

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



T E S I S

“EFECTO DE *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) y *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. sobre ácaros en el cultivo de rosa (*Rosa sp.*) BAJO INVERNADERO EN CAJAMARCA”

Para optar el título profesional de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Presentado por el bachiller:

JOSÉ WILSON JULCA NIMBOMA

Asesores:

Ing. Agr. ALONSO VELA AHUMADA

Ing. Agr. Mg. Sc. JHON ANTHONY VERGARA COPACONDORI

CAJAMARCA – PERÚ

2022



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
"NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA"
Fundada por Ley N° 14015, del 13 de febrero de 1962
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
Secretaría Académica



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Cajamarca, a los veinticinco días del mes de marzo del año dos mil veintidós, se reunieron en el ambiente 2C - 211 de la Facultad de Ciencias Agrarias, los miembros del Jurado, designados según **Resolución de Consejo de Facultad N° 172-2021-FCA-UNC, de fecha 16 de junio del 2021**, con la finalidad de evaluar la sustentación de la **TESIS** titulada: **"EFECTO DE *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) y *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. SOBRE ÁCAROS EN EL CULTIVO DE ROSA (*Rosa* sp.) BAJO INVERNADERO EN CAJAMARCA"**, realizada por el Bachiller **JOSÉ WILSON JULCA NIMBOMA** para optar el Título Profesional de **INGENIERO AGRÓNOMO**.

A las once horas y cinco minutos, de acuerdo a lo establecido en el **Reglamento Interno para la Obtención de Título Profesional de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca**, el Presidente del Jurado dio por iniciado el Acto de Sustentación, luego de concluida la exposición, los miembros del Jurado procedieron a la formulación de preguntas y posterior deliberación. Acto seguido, el Presidente del Jurado anunció la aprobación por unanimidad, con el calificativo de catorce (14); por tanto, el Bachiller queda expedito para proceder con los trámites que conlleven a la obtención del Título Profesional de **INGENIERO AGRÓNOMO**.

A las doce horas y cuarenta minutos del mismo día, el Presidente del Jurado dio por concluido el Acto de Sustentación,



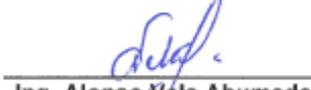
Dr. Manuel Salomón Roncal Ordoñez
PRESIDENTE



Ing. M. Cs. José Ramiro Díaz Cumpén
SECRETARIO



Ing. Oscar Rogelio Saenz Narro
VOCAL



Ing. Alonso Vela Ahumada
ASESOR



Ing. Agr. Mg. Sc. Jhon Anthony Vergara Copacandori
ASESOR

DEDICATORIA

A:

A: Mauricio Julca Nuñez y María Aurelia Nimboma, mis queridos padres, los que con desvelo y amor permitieron mi superación intelectual y normal.

A mi tío Humberto Chuquiruna Paico por su apoyo incondicional en todos los momentos de mi formación profesional.

**Muchas gracias por todo,
Con todo amor y cariño para ustedes.**

EL AUTOR

AGRADECIMIENTO

A:

A: Mi más profundo agradecimiento los ingenieros: Alonso vela ahumada, Jhon Anthony Vergara Copacandori, asesores de esta tesis, que, con capacidad cognoscitiva, responsabilidad y su consejo de amigo, han hecho posible culminar el presente trabajo de investigación. Por el asesoramiento y continuo apoyo para la realización de esta investigación.

A Dios por su gran amor y misericordia, porque nunca me desamparo aun en los momentos difíciles de mi vida por no permitir que a mis padres no les falta el pan de cada día y el trabajo el cual es nuestro sustento económico por el cual es posible mi formación profesional y la de mis hermanos.

EL AUTOR

ÍNDICE GENERAL

	Página
Dedicatoria	iii
Agradecimiento	iv
Índice General	v
Índice de Tablas	viii
Índice de Figuras	ix
Índice de Anexos	x
Resumen	xi
Abstract	xii
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Antecedentes de la investigación	3
2.2 Hongo entomopatógeno	4
2.2.1 Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos	4
a. Adhesión	5
b. Germinación	5
c. Penetración	6
d. Multiplicación	6
e. Producción de toxinas	6
f. Muerte del insecto	7
g. Colonización	7
h. Emergencia	7
2.2.2 <i>Lecanicillium</i> (= <i>Verticillium</i>) <i>lecanii</i> (Zimm.)	8
a. Taxonomía	8
b. Características morfológicas	8
c. Sintomatología	9
d. Mecanismo de acción	9
2.2.3 <i>Beauveria bassiana</i> (Bals) Vuillemin.	10
a. Taxonomía	10
b. Características morfológicas	10
c. Sintomatología	11
d. Mecanismo de acción	11

2.3	La rosa (<i>Rosa</i> sp.)	12
2.3.1	Clasificación taxonómica	12
2.3.2	Fenología	12
2.4	<i>Tetranychus</i> sp.	13
2.4.1	Taxonomía	13
2.4.2	Morfología	14
2.4.3	Biología	15
CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS		17
3.1	Ubicación geográfica del trabajo de investigación	17
3.2	Materiales	18
3.2.1	Material biológico	18
3.2.2	Material de campo	18
3.2.3	Material y equipo de laboratorio	18
3.3	Metodología	18
3.3.1	Trabajo de campo	18
a.	Evaluación de la densidad poblacional de <i>Tetranychus</i> sp.	18
3.3.2	Características del campo experimental	19
a.	Parcelas	19
a.	Bloques	19
a.	Área	19
3.3.3	Aplicación de entomopatógenos (<i>Beauveria bassiana</i> y <i>Lecanicillium lecanii</i>)	20
a.	Cálculo de dosis (<i>Beauveria bassiana</i> y <i>Lecanicillium lecanii</i>)	20
a.1	Dosis baja (2 bolsas): 5,12 g/640 ml	21
a.2	Dosis alta (4 bolsas): 10,24 g/640 ml	21
3.3.4	Trabajo de laboratorio	21
3.3.5	Trabajo de gabinete	21
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES		22
4.1	<i>Lecanicillium lecanii</i>	22
4.1.1	Tratamiento 1 (T ₁): 8 x 10 ¹⁰ conidias	22
4.1.2	Tratamiento 2 (T ₂): 16 x 10 ¹⁰ conidias	24
4.2	<i>Beauveria bassiana</i>	26
4.2.1	Tratamiento 3 (T ₃): 8 x 10 ¹⁰ conidias	26
4.2.2	Tratamiento 4 (T ₄): 16 x 10 ¹⁰ conidias	29
4.3	Comparación del efecto entre <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Lecanicillium lecanii</i>	31

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	36
5.1 Conclusiones	36
5.2 Recomendaciones	36
CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA	37
ANEXOS	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
1	Escala de grados para ácaros	19
2	Densidad poblacional de ácaros.	22
3	Densidad poblacional de ácaros.	25
4	Densidad poblacional de ácaros.	27
5	Densidad poblacional de ácaros.	29
6	Análisis de varianza (ANOVA) para el número de larvas muertas	34
7	Prueba de Tukey al 5 % de probabilidad, para los niveles del factor Hongo antagonista	34

ÍNDICE DE FIGURA

Figura		Página
1	Estructura de <i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.)	8
2	Según la investigación morfológica realizada por Castillo <i>et al.</i> 2011; se describe las Células de <i>B. bassiana</i> , mostrando la característica típica en raquis en forma de “zig –zag”	10
3	Representación de <i>B. bassiana</i> , según el IICA (2015) en su Manual de Protocolos para la Formulación y aplicación de Bio – Insumo.	11
4	Vista dorsal de estadio adulto de <i>Tetranychus sp.</i>	15
5	Ubicación referenciada del invernadero donde se desarrolló la presente investigación.	17
6	Diseño de campo experimental y distribución de los tratamientos	20
7	Número de ácaros enfermos y muertos, al tercer día de aplicación de <i>Lecanicillium lecanii</i>	23
8	Número de ácaros enfermos y muertos, al quinto día de aplicación de <i>Lecanicillium lecanii</i>	24
9	Número de ácaros enfermos y muertos, al tercer día de aplicación de <i>Lecanicillium lecanii</i>	25
10	Número de ácaros enfermos y muertos, al quinto día de aplicación de <i>Lecanicillium lecanii</i>	26
11	Número de ácaros enfermos y muertos, al tercer día de aplicación de <i>Beauveria bassiana</i>	27
12	Número de ácaros enfermos y muertos, al quinto día de aplicación de <i>Beauveria bassiana</i>	28
13	Número de ácaros enfermos y muertos, al tercer día de aplicación de <i>Beauveria bassiana</i>	30

ÍNDICE DE ANEXOS

Fotografía		Página
1	Muestra de <i>Tetranychus</i> sp	40
2	Preparación de los entomopatógenos con los protocolos de seguridad	40
3	Colecta de las muestras para análisis en el laboratorio	41
4	Identificación de las muestras en el laboratorio de entomología	42

RESUMEN

En el distrito de Cajamarca, se realizó una investigación con el objetivo de determinar el efecto de *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii* sobre ácaros en el cultivo de rosa. Se evaluaron cuatro tratamientos, dos empleando *Lecanicillium lecanii* ($T_1 = 8 \times 10^{10}$ conidias/litro y $T_2 = 16 \times 10^{10}$ conidias/litro) y dos empleando *Beauveria bassiana* ($T_3 = 8 \times 10^{10}$ conidias/litro y $T_4 = 16 \times 10^{10}$ conidias/litro), se evaluaron cinco plantas por tratamiento antes y después de cada aplicación, con la finalidad de determinar la presencia de estadios de los ácaros enfermos. *Lecanicillium lecanii* ($T_2 = 16 \times 10^{10}$ conidias/litro) fue el que ocasionó la mayor mortalidad (58 %) sobre los ácaros, luego de cinco días de su aplicación, superando a *Beauveria bassiana* (32%). Así mismo, *Beauveria bassiana* ($T_4 = 16 \times 10^{10}$ conidias/litro) fue el que ocasionó la menor mortalidad (26 %), luego de cinco días de su aplicación, que supero *Lecanicillium lecanii*.

Palabras clave: Entomopatógeno, *Lecanicillium lecanii*, *Beauveria bassiana*, ácaro.

ABSTRACT

In the district of Cajamarca, an investigation was carried out with the objective of determining the effect of *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium lecanii* on mite larvae. in the cultivation of rose. Four treatments were evaluated, two using *Lecanicillium lecanii* (T1 = 8 x 10¹⁰ conidia / liter and T2 = 16 x 10¹⁰ conidia / liter) and two using *Beauveria bassiana* (T3 = 8 x 10¹⁰ conidia / liter and T4 = 16 x 10¹⁰ conidia / liter), five plants were evaluated by treatment before and after each application, in order to determine the presence of mite stages. sick. *Lecanicillium lecanii* (T2 = 16 x 10¹⁰ conidia / liter) was the one that caused the highest mortality (58%) on mites, after five days of its application, surpassing *Beauveria bassiana* (32%). Likewise, *Beauveria bassiana* (T4 = 16 x 10¹⁰ conidia / liter) was the one that caused the lowest mortality (26%), after five days of its application, which exceeded *Lecanicillium lecanii*.

