

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

Colegio de Ciencia e Ingenierías

Evaluación de tres cepas de *Beauveria bassiana* para el control de *Neotoxoptera formosana* en el cultivo de Cebolla blanca de rama (*Allium fistulosum*)

Isabel Alejandra Romo Zambrano

Ingeniería en Agroempresas

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Ingeniera en Agroempresas

Quito, 28 de mayo de 2020

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

Evaluación de tres cepas de *Beauveria bassiana* para el control de *Neotoxoptera formosana* en el cultivo de cebolla blanca de rama (*Allium fistulosum*)

Isabel Alejandra Romo Zambrano

Nombre del profesor, Título académico

Carlos Ruales, Msc

Quito, 28 de mayo de 2020

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 el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Nombres y apellidos: Isabel Alejandra Romo Zambrano

Código: 00124466

Cédula de identidad: 1722197454

Lugar y fecha: Quito, mayo de 2020

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UNPUBLISHED DOCUMENT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

Quiero agradecer a la Universidad San Francisco de Quito por todas las oportunidades de aprendizaje que me ha brindado. Un agradecimiento especial a Carlos Ruales, por dirigir varios de mis proyectos universitarios, incluyendo mi trabajo de titulación, por todo su apoyo y por compartir su amplio conocimiento. Estoy agradecida con Mario Caviedes y Antonio León, por compartir de igual manera su conocimiento y experiencia. Así también, un agradecimiento para Karen Herrera que fue un gran aporte para mi conocimiento en el trabajo de laboratorio. A todos, gracias, por su apoyo en cada etapa de mi vida universitaria.

Dedicatoria

Quiero dedicar este trabajo primero a Dios.

A mi madre, Gloria, que ha sido incondicional para lograr cumplir mis metas, por todo su esfuerzo y amor. A mi hermana, Daniela, por ser una motivación para ser mejor cada día. A mi abuelita Rosita, por su buen consejo y amor en todo momento. A mis abuelitos Hugo y Martita, por su infinito amor y preocupación constante.

A mi padre, que siempre me motivó a cumplir mis sueños, y que estaría orgulloso por el cierre de esta etapa.

RESUMEN

Los cultivos alrededor del mundo están constantemente amenazados por plagas, la forma más común de combatir este problema es mediante el uso de químicos. El ecosistema global se ve afectado día a día, por el uso indiscriminado de los mismos, es por eso por lo que se han buscado alternativas, más amigables con el medio ambiente y con el ser humano, por ejemplo, un correcto manejo integrado de plagas (MIP). Este se basa en medidas de prevención, control biológico, control mecánico, la última opción se refiere al uso de químicos. Una buena alternativa para el control de diversas plagas es el uso de hongos entomopatógenos como controlador biológico, por ejemplo, *Beauveria bassiana*. En esta investigación se evaluaron tres cepas de este hongo para el control del pulgón *Neotoxoptera formosana* utilizado como insecto modelo, este se encuentra en la cebolla y otras especies de la familia *Alliaceae*. El hongo fue propagado en un medio de arroz y un caldo nutritivo. La concentración de esporas fue de 1×10^7 . La cepa 3 resultó ser más efectiva en relación con las otras 2 y el control, tomado en cuenta la variable mortalidad, que para la cepa 3 fue de 89.10% de mortalidad a los 7 días del estudio, seguido de la cepa 1 con 82.87% de mortalidad, finalmente la cepa 4 fue la menos efectiva con un 70.03%.

Palabras clave: MIP, áfidos, *Neotoxoptera formosana*, *Beauveria bassiana*, *Allium fistulosum*, mortalidad.

ABSTRACT

Crops around the world are constantly threatened by pests, the most common way to combat this problem is by using chemicals. The global ecosystem is affected everyday by the indiscriminate use of them, which is why alternatives have been sought that are more friendly to the environment and to humans, for example, a correct integrated pest management (IPM). This is based on preventive care, biological control, mechanical control, and the last option is related to the use of chemicals. A good alternative for the control of various pests is the use of entomopathogenic fungi as a biological controller, for example, *Beauveria bassiana*. In this investigation, three strains of this fungus were evaluated for the control of the aphid *Neotoxoptera formosana* used as a model insect, this is found in onions and other species of the *Alliaceae* family. The fungus was propagated in a medium of rice and a nutritious broth. The spore concentration was 1×10^7 . Strain number 3 turned out to be more effective in relation to the other 2 and the control, considering the variable mortality, which for strain 3 was 89.10% at the 7th day of the study, followed by strain 1 with 82.87% of mortality, finally strain 4 was the least effective with 70.03%.

Keywords: MIP, aphids, *Neotoxoptera formosana*, *Beauveria bassiana* isolates, *Allium fistulosum*, mortality.

TABLA DE CONTENIDOS

1	Introducción.....	14
1.1	Antecedentes	14
1.1.1	Los áfidos.....	14
1.1.2	Pulgón de la cebolla, <i>Neotoxoptera formosana</i>	17
1.1.3	Control convencional	18
1.1.4	Control mediante MIP.....	18
1.1.5	Hongos entomopatógenos.	20
1.2	Justificación.....	22
2	Objetivos.....	23
2.1	Objetivo general	23
2.2	Objetivos específicos.....	23
2.3	Hipótesis.....	24
3	Materiales y métodos.....	24
3.1	Material biológico	24
3.1.1	Áfido recolectado	24
3.1.2	Taxonomía del áfido.....	26
3.1.3	Colección de campo de <i>Beauveria bassiana</i>	27
3.2	Metodología de laboratorio	29
3.2.1	Multiplicación inicial in vitro.....	29
3.2.2	Producción de <i>Beauveria bassiana</i> en arroz como sustrato.....	29
3.3	Preparación de la solución de esporas (concentración 1×10^7)	31
3.4	Evaluación de las tres cepas frente a <i>Neotoxoptera formosana</i> en condiciones de invernadero	32
3.4.1	Fase experimental.....	32
3.5	Diseño experimental.....	34
4	Resultados.....	35
5	Discusión	44
6	Conclusiones.....	47
7	Recomendaciones	47
8	Referencias bibliográficas	49
9	Anexos.....	60
9.1	Anexo A: Aislamiento inicial.....	60
9.2	Anexo B: Datos día 3	60
9.3	Anexo C: Datos día 5	61
9.4	Anexo D: Datos día 7	61
9.5	Anexo E: Número de pulgones día 5	62
9.6	Anexo F: Número de pulgones día 7.....	62
9.7	Anexo G: Repeticiones día 5.....	62

9.8	Anexo H: Repeticiones día 5.....	63
9.9	Anexo I: Repeticiones día 7.....	63
9.10	Anexo J: Repeticiones día 7.....	64
9.11	Anexo K: Caldo nutritivo.....	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Obtención del valor de Duncan del día 5 con pulgones vivos.....	35
Tabla 2	Resultados de la prueba de Duncan del día 5 con pulgones vivos.....	36
Tabla 3	Obtención del valor de Duncan del día 5 con pulgones muertos.....	37
Tabla 4	Resultados de la prueba de Duncan del día 5 con pulgones vivos.....	37
Tabla 5	Obtención del valor de Duncan del día 7 con pulgones vivos.....	38
Tabla 6	Resultados de la prueba de Duncan del día 7 con pulgones vivos.....	39
Tabla 7	Obtención del valor de Duncan del día 7 con pulgones muertos.....	40
Tabla 8	Resultados de la prueba de Duncan del día 7 con pulgones vivos.....	40
Tabla 9	Toma de datos del día 3, de pulgones vivos y muertos	60
Tabla 10	Toma de datos del día 5, de pulgones vivos y muertos	61
Tabla 11	Toma de datos del día 7, de pulgones vivos y muertos	61
Tabla 12	Número de pulgones vivos y muertos en el día 5	62
Tabla 13	Número de pulgones vivos y muertos en el día 7	62
Tabla 14	Elementos del Caldo Nutritivo para la siembra en arroz	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Partes anatómicas de un pulgón (Villacide y Masciocchi, 2014).....	17
Figura 2 Población <i>Neotoxoptera formosana</i> , (Rorabaugh, 2018).....	24
Figura 3 Áfido (<i>Neotoxoptera formosana</i>), visto en el estereomicroscopio, (recolectado de: Granja experimental USFQ).	25
Figura 4 (A) Microscopía de <i>Neotoxoptera formosana</i> . Las patas, el tórax y la cabeza son importantes para su identificación, (B) Imagen comparativa (Augustyn, y otros, 2016)	26
Figura 5 A: Cepa 1, B: cepa 3 y C: cepa 4, aisladas de pulgones infectados de la granja experimental de la USFQ.....	27
Figura 6. Microscopías de <i>Beauveria bassiana</i> (A) Ejemplo comparativo de microscopía de <i>B. bassiana</i> (Bermúdez, 2015) (B) Microscopía cepa 1 (lente objetivo 40X-aumento total 400X).	28
Figura 7 Microscopías de <i>Beauveria bassiana</i> (A) Ejemplo comparativo de microscopía de <i>B. bassiana</i> (Bermúdez, 2015) (B) Microscopía cepa 3 (lente objetivo 40X-aumento total 400X).	28
Figura 8 Microscopías de <i>Beauveria bassiana</i> (A) Ejemplo comparativo de microscopía de <i>B. bassiana</i> (Bermúdez, 2015) (B) Microscopía cepa 4 (lente objetivo 40X-aumento total 400X).	29
Figura 9 Arroz reposando con el caldo base.....	30
Figura 10 Crecimiento del hongo a los 7 días.	31
Figura 11 Crecimiento del hongo a los 10 días.	31
Figura 12 Preparación de la solución de esporas.....	32
Figura 13 Siembra de plántulas de cebolla de rama	33
Figura 14 Diseño del experimento con cuatro tratamientos y sus réplicas.....	33
Figura 15 Pulgones en la plántula de cebolla.	34
Figura 16 Número de pulgones vivos en el día 5, después de aplicar los tratamientos: cepa 1, cepa 3, cepa 4 y el control.	35
Figura 17 Número de pulgones muertos en el día 5, después de aplicar los tratamientos: cepa 1, cepa 3, cepa 4 y el control.	36
Figura 18 Número total de pulgones vivos y muertos en el día 5	37
Figura 19 Número de pulgones vivos en el día 7, después de aplicar los tratamientos: cepa 3, cepa 1, cepa 4 y el control.	38
Figura 20 Número de pulgones muertos en el día 7, después de aplicar los tratamientos: cepa 3, cepa 1, cepa 4 y el control.	39
Figura 21 Número total de pulgones vivos y muertos en el día 7	40
Figura 22 Porcentaje de mortalidad final de los tratamientos: cepa 3, cepa 1 y cepa 4. .	41
Figura 23 Comportamiento de la cepa 3 durante los 7 días de estudio	42
Figura 24 Comportamiento de la cepa 1 durante los 7 días de estudio	42
Figura 25 Comportamiento de la cepa 4 durante los 7 días de estudio	43
Figura 26 Comportamiento del control durante los 7 días de estudio	43
Figura 27 Pulgones infectados por el hongo a los 7 días de tratamiento.....	44
Figura 28 Aislamiento inicial de <i>Beauveria bassiana</i> en el 2018 de la Granja experimental de la USFQ.....	60

Figura 29 Número de pulgones vivos por tratamiento y por repeticiones.....	62
Figura 30 Número de pulgones muertos por tratamiento y por repeticiones.....	63
Figura 31 Número de pulgones vivos por tratamiento y por repeticiones.....	63
Figura 32 Número de pulgones muertos por tratamiento y por repeticiones.....	64

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

1.1.1 Los áfidos.

Los cultivos de todo el mundo se encuentran constantemente amenazados por una extensa variedad de plagas (Villacide y Masciocchi, 2014), una de las más diversas son los áfidos que tienen alrededor de 4 mil especies, de las cuales 500 son de gran importancia económica y sanitaria en una gran cantidad de sembríos (Augustyn y otros, 2016). Estos insectos con un tamaño de aproximadamente 3mm pueden causar daño en cultivos como, hortalizas, legumbres, cereales, tubérculos, frutas. Por ejemplo, en el tomate riñón (*Solanum lycopersicum*), pimiento (*Capsicum annum*), lechuga (*Lactuca sativa*), papa (*Solanum tuberosum*), maíz (*Zea mays*), habas (*Vicia faba*), melón (*Cucumis melo*), pepino dulce (*Solanum muricatum*) etc., así como en cultivos de plantas ornamentales como las rosas (*Rosa sp.*), y plantas forestales, pueden verse afectados por estos insectos (Dughetti, 2012; Chaudhary y otros, 2009; Wiczorek y otros, 2019; Gónzales y otros, 2019; Jensen, Enkegaard, y Steenberg, 2019).

Los áfidos son también conocidos como pulgones, estos tienen una capacidad reproductiva rápida. La reproducción de los pulgones se puede dar por dos formas, sexual y asexual (partenogénesis). La más común es de manera asexual, en países como Ecuador que tienen solo estaciones de verano e invierno, la hembra al no necesitar del macho puede producir crías mediante partenogénesis (Flint, 1998). Todo empieza con una hembra fundadora que nace de un huevo, y a partir de esta, podrá agrandar la especie sin una reproducción sexual. Por ejemplo, cuando llega el verano, los pulgones se propagan fácilmente y crecen en alrededor de una semana, en la cual ya están listos para reproducirse o producir nuevamente crías, las hembras pueden producir entre 50 a 100 crías (Villacide y Masciocchi, 2014), de las cuáles todas serán

hembras, a menos que haya nacido una hembra que debería ser alada y sexúpara, la misma, sí tendrá la capacidad de engendrar machos (Stern, 2008). El número de crías que pueden nacer por hembra muestra que la población de estos insectos puede crecer aceleradamente. Es importante considerar que la forma de reproducirse depende de las condiciones del medio. La reproducción sexual se da especialmente en la época de otoño, para los países de cuatro estaciones, donde las hembras colocan solo un huevo, que en primavera eclosionará y nacerá la hembra fundadora, esta es áptera y no necesita del macho para producir crías (Flint, 1998; O´Farril, 2005, Stern, 2008).

Es importante conocer el ciclo de los áfidos, para poder llevar un correcto control de estos y evitar problemas. El ciclo de los pulgones tiene entre dos a tres etapas; huevo (solo cuando hay reproducción sexual), ninfa y adulto. En la etapa de ninfa el pulgón puede llegar a tener hasta 4 mudas, previo a la adultez. Los áfidos pueden llegar a cumplir su ciclo entre 15 días a 1 mes (O´Farril, 2005). Tienen un corto tiempo de vida, pero su capacidad reproductiva es muy eficiente para multiplicar la población solo en una semana. Con las condiciones óptimas y un cultivo para hospedarse, los áfidos pueden llegar a tener un número extenso de generaciones a largo de todo el año (Jackson, 2017).

