8$  esporas/mL. Una vez obtenidas estas concentraciones, se realizó la aplicación de 1 mL por cada frasco con malla que contenían las moscas (20 por frasco de 350 mL; Anexo C). Se dejaron los frascos en cada cuarto de hongos para evitar contaminación con las condiciones de cada cuarto específicas para el desarrollo de cada hongo, y se contó el total de moscas muertas a las 24, 48 y 72 horas.

#### ***4.2.2 Bioensayo de moscas en cautiverio***

Para las unidades experimentales, se utilizaron frascos de 350 mL de vidrio, con mallas anti-ácaros y ligas elásticas para la sujeción de la malla en los frascos. Dentro de cada uno de los frascos se introdujo previo a la moscas un cuadrado de 3x3 cm de papel de cocina autoclavado sumergido en agua destilada, y 2 hojas de crisantemo desinfectadas con alcohol de manera superficial. Se realizó el etiquetado para anotar en este la cantidad de moscas muertas en cada periodo de tiempo. Se utilizaron en total 540 moscas recolectadas de los invernaderos de la plantación. Las moscas fueron obtenidas

de diferentes bloques de la finca por medio de los aspiradores de mochila, y con la utilización de un aparato de captura realizado en finca (Figura 4).



Figura 4: a) trabajador realizando aspiraciones sobre cultivo de crisantemo de la mosca *Liriomyza huidobrensis*; b) aparato utilizado para absorber los adultos de *Liriomyza huidobrensis* de la malla de la aspiradora. Fotografías de autoría propia tomadas en finca Florisol.

Una vez todas las moscas estuvieron en sus respectivos frascos, con las aplicaciones de los hongos ya realizadas, se tomaron las medidas de mortalidad a las 24, 48 y 72 horas. A los 4 días (96 horas), todas las moscas ya habían muerto, y se realizó el traspaso de estas a platos Petri con papel autoclavado de cocina y remojado en agua destilada para el crecimiento miceliar de los hongos en este medio (Anexo L). A los 3 días de sembradas las moscas en estas platos Petri con papel remojado en agua destilada, ya se presentaron los respectivos micelios de los hongos en las moscas, por lo que se procedió a sembrar ahora en nuevas platos Petri con medio PDA con gentamicina para evitar el crecimiento bacteriano. A la semana de sembrados en estos platos Petri con PDA con gentamicina, ya se presentó crecimiento de colonias y se procedió a la identificación de los hongos crecidos en las cajas.

#### **4.3 Métodos Estadísticos**

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó un diseño experimental DCA (Diseño Completamente Aleatorizado), con 3 repeticiones por tratamiento y 27 unidades experimentales en total (cada frasco con 20 moscas representa 1 unidad experimental), con las variables de respuesta medidas como mortalidad en los diferentes

tiempos de medición (24h, 48h, 72h) y cantidad de moscas con presencia de micelio (Figura 9). Se utilizó Excel para la aleatorización de los frascos con moscas para cada tratamiento. Por cada tiempo de medición de mortalidad y de presencia de micelio se realizó un ANOVA y una prueba de Duncan. La prueba de significación estadística utilizada para el análisis de resultados fue la prueba de Duncan con un nivel de  $\alpha = 0.05$ , cuyos valores de comparación fueron estimados según el valor Q de la tabla de Duncan para 9 tratamientos y 18 grados de libertad, multiplicado por el valor Sy de cada uno de los ANOVAS calculados, dando así el valor de Duncan para las comparaciones.

## V. RESULTADOS

### 5.1 Mortalidad

Con respecto a la mortalidad, en el (Anexo E) se presenta el resumen de todos los resultados, ordenados según repeticiones y tratamientos, y con las mediciones en sus respectivas 24, 48 y 72 horas.

#### 5.1.1 Mortalidad a las 24 horas

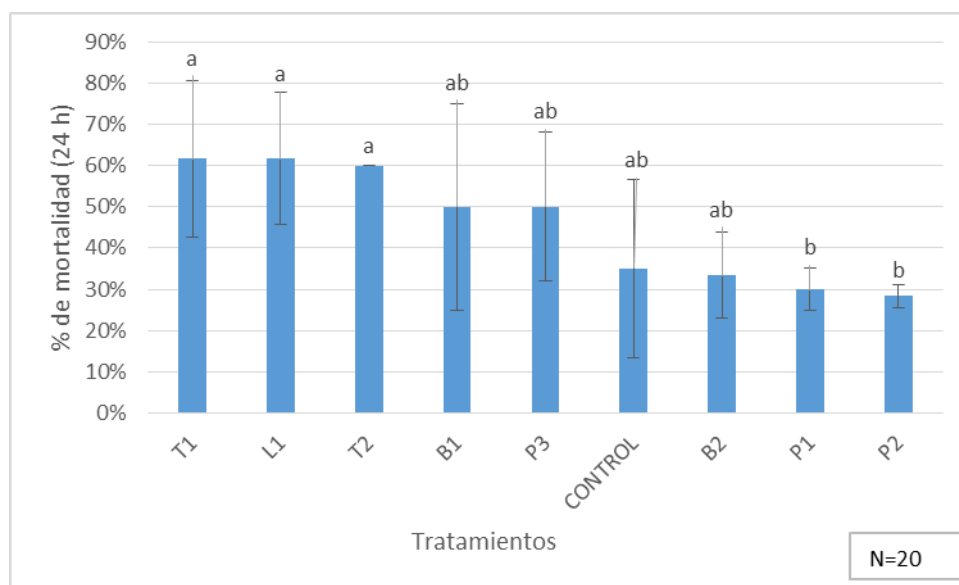


Figura 5: Porcentaje de mortalidad a las 24 horas con dos rangos de significancia según la prueba de Duncan con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ . ANOVA correspondiente (Anexo M) fue realizado con los datos de número de moscas muertas, (porcentajes ilustrativos), el cual dio NO SIGNIFICANCIA entre tratamientos a las 24h, por lo que se utilizó la prueba de Duncan, ya que esta prueba permite la realización de las comparaciones cuando  $F$  calculada  $<$   $F$  tabular (Sánchez, 2018). CV a las 24 horas de 34.19% (Ross, 2014). Media moscas muertas 9.11 (45.5% mortalidad total). Elaboración: propia autoría.

Con respecto a la mortalidad a las 24 horas, en la Figura 5, se puede apreciar que los hongos, tanto T1 (T. Ensayo) como L1 (Leca 1), presentan los datos de mortalidad más altos de todos los tratamientos, seguidos por T2 (TSO2). Se puede observar también que los tratamientos T1, L1 y T2 comparten el mismo rango “a”.