Key words: Entomopathogen, *Lecanicillium lecanii*, *Beauveria bassiana*, mite.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En el Perú a través del último censo de floricultores que realizó el Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI) en el año 1998, quedó establecido que había 445 hectáreas dedicadas a la producción de flores, conducidas por 3,180 diferentes productores. Sin embargo, explicó que hay en el Perú 300 hectáreas sembradas exclusivamente para la exportación (Andina 2013).

La floricultura a nivel mundial, haciendo énfasis en el Perú, se ha ido incrementando constantemente en las últimas décadas, tanto en diversidad de especies y demanda de flores por parte de los consumidores, como por la entrada al negocio de muchos países. Un área importante en la producción de rosas es el manejo tanto de precosecha como de postcosecha, el mismo que influye en la calidad de la flor, La rosa se considera como la flor más importante desde el punto de vista de mercado, por lo que se vislumbra como una oportunidad de negocio tangible para los jóvenes emprendedores. A nivel local se destacan los emprendimientos en la producción de rosas habiendo influenciado en el bienestar económico de muchas familias y microempresarios cajamarquinos; bajo ese contexto para el año 2017 según Juan Carlos Mondragón, presidente de la Cámara de Comercio de Cajamarca en el último congreso de pequeños empresarios dedicados al cultivo de rosas en la región, se ha constatado que hoy Cajamarca ya tiene más de 50 hectáreas dedicadas al cultivo de rosas y avanza para competir con regiones como Arequipa y Ancash.

La importancia económica del cultivo de rosales se ve mermada por plagas y enfermedades, esto obliga a que muchos floricultores realicen constantes controles a través de aplicación de pesticidas químicos; sin embargo, la mejor forma de control para estos problemas es el “Manejo Integrado de Plagas” (MIP), como una parte fundamental del proceso de producción agrícola. Actualmente, los bioplaguicidas son una alternativa natural al combate de plagas y enfermedades a un costo razonable y sin causar efectos negativos sobre el usuario o el ambiente; el uso de microorganismos como los hongos entomopatógenos constituye una tendencia actual para el manejo de ácaros e insectos fitoparásitos (García 2015).

Los hongos entomopatógenos constituyen el grupo de mayor importancia en el control microbiológico de insectos plaga. Prácticamente todos los insectos son susceptibles a alguna de las enfermedades causadas por estos hongos, de los que se conocen aproximadamente 100 géneros y 700 especies. Entre los más importantes están: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Entomophthora*, *Paecilomyces* y *Verticillium*. *Verticillium lecanii* (= *Lecanicillium lecanii* (Zimm.)), que se encuentran frecuentemente atacando áfidos y queresas en zonas tropicales y subtropicales. Además, han sido encontrados sobre insectos del orden coleóptera, díptera, himenóptera y sobre ácaros. Los insectos infectados por este hongo tienen una apariencia blanquecina (Monzón 2001).

Debido a que en los últimos años se ha incrementado la producción de rosas en Cajamarca, esto también ha permitido la proliferación de plagas dentro de ellas los ácaros, una de las especies específicas, estudiadas es el *Tetranychus* sp que deja una remanente disminución en la producción comercial de la rosa, sin embargo a este individuo se lo puede controlar de diferentes maneras, dentro de ellas con entomopatógenos (*Lecanicillium lecanii* y *Beauveria bassiana*), disminuyendo la intensidad de la plaga y no contaminando el medio ambiente con residuos tóxicos.

Teniendo en cuenta la importancia de *Tetranychus* sp. como plaga en los campos de los floricultores del Perú, sumado a que no se ha investigado o no se tiene una línea base en el control de esta plaga; es de suma importancia realizar trabajos de investigación que determinen la actividad de hongos entomopatógenos. Frente al contexto expuesto, se planteó la presente investigación que estuvo dirigida a determinar el efecto de *Lecanicillium lecanii* y *Beauveria bassiana* sobre la arañita roja en el cultivo de *Rosa* sp., en condiciones de invernadero.

1.1 Objetivo de la investigación

Determinar el efecto de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) y *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. sobre el ácaro *Tetranychus* sp en el cultivo de rosa (*Rosa* sp.) bajo invernadero en cajamarca.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes de la investigación

En la investigación realizada por Jiménez *et al.* (2016), se determinó la efectividad de cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* sobre el ácaro plaga *Tetranychus urticae* presente en hojas de fresa en condiciones de laboratorio. Para la inoculación, las hojas fueron inmersas durante cinco segundos en la concentración de 1×10^8 conidios/mL⁻¹. Posteriormente se colocaron los ácaros sobre la hoja y se registró la micosis cada 48 horas por al menos ocho días. Se observó variación en la micosis de acuerdo a la cepa y se seleccionaron dos por micosar el 100 % de los ácaros y también se observaron cepas poco eficientes con micosis de 2,27.

Krugg *et al.* (2015), evaluaron el efecto de *Lecanicillium lecanii* (Zimm) y *Beauveria bassiana* (Bals.) sobre *Panonychus citri*. Se realizaron cinco tratamientos con tres repeticiones cada uno: al primero se le aplicó Tween 80 al 0,1 %, al segundo y tercero, una suspensión de *L. lecanii* a las concentraciones de 10^6 con/mL y 10^7 con/mL, respectivamente, y al cuarto y quinto, una suspensión de *B. bassiana* a las concentraciones de 10^6 con/mL y 10^7 con/mL, respectivamente. Luego de la inoculación con los hongos entomopatógenos, los especímenes de *P. citri* presentaron lentitud en movimiento, alteración en el color del tegumento y muerte. Los ácaros muertos fueron colocados en cámara húmeda hasta la aparición del micelio, el cuál fue aislado en agar papa sacarosa con antibiótico para su posterior observación microscópica y determinación. Se encontró que el menor porcentaje de supervivencia del ácaro fue frente a *B. bassiana* con un 17 % y 6 % a las concentraciones de 10^6 con/mL y 10^7 con/mL. Se concluye que, en condiciones de laboratorio, *B. bassiana* tuvo efecto entomopatógeno sobre las ninfas y adultos de *P. citri*, observándose un menor porcentaje de supervivencia del ácaro al incrementar la concentración de conidias del hongo, mientras que *L. lecanii* no tuvo efecto entomopatógeno sobre las ninfas y adultos de *P. citri*.

En un estudio realizado por Huanes *et al.* (2016); se evaluó el efecto entomopatógeno de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre adultos y ninfas de *Oligonychus* sp.

en condiciones de laboratorio. Se realizaron 3 tratamientos con tres repeticiones cada uno; al primer tratamiento se aplicó Tween 80 al 0,1 %, al segundo tratamiento se aplicó una suspensión de *B. bassiana* a la concentración de 10^7 con/ml y al tercer tratamiento se aplicó una suspensión de *M. anisopliae* a la concentración de 10^7 con/ml. Luego de la inoculación con los hongos entomopatógenos, los especímenes de *Oligonychus* sp. presentaron síntomas como movimiento errático, alteración en el color del tegumento, momificación y muerte. Los resultados pudieron determinar que, el menor porcentaje de supervivencia del ácaro fue frente a *M. anisopliae* con un 8,33 % a la concentración de 10^7 con/ml; mientras que con *B. bassiana* el porcentaje de supervivencia fue de 9,61 % a la concentración de 10^7 con/ml, no existiendo diferencia significativa en cuanto a la actividad entomopatógena de estos hongos.

2.2 Hongos entomopatógenos

Estos organismos poseen importancia en el control microbiano de insectos plaga, todos los órdenes son susceptibles a las enfermedades fúngicas y existen alrededor de 700 especies de hongos entomopatógenos, y más de 100 géneros. Dentro de estos se mencionan: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoophthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomices*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Lecanicillium* (Scholte *et al.*,2004).

2.2.1 Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos

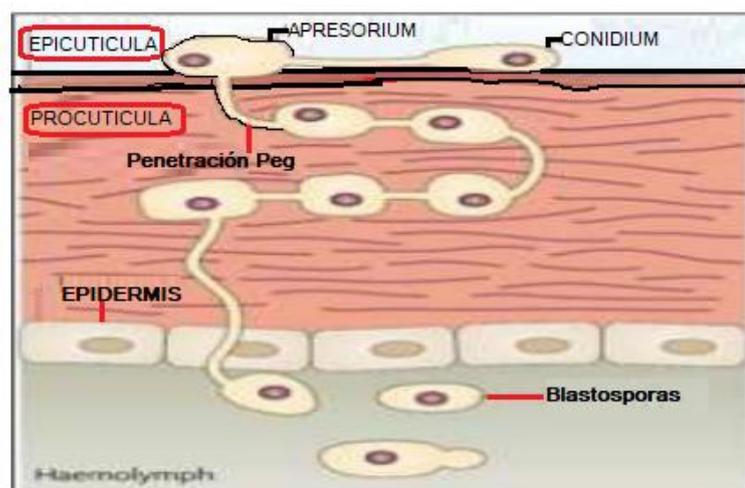


Figura 1 . Proceso de infección de los entomopatógenos sobre su hospedero.

Fuente: Thomas y Read (2007).

a. Adhesión

El primer contacto entre el hongo entomopatógeno y el insecto sucede cuando la espora del primero es depositada en la superficie de éste. El proceso de adhesión ocurre en tres etapas sucesivas: adsorción de la espora a la superficie mediante el reconocimiento de receptores específicos de naturaleza glicoproteica en el insecto, la adhesión o consolidación de la interfase entre la espora pregerminada y la epicutícula y finalmente, la germinación y desarrollo hasta la formación del apresorio para comenzar la fase de penetración (Tanada *et al.* 2015), como se observa en la Figura 1.

Los hongos entomopatógenos inician su proceso infectivo en los insectos hospederos cuando las esporas viables son retenidas por contacto en la superficie del integumento, mientras encuentran un espacio propicio para establecer la asociación patógeno-hospedero y formar los túbulos germinales y a veces el apresorio, que facilitarán la invasión del hongo (Pucheta, *et al.* 2018).

b. Germinación

Se inicia con el hinchamiento de la espora, que es favorecido por una humedad alta (70 % durante 14 h); la germinación es disparada por mensajeros que generalmente son carbohidratos presentes en las proteínas cuticulares del insecto. La hidratación de la espora es favorecida por la acción antidesecante de su cubierta mucilaginosa, que además funciona como protector ante la presencia de polifenoles tóxicos y enzimas, secretadas por el sistema inmune del insecto (Buckner y Freeman. 2003).

Después del hinchamiento de la espora tiene lugar la formación del tubo germinativo mediante el proceso de polarización típico del crecimiento apical de los hongos, que estimula la síntesis de la pared celular. Los iones H^+ y Ca^{2+} entran en la punta de la hifa a través de un mecanismo de transporte pasivo y son expulsados por mecanismos dependientes de energía (Krugg y Alayo 2015).

c. Penetración

Según Telle (2009), menciona que éste aspecto depende de las propiedades de la cutícula, su espesor, esclerotización y la presencia de sustancias antifúngicas y nutricionales. La fase de patogénesis ocurre cuando los conidios entran en contacto con el tejido vivo del hospedante. El hongo penetra a través de la cutícula por acción mecánica y efectos enzimáticos.