Uno de los mayores riesgos de tener áfidos en los cultivos es que estos tienen la capacidad de transmitir virus debido a la anatomía de su aparato bucal (Dughetti, 2012). Al tener un aparato bucal picador-chupador, el insecto se clava en las partes blandas de la planta como las hojas y tallos jóvenes succionando la savia (Stern, 2008). La trasmisión se da cuando una planta está enferma y el pulgón se ha alimentado de la misma, luego se mueve a una planta sana donde se vuelve a alimentar, infectando la planta, el virus se transmite de forma sistémica a toda la planta mediante el floema donde infecta las células circundantes (Gergerich y Dolja, 2006). Un

ejemplo de transmisión de virus es lo que sucede con el “Iris yellow spot virus” (IYSV; familia Bunyaviridae, género, Tospovirus), el mismo que se transmite entre cebollas y otras plantas de la familia *Alliaceae*. Los síntomas de IYSV consisten en manchas ovaladas a lesiones en forma de diamante, amarillas, de color verde claro o de color paja (a veces necróticas) en las hojas, hojas del escapo y bulbo de la cebolla o alguna de las especies de la familia *Alliaceae*. En las primeras etapas de la infección, las lesiones aparecen como anillos ovalados y concéntricos. Algunas manchas verdes se pueden observar dentro de las lesiones necróticas. Por lo general se originan alrededor de un punto de alimentación del insecto, no solo los pulgones, sino también pueden ser thrips, mosca blanca (CABI, 2019). Hay que considerar que la transmisión del virus no depende de una población extremadamente grande, pues solo se necesita un áfido contaminado para que transmita el virus.

Los áfidos pueden tener dos tipos de comportamientos, respecto a su alimentación (Guerrieria y Digilio, 2008). Pueden ser especies monófagas como *Dysaphis plantaginea* que se alimenta solo en plantas de manzana. Por otra parte, se pueden encontrar especies polífagas, donde una misma especie puede afectar diversos cultivos, por ejemplo, *Aphis fabae*, este pulgón se lo puede encontrar en las habas, pero también se ha reportado en otros cultivos como las papas, tomate, lechugas, etc. (Jensen y otros, 2019). Además de la gran capacidad de poder transmitir virus, también causan otros daños en las plantas como, amarillamiento en las hojas, enrollamiento de hojas (afectando a la fotosíntesis), manchas (que dañan la calidad del producto) (Augustyn y otros, 2016).

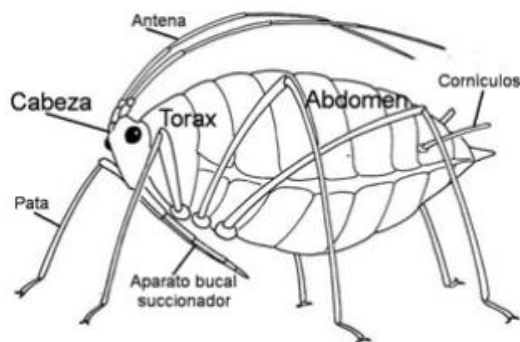


Figura 1 Partes anatómicas de un pulgón (Villacide y Masciocchi, 2014)

El pulgón tiene en la parte final de su abdomen, dos estructuras anatómicas, llamadas cornículos (figura 1), por donde secretan sustancias y hormonas para ahuyentar a los depredadores (Fericean y Corneanu, 2017; Siddiqui, y otros, 2019). Al final de tracto digestivo excreta sustancias azucaradas que pueden causar problemas (Ponsen, 1991), ya que atraen a las hormigas, a parte esta melaza promueve la formación de fumagina; que es el resultado del crecimiento de un hongo saprófito, la fumagina cubre la hoja, evitando que esta realice una correcta fotosíntesis (Chaudhary y otros, 2009). Como resultado la planta se verá afectada gravemente. En los cítricos es muy común ver estas manchas oscuras en las hojas, y también en los frutos.

1.1.2 Pulgón de la cebolla, *Neotoxoptera formosana*

Se ha reportado en varios países la presencia de este pulgón, en Holanda, España, India, Inglaterra, Brasil, Colombia, Argentina (Filho, y otros, 2005; Piron, 2010; Pérez, 2011; Costa y otros, 2012). No se hallaron registros de reportes de este pulgón en el Ecuador.

Neotoxoptera formosana es probablemente de origen asiático, pero ahora se distribuye en América del Norte y del Sur, Europa, Australia y Nueva Zelanda (MacLeod, 2007). Esta plaga se ha encontrado en varios países, pero se sabe muy poco de su biología, su reproducción es

asexual, de lo que se ha reportado (Vasicek y otros, 2000). Y solo se hospeda en plantas de la familia *Alliaceae* (Vasicek y otros, 2005; Vasicek y otros, 2007).

1.1.3 Control convencional

En el Ecuador se puede presenciar como los pulgones atacan diversos cultivos, como se mencionó anteriormente, el problema es que el control que se realiza para esta plaga se lo hace de manera convencional, ósea con el uso de químicos, que en muchas ocasiones es de uso indiscriminado. Según el INEC (2016), en cultivos permanentes el 50.03% de los agricultores utilizaron agroquímicos para el control de plagas y enfermedades. Y en cultivos transitorios este porcentaje aumenta, donde 78.24% de los agricultores utilizaron agroquímicos. Es un porcentaje alarmante, pues debido a la informalidad de una gran parte de los agricultores, no se respetan las dosis de los agroquímicos, para la extensión del terreno y el cultivo. A parte de afectar al medio ambiente con el uso indiscriminado de químicos; el principal afectado es el mismo ser humano, debido a la residualidad de los químicos en los alimentos, eso se puede observar en el estudio de Curillo (2015), que observó la residualidad que tenían ciertos alimentos como la frutilla, el tomate y la papa donde indicó la presencia de plaguicidas como (organofosforados, piretroides y carbamatos). Lo mismo sucede con los demás alimentos que son tratados con agroquímicos sin usar las correctas dosificaciones, por eso la gran importancia del correcto manejo integrado de plagas.

1.1.4 Control mediante MIP.

Dentro de un manejo integrado de plagas (MIP), existen varias formas de controlar a estos insectos. Empezando por un buen manejo cultural, continuando con el control mecánico, posteriormente con el control biológico, finalmente si no se ha logrado combatir la plaga con alguna de las estrategias anteriores, se procede con el control químico (Flint, 1998). En el caso

de Ecuador, todavía no hay una cultura de un buen manejo integrado de plagas, por eso cuando aparece una plaga en un cultivo, en la mayoría de los casos, el agricultor opta como primera opción el control químico. Como consecuencia, existe un uso indiscriminado de químicos agrícolas en el país.

La observación es el paso número uno del MIP, donde se identifica qué plaga es la que está atacando el cultivo. Después tener un buen manejo cultural es primordial, y se debe mantener el cultivo vigilado. Un dato importante sobre el manejo cultural que se debería considerar es, que hay que tener cuidado con la fertilización de los cultivos pues, si se llega a sobre fertilizar con nitrógeno, esto atraerá a los pulgones (Augustyn, y otros, 2016).

Cuando el manejo cultural ya no sea efectivo es necesario, ir por el control biológico (Kim y otros, 2013), y si este no funciona, el control químico será la última opción. Dentro de la investigación para el control biológico no siempre se obtienen resultados positivos, por ejemplo en este estudio (Comerio y otros, 2008) se aisló *Conidiobolus coronatus*, es un hongo saprófito, que se utilizó con *Neotoxoptera formosana*, tuvo un buen efecto al momento de combatir esta plaga, el problema es que también afecta al ser humano, el momento que la persona manipula el hongo, esta se encuentra en peligro. Puede causarle inflamaciones en la piel, y causa infecciones orofaciales. Por eso buscan hongos que sean efectivos contra las plagas, pero inofensivos con el ser humano.

Otra forma de aprovechar el control biológico es mediante el uso de enemigos naturales como la cría de *Chrysoperla*, las larvas de esta se alimentan de pulgones. (Costa y otros, 2012). Así también los coccinélidos, comúnmente conocidos como mariquitas, son de los depredadores más importantes de los pulgones, estos coleópteros ayudan a controlar estos insectos plaga (Miñarro, 2011).

Por otra parte, los extractos también tienen sus beneficios, y pueden ser una buena alternativa por ejemplo el extracto de Neem que funciona como insecticida (Nzanza y Mashela, 2012). Los aceites esenciales también pueden ser grandes atrayentes o repelentes para los insectos. El extracto de romero funcionó muy bien como repelente para *Neotoxoptera formosana* (Hori y Komatsu, 1997), (Hori M. , 2007).

1.1.5 Hongos entomopatógenos.

Los hongos entomopatógenos están dentro de un gran grupo de microorganismos que permiten mantener en equilibrio los sistemas agroecológicos. Teniendo la capacidad de regular plagas. Estos hongos fueron los primero utilizados, para el bio-control de plagas. Estos entomopatógenos, son preferidos para matar insectos en varias etapas de su ciclo de vida. Hay una variedad muy diversa de especies de hongos, que son capaces de infectar a diversos insectos. Estas especies patógenas de hongos se encuentran en una amplia gama de adaptaciones y capacidades infectantes, incluyendo patógenos obligatorios y facultativos (Sinha y otros, 2016).

Se hacen estudios de evaluación de hongos entomopatógenos presentes en plagas de diversos cultivos como en el tomate (Reyes, 2009) y otras hortalizas de consumo masivo. Así como también, en cultivos de palma para extracción de aceite, en este cultivo existe la presencia de la gualpa (*Rhynchophorus palmarum L*), que causa varios daños a la palma, la enfermedad del anillo rojo es una de las más graves, la gualpa es el vector del nemátodo (*Bursaphelenchus cocophilus*) que causa esta enfermedad. Se ha estudiado la aplicación del hongo *Beauveria bassiana* para el control de esta plaga y se ha visto que es realmente eficiente (Guevara, 2018).

Beauveria sp. es un hongo filamentoso, perteneciente a la clase de los Deuteromicetos. Las especies más conocidas y de importancia son: *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Beauveria amorpha* y *Beauveria caledonica* (Baverstock y otros, 2009). *Beauveria bassiana* es

un hongo que crece naturalmente en el suelo en todo el mundo y actúa como un patógeno en varias especies de insectos, causando una enfermedad llamada muscardina blanca, pertenece a los hongos entomopatógenos (Dresnes, 1950). La mayoría de los aislados de *Beauveria* sp. son altamente específicos del huésped. En el huésped, el micelio emerge a través del exoesqueleto del huésped para formar una densa cubierta blanca en la superficie. En una microscopía se ve que *B. bassiana* tiene células conidiógenas (hifas) con bases globosas y los conidios extendidos y globosos (Sinha y otros, 2016). Para la caracterización de la *B. bassiana*, sucede algo muy importante con los insectos muertos infectados por especies de *Beauveria*, presentan una cubierta blanca muy densa formada por el micelio y esporulación del hongo. (Castillo, y otros, 2012)

Beauverias nativas, han sido aisladas para el control de broca (Gerónimo, y otros, 2016) Para el pulgón del melón también, se ha utilizado el control con *Beauveria bassiana* (González y otros, 2019) para el control de la gualpa en la palma africana también ha sido efectivo (Guerrero y otros, 2011), (Guevara, 2018). Por otra parte el psílido de papa también ha sido controlado con hongos entomopatógenos, esta plaga de la papa es la causante de la enfermedad de la punta morada que puede llegar provocar hasta el 100% de pérdidas (Juárez, 2011).

Los trips, mosca blanca y el gusano del maracuyá también han sido controlados con cepas de *Beauveria bassiana*. (Wu, y otros, 2013), (Ruiz y otros, 2009), (Malpartida, Narrea, y Dale, 2013).

1.1.5.1 *Proceso de infección.*

El proceso de infección del hongo entomopatógeno al insecto empieza con la adhesión de la spora a la cutícula del áfido. A continuación, inicia la germinación de la spora, luego las mismas penetran en la cutícula, para luego crecer dentro del hemocele, provocando la muerte del insecto. Para finalmente esporular y contaminar a otros insectos (Boucias y Pendland, 1991).

Por otra parte, este hongo también tiene la capacidad de producir metabolitos que pueden llegar a producir la muerte de los insectos. Se pueden encontrar metabolitos activos como la beauvericina, bassianolida, beauveriolida I, beauveriolida III (Patocka, 2016). Estos metabolitos se han encontrado en micelos del hongo y se ha observado que causan daño al insecto que sea susceptible al mismo, el metabolito bassianolida puede ser considerado uno de los mayores factores de virulencia de *Beauveria bassiana* (Patocka, 2016).

1.2 Justificación

En busca de una alternativa al control de plagas tradicional, se ha optado por el uso de controladores biológicos, que han sido probados y se han obtenido resultados positivos. De todas maneras, un gran porcentaje de agricultores utilizan el control químico como la mejor opción para el control de plagas, ya sea por desconocimiento o por rentabilidad, ya que el costo de un producto de control biológico puede ser más elevado en la mayoría de los casos, en relación con un producto químico.

Se considera bajo, el número de personas que mueren por el uso de plaguicidas, pero es importante considerar que miles de personas se envenenan con los mismos, esto les trae desde consecuencias leves a graves. Considerando datos de la OMS, “anualmente se intoxican dos millones de personas por exposición directa o indirecta a plaguicidas. De ese total, las 3/4 partes de afectados pertenecen a los países subdesarrollados, donde se utiliza el 25% de la producción mundial de plaguicidas”. (González, 2014).

Este antecedente deja más clara la importancia de un correcto manejo integrado de plagas, y la necesidad de que se busquen procesos más limpios y menos riesgosos de producción, tanto para las personas que cultivan los alimentos, así como para las personas que consumen los mismos

y sin olvidarse del ecosistema, pues las fuentes de agua son las más afectadas, las mismas que terminarían afectando al humano con el consumo de agua contaminada.

Se ha visto que el hongo *Beauveria bassiana* se encuentra en el suelo o en insectos que han sido infectados por este hongo; así que es un recurso que está disponible, y que con la investigación se puede llegar a optimizar un proceso que permita crear un producto, que pueda llegar a agricultores de recursos limitados, esto sumado a un proceso de educación podrá crear la diferencia entre la producción convencional y una producción de alimentos más limpia.