Las comparaciones realizadas en la prueba de Duncan a las 24 horas indicaron dos rangos de significación. Los tratamientos con menores promedios de mortalidad a las 24 horas fueron P1 (Pacelotyc) y P2 (PM2), ocupando el segundo rango de significación (Anexo F).

### 5.1.2 Mortalidad a las 48 horas

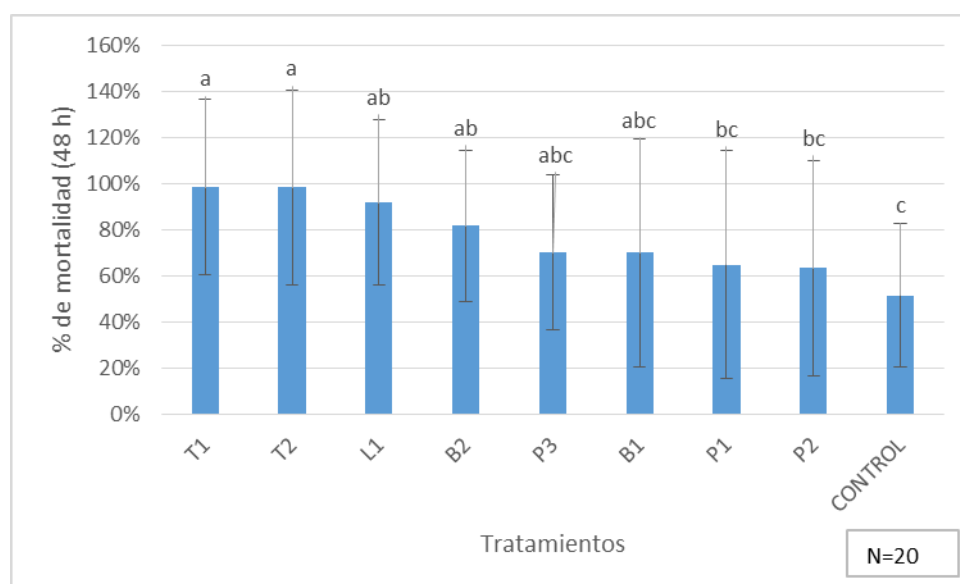


Figura 6: Porcentaje de mortalidad a las 48 horas con tres rangos de significancia según la prueba de Duncan con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ . ANOVA correspondiente (Anexo N) fue realizado con los datos de número de moscas muertas, (porcentajes ilustrativos), el cual dio DIFERENCIA ESTADÍSTICA entre tratamientos a las 48h, por lo que se utilizó la prueba de Duncan ( $F$  calculada  $>$   $F$  tabular) (Sánchez, 2018). CV a las 48 horas de 15.52% (Ross, 2014). Media moscas muertas 15.33 (76.67% mortalidad total). Elaboración: propia autoría.

Con respecto a la mortalidad a las 48 horas, en la Figura 6, se puede apreciar que los hongos, tanto T1 (T. Ensayo) como T2 (TSO2), presentan los datos de mortalidad más altos de todos los tratamientos, seguidos por L1 (Leca 1). Se puede observar también que los tratamientos T1 y T2 comparten el mismo rango “a”.

Las comparaciones realizadas en la prueba de Duncan a las 48 horas indicaron tres rangos de significación. Los tratamientos con menores promedios de mortalidad a

las 48 horas fueron P1 (Pacelotyc), P2 (PM2) y el control, ocupando el tercer rango de significación (Anexo G).

### 5.1.3 Mortalidad a las 72 horas

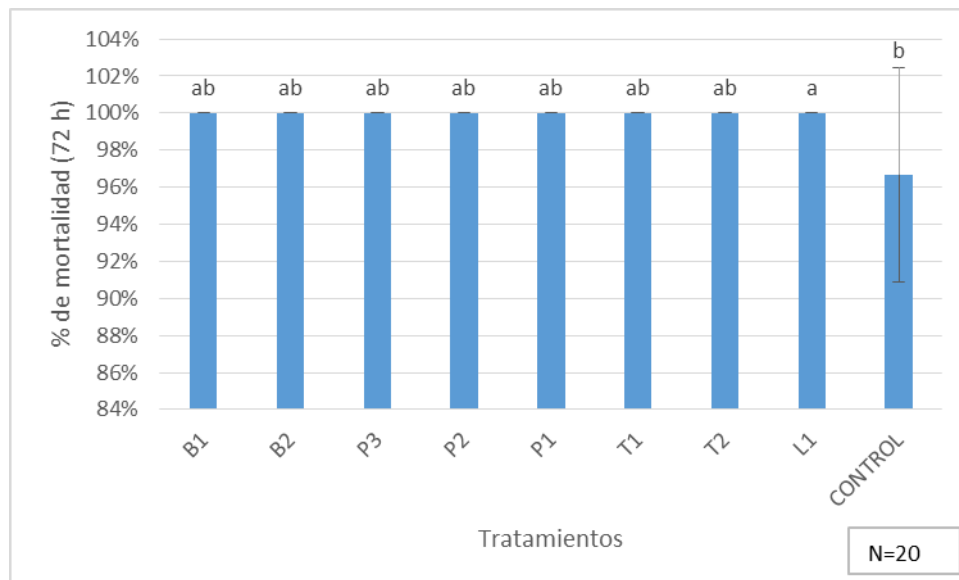


Figura 7: Porcentaje de mortalidad a las 72 horas con dos rangos de significancia según la prueba de Duncan con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ . ANOVA correspondiente (Anexo Ñ) fue realizado con los datos de número de moscas muertas, (porcentajes ilustrativos), el cual dio NO SIGNIFICANCIA entre tratamientos a las 72h, por lo que se utilizó la prueba de Duncan, ya que esta prueba permite la realización de las comparaciones cuando  $F$  calculada  $<$   $F$  tabular (Sánchez, 2018).. CV a las 72 horas de 1.93% (Ross, 2014). Media moscas muertas 19.93 (99.63% mortalidad total). Elaboración: propia autoría.

Con respecto a la mortalidad a las 72 horas, en la Figura 7, se puede apreciar que todas las moscas ya murieron entre las 48 y las 72 horas, por lo que los resultados son exactamente iguales para todos los hongos, y diferentes para el control, ya que hubieron 2 moscas supervivientes a las 72 horas en la tercera repetición del control.

Las comparaciones realizadas en la prueba de Duncan a las 72 horas indicaron dos rangos de significación. El tratamiento con menor promedio de mortalidad a las 72 horas fue el control, ocupando el segundo rango de significación (Anexo H).