La génesis de la infestación comienza cuando el tubo germinativo rastrea y reconoce la superficie del insecto para la localización de sitios receptores, habilitando a la hifa para la penetración de la cutícula, el apresorio sirve para el anclaje de la espora y ejerce una presión hacia el interior del insecto, paralelamente, el hongo excreta gran cantidad de enzimas entre las que se incluyen en el mecanismo químico que son las proteasas, quitinasas, quitobiasas, lipasas, lipooxigenasas y otras enzimas hidrolíticas, que degradan la cutícula y proporcionan a su vez nutrientes al hongo. La penetración es posible gracias a una acción física de presión ejercida por la estructura fúngica denominada haustorio y otra química; que deforma la capa cuticular rompiendo luego las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula (Monzón 2001).

d. Multiplicación

Una vez dentro del insecto el hongo va formando hifas secundarias, que se ramifican en la procutícula conformada principalmente de fibrillas de quitina embebidas en una matriz proteínica que actúa como cubierta física protectora ante las secreciones extracelulares del patógeno. Posteriormente, los cuerpos hifales se encuentran con la capa epidérmica y con su respectiva membrana basal y se diseminan a través del hemocele. Así, invaden diversas estructuras del hospedero; como tejidos musculares, cuerpos grasos, tubos de Malpighi, mitocondrias, hemocitos, retículo endoplásmico y membrana nuclear (Deshpande 2019).

e. Principio y fundamento de letalidad.

Varias especies de hongos entomopatógenos son capaces de producir ácidos orgánicos y algunos de ellos han sido implicados en el proceso

infectivo. También se han reportado toxinas peptídicas cíclicas y lineales. A las primeras pertenece una familia de péptidos conocidos como depsipéptidos, el estudio de esta toxina (dextruxinas, demetildestruxina y protodextruxina) es de suma importancia ya que se pueden sintetizar productos químicos de baja toxicidad y de elevada acción insecticida, acaricida y nematocida (Claydon *et al.* 2015).

f. Muerte del insecto

El efecto de las toxinas en la hemolinfa de los insectos impide la rápida formación de los granulocitos y permite la multiplicación del hongo en el hemocele (Rosas 1994). Al respecto Claydon *et al.* (2015) mencionan que el efecto de las toxinas en la hemolinfa de los insectos es la reducción del movimiento de los componentes de la hemolinfa, lo que impide la rápida formación de los granulocitos y permite la multiplicación del hongo en el hemocele, sobre la función de estos metabolitos también se apunta que son antibióticos que pueden prevenir las pudriciones por bacterias y permitir la momificación de cadáveres de insectos.

g. Colonización

Las enzimas hidrolíticas como la quitinasa, la proteasa y la lipasa, actúan de manera sinérgica para digerir y penetrar la epicutícula. La invasión del hemocele y de tejidos se produce, a través de cuerpos hifales entre las 24 y 48 horas siguientes. Las enzimas detectadas en tubos germinativos son proteasas, aminopeptidasas, lipasas, estererasas y N acetyl glucosamida (quitinasa) (Cabello 2017).

h. Emergencia

Después de la colonización, si las condiciones externas son de baja humedad relativa, el hongo puede mantenerse en el interior del insecto, protegido por el integumento, pero en condiciones húmedas el hongo emerge principalmente a través de las zonas menos esclerosadas (Monzón 2001).

2.2.2 Descripción de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.)

a. Taxonomía

Según Alexopoulos y Mims (1979).

Reino	:	Myceteae
División	:	Amastigomycota
Subdivisión	:	Deuteromycotina
Clase	:	Hyphomycetidae
Orden	:	Moniliales
Familia	:	Moniliaceae
Género	:	<i>Lecanicillium</i> (=Verticillium)
Especie	:	<i>Lecanicillium Verticillium) lecanii</i> (Zimm.)

b. Características morfológicas. - Según Gómez, *et al*; (2011):

Lecanicillium lecanii (Zimm.), se caracteriza por presentar micelio tabicado, conidióforos simples o verticilados, anchos en la base y y delgados hacia los extremos, los conidios se encuentran agrupados en cabezuelas, rodeados de una sustancia mucilaginoso, unicelulares, hialinos, forma cilíndricos a ovoides. Este hongo cubre con un micelio de color blanco a sus hospederos, rodeándolo como con un halo, de allí que se le conoce con el nombre de “hongo blanco de la corona”

Las características que presenta este hongo son colonias blancas o cremas, algodonosas delicadas, incoloras al reverso, amarillo pálido o amarillo oscuro a los 10 días a 25 ° C en Agar-Estracto de Malta (MEA) o en Papa Dextrosa Agar (PDA).

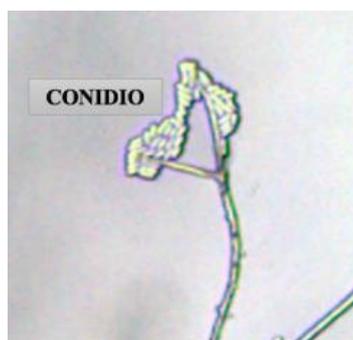


Figura 1. Estructura de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.)

El crecimiento radial de los micelios en medio de cultivo después de 17 días fue de 3,6 cm, el anverso de estos mostró forma irregular, elevación umbonada, margen ondulado, consistencia dura y coloración blanca que se tornó amarilla azufre conforme a la maduración del cultivo; el reverso del micelio fue de amarillo a crema (Berlanga *et al.* 2016).

c. Sintomatología

Se inicia con la adhesión de los conidios a la cutícula de los insectos gracias a interacciones hidrofóbicas entre el conidio y la superficie de la cutícula haciendo que el insecto se vuelva más lento en sus movimientos con el pasar de las horas, así como, cambiando la cutícula del insecto a una coloración blanquecina (Acosta 2006).

d. Mecanismo de acción

Puede estar dividido en tres fases: (1) Adhesión y germinación de la espora en la cutícula del insecto, (2) penetración en el hemocele y (3) desarrollo del hongo, lo cual generalmente resulta en la muerte del insecto, el primer contacto que hace la espora con la superficie del hospedero es por la cutícula. Las características físicas y químicas de las superficies de la cutícula del insecto y la espora son las responsables de esta unión. En algunos hongos la adhesión es un fenómeno no específico, mientras en otros esto es un proceso específico. Algunas glicoproteínas pueden servir como un receptor específico para las esporas (Deshpande 2019).

Las leucinostatinas son sustancias de naturaleza peptídica que ayuda en la penetración de sus hifas, con un ácido graso insaturado en el grupo N-terminal y un grupo amino en el C-terminal. También están caracterizadas por tener un alto contenido de ácido α -amino-isobutírico (Carta 2018).

2.2.3 *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.

a. Taxonomía.- Según: Alexopoulos y Mims 1979.

Reino	:	Myceteae
División	:	Amastigomycota
Subdivisión	:	Deuteromycotina
Clase	:	Hyphomycetidae
Orden	:	Moniliales
Familia	:	Moniliaceae
Género	:	Beauveria
Especie	:	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals) Vuillemin

b. Características morfológicas

Según Torres (2016), el género *Beauveria*, se caracteriza por presentar fiálides con una parte basal dilatada terminando en zig-zag. Para Macleod (1954) y Samson (1981); las características de los conidios son determinantes y nos permite diferenciar o distinguir dos especies.

Beauveria bassiana, está conformada por hifas septadas de 2,5 a 25 μm de diámetro, de donde se forman conidióforos simples raramente agrupados, con apariencia de jarrón (más ancho en el centro que en los extremos), los cuales sostienen los conidios, originados de forma simpodial o acrópeta, dando una apariencia en zig zag al raquis (Barron 2015), tal como se muestra en la Figura 2.



Figura 2. Según la investigación morfológica realizada por Castillo *et al.* 2011; se describe las Células de *B. bassiana*, mostrando la característica típica en raquis en forma de “zig –zag”

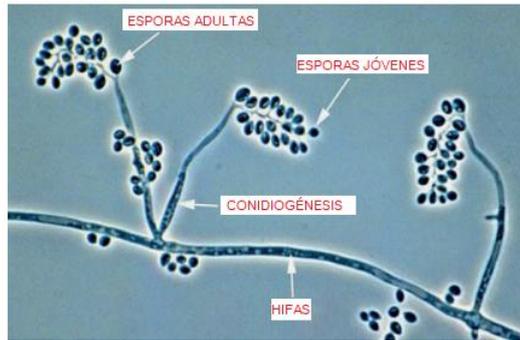


Figura 3. Representación de *B. bassiana*, según el IICA (2015) en su Manual de Protocolos para la Formulación y aplicación de Bio – Insumo.

Las esporas son esféricas y levemente ovaladas en medios aerobios, pero más ovaladas en medios anaerobios, llamadas blastósporas (Kouassi 2001). Sin embargo, indiferentemente de su morfología, presentan igual capacidad de infección. Tanto las esporas como las hifas no son pigmentadas (hialinas), por lo que su apariencia es blancuzca para el ojo humano crema (Berlanga *et al.* 2016).

c. Sintomatología

Penetran a través de la cutícula del hospedante susceptible hasta alcanzar su aparato digestivo, el insecto adulto muere por inanición, para luego ser colonizado y momificado (Valdés *et al.* 2019).

d. Mecanismo de acción

Las esporas caen sobre la parte exterior de la piel del insecto. En condiciones adecuadas las esporas se adhieren a la cutícula y comienzan a germinar, las hifas que emergen de la espora segregan enzimas que comienzan a disolver la piel del insecto hasta comenzar a atacar en su interior. Una vez dentro se comienza a producir una toxina llamada beauvericina que ataca al sistema inmunológico del insecto (Mahr 2010).

Duperchy (2016), indica que la adhesión del conidio a la cutícula del huésped no es específica en muchos casos. Sin embargo, al parecer, la agresividad se encuentra relacionada con la actividad enzimática sobre los lípidos, ácidos grasos y la secreción de mucílago, que cumple la función de adhesión y de favorecer la actividad de las enzimas extracelulares. En algunas ocasiones se evidencia la actividad de sustancias no enzimáticas,

como las beauvericinas, beauverolidasas, bassianolidasas e isarolidasas, que acentúan y aceleran el proceso de infección (Kouassi 2015). Las hifas secretan un antibiótico (oosporina), que ataca las bacterias del intestino, suprimidas las barreras inmunes del insecto, el hongo invade el tracto digestivo, se alimenta de su interior y lo momifica (Rehner *et al.* 2018).

2.3 La rosa (*Rosa* sp.)

2.3.1 Taxonomía

Según López (1980), la clasificación taxonómica de la rosa es la siguiente:

Reino	:	Vegetal
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Dicotiledoneas
Orden	:	Rosales
Familia	:	Rosaceae
Género	:	<i>Rosa</i>
Especie	:	<i>Rosa</i> sp.

2.3.2 Fenología (Quiroz 2015)

a. Día cero

Momento en que se realiza el corte (pinch).

b. Yema inducida

Yema después de 8 a 10 días del pinch, de color rojiza e hinchada, es decir la yema está en actividad apical.

c. Brote en espuela

A los 15 días de haber realizado el pinch, con una coloración roja continuo a su crecimiento el brote despliega folios (semejante a una espuela de ave).

d. Panoja

O palmiche, a los 35 días después del pinch se manifiesta un tallo en desarrollo sin botón.

e. Punto arroz

Aparecimiento del botón floral, semejante a una espiga de arroz (0,4 cm).

f. Punto arveja

Después de 45 días del pinch (0,5 a 0,7 cm), el tallo muestra elongación y crecimiento del pedúnculo floral.

g. Punto garbanzo

A los 50 y 55 días después del pinch (0,8 a 1,2 cm), el botón es semejante al tamaño de un garbanzo.

h. Punto rayando color

A los 64 días después del pinch, en el botón los sépalos que lo protegen empiezan a abrirse permitiendo ver el color de la variedad.

i. Punto desprendiendo sépalos

A los 72 días después del pinch, aproximándose a los 10 o 12 días a la cosecha del tallo, los sépalos se desprenden de la parte apical del botón y el tallo luce más vigoroso y menos succulento.

j. Punto de corte

Es determinado cuando el botón alcanza su apertura comercial, es decir culminación del ciclo y el tallo puede ser cosechado en producción abierta.