Todo lo mencionado anteriormente le da valor a esta investigación que es parte de la búsqueda de alternativas al uso de agroquímicos para el control de plagas. Para realizar este estudio se utilizó una planta modelo y un insecto modelo. Por el manejo sencillo se utilizaron plántulas de cebolla de rama (*Allium fistulosum*) y por la presencia abundante de pulgones (*Neotoxoptera formosana*) en la granja experimental de la Universidad San Francisco de Quito, se usó esta especie de pulgones que previamente fue identificada. La prueba para el control de estos insectos se hizo con el hongo *Beauveria bassiana*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Determinar la cepa más efectiva, después del estudio de tres de cepas del hongo *Beauveria bassiana* para el control de *Neotoxoptera formosana*.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar el áfido recolectado
- Caracterizar las cepas por microscopía
- Evaluar el porcentaje de mortalidad del pulgón *Neotoxoptera formosana*, ante el tratamiento con 3 cepas de *Beauveria bassiana*.

2.3 Hipótesis

Los tres hongos entomopatógenos controlan a *Neotoxoptera formosana* bajo condiciones de invernadero.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material biológico

3.1.1 Áfido recolectado

El pulgón *Neotoxoptera formosana* fue recolectado en la granja experimental de Puembo de la USFQ para la respectiva identificación. Se recolectó de cebollas shallot (*Allium cepa* grupo *aggregatum*) que tenían brotes. Se procedió a la observación en un estereomicroscopio para el cuerpo externo, donde se identificaron partes anatómicas básicas de los pulgones, como la presencia de cornículos, el aparato bucal, las antenas, el tórax, abdomen (EPPO, 2005).



Figura 2 Población *Neotoxoptera formosana*, (Rorabaugh, 2018)

En la figura 2 se ve una población del pulgón a controlar, se puede observar a las hembras con sus crías, se caracterizan por el color café oscuro brillante en la mayoría d ellos casos, y las crías por un café pálido, en el proceso de la muda van cambiando de color.

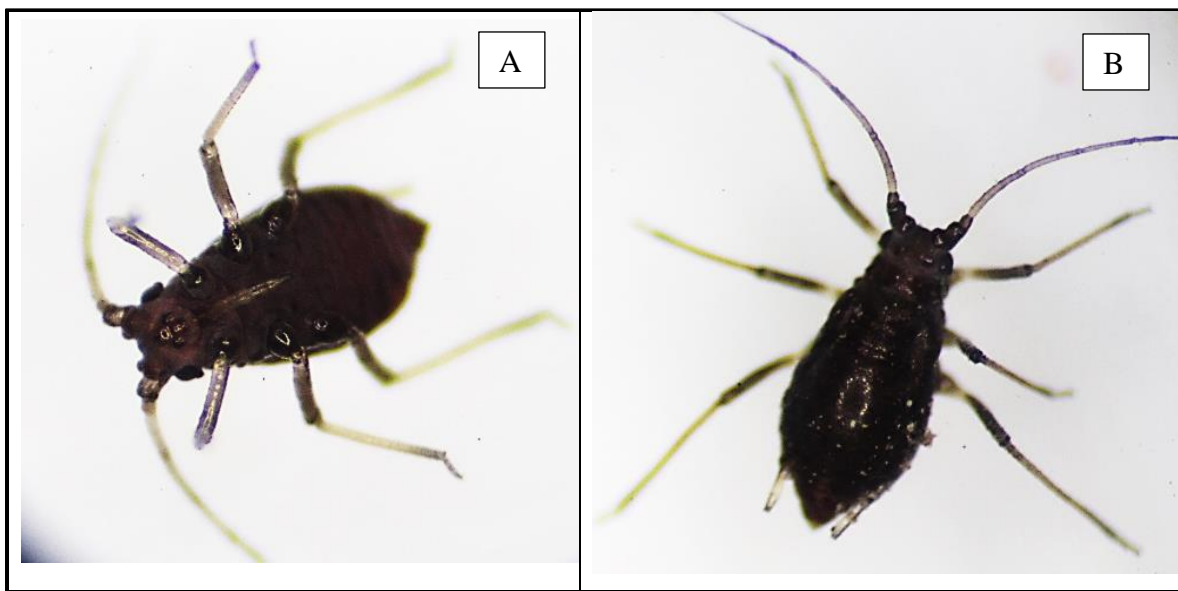


Figura 3 Áfido (*Neotoxoptera formosana*), visto en el estereomicroscopio, (recolectado de: Granja experimental USFQ).

En la figura 3A, se puede visualizar el aparato bucal, muy característico de los áfidos al ser picador-chupador, Figura 3B se observa en la parte final del abdomen, dos estructuras que sobresalen, las mismas son conocidas como cornículos, igualmente muy características de la especie.

Para identificar este pulgón se realizó una observación exhaustiva de las partes claves que permitirían clasificar a este insecto. La coloración en las patas es importante tomar en cuenta, donde el último segmento de estas tiene una coloración más oscura, al igual que la base de las patas.

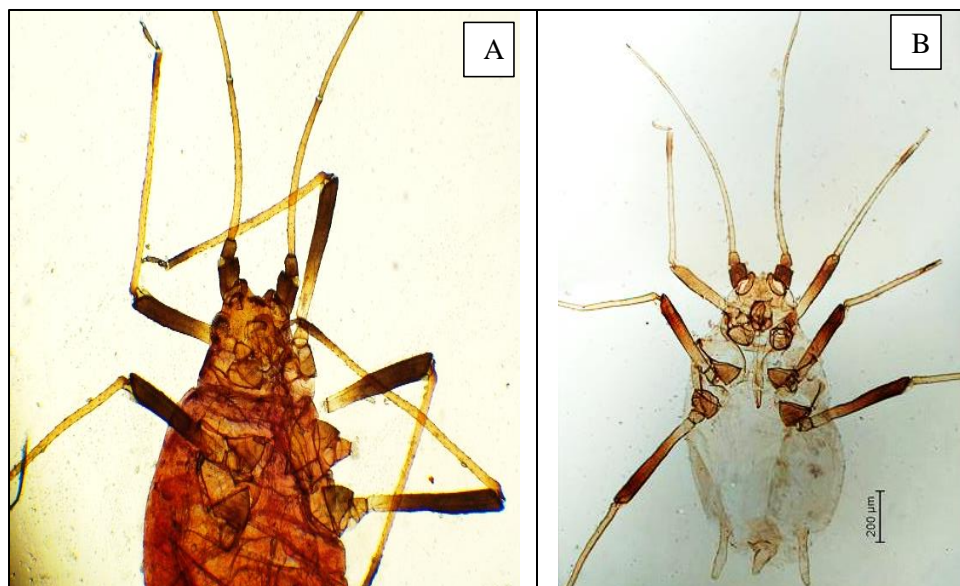


Figura 4 (A) Microscopía de *Neotoxoptera formosana*. Las patas, el tórax y la cabeza son importantes para su identificación, (B) Imagen comparativa (Augustyn, y otros, 2016)

Todas las características importantes coinciden entre los pulgones recolectados en el campo en la granja USFQ (figura 4A) y la correspondiente a la clave taxonómica (figura 4B).

3.1.2 Taxonomía del áfido

- Reino: Animalia
- Filo: Arthropoda
- Clase: Insecta
- Orden: Hemiptera
- Suborden: Sternorrhyncha
- Familia: Aphididae
- Género: *Neotoxoptera*
- Especie: *formosana*

3.1.3 Colección de campo de *Beauveria bassiana*

En septiembre 2018 se recolectaron, en la granja experimental USFQ, muestras de pulgones infectados, éstos se llevaron a laboratorio donde fueron aislados en medio PDA. Se realizaron varios aislamientos, de éstos se seleccionaron tres para ensayos posteriores.

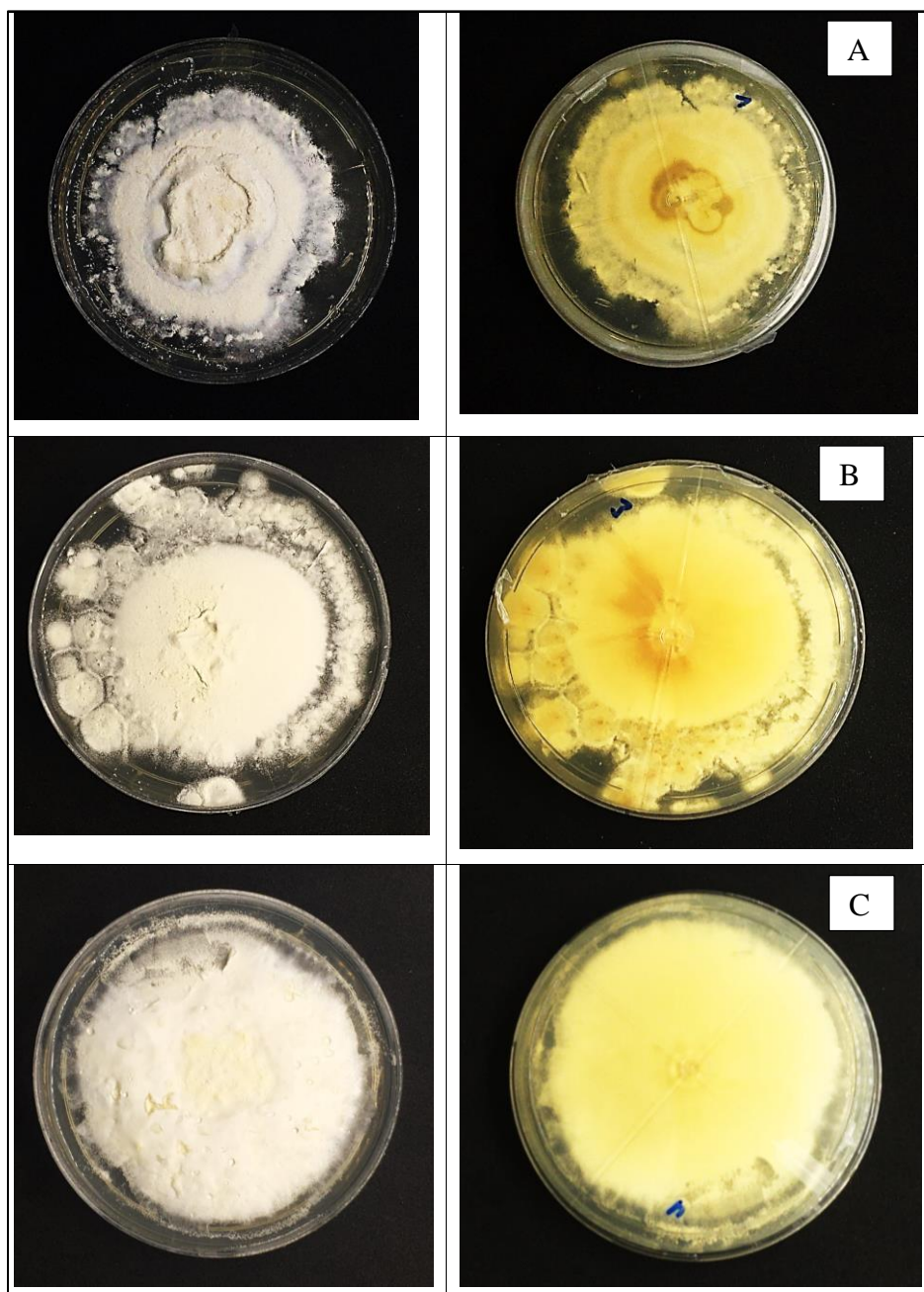


Figura 5 A: Cepa 1, B: cepa 3 y C: cepa 4, aisladas de pulgones infectados de la granja experimental de la USFQ.

En la figura 5 se puede observar la forma de crecimiento en caja Petri del hongo. Una característica general entre las tres cepas, es su color blanquecino. Estas cepas tenían un mes y medio de crecimiento el momento que se tomó la fotografía.

De las tres cepas seleccionadas se prepararon placas para la observación de las estructuras, las cuales fueron comparadas con las claves correspondientes como se observa en las figuras, 6, 7 y 8.

Cepa 1

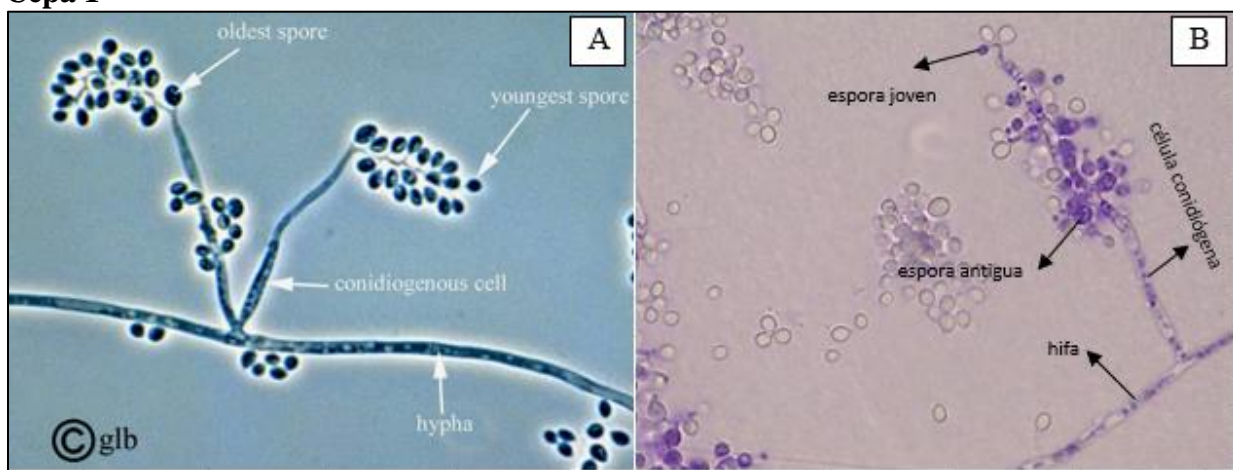


Figura 6. Microscopías de *Beauveria bassiana* (A) Ejemplo comparativo de microscopía de *B. bassiana* (Bermúdez, 2015) (B) Microscopía **cepa 1** (lente objetivo 40X-aumento total 400X).