## 5.2 Presencia de micelio en moscas muertas

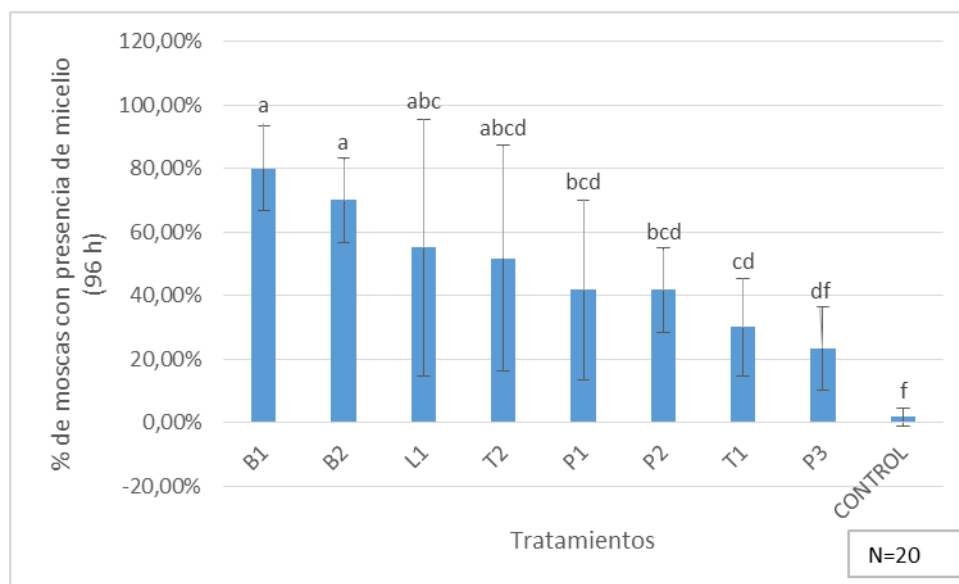


Figura 8: Porcentaje de crecimiento de micelio a las 96 horas de siembra en plato Petri con papel autoclavado humedecido con agua destilada con cinco rangos de significancia según la prueba de Duncan con un nivel de significancia de  $\alpha=0.05$ . ANOVA correspondiente (Anexo O) fue realizado con los datos de presencia de micelio en moscas muertas, (porcentajes ilustrativos), el cual dio DIFERENCIA ESTADÍSTICA entre tratamientos a las 96h de siembra, por lo que se utilizó la prueba de Duncan ( $F$  calculada  $>$   $F$  tabular) (Sánchez, 2018). CV a las 96 horas de siembra fue 51.74% (Ross, 2014). Media moscas con micelio 8.77 (44% total presentando micelio). Elaboración: propia autoría.

Con respecto a la presencia de micelio a los 4 días (96 horas) de siembra en platos Petri con papel de cocina autoclavado, tanto en la Figura 8 como en (Anexo I) se puede apreciar que los resultados de promedio y, por lo tanto, porcentaje más altos corresponden a las dos cepas B1 y B2, seguidas por la cepa L1 y T2.

Las comparaciones realizadas en la prueba de Duncan con respecto a la presencia de micelio en las moscas muertas indicaron cinco rangos de significación. El tratamiento con menor promedio de presencia de micelio a las 96 horas fue el control, ocupando el quinto rango de significación (Anexo J).

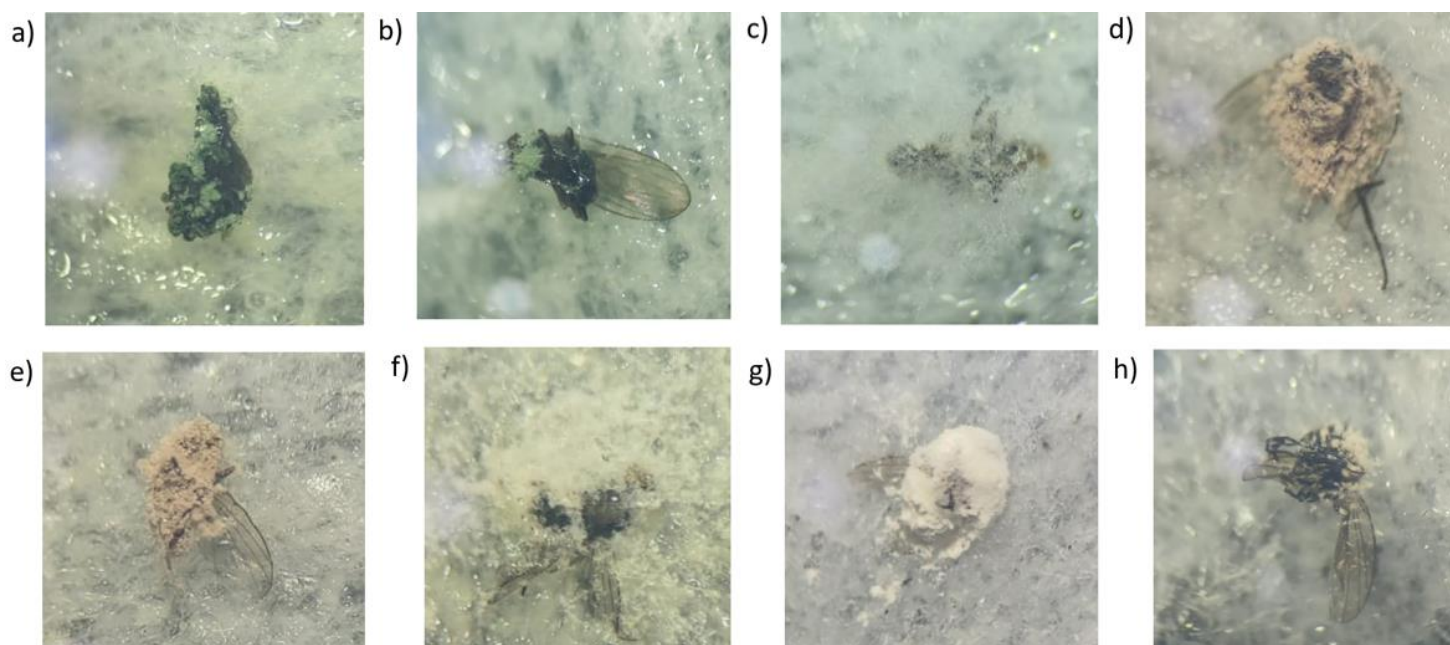


Figura 9: moscas con presencia de micelio externo a las 96 horas de siembra en plato Petri con papel autoclavado humedecido con agua destilada. a) mosca con micelio de T1; b) mosca con micelio de T2; c) mosca con micelio de P3; d) mosca con micelio de P2; e) mosca con micelio de P1; f) mosca con micelio de B1; g) mosca con micelio de B2; h) mosca con micelio de L1. Fotografías de autoría propia tomadas en finca Florisol.