2.4 *Tetranychus* sp.

2.4.1 Taxonomía

Según Carey (1982):

Reino	:	Animalia
Filo	:	Arthropoda
Clase	:	Arachnida
Subclase	:	Acari

Orden	:	Prostigmata
Familia	:	Tetranychidae
Género	:	<i>Tetranychus</i>
Especie	:	<i>T. urticae</i> Koch (1836)

2.4.2 Morfología, según Poliane (2017):

a. Huevo

Es esférico, liso y brillante. Su color es blanquecino, oscureciéndose y tomando un tono amarillento a medida que avanza su desarrollo. Mide entre 0,12 - 0,14 mm de diámetro.

b. Larva

Es de forma esférica, en sus primeros momentos de vida son incoloras y transparentes, cambiando su color a verde claro, amarillo marrón o verde oscuro, según su alimentación. Posee dos manchas oscuras características en el dorso del tórax y tres pares de patas, puede además apreciarse el color rojo de sus ojos, mide unos 0,15 mm de longitud.

c. Ninfa

Este estadio, presenta dos subestadios ninfales, protoninfa y deutoninfa, ambos son del mismo color que las larvas, aunque las manchas en los laterales del dorso aparecen más grandes y nítidas. Poseen cuatro pares de patas, la diferencia entre ambos estadios radica en el tamaño, mayor en la deutoninfa. En este estado se pueden ya diferenciar según las formas que ninfas originarán hembras, y cuáles son las precursoras de los machos, siendo las hembras de mayor tamaño, más voluminosas y redondeadas.

d. Adulto

Según Aucejo *et al.* (2014). En este estadio existe un claro dimorfismo sexual. La hembra adulta posee una forma ovalada y un tamaño aproximadamente de 0,50 mm de largo y 0,30 mm de ancho. El macho presenta un tamaño bastante inferior y un cuerpo más estrecho, con el abdomen puntiagudo y las patas proporcionalmente más largas. La coloración de la hembra es diversa, pudiendo ser amarillenta, verde, rojo

anaranjado, pero siempre con dos manchas laterales oscuras sobre el dorso del tórax; en el macho la coloración es más pálida



Figura 4. Vista dorsal de estadio adulto de *Tetranychus sp.*

2.4.3 Biología

a. Huevo

Permanece en dicho estado durante 4,57 días, luego de haber sido ovipositado a las 36 horas se forma una pequeña papila de uno de los extremos, 72 horas después se logra apreciar dos puntos color rojo carmín que corresponde a los ojos de la larva (García 2015).

b. Larva

Tiene una duración de 2,64 días, presenta un periodo de quiescencia, proyectando hacia adelante el primer y segundo par de apéndices, el tercero proyectado hacia atrás, se puede identificar por su quetotaxia ventral, dos setas ventrales y fórmula coxal (Gavilán 2001).

c. Ninfa

En las protoninfas tiene una duración de 1,59 días, en tanto, que la deutoninfa tiene una duración de 2,64 días (Gavilán 2001).

d. Adulto

Tiene una duración de 0,8 días, la tasa de oviposición de la hembra es de 4,89 huevos/día y en todo el periodo activo es de 109 huevos (Gavilán 2001).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación geográfica del trabajo de investigación

La investigación fue realizada a nivel de invernadero, el mismo que se encuentra ubicado a 10 min. De la ciudad de Cajamarca, específicamente en el caserío Tartar Grande, distrito Baños del Inca, provincia y Región Cajamarca, geográficamente se encuentra localizada en las coordenadas UTM: E 778741 y N 9209302 a una altitud de 2686 msn, tal como se observa en

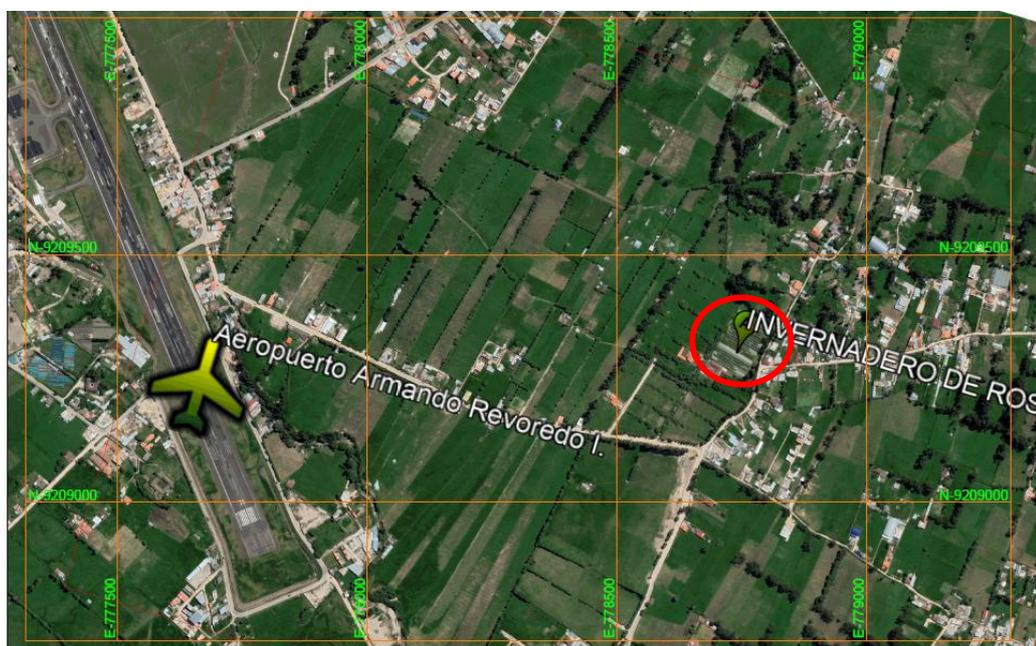


Figura 5. Ubicación referenciada del invernadero donde se desarrolló la presente investigación.

Fuente: Google Earth Pro

3.1.1 Microclima bajo factores controlados en el invernadero.

- Temperatura: Mínima de 13 °C, máxima: 23 °C
- Humedad Relativa: 65 % - 70%

3.2 Materiales

3.2.1 Material biológico

- Ácaro (*Tetranychus sp.*) en sus diferentes estados de desarrollo.
- Conidias de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.
- Conidias de *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *lecanii* (Zimm.).
- Plantas de rosa (*Rosa sp.*).

3.2.2 Material y equipos de campo

Materiales	Equipos
<ul style="list-style-type: none">➤ Aceite agrícola.➤ Cordeles.➤ Etiquetas.➤ Estacas.➤ Lapiceros.➤ Libreta de campo.➤ Frascos de plástico.	<ul style="list-style-type: none">➤ Cámara digital.➤ Equipo de protección personal.➤ Mochila de pulverización.➤ Lupa entomológica 20X.➤ pHmetro.➤ Wincha.

3.2.3 Material y equipo de laboratorio

Materiales	Equipos
<ul style="list-style-type: none">➤ Alcohol etílico al 70 %.➤ Algodón.➤ Placas petri.➤ Claves taxonómicas.	<ul style="list-style-type: none">➤ Cámaras de recuperación.➤ Estereoscopio.➤ Balanza de precisión.

3.3 Metodología

3.3.1 Trabajo de campo

a. Evaluación de la densidad poblacional de *Tetranychus sp.*

Se realizaron evaluaciones un día antes de la aplicación de los tratamientos y cinco días después. Se evaluaron diez (10) plantas por tratamiento, teniendo por lo tanto noventa (90) muestras. Se determinó la presencia de ácaros tomando en cuenta la siguiente escala de evaluación:

Tabla 1. Escala de grados para evaluar *Tetranychus* sp.

Grado	Descripción
1	No existen arañas
2	1 - 5 arañas
3	6 - 10 arañas
4	11 - 25 arañas
5	26 - 50 arañas
6	Más de 50 arañas

3.3.2 Características del campo experimental

a. Parcela

Número / Bloque	:	5
Número total	:	15
Largo	:	4.00 m
Ancho	:	4.00 m
Área	:	16.00 m ²

b. Bloque

Número	:	3
Largo	:	28,00 m
Ancho	:	16.00 m

c. Área

Largo	:	28.00 m
Ancho	:	16.00 m
Área Experimental	:	448.00 m ²

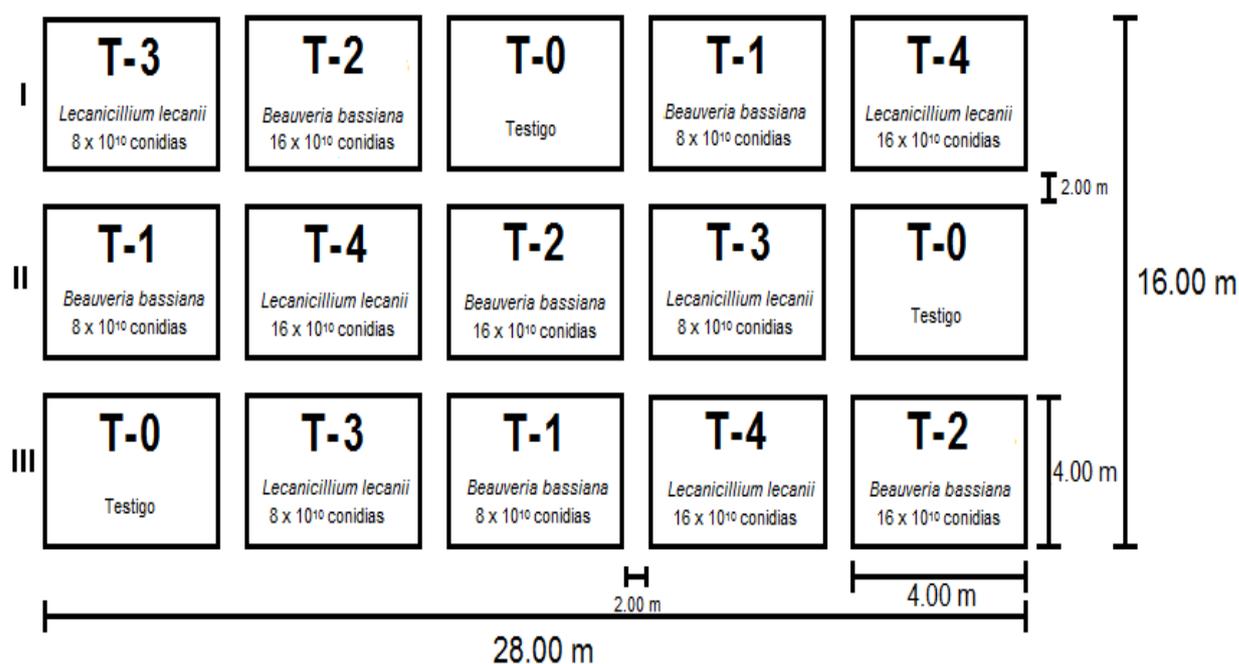


Figura 6. Diseño del campo experimental y distribución de los tratamientos

3.3.3 Aplicación de entomopatógenos (*Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii*)

Se realizó tomando en consideración los siguientes tratamientos:

Tabla 2. Descripción de los tratamientos en estudio

Tratamiento	Entomopatógeno	Dosis	Concentración de conidias en solución	Dosis/Litro
T ₀	Ninguno	-	-	-
T ₁	<i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.)	1,6 Kg / Cil	8 x 10 ¹⁰	8,0 g
T ₂	<i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.)	3,2 Kg / Cil	16 x 10 ¹⁰	16,0 g
T ₃	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals)	1,6 Kg / Cil	8 x 10 ¹⁰	8,0 g
T ₄	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals)	3,2 Kg / Cil	16 x 10 ¹⁰	16,0 g

a. Cálculo de dosis (*Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii*)

Concentración = 1 x 10¹⁰ conidias / g de producto

a.1 Dosis baja (2 bolsas): 5,12 g/640 ml

$$1600 \text{ g} \text{ ----- } 200 \text{ L}$$

$$X \text{ ----- } 0,64 \text{ L}$$

$$X = 5,12 \text{ g} / 0,64 \text{ L}$$

$$X = 8 \text{ g} / \text{L}$$

a.2 Dosis alta (4 bolsas): 10,24 g/640 ml

$$3200 \text{ g} \text{ ----- } 200 \text{ L}$$

$$X \text{ ----- } 0,64 \text{ L}$$

$$X = 10,24 \text{ g} / 0,64 \text{ L}$$

$$X = 16 \text{ g} / \text{L}$$

3.3.4 Trabajo de laboratorio

Los ácaros colectados durante las evaluaciones fueron llevados al Laboratorio de Entomología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, para su respectivo montaje y posterior identificación taxonómica.

3.3.5 Trabajo de gabinete

Se utilizará un Diseño en Bloque Completamente al Azar (DBCA), para el análisis de varianza y para determinar las diferencias entre los tratamientos la prueba de Duncan.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Resultados obtenidos del efecto de *Lecanicillium lecanii* en el ácaro *Tetranychus sp.*

4.1.1 Tratamiento 1 (T₁): 8 x 10¹⁰ conidias.

En la Tabla 2, se observa que en la evaluación previa a la aplicación del agente microbiológico, el mayor número de ácaros (352) fue registrado el día 24 de abril del 2018. A los 3 días de haber realizado la aplicación del agente microbiológico; fueron registrados 26 ácaros enfermos y 34 ácaros muertos, de un total de 202 ácaros evaluados. En tanto que la evaluación realizada luego de 5 días posteriores a la aplicación del agente microbiológico, se registraron 80 ácaros enfermos y 79 ácaros muertos, de un total de 196 ácaros evaluados.

Tabla 2. Densidad poblacional de ácaros.

Fecha de aplicación	Evaluación inicial	Evaluación posterior					
		3 días			5 días		
	Número de ácaros evaluados	Número de ácaros evaluados	Número de ácaros enfermos	Número de ácaros muertos	Número de ácaros evaluados	Número de ácaros enfermos	Número de ácaros muertos
24/04/2018	352	350	11	12	343	101	152
09/05/2018	335	328	65	45	304	147	143
25/05/2018	254	287	30	88	264	105	60
10/06/2018	197	172	34	26	183	81	93
26/06/2018	56	65	16	31	71	44	20
11/07/2018	11	8	2	4	9	3	5
Promedio	200.83	201.67	26.33	34.33	195.67	80.17	78.83

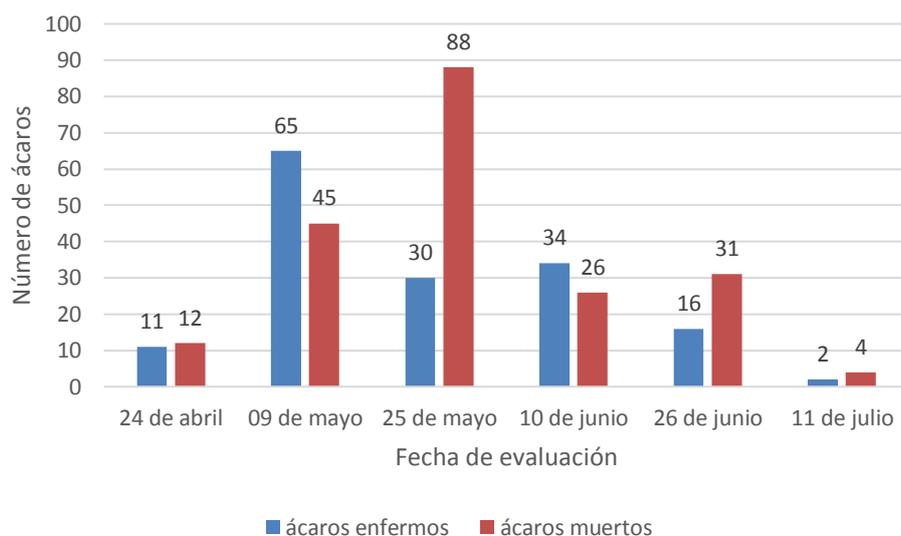


Figura 7. Número de ácaros enfermos y muertos, al tercer día de aplicación de *Lecanicillium lecanii*

La Figura 2 muestra que, en la evaluación de ácaros, después de tres días de la aplicación del entomopatógeno, fueron registrados un número máximo de 65 ácaros enfermos, el 09 de mayo. Así mismo, el 25 de mayo fue registrada la mayor mortandad con 88 ácaros, en tanto, que la menor mortandad fue de 4 ácaros, el 11 de julio de 2018. El número de ácaros enfermos y muertos tiende a incrementarse en los días posteriores a las aplicaciones, esto pudo deberse a las condiciones ambientales favorables que influyeron en la adhesión e infección del agente microbiológico. Al respecto, Batista (2016) menciona que el efecto de *Lecanicillium lecanii* sobre ninfas de *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) con 10×10^6 conidias / ml provocó una mortalidad de 78 %, dando a conocer la efectividad de este entomopatógeno en estas especies de araña en cultivos de exportación como son los ornamentales en un tiempo de evaluación de tres días.

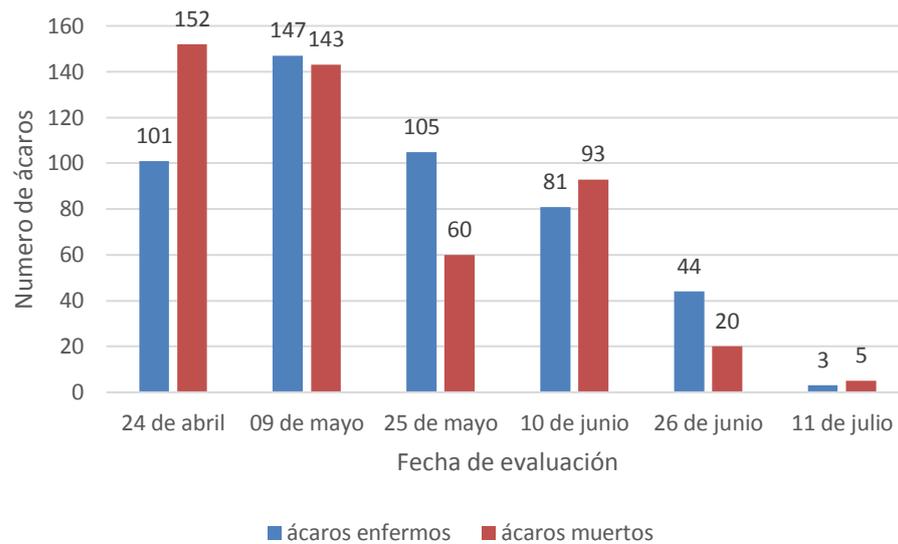


Figura 8. Número de ácaros enfermos y muertos, al quinto día de aplicación de *Lecanicillium lecanii*

Se puede observar en la Figura 3, que después de cinco días de la aplicación del entomopatógeno, fueron registrados un número máximo de 105 ácaros enfermos, el 25 de mayo. Así mismo, el 24 de abril fue registrada la mayor mortandad con 152 ácaros, en tanto, que la menor mortandad fue de 5 ácaros, el 11 de julio de 2018. El número de ácaros enfermos y muertos tiende a incrementarse en los días posteriores a las aplicaciones, esto pudo deberse a las condiciones ambientales favorables que influyeron en la adhesión e infección del agente microbiológico. Del mismo modo Gatarayiha (2017), indica que la concentración $4,2 \times 10^6$ conidios/ml de *B. bassiana*, ocasiona una mortalidad de 60 a 61,3 % de *T. urticae*.

4.1.2 Tratamiento 2 (T₂): 16×10^{10} conidias

En la Tabla 3, se observa que, en la evaluación previa a la aplicación del agente microbiológico, el mayor número de ácaros (345) fue registrado el día 24 de abril del 2018. A los 3 días de haber realizado la aplicación del agente microbiológico; fueron registrados 57 ácaros enfermos y 68 ácaros muertos, de un total de 197 ácaros evaluados. En tanto que la evaluación realizada luego de 5 días posteriores a la aplicación del agente microbiológico, se registraron 75 ácaros enfermos y 106 ácaros muertos, de un total de 183 ácaros evaluados.

Tabla 3. Densidad poblacional de ácaros.

Fecha de aplicación	Evaluación inicial Número de ácaros evaluados	Evaluación posterior					
		3 días			5 días		
		Número de ácaros evaluados	Número de ácaros enfermos	Número de ácaros muertos	Número de ácaros evaluados	Número de ácaros enfermos	Número de ácaros muertos
24/04/2018	345	342	61	88	327	105	208
09/05/2018	302	312	94	102	304	152	160
25/05/2018	295	298	112	148	268	98	163
10/06/2018	164	156	56	32	145	62	81
26/06/2018	56	65	16	31	51	31	19
11/07/2018	11	8	2	4	4	1	3
Promedio	195.50	196.83	56.83	67.50	183.17	74.83	105.67

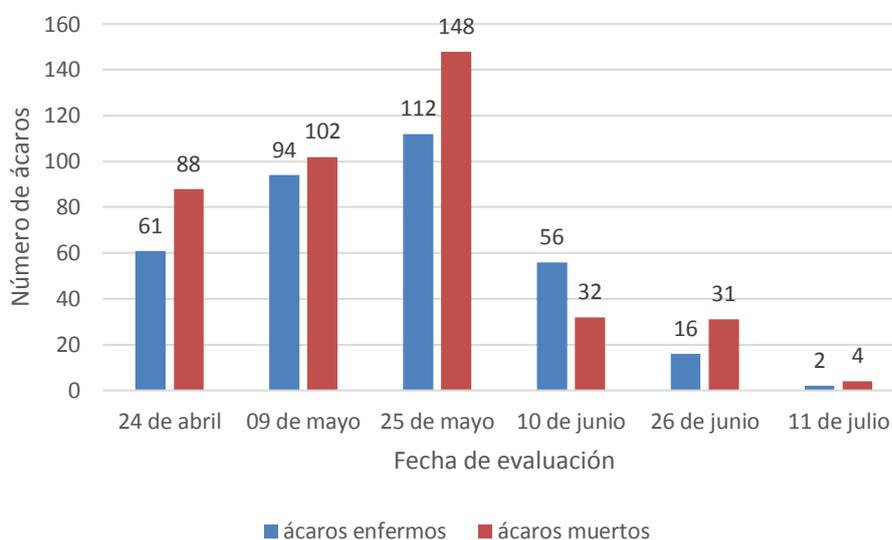


Figura 9. Número de ácaros enfermos y muertos, al tercer día de aplicación de *Lecanicillium lecanii*

La Figura 4, muestra que en la evaluación de ácaros, después de tres días de la aplicación del entomopatógeno, fueron registradas un número máximo de 112 ácaros enfermas, el 25 de mayo. Así mismo, el 25 de mayo fue registrada la mayor mortandad con 148 ácaros, en tanto, que la menor mortandad fue de 4 ácaros, el 11 de julio de 2018. El número de ácaros enfermos y muertos tiende a incrementarse en los días posteriores a las aplicaciones, esto pudo deberse a las condiciones ambientales favorables que influyeron en la adhesión e infección del agente microbiológico. Alves (2015), refiere que la patogenicidad de *Lecanicillium lecanii* en la concentración de 8×10^{10} conidios provoca que la mortalidad aumente con el tiempo.