Cepa 3

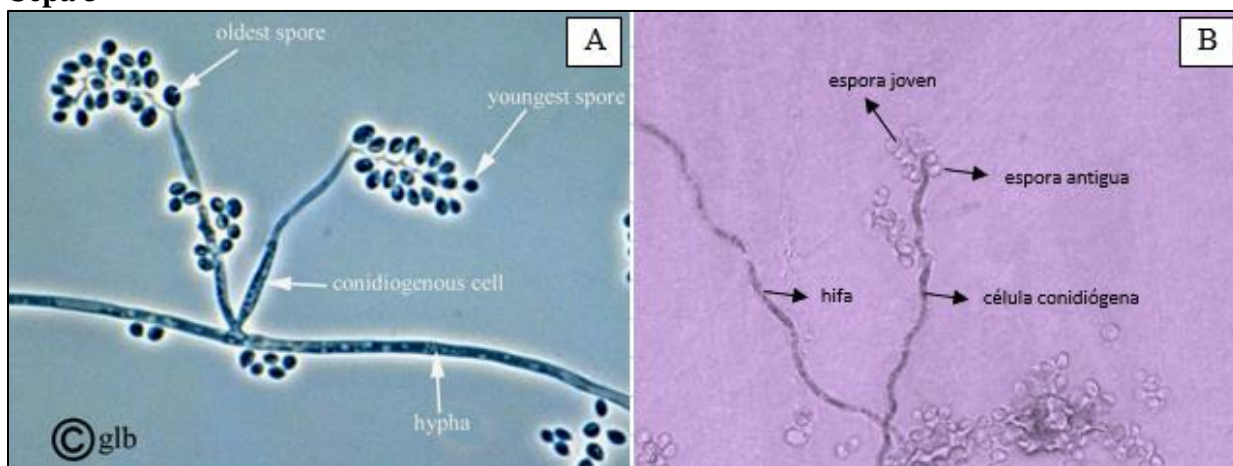


Figura 7 Microscopías de *Beauveria bassiana* (A) Ejemplo comparativo de microscopía de *B. bassiana* (Bermúdez, 2015) (B) Microscopía **cepa 3** (lente objetivo 40X-aumento total 400X).

Cepa 4

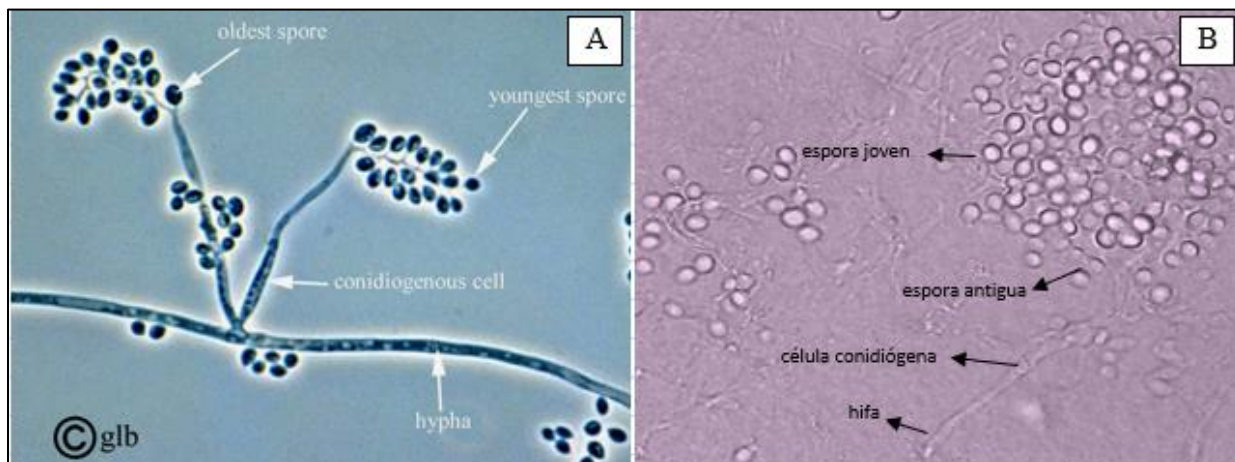


Figura 8 Microscopías de *Beauveria bassiana* (A) Ejemplo comparativo de microscopía de *B. bassiana* (Bermúdez, 2015) (B) Microscopía **cepa 4** (lente objetivo 40X-aumento total 400X).

“El tamaño de las células conidiógenas es de 3.8-7 x 1.3-1.8 μm . Los conidios de *B. bassiana* son hialinos, lisos, de forma globosa a elipsoidal con un tamaño de 2.2-3 μm de diámetro” (García, 2011). Las hifas de este hongo son septadas y llegan a medir alrededor de 2.5 μm y ahí se formarán las conidiósporas. La razón por la que la apariencia del hongo es blanquecina es porque las hifas y las esporas son hialinas. Con las microscopías se confirmó que las cepas son *Beauveria bassiana*. Considerando la distribución de las esporas. (Holder y otros, 2007).

3.2 Metodología de laboratorio

3.2.1 Multiplicación inicial in vitro

Una vez aislada la cepa se hizo multiplicación in vitro en medio PDA

3.2.2 Producción de *Beauveria bassiana* en arroz como sustrato

- Se pesó 150 gramos de arroz y se colocó (125 ml de caldo nutritivo (ver anexo))

- El arroz se debe remojar con el caldo nutritivo anexo, por esa razón se deja reposar unos 20 min para que se hidrate (Chiriboga y otros, 2015).
- A continuación, se coloca un algodón en la parte de arriba de la funda y luego se cierra con una liga. Y se lleva a autoclavar a 121 °C por 15 min (Antía y otros, 1992), (Caballero, 2014).
- Se deja enfriar y se masajea para que el arroz se suelte.
- El proceso de siembra se lleva a cabo en una cámara de bioseguridad. Ahí se abre con cuidado la funda, se debe esterilizar un mango de bisturí, con eso se hace un corte de un cuadrado de 1mm por 1mm del hongo, al bisturí se le pone en alcohol al 90% y antes de hacer el corte se flamea, se deja que se enfríe y se hace el corte en la caja.
- Ese cubito se pasa a la funda con arroz y se cierra, si la parte del Agar que tiene el hongo queda en contacto con el arroz es mejor.
- Cada 3 días se revisa la funda para ver si hay crecimiento del hongo, y verificar que no se contamine (Gómez y otros, 2014).



Figura 9 Arroz reposando con el caldo base



Figura 10 Crecimiento del hongo a los 7 días.

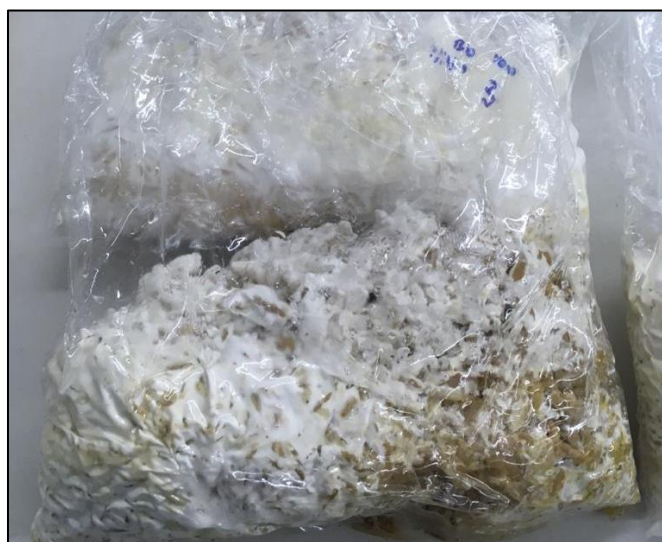


Figura 11 Crecimiento del hongo a los 10 días.

3.3 Preparación de la solución de esporas (concentración 1×10^7)

- Se pesó 50 gramos del arroz con *Beauveria bassiana*
- Se diluyó con 250 ml de agua destilada
- Se añadió 0.25 ml de fijador comercial de uso agrícola Porter.



Figura 12 Preparación de la solución de esporas

3.4 Evaluación de las tres cepas frente a *Neotoxoptera formosana* en condiciones de invernadero

3.4.1 Fase experimental.

Se trasplantaron 10 plantas de cebolla individualmente en vasos por tratamiento, cada vaso contenía un sustrato consistente en una mezcla balanceada de cascarilla de arroz y tierra negra, todos los vasos de cada tratamiento fueron ubicados en una caja plástica después de ubicar 10 pulgones por planta. Cada tratamiento fue identificado como cepa 1, 3 y 4 respectivamente, más el control con agua destilada y fijador.



Figura 13 Siembra de plántulas de cebolla de rama

Se les realizó un corte a las puntas de las cebollas para que tengan todas un tamaño uniforme, después de la siembra se colocó agua para asentar el sustrato, para un correcto drenaje se hicieron pequeños orificios en la base de los vasos.

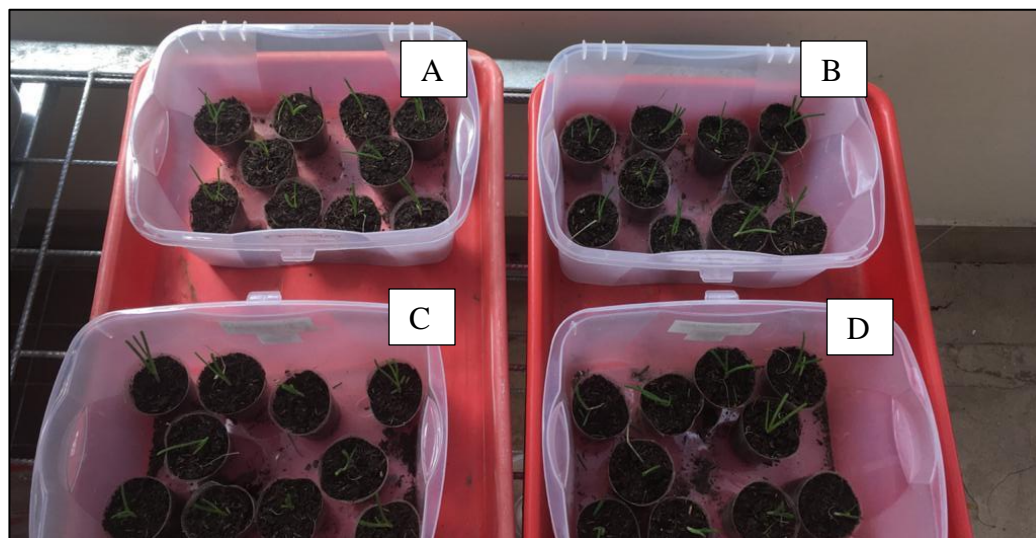


Figura 14 Diseño del experimento con cuatro tratamientos y sus réplicas

Cada caja plástica corresponde al bloque donde se aplicó el respectivo tratamiento mediante aspersión la concentración 1×10^7 . En la caja A se aplicó la cepa 1, en la caja B se aplicó la cepa 3, en la caja C se aplicó la cepa 4 y finalmente en la caja D fue aplicado el control.



Figura 15 Pulgones en la plántula de cebolla.

Los pulgones fueron colocados en la planta uno por uno con un pincel muy fino.

3.5 Diseño experimental

Consistió en tres tratamientos equivalentes a tres cepas de hongos rociados sobre los pulgones a una concentración de 1×10^7 , y el control con agua más fijador. Para determinar diferencias estadísticas significativas se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y para verificar las diferencias entre tratamientos se realizó una prueba de separación de medias de Duncan ($P \leq 0,05$) (Sánchez O., 2017).

4 RESULTADOS

Cada tratamiento consistió en la aspersión de cada cepa a una concentración de 1×10^7 y el testigo, cinco días después se evaluaron los primeros resultados que se presentan a continuación en la figura 16.

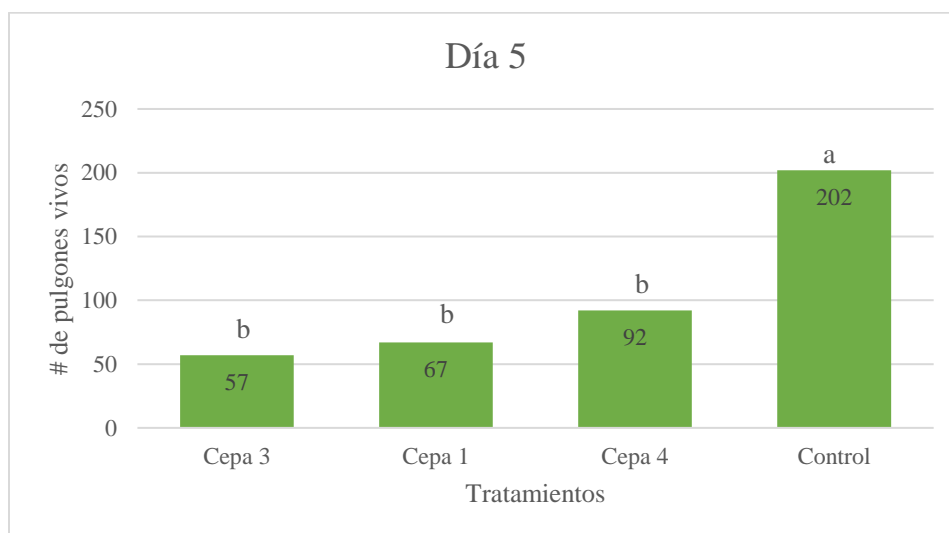


Figura 16 Número de pulgones vivos en el día 5, después de aplicar los tratamientos: cepa 1, cepa 3, cepa 4 y el control.

En la figura 16 se observa que la barra del control es significativamente mayor que los demás tratamientos, con un total de 202 pulgones vivos, que es considerablemente mayor que la cepa 1, 3 y 4. Con el valor del ANOVA tomando en cuenta el valor crítico de F, se confirmó la diferencia estadística significativa (ver Anexo 4).

Tabla 1 Obtención del valor de Duncan del día 5 con pulgones vivos.

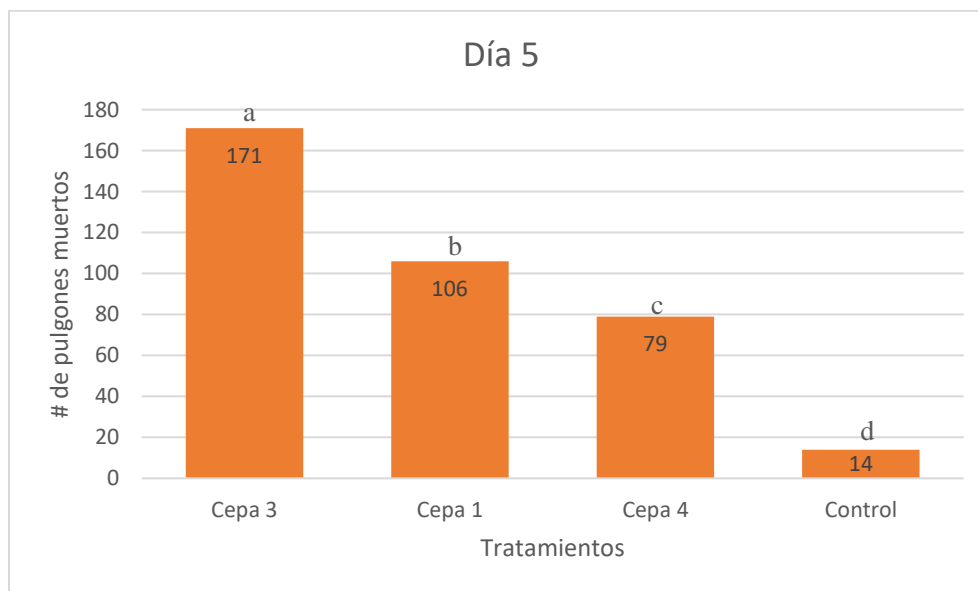
Prueba de Duncan			
Valor	2	3	4
D	2.89	3.03	3.13
SY	2.266912	2.266912	2.266912
Valor de Duncan	6.551375	6.868743	7.095434

Tabla 2 Resultados de la prueba de Duncan del día 5 con pulgones vivos.