## VI. DISCUSIÓN

### 6.1 Efecto de *Beauveria* sobre minador *Liriomyza huidobrensis*

En el presente estudio, se tuvo resultados de mortalidad a las 24 horas de B1 en promedio de 10 moscas (50%), a las 48 horas de 14 (70%) moscas, a las 72 horas de 20 (100%) moscas, y con presencia de micelio el 80% del total, presentando el máximo porcentaje de micelio en todos los tratamientos evaluados. Con respecto a B2, a las 24 horas en promedio se tuvo 6.67 (33.33%) moscas, a las 48 horas de 16.33 (81.67%) moscas, a las 72 horas de 20 (100%) moscas, y con presencia de micelio el 70% del total, presentando el segundo tratamiento con mayor cantidad de presencia de micelio, siendo B1 el mejor tratamiento.

Según el estudio realizado por Soto (2008), se identificaron 34 aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, de una colección de hongos del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) en Durango, México. Mediante una prueba de susceptibilidad se determinó la toxicidad de



los aislados en larvas de gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*), de los cuales BbA1 (aislado de *Beauveria bassiana*) y MaA3 (aislado de (aislado de *Metarhizium anisopliae*) presentaron las mortalidades más altas, con un 51.3% y 68% respectivamente. Así determinó que 20 aislados correspondían a *Beauveria*, mientras que 14 correspondían a *Metarhizium*. Posteriormente se seleccionaron 22 aislamientos con mayor cantidad de producción de micelio y esporas, y de estos, nuevamente, BbA1 y MaA3 presentaron las mortalidades en larvas de *Spodoptera frugiperda*, con 90% y 100% respectivamente.

Comparando estos resultados con los obtenidos por Fonte (2021), en el cual se obtuvieron valores de infestación de 80.6% de moscas con una concentración de esporas/mL inferior a la utilizada en este estudio ( $1 \times 10^6$ ), por lo que esto indica la baja viabilidad de esporas en este estudio, ya que esta diferencia de actividad entomopatogénica puede deberse al relativo largo tiempo de inactividad de las cepas, siendo que el estudio de Fonte (2021) se realizó en la misma finca Florisol entre el año 2019 al 2020. Igualmente, estos resultados son satisfactorios, ya que las dos cepas, B1 y B2, tuvieron un alto porcentaje de control sobre el minador *Liriomyza huidobrensis*.

Cabe mencionar que, según Ríos et al., (2020), la mortalidad en mosca blanca y en el pulgón de las brásicas alcanzó un 84%, por lo que se resalta nuevamente la importancia de la *Beauveria* para el control de diversas plagas en diferentes cultivos, en el caso de este estudio mencionado (Ríos et al., 2020), en el cultivo de lechuga.

En el estudio realizado por Vega (2021), se menciona la importancia del componente del control biológico dentro del Manejo Integrado de Plagas (MIP), siendo un mecanismo eficaz con gran potencial en el control de las plagas. Se probaron en este estudio varios hongos entomopatógenos, con *Beauveria bassiana* alcanzando porcentajes de control sobre *Anastrepha fraterculus* y *Ceratitis capitata* de 23.29% y 62.31% respectivamente.

## **6.2 Efecto de *Isaria* y *Purpureocillium* sobre minador *Liriomyza huidobrensis***

En el presente estudio, se tuvo resultados de mortalidad a las 24 horas de P1 en promedio de 6 moscas (30%), a las 48 horas de 13 (65%) moscas, a las 72 horas de 20 (100%) moscas, y con presencia de micelio el 41.67% del total, siendo el quinto tratamiento (tratamiento P1) con mayor cantidad de micelio en las moscas. Con respecto

a P2, a las 24 horas en promedio se tuvo 5.67 (28.33%) moscas, a las 48 horas de 12.67 (63.33%) moscas, a las 72 horas de 20 (100%) moscas, y con presencia de micelio el 41.67% del total. Así mismo con el tratamiento P3, a las 24 horas en promedio se tuvo 10 (50%) moscas, a las 48 horas de 14 (70 %) moscas, a las 72 horas de 20 (100%) moscas, y con presencia de micelio el 23.33% del total.

Comparando estos resultados con los obtenidos por Fonte (2021), en el cual se obtuvieron valores de infestación de 81.6%, por lo que cabe considerar que las cepas tuvieron un control relativamente eficaz (41.67% para P1) sobre el minador de hoja, siendo obviamente una de las varias medidas posibles a implementar (aspiraciones, uso de biocontroladores, uso de biofungicidas, uso de parasitoides, etc.) para el manejo integrado de esta plaga. Igualmente es necesaria la reactivación de estas cepas, ya que en este estudio se demostró la alta eficacia de control sobre el minador.

En el estudio realizado por Vega (2021), se menciona la importancia del componente del control biológico dentro del Manejo Integrado de Plagas (MIP), siendo un mecanismo eficaz con gran potencial en el control de las plagas. Se probaron en este estudio varios hongos entomopatógenos, entre estos *Isaria fumosorosea* (anteriormente conocido como *Paecilomyces fumosoroseus*) alcanzando porcentajes de mortalidad de 61.67% y 41.67% para *Anastrepha fraterculus* y *Ceratitis capitata* respectivamente.

### **6.3 Efecto de *Lecanicillum* sobre minador *Liriomyza huidobrensis***

En el presente estudio, se tuvo resultados de mortalidad a las 24 horas de L1 en promedio de 12.33 moscas (61.67%), a las 48 horas de 18.33 (91.67%) moscas, a las 72 horas de 20 (100%) moscas, y con presencia de micelio el 55% del total, siendo el tercer tratamiento con mayor cantidad de micelio presente en las moscas muertas.

Comparando los resultados de este estudio con los de Alean (2003), se puede observar la alta eficacia de la cepa L1, ya que, con una concentración inferior de esporas logró controlar en mayor cantidad al minador, ya que en el estudio mencionado utilizaron una concentración de  $1 \times 10^8$  esporas/mL. Considerar que este estudio se realizó sobre un insecto plaga diferente (*Aleurotrachelus socialis*), por lo que este hongo entomopatógeno tiene la capacidad de parasitar a más de una plaga, que también se lo menciona controlando tanto a áfidos como a escamas.

En el estudio realizado por Vega (2021), se probaron varios hongos entomopatógenos, entre estos *Lecanicillium lecanii* con 63.97% y 49.02% para *Anastrepha fraterculus* y *Ceratitis capitata* respectivamente. Por lo cual, este estudio determina la eficacia de control de *Lecanicillium* a nivel de laboratorio, invernadero y campo. También concluye que este hongo posee un efecto residual, el cual va menguando con el paso del tiempo, hasta porcentajes mayores o iguales al 50% de eficacia hasta los 90 días en invernadero. Para los 135 días, la eficacia se redujo hasta menos del 40% en ambas especies de mosca de la fruta.