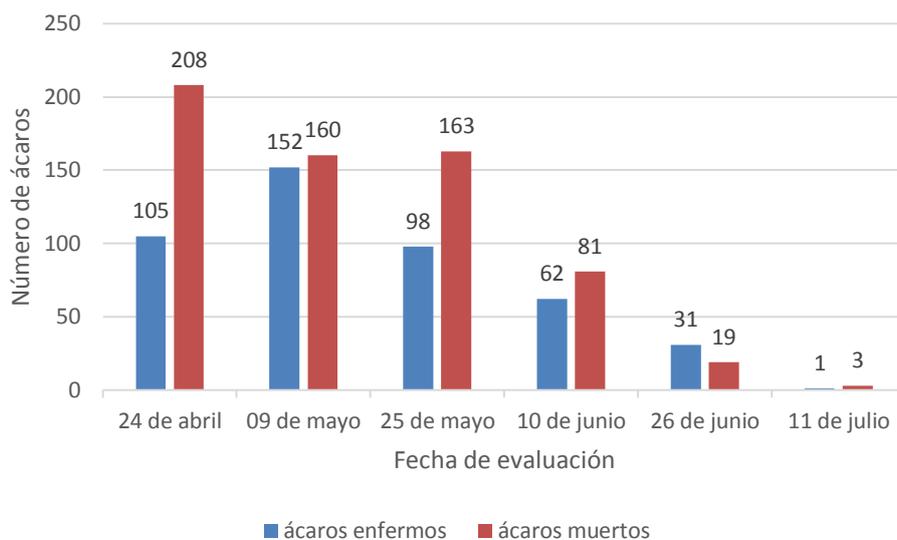


Figura 10. Número de ácaros enfermos y muertos, al quinto día de aplicación de *Lecanicillium lecanii*

Se puede observar en la Figura 5, que después de cinco días de la aplicación del entomopatógeno, fueron registrados un número máximo de 152 ácaros enfermos, el 09 de mayo. Así mismo, el 24 de abril fue registrada la mayor mortandad con 208 ácaros, en tanto, que la menor mortandad fue de 3 ácaros, el 11 de julio de 2018. El número de ácaros enfermos y muertos tiende a incrementarse en los días posteriores a las aplicaciones, esto pudo deberse a las condiciones ambientales favorables que influyeron en la adhesión e infección del agente microbiológico. Wekesa (2015), indica que la concentración $2,5 \times 10^{10}$ conidios/ml de *L. lecanii*, causó el 50 % de mortalidad en un periodo de tiempo que varía entre 4,6 a 5,8 días.

4.2 Resultados obtenidos del efecto de *Beauveria bassiana* en el ácaro *Tetranychus sp.*

4.2.1 Tratamiento 3 (T₃): 8×10^{10} conidias

En la Tabla 4, se observa que, en la evaluación previa a la aplicación del agente microbiológico, el mayor número de ácaros (363) fue registrado el día 24 de abril del 2018. A los 3 días de haber realizado la aplicación del agente microbiológico; fueron registrados 43 ácaros enfermos y 50 ácaros muertos, de un total de 258

ácaros evaluados. En tanto que la evaluación realizada luego de 5 días posteriores a la aplicación del agente microbiológico, se registraron 72 ácaros enfermos y 73 ácaros muertos, de un total de 229 ácaros evaluados. Al respecto Sáenz (2003), menciona que el efecto que tuvo *B. bassiana* a una concentración de 180 – 228 conidia/ml sobre *Tetranychus urticae* es de 50 % de mortalidad a las 96 horas luego de la aplicación.

Tabla 4. Densidad poblacional de ácaros.

Fecha de aplicación	Evaluación inicial Número de ácaros evaluados	Evaluación posterior					
		3 días			5 días		
		Número de ácaros evaluados	Número de ácaros enfermos	Número de ácaros muertos	Número de ácaros evaluados	Número de ácaros enfermos	Número de ácaros muertos
24/04/2018	363	360	56	43	365	95	112
09/05/2018	349	353	54	67	319	120	121
25/05/2018	305	301	42	74	295	86	59
10/06/2018	245	259	51	63	205	72	59
26/06/2018	183	158	39	25	130	34	65
11/07/2018	132	115	15	29	62	22	19
Promedio	262.83	257.67	42.83	50.17	229.33	71.50	72.50

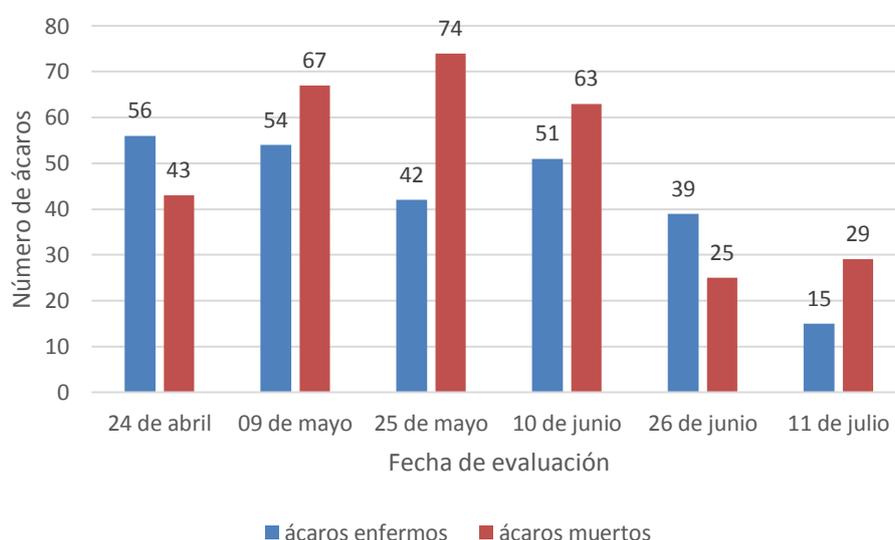


Figura 11. Número de ácaros enfermos y muertos, al tercer día de aplicación de *Beauveria bassiana*

La Figura 6 muestra que, en la evaluación de ácaros, después de tres días de la aplicación del entomopatógeno, fueron registrados un número máximo de 56 ácaros enfermos, el 24 de abril. Así mismo, el 25 de mayo fue registrada la mayor mortandad con 74 ácaros, en tanto, que la menor mortandad fue de 25 ácaros, el 26 de junio de 2018. El número de ácaros enfermos y muertos tiende a incrementarse en los días posteriores a las aplicaciones, esto pudo deberse a las condiciones ambientales favorables que influyeron en la adhesión e infección del agente microbiológico. Mugisho (2019), evaluó tres aislamientos de *Beauveria bassiana* frente a la araña roja *Tetranychus urticae* tiene una mortalidad de 90 % en un lapso de tiempo de 2 días con una cantidad de 10×10^{10} conidios/ml.

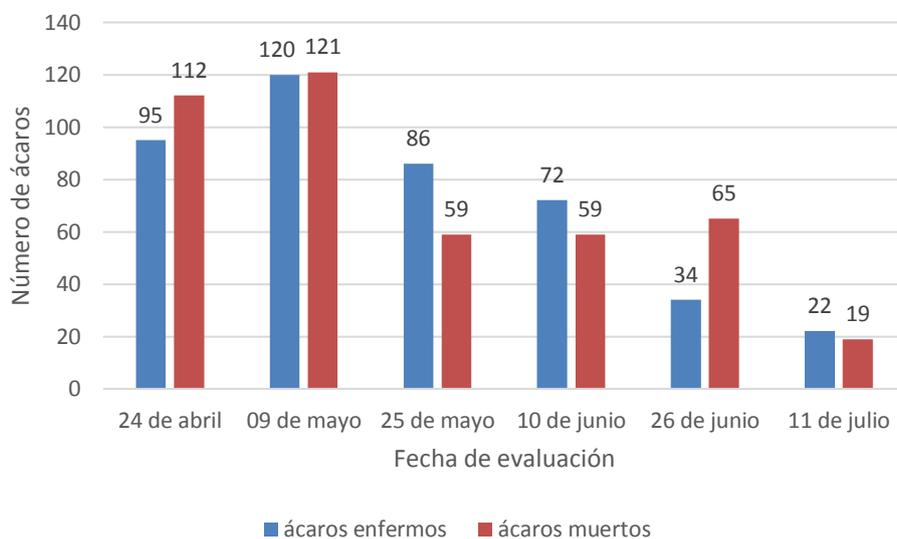


Figura 12. Número de ácaros enfermos y muertos, al quinto día de aplicación de *Beauveria bassiana*

Se puede observar en la Figura 7 que después de cinco días de la aplicación del entomopatógeno, fueron registrados un número máximo de 120 ácaros enfermos, el 09 de mayo. Así mismo, el 09 de mayo fue registrada la mayor mortandad con 121 ácaros, en tanto, que la menor mortandad fue de 19 ácaros, el 11 de julio de 2018. El número de ácaros enfermos y muertos tiende a incrementarse en los días posteriores a las aplicaciones, esto pudo deberse a las condiciones ambientales favorables que influyeron en la adhesión e infección del agente microbiológico. Para Ríos (2020), la compatibilidad y eficiencia de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en el control de plagas de col y lechuga se evidencia con una mortalidad de 73 %, a una dosis de $9,5 \times 10^7$ conidios/ml durante 8 días.

4.2.2 Tratamiento 4 (T₄): 16 x 10¹⁰ conidias

En la Tabla 5, se observa que, en la evaluación previa a la aplicación del agente microbiológico, el mayor número de ácaros (332) fue registrado el día 24 de abril del 2018. A los 3 días de haber realizado la aplicación del agente microbiológico; fueron registrados 28 ácaros enfermos y 32 ácaros muertos, de un total de 327 ácaros evaluados. En tanto que la evaluación realizada luego de 5 días posteriores a la aplicación del agente microbiológico, se registraron 83 ácaros enfermos y 93 ácaros muertos, de un total de 338 ácaros evaluados.

Tabla 5. Densidad poblacional de ácaros.