Duncan	b	b	b	a
Tratamientos	Cepa 3	Cepa 1	Cepa 4	Control
\bar{y}	5.7	6.7	9.2	20.2

Con las tablas 1 y 2, después de hacer la prueba de Duncan, se comprobó que el Control es diferente de que las cepas 1, 3 y 4. Lo que muestra un resultado positivo.

No hay diferencias significativas entre las tres cepas, las diferencias son mínimas (asignándoles la letra b a las 3). Este resultado indica que *B. bassiana* está actuando.

**Figura 17** Número de pulgones muertos en el día 5, después de aplicar los tratamientos: cepa 1, cepa 3, cepa 4 y el control.

En la figura 17 se puede apreciar que la cepa 3 provocó más muertes de pulgones con relación a la cepa 1 y 4. Hay una amplia diferencia entre la cepa 3 y el control, también con el valor del ANOVA tomando en cuenta el valor crítico de F se confirmó la diferencia estadística significativa.

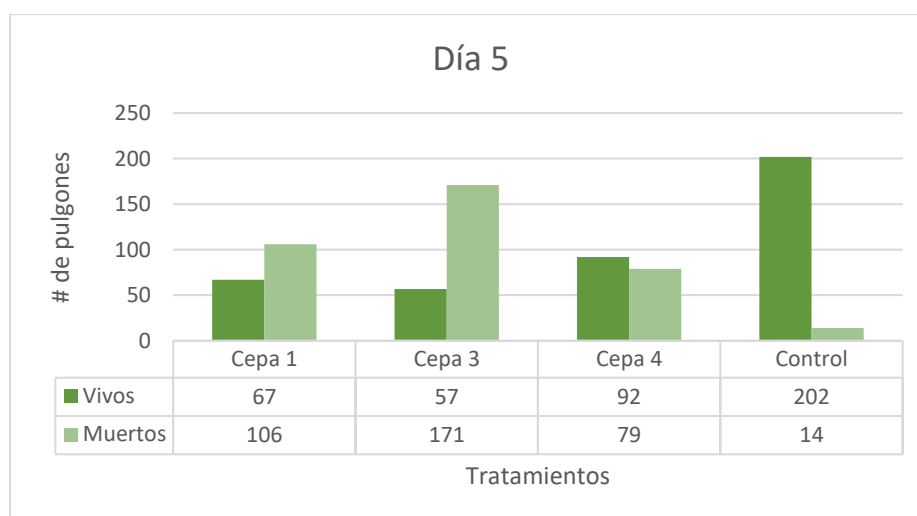
Tabla 3 Obtención del valor de Duncan del día 5 con pulgones muertos.

Prueba de Duncan			
Valor	2	3	4
D	2.89	3.03	3.13
SY	0.845686	0.845686	0.845686
Valor de Duncan	2.444033	2.562429	2.646998

Tabla 4 Resultados de la prueba de Duncan del día 5 con pulgones vivos.

	d	c	b	a
Tratamientos	control	cepa4	cepa1	cepa3
\bar{Y}	1.4	7.9	10.6	17.1

Con las tablas 3 y 4 se logró determinar que existen diferencias significativas entre los tratamientos. Por eso cada uno tiene asignado una letra. En el orden de efectividad se puede decir que la cepa 3 ha actuado de manera más eficiente, le sigue la cepa 1, después la cepa 4 y finalmente el control. El resultado del control confirma que las cepas son eficientes con diferentes rangos.

**Figura 18** Número total de pulgones vivos y muertos en el día 5

Se puede observar en términos generales como actuaron las cepas en el día 5, donde la cepa 3 y el control tiene una amplia diferencia entre pulgones vivos y muertos. La cepa 3 mató a 171 pulgones, mientras que la cepa 4 solo 79. El control tiene solo 14 pulgones muertos, que se relaciona con una muerte natural. La cantidad de pulgones está relacionada con la gran capacidad reproductiva que tienen y que se mencionó anteriormente.

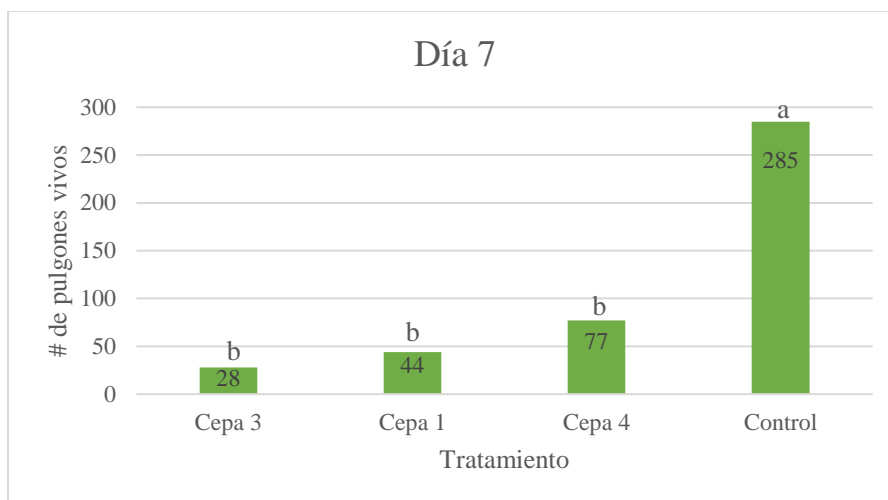


Figura 19 Número de pulgones vivos en el día 7, después de aplicar los tratamientos: cepa 3, cepa 1, cepa 4 y el control.

Como se observa en la figura 19, el resultado del control en el día 7 respecto al número de pulgones vivos es el esperado pues tiene un valor significativamente mayor en relación con los tres tratamientos. Quiere decir que para el día 7 las cepas del hongo *B. bassiana* siguieron actuando.

Tabla 5 Obtención del valor de Duncan del día 7 con pulgones vivos.

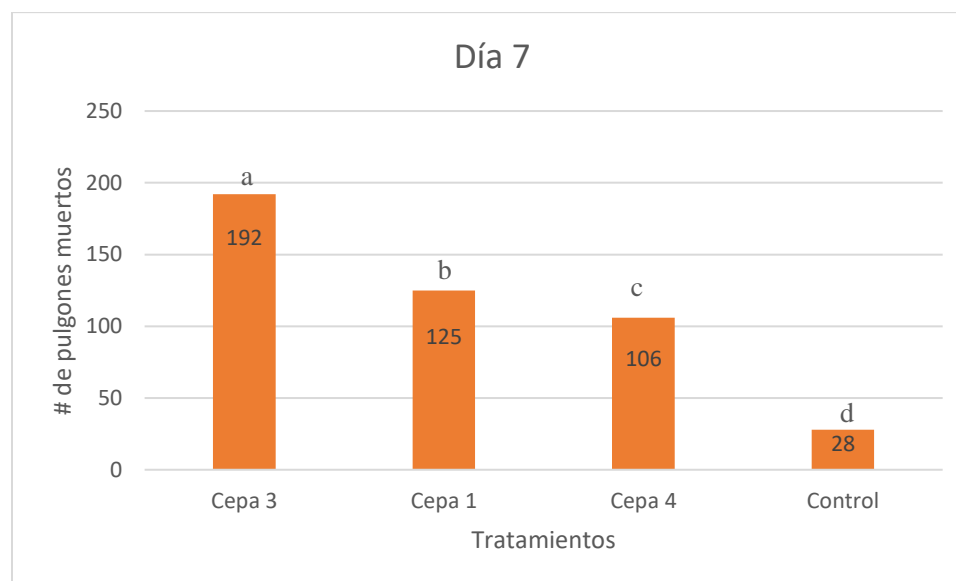
Prueba de Duncan			
Valor	2	3	4
D	2.89	3.03	3.13
SY	2.798809	2.798809	2.798809
Duncan	8.088559	8.480392	8.760273

Tabla 6 Resultados de la prueba de Duncan del día 7 con pulgones vivos.

	b	b	b	a
Tratamientos	Cepa 3	Cepa 1	Cepa 4	Control
\bar{Y}	2.8	4.4	7.7	28.5

En la tabla, después de hacer la prueba de Duncan, se comprobó que el Control es diferente de que las cepas 1, 3 y 4.

No hay diferencias significativas entre las tres cepas, las diferencias son mínimas.

**Figura 20** Número de pulgones muertos en el día 7, después de aplicar los tratamientos: cepa 3, cepa 1, cepa 4 y el control.

En la figura 20, se puede visualizar que la cepa 3 continúa siendo efectiva en relación con las demás cepas y el control, provocando más muertes con un total de 192. Con el valor del ANOVA tomando en cuenta el valor crítico de F se, confirmó la diferencia estadística significativa.

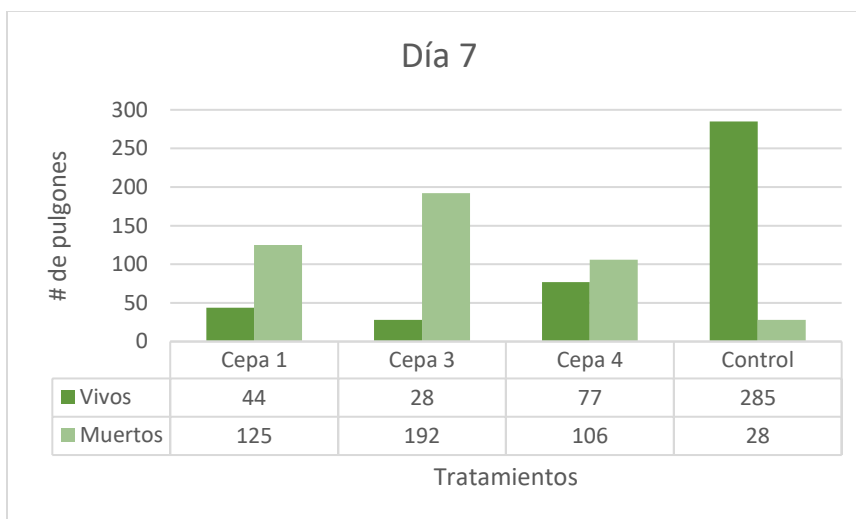
Tabla 7 Obtención del valor de Duncan del día 7 con pulgones muertos

Prueba de Duncan			
Valor	2	3	4
D	2.89	3.03	3.13
SY	1.387611	1.387611	1.387611
Duncan	4.010194	4.20446	4.343221

Tabla 8 Resultados de la prueba de Duncan del día 7 con pulgones vivos.

	c	b	b	a
Tratamientos	Control	Cepa 4	Cepa 1	Cepa 3
\bar{y}	2.8	10.6	12.5	19.2

Con las tablas 7 y 8 se confirmó que la cepa 3 fue más efectiva, pues tiene diferencia estadística con la cepa 1, 4 y el control. Entre la cepa 1 y 4 no hay diferencias estadísticas, pero ambas tienen diferencia estadística con el control. Lo que quiere decir que igualmente actuaron, pero con menos eficacia.

**Figura 21** Número total de pulgones vivos y muertos en el día 7

En la figura 21 se observa que la cepa 3 mantuvo su eficacia a largo del estudio. Pues los valores de pulgones vivos y muertos son favorables para controlar esta plaga.

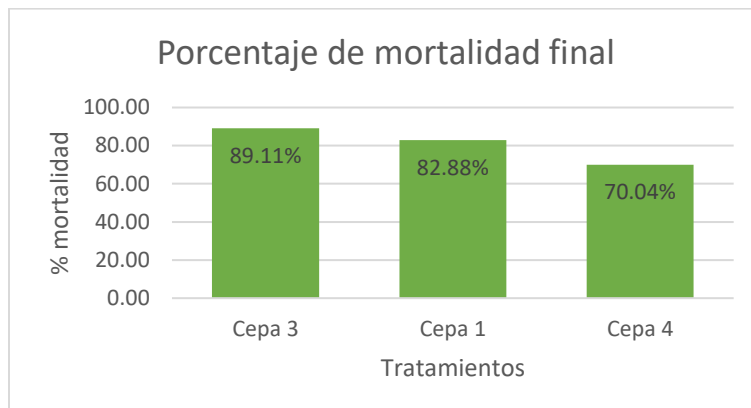


Figura 22 Porcentaje de mortalidad final de los tratamientos: cepa 3, cepa 1 y cepa 4.

En condiciones normales del experimento la población inicial de 100 se multiplicó a 285 vivos en el control por lo que se esperaría que sin la aplicación del hongo en todas las cajas se debería encontrar esa población promedio. Se asume entonces que los 285 pulgones menos los 28 muertos, es decir 257 son el promedio corregido o el 100 % de pulgones vivos, considerando este porcentaje se calcula el porcentaje de vivos por tratamiento que corresponde para las cepas 3, 1 y 4 a 10,89%, 17,12% y 29,96% respectivamente, por lo tanto, la mortalidad en porcentaje y en el mismo orden será 89,10%, 82,87 y 70,03% respectivamente (ver figura 22). Así la variable mortalidad fue calculada y se pudo ver qué tan efectiva ha sido cada una de las cepas. Al final de este estudio la cepa 3 fue efectiva con un 89.11% de mortalidad, le sigue cepa 1 con 82.88%, después la cepa 4 con 70.03%.