#### **6.4 Efecto de *Trichoderma* sobre minador *Liriomyza huidobrensis***

En el presente estudio, se tuvo resultados de mortalidad a las 24 horas de T1 en promedio de 12.33 moscas (61.67%), a las 48 horas de 19.67 (98.33%) moscas, a las 72 horas de 20 (100%) moscas, y con presencia de micelio el 30% del total. Con respecto a T2, a las 24 horas en promedio se tuvo 12 (60%) moscas, a las 48 horas de 19.67 (98.33%) moscas, a las 72 horas de 20 (100%) moscas, y con presencia de micelio el 51.67% del total, siendo el cuarto tratamiento con la mayor cantidad de micelio presente en las moscas muertas.

*Trichoderma* no ha sido reportado controlando al minador *Liriomyza huidobrensis*, y sus reportes son acerca de su actividad antagónica contra otros hongos fitopatógenos, así como su gran utilidad para fortalecimiento de las plantas, además de un efectivo control de nemátodos, por lo que estos resultados obtenidos en este estudio son positivos, por lo que se deberá aislar y repicar las cepas, tanto T1 como T2, para futuros estudios y aplicaciones en campo para su control sobre esta plaga. Estas cepas, sobre todo T2, tienen gran potencial como futuras cepas de *Trichoderma* con capacidad de controlar a este minador.

## **VII. CONCLUSIONES**

- Los tratamientos más efectivos para el control del minador *Liriomyza huidobrensis* con respecto al crecimiento de micelio son B1 (cepa BSB), B2 (cepa BMHR) y L1 (cepa Leca 1).

- Los tratamientos más efectivos para el control del minador *Liriomyza huidobrensis* con respecto a la mortalidad a las 24, 48 y 72 horas son T1 (cepa T. Ensayo), T2 (cepa TSO2) y L1 (cepa Leca 1).
- Los dos tratamientos de *Trichoderma* sp, tanto T1 (T. Ensayo) como T2 (TSO2), tienen un efecto entomopatogénico sobre *Liriomyza huidobrensis* que se deberá continuar con su investigación.
- Las cepas de *Isaria* sp. y *Purpureocillium* sp. obtuvieron buenos porcentajes de control sobre la plaga *Liriomyza huidobrensis*, pero se deberá realizar un proceso de reactivación de las cepas para garantizar los mejores resultados de control sobre esta plaga.

### **VIII. RECOMENDACIONES**

- La cepa de *Isaria* sp. P3 (PMHB) utilizada en este estudio requiere un proceso de reactivación para garantizar los mejores resultados de control sobre el minador *Liriomyza huidobrensis*.
- Las cepas de *Trichoderma* sp, tanto T1 (T. Ensayo) como T2 (TSO2) requieren de mayor investigación para su evaluación en campo como posible controlador de la mosca minadora *Liriomyza huidobrensis*.
- Tanto B1 (BSB), como B2 (BMHR) y L1 (Leca 1) podrían ser evaluadas para un estudio de su entomopatogenicidad en invernadero, ya que presentaron porcentajes muy altos de control de la mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* en condiciones de laboratorio.

### **IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Aguilar, C., Rodríguez-Herrera, R., González-Castillo, M., 2012. CONTROL DE INSECTOS PLAGA EN LA AGRICULTURA UTILIZANDO HONGOS ENTOMOPATOGENOS: RETOS Y PERSPECTIVAS. Academia.edu.  
 Disponible en:  
[https://www.academia.edu/36634927/CONTROL\\_DE\\_INSECTOS\\_PLAGA\\_EN\\_LA\\_AGRICULTURA\\_UTILIZANDO\\_HONGOS\\_ENTOMOPATOGENOS\\_RETOS\\_Y\\_PERSPECTIVAS](https://www.academia.edu/36634927/CONTROL_DE_INSECTOS_PLAGA_EN_LA_AGRICULTURA_UTILIZANDO_HONGOS_ENTOMOPATOGENOS_RETOS_Y_PERSPECTIVAS)
- Aguilera, A.P. 1972. Biología de *Liriomyza huidobrensis* Frick (Dipt., Agromyzidae) y evaluación de los parásitos que emergen del puparium. IDESIA. 2:71-85

- Alean Carreño I. 2003. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus Socialis Bondar* (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. Tesis de Licenciatura en Microbiología Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Básicas. Microbiología Agrícola y Veterinaria. Bogotá, D. C. Colombia. pp 116.
- Asobanca. 2021. Boletín Macroeconómico- Enero 2021. Disponible en: <http://www.asobanca.org.ec/publicaciones/bolet%C3%ADn-macroecon%C3%B3mico/bolet%C3%ADn-macroecon%C3%B3mico-enero-2021>
- Ávila de Moreno, C. (2000). Manual de laboratorio de fitopatología. Tunja: Universidad Pedagógica de Colombia.
- Benites Bellino, C., & Marroquín, L. (2015). Producción de *Trichoderma Harzianum* en diferentes sustratos orgánicos. Portal De La Ciencia, 68-74. doi: 10.5377/pc.v4i0.1864
- Cañedo, V., & Ames, T. (2004). Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos [Ebook] (1st ed.). Centro Internacional de la Papa (CIP). Disponible en: <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/AN65216.pdf>
- Chávez García, M. (2007). Producción de *Trichoderma* sp. y evaluación de su efecto en cultivo de crisantemo (*dendranthema grandiflora*). Pontificia Universidad Javeriana. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10554/8312>.
- Chirinos, D., Díaz, A., Geraud-Pouey, F., 2014. Control biológico natural ejercido por parasitoides sobre el minador de la hoja *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae) en cebollín (*Allium fistulosum* L.). Saber.ucv.ve. Disponible en: [http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev\\_ento/article/view/8046](http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ento/article/view/8046)
- CULTIVO DE OCHO ESPECIES DE FLORES DE CORTE ASTER-CRISANTEMO-FRESIA- GIPSOFILA-IRIS- ILUSIÓN-STATICE- SOLIDAGO. (2002). Consultora profesional Agraria Sur. Disponible en: <http://bibliotecadigital.fia.cl/bitstream/handle/20.500.11944/145469/CULTIVO%20DE%20OCHO%20ESPECIES%20DE%20FLORES%20DE%20CORTE.PDF?jsessionid=EC6ADAF9B02E0168D7114BC9FD8B66AC?sequence=1>
- Dirección de Inteligencia Comercial e Inversiones. PRO ECUADOR. (2019). Análisis Sectorial de Flores. Disponible en: [http://www.proecuador.gob.ec/wpcontent/uploads/2019/07/PROEC\\_AS2013\\_FLORES.pdf](http://www.proecuador.gob.ec/wpcontent/uploads/2019/07/PROEC_AS2013_FLORES.pdf)
- Fait, A., Iversen, B., Tiramani, M., Visentin, S., Maroni, M. (2004). Prevención de los riesgos para la salud derivados del uso de plaguicidas en la agricultura. Biblioteca OMS, Serie Protección de la salud de los trabajadores N°1. Milán, Italia. Disponible en: [https://www.who.int/occupational\\_health/publications/es/pwh1sp.pdf](https://www.who.int/occupational_health/publications/es/pwh1sp.pdf).
- Fonte Cuascota, S. (2021). EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD DE LOS AISLADOS ENTOMOPATÓGENOS SOBRE ADULTOS DE *Liriomyza* spp.