Fecha de aplicación	Evaluación inicial Número de ácaros evaluados	Evaluación posterior					
		3 días		5 días			
	Número de ácaros evaluados	Número de ácaros evaluados	Número de ácaros enfermos	Número de ácaros muertos	Número de ácaros evaluados	Número de ácaros enfermos	Número de ácaros muertos
24/04/2018	332	327	28	32	338	83	93
09/05/2018	319	311	42	40	289	82	95
25/05/2018	300	295	62	34	267	56	45
10/06/2018	245	249	51	43	259	56	64
26/06/2018	260	253	54	32	223	65	87
11/07/2018	224	213	36	54	203	23	26
Promedio	280.00	274.67	45.50	39.17	263.17	60.83	68.33

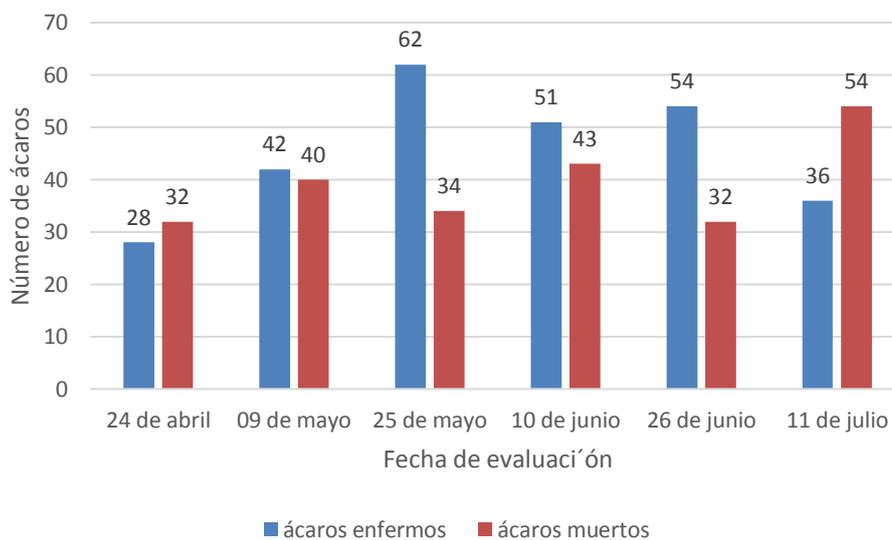


Figura 13. Número de ácaros enfermos y muertos, al tercer día de aplicación de *Beauveria bassiana*

La Figura 8 muestra que, después de tres días de la aplicación del entomopatógeno, fueron registrados un número máximo de 62 ácaros enfermos, el 25 de mayo. Así mismo, el 11 de julio fue registrada la mayor mortandad con 54 ácaros, en tanto, que la menor mortandad fue de 28 ácaros, el 24 de abril de 2018. El número de ácaros enfermos y muertos tiende a incrementarse en los días posteriores a las aplicaciones, esto pudo deberse a las condiciones ambientales favorables que influyeron en la adhesión e infección del agente microbiológico. Batista (2017), refiere que ensayos biológicos muestran un 77,8 y 74,4 % de mortalidad de ácaros en ornamentales bajo la aplicación de *B. bassiana* con 10^7 conidias/ml.

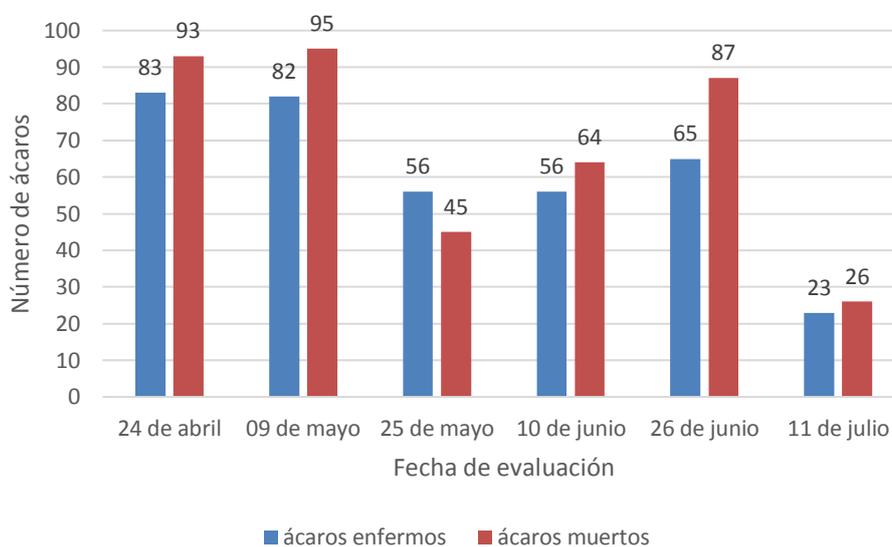


Figura 14. Número de ácaros enfermos y muertos, al quinto día de aplicación de *Beauveria bassiana*

Se puede observar en la Figura 9 que después de cinco días de la aplicación del entomopatógeno, fueron registrados un número máximo de 83 ácaros enfermos, el 24 de abril. Así mismo, el 09 de mayo fue registrada la mayor mortandad con 95 ácaros, en tanto, que la menor mortandad fue de 26 ácaros, el 11 de julio de 2018. El número de ácaros enfermos y muertos tiende a incrementarse en los días posteriores a las aplicaciones, esto pudo deberse a las condiciones ambientales favorables que influyeron en la adhesión e infección del agente microbiológico. Shengyong (2016), evaluó la virulencia de 12 aislados de *B. bassiana* en *T. urticae* causando 49,5 % de mortalidad en adultos a una concentración de 1×10^7 conidios/ml, a los 4 días después del tratamiento.

4.3 Comparación entre tratamientos

En la Figura 10 se observa que, en las evaluaciones al tercer día, después de la aplicación del entomopatógeno, fueron registrados un número máximo de 29 % de ácaros enfermos en el segundo tratamiento que es el de *Lecanicillium lecanii* en dosis alta, considerando que este entomopatógeno es más efectivo a lo largo del experimento. Así mismo, en este tratamiento fueron registradas la mayor mortandad con 34 % de ácaros y la menor mortandad fue de 3 % de ácaros, en el testigo. García (2018), en un ambiente de laboratorio (26 °C, 40 % HR, 14 horas de luz y 10 horas de oscuridad), para *Tetranychus* sp., en zarzamora (*Rubus ulmifolius* var. Tupy), provocó una reducción significativa en la ovoposición (20,18 %), así como, una mortalidad de 62 % en 3 días.

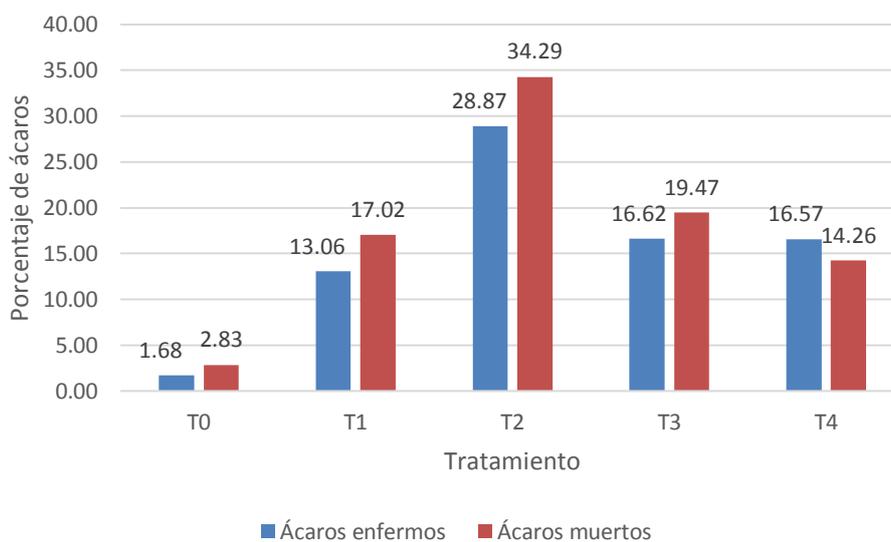


Figura 15. Comparación entre tratamientos del número de ácaros enfermos y muertos, al tercer día de aplicación de *Lecanicillium lecanii* y *Beauveria bassiana*

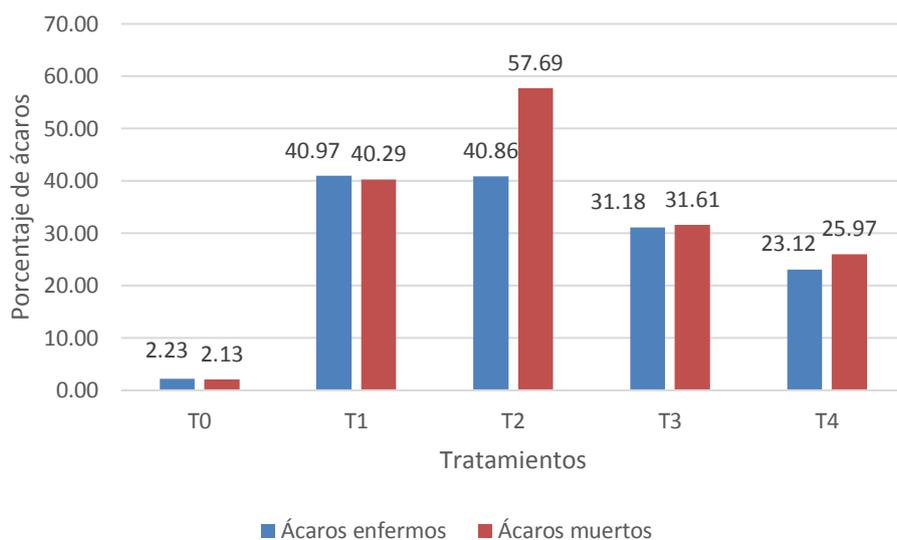


Figura 16. Comparación entre tratamientos de l número de ácaros enfermos y muertos, al quinto día de aplicación de *Lecanicillium lecanii* y *Beauveria bassiana*

En la Figura 11, se observa que, en las evaluaciones al quinto día, después de la aplicación del entomopatógeno, fueron registradas un número máximo de 41 % de ácaros enfermos en el tratamiento 1 y 2 que es el de *Lecanicillium lecanii* en dosis baja y alta, considerando que este entomopatógeno es más efectivo a lo largo del experimento. Así mismo, en este tratamiento fueron registradas la mayor mortandad con 58 % de ácaros en el tratamiento 2, y la menor mortandad fue de 2 % de ácaros, en el testigo. Díaz (2018), registró en condiciones de laboratorio un porcentaje de mortalidad de 20 %, a los 5 días, en tanto que a los 10 días se obtuvo una efectividad de 96 %, empleando el entomopatógeno *L. lecanii*.