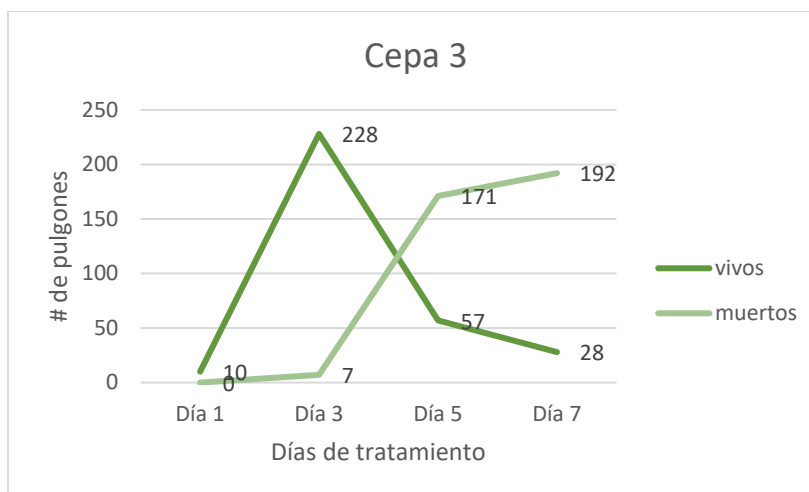


Figura 23 Comportamiento de la cepa 3 durante los 7 días de estudio

En la figura 23 se puede visualizar el comportamiento de la cepa 3 durante los 7 días del estudio. Para el día 3 los pulgones tuvieron su pico de reproducción y conforme fue actuando el hongo, la población de este pulgón comenzó a disminuir. Para el día 7, solo quedaron 22 vivos.

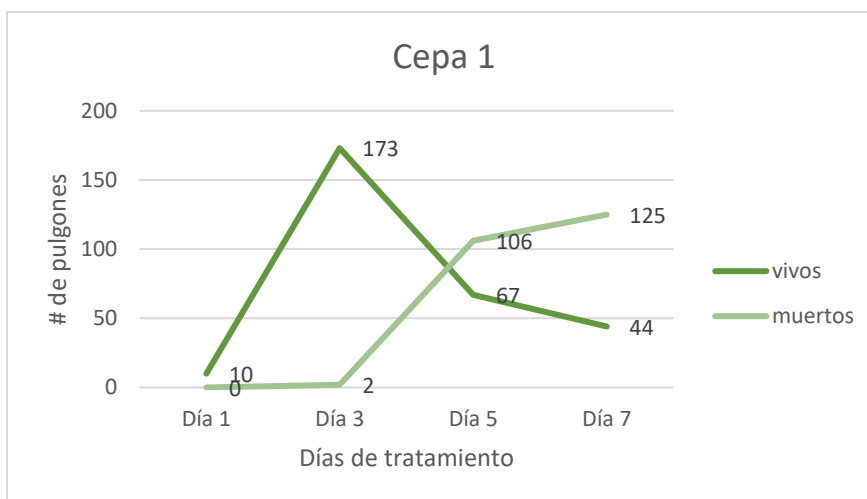


Figura 24 Comportamiento de la cepa 1 durante los 7 días de estudio

La cepa 1 tuvo un comportamiento similar, que la cepa 3. Para el último día del estudio quedaron 44 pulgones vivos.

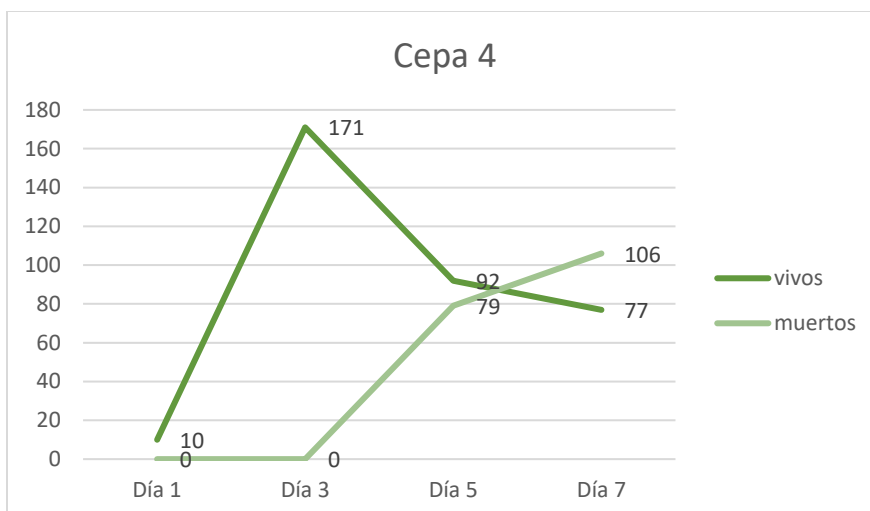


Figura 25 Comportamiento de la cepa 4 durante los 7 días de estudio

Se puede observar en la figura 25 que la cepa 4 fue la menos efectiva, al final del estudio la población de pulgones vivos era bastante alta con 77 pulgones vivos.

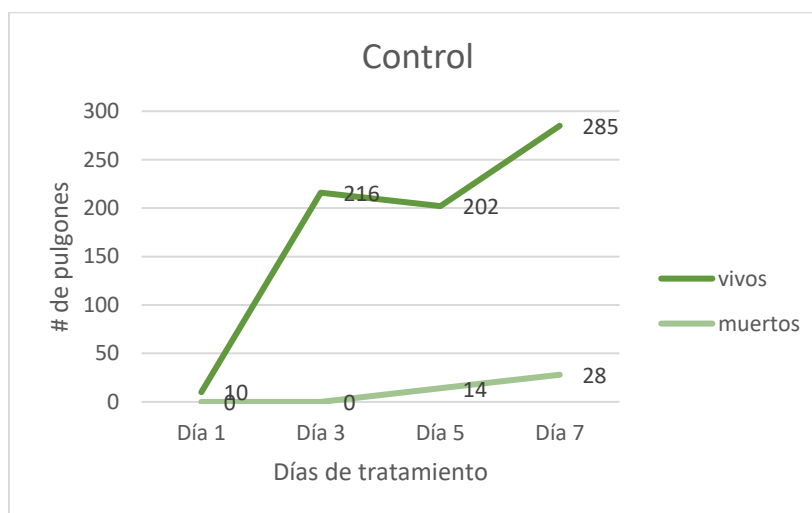


Figura 26 Comportamiento del control durante los 7 días de estudio

El control tuvo el resultado esperado, pues los insectos nunca tuvieron contacto con los tratamientos de *Beauveria bassiana*. En el control el pulgón *Neotoxoptera formosana*, pudo reproducirse libremente.



Figura 27 Pulgones infectados por el hongo a los 7 días de tratamiento

5 DISCUSIÓN

Una de las observaciones más interesantes que genera un tema a discutir, es el color que se puede observar en las diferentes cajas Petri con *Beauveria bassiana*, pues en la parte posterior es posible observar una coloración amarillenta, en el estudio de Patocka (2016), se estudiaron los pigmentos que produce este hongo y se encontró que se debe a dos alcaloides, el primero llamado telenina y el segundo basianina. Tanto los pigmentos como los metabolitos activos, han mostrado tener características insecticidas, lo cual permitirá asociar el pigmento amarillo que se observa en la figura 5, con estos alcaloides (son otros metabolitos), y de esa manera se puede decir que en parte son responsables de la muerte de los insectos.

Las cepas 3 y 1, tuvieron mayor efectividad, y si se observan las imágenes de las cajas con *B. bassiana*, la intensidad del pigmento es mayor en la cepa 3 y 1, ambas tuvieron un mejor efecto al momento de controlar los pulgones. En el caso de la cepa 4 se puede ver que no controló de la mejor manera al pulgón, y si se ve el color de la caja petri, la misma no desarrollo mucho pigmento y tampoco controló con la misma (Liu y otros, 2015).

Un correcto desarrollo tamaño específico del tubo germinal y el crecimiento de las hifas es crucial en las primeras horas desde la siembra del hongo en la caja Petri, se ha visto que, a las

23 horas, después de la siembra, hay un crecimiento exponencial de las hifas y el tubo germinal. Es por eso por lo que a las 28 horas se dificulta identificar las hifas. Para la identificación de las cepas de *Beauveria bassiana* aislada previamente, se pudo ver que el desarrollo de hifas, tubo germinal, y posteriormente la germinación de las esporas, dificulta al momento de la realizar las placas para identificación. Las cepas en estudio tuvieron una buena esporulación, lo cual era importante para el producto final (Ortiz y Keyhani, 2016) (Poma y López, 2017) (Rodríguez, y otros, 2017).

Se ha visto que si el filtrado de las cepas posee esporas y metabolitos, este será más efectivo para controlar a los áfidos, la presencia de metabolitos permite que el filtrado actúe en menos tiempo pues las propiedades insecticidas se vuelven más agresivas, en cambio si el filtrado solo lleva esporas (Dresnes, 1950), el tiempo de acción es más corto (Kim, Jeong, y Lee, 2013). Al ver que la cepa 3 funcionó de mejor manera, permitiría asociar con que las esporas más los metabolitos hicieron su trabajo, lo mismo con la cepa 1. Ahora es importante hacer un análisis químico molecular que permita determinar con exactitud qué tipo de metabolitos están actuando en cada 1 de las cepas. Se ha podido analizar en varios estudios algunos de los metabolitos que actúan, como la bassianina, alcaloides como la tenelina, y metabolitos secundarios como destruxinas y citocalasinas por su poder insecticida (Fan, y otros, 2017), (Sayed y Farouk, 2019) . (Annamalai, Kaushik, y Selveraj, 2013)

En el siguiente estudio (Akmal, Malik, y Gul, 2013) se vio la eficacia de *B. bassiana*, la misma que tuvo efectos con las siguientes concentraciones: 1×10^6 , 1×10^7 , y 1×10^8 (Aldou, Abdel-Hakim, y Metwally, 2017) (Behie, Zelisko, y Bidochka, 2012). Para esta investigación se utilizó la concentración de 1×10^7 , y se vieron resultados bastante favorables y esperados, si se considera el estudio de Aldou (2017), para el día 3 murió el 50% de la población de *Brevicoryne*

brassicae (un áfido muy común de la familia Brassicaceae), lo más llamativo de ese estudio es que para el día 7 la mortalidad fue del 100%, mientras que en el presente estudio se alcanzó el 89,10% de mortalidad en el mejor tratamiento. Es importante tomar en cuenta que el áfido tratado es distinto y afecta a otra especie de planta, de todas maneras, el daño que provoca es similar, y para tener mejores cultivos, siempre será importante llegar a un control máximo de la plaga. Pues en el caso de los pulgones, basta que haya un hembra adulta para que multiplique rápidamente la población de estos. Y esto se trata de hacer con cualquier plaga, en el estudio de Guevara, se quiere controlar la gualpa (plaga palma africana), con *B. bassiana*, y se llegó a obtener porcentajes de mortalidad sobre el 80% (Guevara, , 2018). En el estudio de Jandricic no hubieron resultados esperados, pues se obtuvieron porcentajes de mortalidad menores al 31% con una concentración >1000 conidias/mm² (Jandricic y otros, 2014). Aquí se explica que una de las razones por las que no se tuvieron los resultados esperados se puede deber a la rápida reproducción de los mismo, por otra parte, el insecto en su parte externa también debe defenderse y las características de su cutícula le permiten defenderse de cualquier ataque (Holder y Keyhani, 2005; Ortiz y Keyhani, 2013). Las esporas de *B. bassiana* son hidrofóbicas por eso es necesario colocar un fijador que permita a las esporas adherirse a la cutícula del insecto y poder hacer daño (Boucias y Pendland, 1991) (Ortiz y otros, 2013). Si este sistema no funciona correctamente, puede haber problemas del control de la plaga.

Aphis gossypii (plaga del melón y otros cultivos) ha sido tratado con *B. bassiana* (Rashki y Shirvani, 2013), aquí se evaluaron distintas concentraciones, la más efectiva fue de 1×10^7 , se vio que existe una relación indirecta que mientras más se aumenta la concentración de conidias el efecto disminuye, o se mantiene igual a la concentración que produjo más daño. La

concentración utilizada en este estudio fue la misma, y se obtuvieron resultados buenos, a pesar de que no se llegó a eliminar la plaga en un 100%.

6 CONCLUSIONES

- La hipótesis puede ser aprobada porque las cepas sirven para controlar el pulgón, claro que una funcionó mejor que otra.
- La cepa 3 tuvo un mayor porcentaje de mortalidad a los 7 días del tratamiento con un 89.10% con relación a las demás cepas, esto se puede asociar a la producción de diversos metabolitos, como la bassianina, alcaloides como la tenelina, y metabolitos secundarios como destruxinas y citocalasinas, mencionadas anteriormente por su poder insecticida.
- Al ser un hongo entomopatógeno que infecta al insecto por contacto, el hongo sigue trabajando contra los insectos que están vivos y fueron afectados por los pulgones infectados. Esto demuestra que es un método eficaz de control, pues basta que unos pulgones se infecten para que sigan infectando al resto de la población.

7 RECOMENDACIONES

- Realizar un ensayo con distintas concentraciones para observar cómo se comporta el hongo con los pulgones. De tal forma que se pueda determinar la dosis letal 50 y el tiempo letal 50 con relación a la concentración aplicada.
- Se recomienda hacer un ensayo en laboratorio, para reactivar las cepas, donde se siembren los pulgones infectados, y como resultado se esperaría tener mejores porcentajes de mortalidad.

- Realizar un análisis químico que permita determinar cuáles son los metabolitos activos de las 3 cepas de *Beauveria bassiana*, de esa manera poder determinar de manera más precisa su comportamiento de acuerdo con su producción de metabolitos.
- Mediante estudios moleculares determinar el nivel de diferencias entre cepas.