EN CHAVEZPAMBA, PICHINCHA. UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE, FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES. Ibarra, Ecuador. Disponible en:  
<http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/11054/2/03%20AGP%20285%20TRABAJO%20GRADO.pdf>

García Frías, A. (2014). Manual del Crisantemo (1ra edición). México: ICAMEX.

García García, Manuel Antonio; Cappello García, Silvia; Leshner Gordillo, Julia María; Molina Martínez, René Fernando (2011). Aislamiento y caracterización morfológica de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *metarhizium anisopliae* Horizonte Sanitario, vol. 10, núm. 2, pp. 21-28 Universidad Juárez Autónoma de Tabasco Villahermosa, México.

García Gutiérrez, C., & González Maldonado, M. (2010). Uso de bioinsecticidas para el control de plagas de hortalizas en comunidades rurales. *Ra Ximhai*, 17-22. doi: 10.35197/rx.06.01.2010.03.cg

Gaytán-Acuña, E. Araceli; Ochoa-Martínez, Daniel L.; García-Velasco, Rómulo; Zavaleta-Mejía, Emma; Mora-Aguilera, Gustavo. Producción y calidad comercial de flor de crisantemo *Terra Latinoamericana*, vol. 24, núm. 4, octubre-diciembre, 2006, pp. 541-548 Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Chapingo, México. Disponible en:  
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57324412>

Giraldo J. 2009. Uso de hongos entomopatógenos en el control de ectoparásitos. Universidad del Tolima. Artículo de divulgación, *Revista Ganadero*. Tolima, Colombia. Disponible en: <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-carne/sanidad/articulos/uso-hongos-entomopatogenos-controlt2540/p0.htm>

Gómez, Y., & Rodríguez, C. (2016). Actividad de *Liriomyza huidobrensis* de acuerdo a las diversas horas del día y tipos de muestreo en relación a la fenología del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*). *Agronomía Mesoamericana*, 6, 32. doi: 10.15517/am.v6i0.24805

Góngora Botero, C., Marín Marín, P., & Benavides Machado, P. (2009). Claves para el éxito del hongo *Beauveria bassiana* como controlador biológico de la broca del café. *Avances Técnicos Cenicafé*, 384. doi: 0120-0178

Hernández Regalado, E., Vera Graciano, J., Ramírez Valverde, G., Pérez Elizalde, S., López Collado, J., Bautista Martínez, N., & Pinto, V. (2009). PRONÓSTICO DE LA FLUCTUACIÓN POBLACIONAL DEL MINADOR DE LA HOJA DE CRISANTEMO *LIRIOMYZA HUIDOBRENSIS* BLANCHARD (DIPTERA: AGROMYZIDAE) MEDIANTE MODELOS DE SERIES DE TIEMPO (1st ed.). *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.) 25(1): 21-32. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0065-17372009000100003](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0065-17372009000100003)

Hernández Sampieri, R., & Mendoza Torres, C. (2018). Metodología de la investigación (6th ed.). Ciudad de México: McGraw-Hill Interamericana.

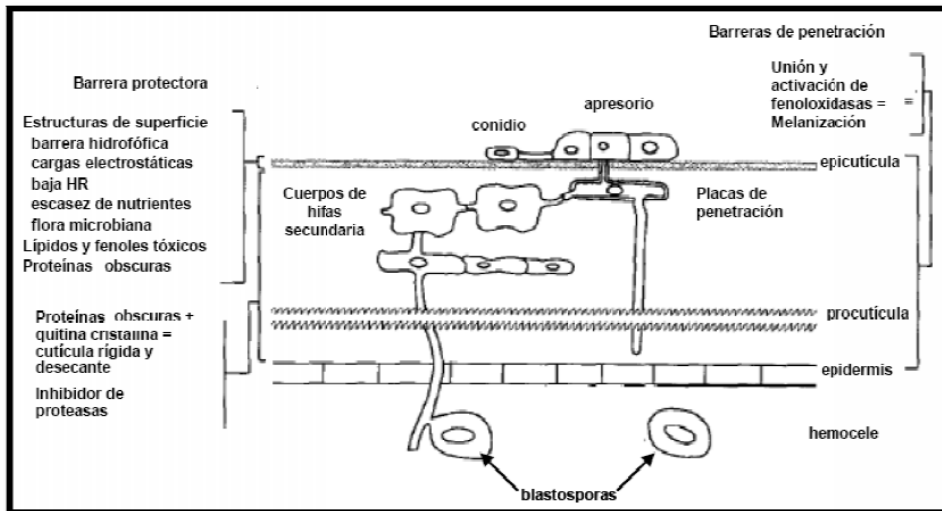
- Huerta P, R., Lomelí Flores, J., Trujillo A, J., & Hernández C, A. (2003). Combate de *Liriomyza* spp. En crisantemo mediante el uso de una aspiradora. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) No. 68 p.41-45. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/265280154\\_Combate\\_de\\_Liriomyza\\_spp\\_en\\_crisantemo\\_mediante\\_el\\_uso\\_de\\_una\\_aspiradora](https://www.researchgate.net/publication/265280154_Combate_de_Liriomyza_spp_en_crisantemo_mediante_el_uso_de_una_aspiradora).
- Infante, D., B. Martinez, N. gonzalez Y. reyes. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Rev. Protección Vegetal Vol. 24 n°1. La Habana, Cuba.
- Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC). (2002). III Censo Nacional Agropecuario. [Quito, Ecuador].
- Lizárraga, A. D., 1990. Biología de la mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* Blanchard (Diptera, Agromyzidae). Dialnet. Disponible en : <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5512069>
- López, R., Carmona, D., Trumper, E., & Huarte, M. (2016). Comportamiento de la actividad alimentaria y de oviposición de *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae), en variedades de *Solanum tuberosum* L. Revista Latinoamericana De La Papa, 19(1), 1-17. doi: 10.37066/ralap.v19i1.222
- Lorito, M. 2006. The Molecular Biology of the Interactions Between *Trichoderma*, phytopathogenic Fungi and Plants: Oportunities for Developing Novel Disease Control Methods», Memorias del Taller Latinoamericano Biocontrol de Fitopatógenos con *Trichoderma* y Otros Antagonistas, marzo 28-31, La Habana
- Martínez, B., Infante, D., Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. Y su función en el control de plagas en los cultivos. Universidad Agraria de La Habana. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n1/rpv01113.pdf>.
- Monzón A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 63: 95 - 103.
- Morgan, D., Reitz, S., Atkinson, P., & Trumble, J. (2000). The resolution of Californian populations of *Liriomyza huidobrensis* and *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) using PCR. *Heredity*, 85(1), 53-61. doi: 10.1046/j.1365-2540.2000.00731.x
- Prando, H.F.; Da Cruz, F.Z. 1986. Aspectos a biología de *Liriomyza huidobrensis* B. (Dip. Agromyzidae) en laboratorio. An. Soc. Entomol. Brasil. 15(1): 77-88.
- Pucheta M., Flores A., Rodríguez S., De la torre M. 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *Interciencia*, vol. 31, número 012. Asociación Interciencia. Caracas, Venezuela. pp 856- 860.
- Ríos Da Silva, R., Vargas-Flores, J., Sánchez-Choy, J., Oliva-Paredes, R., Alarcón-Castillo, T., & Villegas Panduro, P. (2020). *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* como controladores compatibles y eficientes de insectos plaga en cultivos acuapónicos. *Scientia Agropecuaria*, Universidad Nacional de Trujillo. <http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v11n3/2077-9917-agro-11-03-419.pdf>.

- Robin, M., & Mitchell, W. (1987). Sticky Trap for Monitoring Leafminers *Liriomyza sativae* and *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) and Their Associated Hymenopterous Parasites in Watermelon. *Journal Of Economic Entomology*, 80(6), 1345-1347. doi: 10.1093/jee/80.6.1345
- Ross, S. (2014). *Introducción a la estadística*. Barcelona: Reverté.
- Sánchez, O., (2018). *Introducción al Diseño experimental*. Nueva reimpresión. Giro Creativo. Ecuador. 269 p.
- Shi, Z., Humphries, C., & Gilbert, M., (2011). *Chrysanthemum in Flora of China*. FOC Vol. 20-21 Page 6, 653, 669 Retrieved from:  
[http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora\\_id=2&taxon\\_id=106957](http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=106957)
- Silva Soares, W., Plata-Rueda, R., de Sena Fernandes, M., Lemes Fernandes, F., Alves, F., & da Silva, Í. (2019). First Record of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) Disseminating *Alternaria solani* (Pleosporaceae) in Potato Crops in Brazil. *Florida Entomologist*, 102(1), 234. doi: 10.1653/024.102.0139
- Soto J. 2008. Caracterización molecular de aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* y evaluación de su toxicidad sobre gusano cogollero del maíz *Sodoptera frugiperda* (J.E.Smith). Tesis de Maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Medio Ambiente. IPN. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Sinaloa. pp 87:22-30.
- Steck, G. (1999). *Pea Leafminer, Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Insecta: Diptera: Agromyzidae) [Ebook] (1<sup>st</sup> ed.). University of Florida IFAS Extension.
- Valenzuela-Escoboza, F., Bautista Martínez, N., Lomeli Flores, J., Valdez Carrasco, J., Cortez Mondaca, E., & Palacios Torres, R. (2010). Identificación y fluctuación poblacional del minador de la hoja *Liriomyza trifolii* en chile jalapeño en el norte de Sinaloa. *ACTA ZOOLOGICA MEXICANA* (N.S.), 26(3). doi: 10.21829/azm.2010.263801
- Vega Reaño, C. (2021). CONTROL DE ESTADOS INMADUROS DE MOSCAS DE LA FRUTA *Anastrepha fraterculus* y *Ceratitis capitata* CON HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN EL SUELO. UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA, ESCUELA DE POSGRADO. Lima, Perú.  
<http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/4644/vega-rea%20cesar-antonio.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

## X. ANEXOS

***ANEXO A: Estructura y composición de la cutícula de insectos y forma de penetración de hongos entomopatógenos. Fuente: (Aguilar, Rodríguez-Herrera, González-Castillo, 2012)***





***ANEXO B: Material necesario para la realización de la dilución seriada y cámara de Neubauer***



***ANEXO C: Frascos de 350 mL***



**ANEXO D: Estructura de ANOVA para DCA**

Fuentes de variación	gl <sup>1</sup>	Suma de cuadrados <sup>2</sup>	Cuadrados medios	F calculada	F crítico .05 .01
TOTAL	$N-1$	$\sum \sum y_{ij}^2 - FC$			
TRATAM.	$t-1$	$\frac{1}{n} \sum Y_i^2 - FC$	$SC_{Tr} / gl_{Tr}$	$CM_{Tr} / CM_e$	— —
ERROR E.	$t(r-1)$	Diferencia	$SC_e / gl_e$		

**ANEXO E: Tabla con resultados de mortalidad a 24, 48 y 72 horas de medición**

TRATAMIENTOS	MORTALIDAD 24H			MORTALIDAD 48H			MORTALIDAD 72H		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<b>Beauveria</b>									
BSB	15	10	5	17	15	10	20	20	20
BMHR	5	9	6	19	16	14	20	20	20
<b>Paecilomyces</b>									
PMHB	14	9	7	16	13	13	20	20	20
PM2	6	5	6	15	11	12	20	20	20
Pacelotic	5	6	7	11	15	13	20	20	20
<b>Trichoderma</b>									
T. Ensayo	8	14	15	20	19	20	20	20	20
TSO2	12	12	12	20	19	20	20	20	20
<b>Lecanizillum</b>									
Leca 1	10	11	16	18	17	20	20	20	20
<b>CONTROL</b>									
Control	5	4	12	9	7	15	20	20	18

**ANEXO F: Rangos y Medias de tratamientos a las 24 h de medición**

	RANGOS		MEDIA TRATAMIENTOS
T. Ensayo	A	T. Ensayo	12,33
Leca 1	A	Leca 1	12,33
TSO2	A	TSO2	12,00
PMHB	AB	PMHB	10,00
BSB	AB	BSB	10,00
CONTROL	AB	CONTROL	7,00
BMHR	AB	BMHR	6,67
Pacelotic	B	Pacelotic	6,00
PM2	B	PM2	5,67