8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akmal, M., Malik, N., y Gul, H. (2013). Efficacy of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hypomycetes) Against Different Aphid Species Under Laboratory Conditions. *Pakistan Journal Zoology*, 45(1), 71-78. Recuperado el 10 de Diciembre de 2019
- Aldou, W., Abdel-Hakim, E., y Metwally, H. (10 de Julio-Septiembre de 2017). Influence of Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* on the Mortality, Reproduction and Enzyme Activity of the Aphid Adults *Aphis craccivora* (Koch). *Middle East Journal of Applied Sciencies*, 07(3), 567-573. Recuperado el 12 de Diciembre de 2019
- Annamalai, M., Kaushik, H., y Selveraj, K. (2013). Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Lecanicillium lecanii* Zimmerman against Onion Thrips, Thrips tabaci Lindeman. *Biopestic. Int*, 9(2), 148-156. Recuperado el 10 de Diciembre de 2019
- Antía, O., Posada, F., Bustillo, A., y Gonzáles, M. T. (Octubre de 1992). Producción en finca del hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café . *Cenicafe Avances Técnicos*, 182. Recuperado el 13 de Octubre de 2019, de <https://www.researchgate.net/publication/233957052>
- Augustyn, A., Bauer, P., Duignan, B., Eldridge, A., Gregersen, E., McKenna, A., . . . and Zelazko, A. (26 de Agosto de 2016). Encyclopaedia Britannica. *Aphids*. Chicago, Illinois, Estados Unidos: Encyclopædia Britannica, inc. Recuperado el 12 de Noviembre de 2019, de <https://www.britannica.com/animal/aphid>
- Baverstock, J., Roy, H., Clark, S., Anderson, P., y Pell, J. (2009). Effect of fungal infection on the reproductive potential of aphids and their progeny. *Journal of Invertebrate Pathology*, 91, 136-139. Recuperado el 9 de Noviembre de 2019, de www.elsevier.com/locate/yjipa

- Behie, S., Zelisko, P., y Bidochka, M. (22 de Junio de 2012). Endophytic Insect-Parasitic Fungi Translocate Nitrogen Directly from Insects to Plants. *Science*, 338, 1576.
doi:10.1126/science.1222289
- Boucias, D., y Pendland, J. (1991). Attachment of Mycopathogens to Cuticle. The Initial Event of Mycoses in Arthropod Hosts. En *The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals*. New York: Springer Science+Business Media New York. Recuperado el Diciembre 13 de 2019
- Caballero, W. (2014). "Producción y aplicación del hongo *Beauveria bassiana* en el laboratorio de control biológico del ITZM". Instituto Tecnológico de la Zona Maya, México.
Recuperado el 12 de Noviembre de 2019
- CABI. (20 de Noviembre de 2019). Iris yellow spot virus. *Invasive Species Compendium*.
Recuperado el 12 de Diciembre de 2019
- Castillo, C., Cañizales, L., Valera, R., Godoy, J. C., Guedez, C., Olivar, R., y Morillo, S. (Julio Septiembre de 2012). Caracterización morfológica de *Beauveria bassiana*, aislada de diferentes insectos en trujillo- venezuela. *Revista Académica*, XI(23). Recuperado el Diciembre de 2019
- Chaudhary, H., Singh, D., y Singh, R. (Diciembre de 2009). Diversity of aphids (Homoptera : Aphididae) on the field crops in terai of eastern uttar pradesh. *Journal of Aphidology*, 23, 69-76. Recuperado el 15 de Diciembre de 2019, de
https://www.researchgate.net/publication/270273961_Diversity_of_aphids_Homoptera_Aphididae_on_the_field_crops_in_terai_of_eastern_Uttar_Pradesh?enrichId=rgreq-9a3508fa14622d3356fce7b3cc73d032-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzI3MDI3Mzk2MTtBUzoxODA0OTc5MTc0Mj

- Chiriboga, H., Gómez, G., y Karla, G. (2015). *Protocolos para formulación y aplicación del bio-insumo: Beauveria bassiana, hongo entomopatógeno para el control biológico de hormigas cortadoras (ysaú)*. Asunción, Paraguay: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). Recuperado el 5 de Octubre de 2019, de IICA website: <http://www.iica.int>
- Comerio, R., Andorno, A., y Botto, E. (2008). L.), Aislamiento de *Conidiobolus coronatus* a partir de una plaga de áfidos del cebollín (*Allium schoenoprasum*). *Revista Iberoamericana de Micología*, 25, 193-195. Recuperado el 11 de Noviembre de 2019
- Costa, M., Bezerra, C., Souza, B., Soares, C., y Silva, M. (2012). Development and reproduction of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) fed with *Neotoxoptera formosana* (Hemiptera: Aphididae). *Revista Colombiana de Entomología*, 32(2), 187-190. Recuperado el 12 de Noviembre de 2019
- Curillo, S. (2015). *Análisis de residuos de plaguicidas químicos en alimentos de consumo humano con la metodología de laboratorio ELISA*. Universidad San Francisco de Quito, Colegio de Ciencias e Ingenierías, Quito. Recuperado el 12 de Diciembre de 2019
- Dresnes, E. (Diciembre de 1950). The toxic effect of *Beauveria bassiana* (bals.) Vuill, on insects. *Journal of the New York Entomological Society*, 58(4), 269-278. Recuperado el 22 de Diciembre de 2019, de Stable URL: <https://www.jstor.org/stable/25005383>
- Dughetti, A. (2012). *Pulgones clave para identificar formas ápteras que atacan a los cereales*. Buenos Aires: INTA. Recuperado el 15 de Diciembre de 2019, de http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Zoologia_Agricola/Manejo_Integrado/Material_Interes/Pulgones_clave_para_identificar_las_formas_apteras_que_atacan_cereales_by_dughetti_arturo_inta.pdf

- EPPO. (2005). *Mini data sheet on Neotoxoptera formosana*. EPPO.
- Fan, Y., Liu, X., Keyhani, N. O., Tang, G., Pei, Y., Zhang, W., y Tong, S. (28 de Febrero de 2017). Regulatory cascade and biological activity of *Beauveria bassiana* oosporein that limits bacterial growth after host death. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(9), E1578-E1586. Recuperado el 6 de Noviembre de 2019, de <https://www.jstor.org/stable/10.2307/26479509>
- Fericean, L., y Corneanu, M. (2017). External Anatomy and Life Cycle of *Aphis nasturtii* (Hemiptera: Aphididae). *Pakistan Journal Zoology*, 49(6), 2141-2145.
doi:<http://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/2017.49.6.2141.2145>
- Filho, P., Dusi, A., Costa, C., y Resende, R. (Octubre- Diciembre de 2005). Colonization of garlic plants by *Neotoxoptera formosana* in Distrito Federal, Brazil. *Horticultura Brasileira*, 23(4), 929-930. Recuperado el 10 de Diciembre de 2019, de <https://www.researchgate.net/publication/262554094>
- Flint, M. L. (1998). *Aphids, Integrated Pest Management for Home Gardeners and Landscape Professionals*. University of California, Integrated Pest Management Program, Davis. Recuperado el 12 de Noviembre de 2019, de www.ipm.ucdavis.edu.
- García, M. A., Capello, S., Leshner, J. M., y Molina, R. (Mayo-Agosto de 2011). Aislamiento y caracterización morfológica de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. *Horizonte sanitario*, 10(2), 21-28. Recuperado el 12 de Noviembre de 2019, de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=457845138002>
- Gergerich, R., y Dolja, V. (2006). Introducción a los Virus Vegetales, el Enemigo Invisible. *The Plant Health Instructor*. doi:10.1094/PHI-I-2008-0122-01

- Gerónimo, J., Torres de la Cruz, M., Perez de la Cruz, M., De la Cruz, A., Ortiz, C., y Cappello, S. (2016). Caracterización de aislamientos nativos de *Beauveria bassiana* y su patogenicidad hacia *Hypothenemus hampei*, en Tabasco, México. *Revista Colombiana de Entomología*, 42(1), 28-35. Recuperado el 5 de Febrero de 2020
- Gómez, H., Zapata, A., Torres, E., y Tenorio, M. (2014). *Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos*. Scb-senasa, Laboratorio de entomopatógenos. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Recuperado el Enero de 2020
- González, N., Cuenca, M., Gutiérrez, F., y Quesada, E. (25 de Febrero de 2019). Bottom-up effects of endophytic *Beauveria bassiana* on multitrophic interactions between the cotton aphid, *Aphis gossypii*, and its natural enemies in melon. *Journal of Pest Science*. doi:<https://doi.org/10.1007/s10340-019-01098-5>
- González, N., Sánchez, A., y Valverde, P. (2019). Effects of Endophytic Entomopathogenic *Ascomycetes* on the Life-History Traits of *Aphis gossypii* Glover and Its Interactions with Melon Plants. *Insects*, 10(6), 165. doi:10.3390/insects10060165
- Guerri, B., Lopez, R., Asensio, L., Barranco, P., y Lopez, L. (Diciembre de 2011). Use of a solid formulation of *Beauveria bassiana* for biocontrol of the redpalm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus*) (Coleoptera: Dryophthoridae) under field conditions in se Spain. *The Florida Entomologist*, 94(4), 737-747. Recuperado el 2 de Diciembre de 2019, de <https://www.jstor.org/stable/23065823>
- Guerrieria, E., y Digilio, M. C. (Diciembre de 2008). Aphid-plant interactions: a review. *Journal of Plant Interactions*, 3, 223-232. doi:10.1080/17429140802567173

- Guevara, D. (2018). *Determinación de la patogenicidad de Beauveria bassiana sobre la Gualpa (Rhynchosporus palmarum L.), en condiciones de laboratorio*. Quevedo: Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Recuperado el 1 de febrero de 2020
- Holder, D. J., y Keyhani, N. O. (Septiembre de 2005). Adhesion of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria (Cordyceps) bassiana* to Substrata. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9), 5260-5266. doi:10.1128/AEM.71.9.5260–5266.2005
- Holder, D., Kirkland, B., Lewis, M., y Keyhani, N. (2007). Surface characteristics of the entomopathogenic fungus *Beauveria (Cordyceps) bassiana*. *Microbiology*, 153, 3448–3457. doi:10.1099/mic.0.2007/008524-0
- Hori, M. (2007). Onion aphid (*Neotoxoptera formosana*) attractants, in the headspace of *Allium fistulosum* and *A. tuberosum* leaves. *Journal of Applied Entomology*, 131(1), 8-12. doi:10.1111/j.1439-0418.2006.01130.x
- Hori, M., y Komatsu, H. (Mayo de 1997). Repellency of Rosemary Oil and its Components against the Onion Aphid, *Neotoxoptera foromosana* (TAKAHASHI) (Homoptera, Aphididae). *Applied Entomology and Zoology*, 32(2), 303-310. Recuperado el 6 de Octubre de 2019
- INEC. (2016). *Información Ambiental en la Agricultura 2016*. Ecuador: Instituto nacional de estadísticas y censos. Recuperado el 10 de Octubre de 2019, de www.ecuadorencifras.gob.ec
- Jackson, G. (2017). *Pacific Pests and Pathogens - Fact Sheets*. University of Queensland. Queensland: Australian Centre for International Agricultural Research. Recuperado el 5 de Enero de 2020

- Jandricic, S., Filotas, M., Sanderson, J., y Wraight, S. (2014). Pathogenicity of conidia-based preparations of entomopathogenic fungi against the greenhouse pest aphids *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, and *Aulacorthum solani* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 118, 34-46. Recuperado el 15 de Diciembre de 2019, de <http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2014.02.003>
- Jensen, R., Enkegaard, A., y Steenberg, T. (7 de Octubre de 2019). *Increased fecundity of Aphis fabae on Vicia faba plants following seed or leaf inoculation with the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana*. Aarhus University, Department of Agroecology. Flakkebjerg: PLOS ONE. doi:10.1371/journal.pone.0223616
- Juárez, M. (2011). *Hongos Entomopatógenos y Tamarixia trizoe (Burks) (Hymenoptera: Eulophilae) para el control del psílido de la papa*. Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de parasitología agrícola, Chapingo. Recuperado el 10 de Enero de 2020
- Kim, J., Jeong, G., y Lee, S. (Diciembre de 2013). Biological Control of Aphid Using Fungal Culture and Culture Filtrates of *Beauveria bassiana*. *Mycobiology*, 41(4), 221-224. doi:<http://dx.doi.org/10.5941/MYCO.2013.41,4,221>
- Liu, H., Zhao, X., Guo, M., Liu, H., y Zheng, Z. (2015). Growth and metabolism of *Beauveria bassiana* spores and mycelia. *BMC Microbiology*, 15. doi:10.1186/s12866-015-0592-4
- MacLeod, A. (2007). *Csl pest risk analysis for Neotoxoptera formosana*. Sand hutton: Central Science Laborator. Recuperado el 15 de Noviembre de 2019
- Malpartida, J., Narrea, M., y Dale, W. (2013). Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (bals) vuill., sobre el gusano defoliador del maracuyá *Dione juno* (cramer) (lepidoptera: nymphalidae) en laboratorio. *Ecología Aplicada*, 12(2), 75-81. Recuperado el 12 de Diciembre de 2019

- Miñarro, M. (Enero de 2011). Los Enemigos naturales de los pulgones. *Tecnología Agroalimentaria*, pág. 7. Recuperado el 12 de Enero de 2019, de <https://www.researchgate.net/publication/263924509>
- Nzanza, B., y Mashela, P. (2012). Control of whiteflies and aphids in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) by fermented plant extracts of neem leaf and wild garlic. *African Journal of Biotechnology*, 11(94), 16077-16082. doi:10.5897/AJB12.775
- O'Farril, H. (Mayo de 2005). *Áfidos o Pulgones*. Universidad de Puerto Rico, Departamento de Protección de Cultivos. Mayagüez: UPR. Recuperado el 12 de Diciembre de 2019, de <http://academic.uprm.edu/ofarrill/HTMLobj-227/afidos.pdf>
- Ortiz, A., y Keyhani, N. (16 de Julio de 2013). Action on the Surface: Entomopathogenic Fungi versus the Insect Cuticle. *Insects*, 4, 57-374. doi:doi:10.3390/insects4030357
- Ortiz, A., y Keyhani, N. O. (2016). Molecular Genetics of *Beauveria bassiana* Infection of Insects. *Advances in Genetics*, 94. doi:http://dx.doi.org/10.1016/bs.adgen.2015.11.003
- Ortiz, A., Keyhani, N. O., y Quesada, E. (2013). Culture conditions affect virulence and production of insect toxic proteins in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*, 23(10), 1199-1212. doi:http://dx.doi.org/10.1080/09583157.2013.822474
- Patocka, J. (Junio de 2016). Bioactive metabolites of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*. *Military Medical Science Letters*, 85(2), 80-88. doi:10.31482/mmsl.2016.015
- Pérez, N. (Diciembre de 2011). Descubierta el pulgón de la cebolla, *Neotoxoptera formosana* (Takahashi) [Hemiptera: Aphididae], en cultivos de cebolla de las Islas Canarias (España). *Boletín de Sanidad Vegetal*, 37, 31-36. Recuperado el 10 de Octubre de 2019, de <https://www.researchgate.net/publication/259262933>

- Piron, P. G. (2010). Appearance of *Neotoxoptera formosana* (Homoptera: Aphididae) in The Netherlands. *Entomologische Berichten*, 70(1), 10-12. Recuperado el 12 de Diciembre de 2019, de https://www.researchgate.net/publication/254836553_Appearance_of_Neotoxoptera_formosana_Homoptera_Aphididae_in_The_Netherlands
- Poma, H., y López, B. (Mayo-Agosto de 2017). Esporulación de conidias de *Beauveria bassiana* en sustratos de arroz. *Revista de la Carrera de Ingeniería Agronómica - UMSA*, 3(2), 500-513. Recuperado el 12 de Diciembre de 2019
- Ponsen, M. (1991). Structure of the digestive system of aphids, in particular *Hyalopterus* and *Coloradoa*, and its bearing on the evolution of filterchambers in the Aphidoidea. *Wageningen Agricultural University Papers*, 91(5), 63. Recuperado el 12 de Diciembre de 2019
- Rashki, M., y Shirvani, A. (2013). The effect of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on life table parameters and behavioural response of *Aphis gossypii*. *Bulletin of Insectology*, 66(1), 85-91. Recuperado el 15 de Diciembre de 2019
- Reyes, H. (2009). *Identificación y evaluación de hongos entomopatógenos en insectos plaga de tomate y pimiento en las provincias de guayas, santa elena y manabí*. Universidad de guayaquil, Facultad De Ciencias Agrarias, Guayaquil. Recuperado el 10 de Enero de 2020
- Rodríguez, L., Gandarilla, F., Maldonado, M., Quintero, I., Morales, L., y Alfaro, J. (2017). Evaluación de sustratos naturales para la producción de conidios de *beauveria bassiana* (bals.) Vuill. (hypocreales: cordycipitaceae) en cultivo bifásico. *Interciencia*, 42(11), 739-743. Recuperado el 12 de Diciembre de 2019