**ANEXO G: Rangos y Medias de tratamientos a las 48 h de medición**

	RANGOS		MEDIA TRATAMIENTOS
T. Ensayo	A	T. Ensayo	19,67
TSO2	A	TSO2	19,67
Leca 1	AB	Leca 1	18,33
BMHR	AB	BMHR	16,33
PMHB	ABC	PMHB	14,00
BSB	ABC	BSB	14,00
Pacelotic	BC	Pacelotic	13,00
PM2	BC	PM2	12,67
CONTROL	C	CONTROL	10,33

**ANEXO H: Rangos y Medias de tratamientos a las 72 h de medición**

	RANGOS		MEDIA TRATAMIENTOS
BSB	AB	BSB	20,00
BMHR	AB	BMHR	20,00
PMHB	AB	PMHB	20,00
PM2	AB	PM2	20,00
Pacelotic	AB	Pacelotic	20,00
T. Ensayo	AB	T. Ensayo	20,00
TSO2	AB	TSO2	20,00
Leca 1	A	Leca 1	20,00
CONTROL	B	CONTROL	19,33

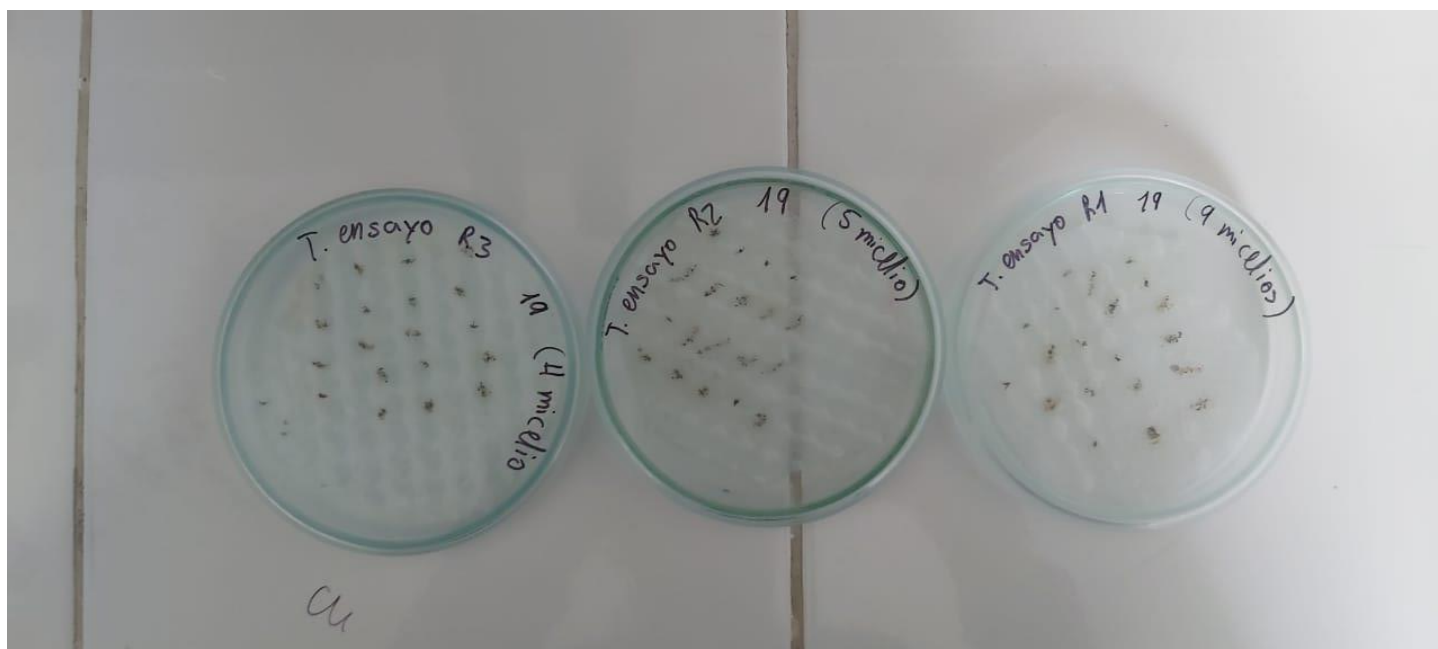
**ANEXO I: Tabla con resultados de presencia de micelio a las 96 horas**

	PRESENCIA DE MICELO				
TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	PROMEDIO	PORCENTAJE
<b>Beauveria</b>					
BSB	18	17	13	16,00	80%
BMHR	16	15	11	14,00	70%
<b>Paecilomyces</b>					
PMHB	0	0	14	4,67	23%
PM2	16	7	2	8,33	42%
Pacelotic	2	13	10	8,33	42%
<b>Trichoderma</b>					
T. Ensayo	9	5	4	6,00	30%
TSO2	7	13	11	10,33	52%
<b>Lecanizillum</b>					
Leca 1	10	9	14	11,00	55%
<b>CONTROL</b>					
Control	1	0	0	0,33	2%

**ANEXO J: Rangos y Medias de presencia de micelio a las 96 horas**

	RANGOS		MEDIA TRATAMIENTOS
BSB	A	BSB	16,00
BMHR	A	BMHR	14,00
Leca 1	ABC	Leca 1	11,00
TSO2	ABCD	TSO2	10,33
Pacelotic	BCD	Pacelotic	8,33
PM2	BCD	PM2	8,33
T. Ensayo	CD	T. Ensayo	6,00
PMHB	DF	PMHB	4,67
CONTROL	F	CONTROL	0,33

**ANEXO K: Espátula de acero inoxidable para raspado de colonia**



***ANEXO L: Método de siembra en platos Petri para esporulación de hongo******ANEXO M: ANOVA mortalidad 24 horas***

FV	GL	SC	CM	Fc	Ft
TOTAL	26	362,666667			
TRATAMIENTOS	8	188	23,50	2,42	2,51
E. EXPERIMENTAL	18	174,666667	9,70		

***ANEXO N: ANOVA mortalidad 48 horas***

FV	GL	SC	CM	Fc	Ft
TOTAL	26	368			
TRATAMIENTOS	8	266	33,25	5,87	2,51
E. EXPERIMENTAL	18	102	5,67		

***ANEXO Ñ: ANOVA mortalidad 72 horas***

FV	GL	SC	CM	Fc	Ft
TOTAL	26	3,85185185			
TRATAMIENTOS	8	1,18518519	0,15	1,00	2,51
E. EXPERIMENTAL	18	2,66666667	0,15		

***ANEXO O: ANOVA presencia de micelio 96 horas***

FV	GL	SC	CM	Fc	Ft
TOTAL	26	920,666667			
TRATAMIENTOS	8	549,333333	68,67	3,33	2,51
E. EXPERIMENTAL	18	371,333333	20,63		