- Rorabaugh, J. (2028). *Neotoxoptera formosana* (R.Takahashi, 1921). California: iNaturalist.
Recuperado el 18 de Marzo de 2020, de <https://www.gbif.org/es/occurrence/1836642752>
- Ruiz, E., Rosado, A., Chan, W., Alejo, J., y Munguía, R. (2 de Junio de 2009). Patogenicidad de *beauveria bassiana* (bals.) Vuillemin sobre estados inmaduros de mosquita blanca (*Bemisia tabaci* genn.). *Fitosanidad*, 13(2), 89-93. Recuperado el 12 de Diciembre de 2019
- Sánchez O., J. (2017). *Introducción al diseño experimental*. Quito: Giro Creativo. Recuperado el Octubre de 2020
- Sayed, S., y Farouk, E. S. (2019). Efficacy of indigenous entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, isolates against the rose aphid, *Macrosiphum rosae* L. (Hemiptera: Aphididae) in rose production. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29, 19. Recuperado el 10 de Enero de 2020, de <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0123-y>
- Siddiqui, J., Zou, X., Liu, Q., Zhang, H., Lin, X., y Huang, X. (2019). Functional Morphology and Defensive Behavior in a Social Aphid. *Insects*, 10, 163. doi:10.3390/insects10060163
- Stern, D. L. (24 de Junio de 2008). Aphids. *Current Biology*, 18(12), R504-5. doi:10.1016/j.cub.2008.03.034
- Vasicek, A., La Rossa, F., y Moreno, A. (2000). Parámetros poblacionales de dos especies de *Neotoxoptera theobald* (Homoptera: Aphidoidea) sobre ajo (*Allium sativum* l.) En condiciones de laboratorio. *Revista Chilena de Entomología*, 27, 11-17. Recuperado el 17 de Diciembre de 2019
- Vasicek, A., La Rossa, F., Paglioni, A., Lanati, S., y López, M. (2007). Funcionalidad Biológica y poblacional de *Neotoxoptera formosana* (Takahashi) (Hemiptera: Aphididae) sobre

- siete cultivares de ajo (*Allium sativum* L.) en condiciones de laboratorio. *Boletín de Sanidad Vegetal*, 325-331. Recuperado el 12 de Noviembre de 2019
- Vasicek, A., Rossa, F., Mendy, P., y Paglioni, A. (2005). Evaluación de los Parámetros Biológicos y Poblacionales de *Neotoxoptera formosana* (Takahashi) (Hemiptera: Aphidoidea) sobre tres Alliaceae hortícolas en condiciones de laboratorio. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 31, 225-230. Recuperado el 17 de Diciembre de 2019, de <https://www.researchgate.net/publication/228739042>
- Villacide, J., y Masciocchi, M. (2014). *Serie de divulgación sobre insectos de importancia ecológica, económica y sanitaria*. INTA. Bariloche: Grupo de Ecología de Poblaciones de Insectos - INTA EEA Bariloche. Recuperado el 15 de Noviembre de 2019, de https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta-boletin_pulgones.pdf
- Wieczorek, K., Fulcher, T., y Chtond, D. (2019). *The composition of the aphid fauna (Insecta, Hemiptera) of the Royal Botanic Gardens, Kew*. University of Silesia, Department of Zoology. Katowice: Scientific Reports. doi:<https://doi.org/10.1038/s41598-019-46441-z>
- Wu, S., Gao, Y., Xu, X., Zhang, Y., Wang, J., Lei, Z., y Smagghe, G. (2013). Laboratory and greenhouse evaluation of a new entomopathogenic strain of *Beauveria bassiana* for control of the *Beauveria bassiana* for control of the onion thrips *Thrips tabaci*. *Biocontrol Science and Technology*, 23(7), 94-802. Recuperado el 10 de Diciembre de 2019, de <http://dx.doi.org/10.1080/09583157.2013.794896>

9 ANEXOS

9.1 ANEXO A: AISLAMIENTO INICIAL



Figura 28 Aislamiento inicial de *Beauveria bassiana* en el 2018 de la Granja experimental de la USFQ

9.2 ANEXO B: DATOS DÍA 3

Tabla 9 Toma de datos del día 3, de pulgones vivos y muertos

Día 3									
#	Vivos				#	Muertos			
	Cepa 1	Cepa 3	Cepa 4	Control		Cepa 1	Cepa 3	Cepa 4	Control
1	19	21	11	32	1	0	0	0	0
2	21	29	12	38	2	0	0	0	0
3	13	25	30	48	3	0	2	0	0
4	10	26	10	16	4	1	1	0	0
5	13	18	23	18	5	0	2	0	0
6	26	21	11	14	6	0	1	0	0
7	20	25	14	11	7	0	0	0	0
8	12	21	10	17	8	0	0	0	0
9	21	24	17	12	9	0	0	0	0
10	18	18	33	10	10	1	1	0	0

9.3 ANEXO C: DATOS DÍA 5

Tabla 10 Toma de datos del día 5, de pulgones vivos y muertos

Día 5										
	Vivos				control		Muertos			
	Cepa 1	Cepa 3	Cepa 4				Cepa 1	Cepa 3	Cepa 4	Control
1	7	5	5	30	1	12	16	6	2	
2	6	9	5	37	2	15	20	7	1	
3	3	8	20	45	3	10	17	10	3	
4	3	8	6	16	4	7	18	4	0	
5	5	5	15	15	5	8	13	8	3	
6	14	7	5	12	6	12	14	6	2	
7	10	5	6	10	7	10	20	8	1	
8	5	1	5	17	8	7	20	5	0	
9	9	6	9	10	9	12	18	8	2	
10	5	3	16	10	10	13	15	17	0	

9.4 ANEXO D: DATOS DÍA 7

Tabla 11 Toma de datos del día 7, de pulgones vivos y muertos

Día 7										
	Vivos				Control		Muertos			
	Cepa 1	Cepa 3	Cepa 4				Cepa 1	Cepa 3	Cepa 4	control
1	3	2	1	28	1	16	19	10	4	
2	4	6	3	62	2	17	23	9	3	
3	3	6	12	45	3	10	19	18	6	
4	1	5	5	16	4	9	21	5	1	
5	3	3	27	18	5	6	7	8	2	
6	8	0	4	10	6	18	21	7	2	
7	9	0	4	26	7	11	25	10	3	
8	3	0	7	35	8	9	21	3	3	
9	7	4	6	22	9	14	20	11	3	
10	3	2	8	23	10	15	16	25	1	

9.5 ANEXO E: NÚMERO DE PULGONES DÍA 5

Tabla 12 Número de pulgones vivos y muertos en el día 5

Día 5				
	Cepa 1	Cepa 3	Cepa 4	Control
Vivos	67	57	92	202
Muertos	106	171	79	14
Total	173	228	171	216

9.6 ANEXO F: NÚMERO DE PULGONES DÍA 7

Tabla 13 Número de pulgones vivos y muertos en el día 7

Día 7				
	Cepa 1	Cepa 3	Cepa 4	Control
Vivos	44	28	77	285
Muertos	125	192	106	28
Total	169	220	183	313

9.7 ANEXO G: REPETICIONES DÍA 5

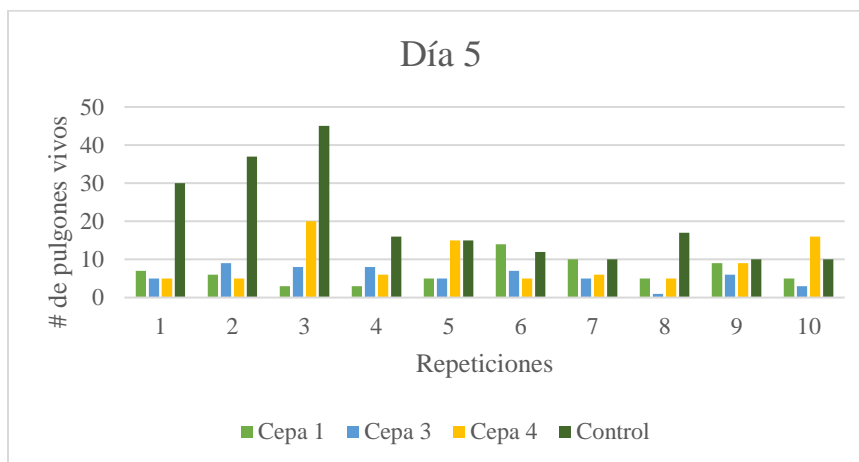


Figura 29 Número de pulgones vivos por tratamiento y por repeticiones

9.8 ANEXO H: REPETICIONES DÍA 5

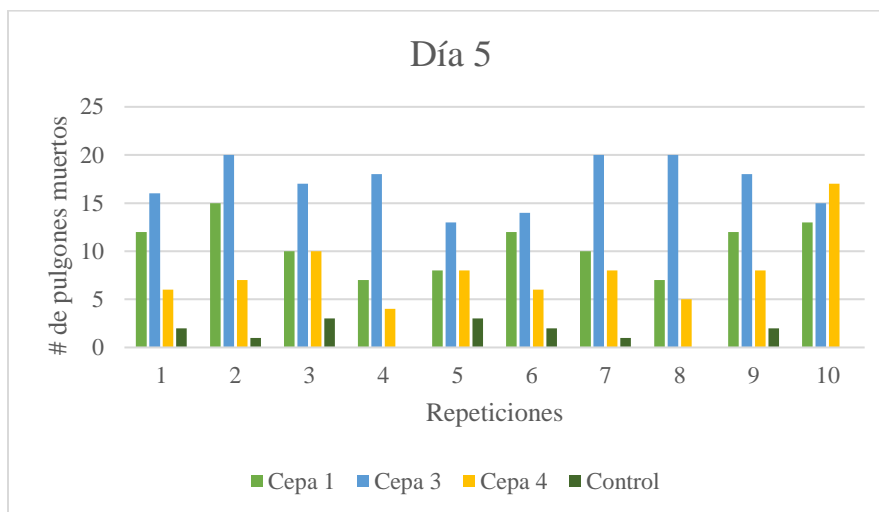


Figura 30 Número de pulgones muertos por tratamiento y por repeticiones.

9.9 ANEXO I: REPETICIONES DÍA 7

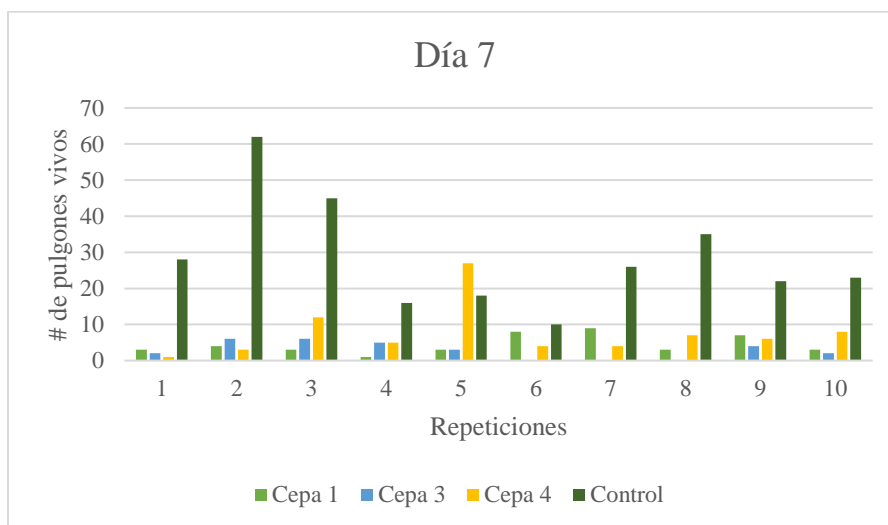


Figura 31 Número de pulgones vivos por tratamiento y por repeticiones.

9.10 ANEXO J: REPETICIONES DÍA 7

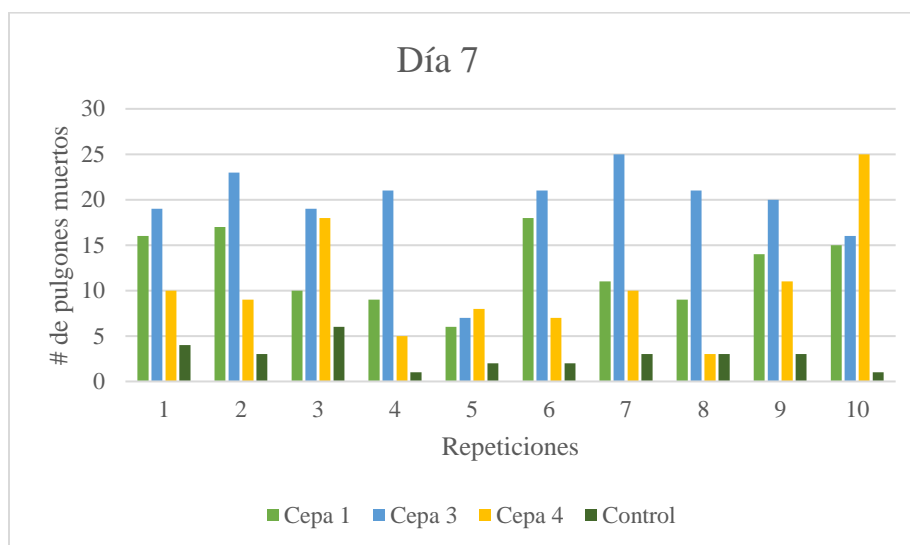


Figura 32 Número de pulgones muertos por tratamiento y por repeticiones.

9.11 ANEXO K: CALDO NUTRITIVO

Tabla 14 Elementos del Caldo Nutritivo para la siembra en arroz

Medio nutritivo	Preparación para 1 Litro
K_2HPO_4	1 g
KCl	0.5 g
$MgSO_4$	0.5 g
$FeSO_4$	0.01 g
Agar	17 g