4.4 Comparación del efecto entre *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii*

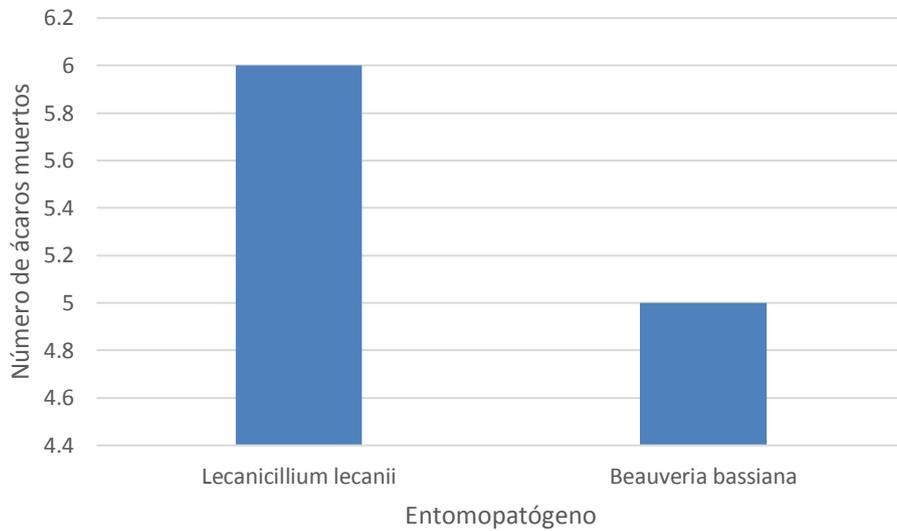


Figura 12. Comparación del efecto entre *Lecanicillium lecanii* y *Beauveria bassiana*

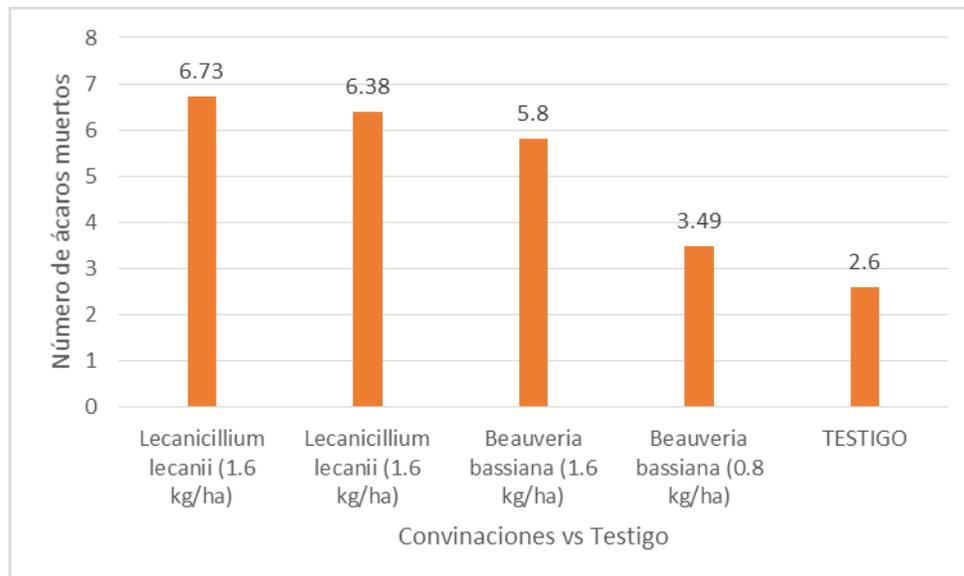


Figura 13. Comparación del efecto de tratamientos entre *Lecanicillium lecanii* y *Beauveria bassiana*

Tabla 6. Análisis de varianza (ANOVA) para el número de ácaros muertos

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	F Calculado	p-valor
Bloque	33.08	3	11.03	1.51	0.2776
Hongo	3.86	1	3.86	0.53	0.4858
Cantidad	7.08	1	7.08	0.97	0.3509
Hongo*Cantidad	14.55	1	14.55	1.99	0.1918
Error	65.78	9	7.31		
Total	124.35	15			

Tabla 7. Prueba de Tukey al 5 % de probabilidad, para los niveles del factor hongo entomopatógeno

Hongo Entomopatógeno	Mortalidad de larvas	Significación al 5 %
<i>Lecanicillium lecanii</i>	6	A

Los resultados del análisis de varianza (Tabla 6), muestran que no existe significación estadística para la interacción de los factores (hongo vs dosis), dado que, el valor de significación (p-Valor = 0,1918) para esta fuente de variación, es mayor al 0,05, este resultado indica que los factores (hongo vs dosis) presentan efectos independientes en la mortalidad de ácaros, así mismo, no existe significación estadística para los efectos independientes del factor hongo, dado que, el valor de significación (p-Valor = 0,4858) es mayor al 0,05, es decir, que los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii* causan efectos significativos en la mortalidad de ácaros independientemente. El factor cantidad no presentó significación estadística, dado que, el valor de significación (p-Valor = 0,3509) es mayor al 0,05.

El coeficiente de variación (CV = 12,3 %), indica la variabilidad de los resultados para la variable evaluada (mortalidad de larvas). Esta variabilidad posiblemente se encuentra relacionada con la respuesta distinta de los ácaros a las dosis de los tratamientos, esto asociado a otros posibles factores que afectaron la mortalidad de larvas.

La prueba de Tukey al 5 % de probabilidad para el factor hongo antagonista (Tabla 7 y Figura 12), indica que el mejor resultado se obtuvo al emplear *Lecanicillium lecanii* (en promedio 6 ácaros muertos). Este resultado es estadísticamente superior al encontrado con *Beauveria bassiana* (en promedio 5 ácaros muertos).

En la Figura 13, se observa que las combinaciones (hongo vs dosis) presentan mayor efecto que el testigo, este último presentó tres ácaros muertos por tratamiento.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Se determinó que los entomopatógenos en general tienen efectividad, pero con *Tetranychus* sp., el efecto causado por *Lecanicillium lecanii* en la dosis alta 16×10^{10} conidias / ml. tienen afinidad (57.69%).
- El efecto por *Beauveria bassiana* a pesar que no está recomendado para ácaros se tuvo la mortalidad en la plaga con un 50% de mortalidad en dosis alta 16×10^{10} conidias y dosis baja 8×10^{10} conidias / ml.

5.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda utilizar los entomopatógenos en producción orgánica de *Rosa* sp.
- Se recomienda utilizar los entomopatógenos para el control de insectos plaga, con ello reduciremos el uso excesivo de productos químicos y a la vez cuidamos el medio ambiente.

CAPÍTULO VI

LITERATURA CITADA

- Andina, 2013. Planeamiento estratégico de las flores. Pontificia Universidad Católica del Perú, Tesis Grado de Magister en Administración Estratégica de Empresas. Perú. 45 p.
- Acosta, J. 2006. Evaluación de Hongos Entomopatógenos como controladores Biológicos de *Scutigerella immaculata*. Tesis Ing. Ciudad de Bogotá, Colombia, Puj. 79 p.
- Ives, B. 1996. Hongos entomopatógenos. Edición ALVES. Piracicaba, Colombia. 381 p.
- Alexopoulos, C; Mims, W. 1979. Introductory Myology. Ed. John Wiley and Sons. New York, Usa. 288 p.
- Aucejo, S; Gómez, A; Jacas-Miret, J. 2014. Effects of NaCl-Stressed Citrus plants on life-history parameters of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Exp Appl Acarol 55-68 p.
- Barron, G. 2015. George Barron`S Website on Fungi. Universidad De Guelph, Ontario, Canada. 35 p
- Berlanga, M; Ayala, M; Gallou, A; Serna, G. 2016. Identificación de *Lecanicillium longisporum* Asociado a *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae), en Sorgo. Rev. Mex. Mic. 51-54 p. Disponible en: [Http://Www.Scielo.Org/Mx/SciELO.Php?Script=Sci_Arttext&Pid=S0187-31802016000200051&Lng=Es](http://Www.Scielo.Org/Mx/SciELO.Php?Script=Sci_Arttext&Pid=S0187-31802016000200051&Lng=Es).
- Carey, J. 1982. Developmental Rates, Vital Schedules, Sex-Ratios, and Life-Tables For *Tetranychus urticae*, *Tetranychus turkestani* And *Tetranychus pacificus* (Acarina: Tetranychidae) on Cotton. Acarol. 333-345 p.
- Cartan, A. 2018 Síntesis de productos naturales y análogos biológicamente activos derivados de *Penicillium brevicompactum*. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, España. 45 p.
- 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 Ing. PUJ. Colombia. 116 p.
- Claydon, N; Grove, J. 2015. Insecticidal Secondary Metabolite Products From the Entomogenous *Verticillium lecanii*. J. Invert. Pathol. 413-418 p.

- Deshpande, M. 2019. Mycopesticide Production by Fermentation: Potential and Challenges. *Crit. Rev. Microbiol.* 229-243 p.
- Duperchy, E. 2016. Identification of Up-Regulated Genes of the Hyphomycete *Beauveria bassiana*, during the infection of leptoaptarsa dicemlineata. Tesis de Doctorado. Universidad de Ruperto-Carola de Heidelberg. Alemania. 111 p.
- García, D. 2015. Evaluación de cuatro extractos en el control de *Tetranychus* Sp (Ácaro), en rosas de exportación en la empresa guanguilqui Agroindustrial S.A. Tesis Ing. Universidad de las Américas. Ecuador. 223 p.
- Guerrero, M. 2015. “Descripción Etológica de la Araña Roja del Cultivo de Rosa (Rosa sp.) en laboratorio. Ceasa, sector salache, Provincia de Cotopaxi 2015.” Tesis Título de Ing. Agronómica. Latacunga, Ecuador. 70 p.
- Huanes, J; Wilson, J. 2016. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre adultos y ninfas de *Oligonychus* sp. en condiciones de laboratorio. Issn 2313-3171. Universidad Nacional de Trujillo. La Libertad, Perú. 51-55 p
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), 2015. Protocolos Para Formulación y Aplicación Del Bio-Insumo: *Beauveria bassiana*, HONGO ENTOMOPATÓGENO PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE HORMIGAS CORTADORAS (YSAÚ). Asunción, Paraguay. 28p.
- James Buckner, J; Freeman, T. 2003. Cuticular Lipids and Silverleaf Whitefly Stage Affect Conidial Germination of *Beauveria Bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus*. *J. Invert. Pathol.* 67-74 p.
- Jiménez, S; Hernández, J; Nuñez, H; Arriola, L; Y Ángel, C .2016. Evaluación de la efectividad de cepas nativas del estado de guanajuato de *Metarhizium Anisopliae* sobre la Araña Roja (*Tetranychus Urticae*, Koch). *Entomología Mexicana*. México. 310-314 p.
- Krugg, W; Alayo, E. 2015. Efecto de *Lecanicillium lecanii* y *Beauveria bassiana* sobre el Ácaro *Panonychus citri* en condicione de laboratorio. Universidad Nacional De Trujillo. La Libertad, Perú. 42 - 50 p.
- Monzón, A. 2001. Producción uso y control de calidad de Hongos Entomopatógenos en Nicaragua. Manejo Integral de Plagas. Catie, Costa Rica. 95 -10 p.
- Quiroz, W. 2015. Evaluación del comportamiento del botón de la variedad de rosa (*Rosa* sp), utilizando cinco colores de capuchón en finca Florícola Manuela Tabacundo. Quito, Ecuador. 34-45 p.
- Poliane, S. 2017. Gestión Integrada de la Araña Roja *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae): Optimización de su control biológico en *Clementinos*, Tesis Doctoral. Universidad Politécnica De Valencia. 140 p.

- Pucheta, M; Flores, A; y Rodríguez, S. 2018. Mecanismo de Acción de Hongos Entomopatígeno. Caracas, Venezuela. 25 p.
- Rehner, S; Buckley, E. 2018. Isolation And Characterization Of Microsatellite Loci From The Entomopathogenic Fungus *Beauveria Bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Molecular Ecology Notes*.409 - 411 p.
- Reséndiz, B; Castillo, O. 2018. Biología del ácaro de dos manchas *Tetranychus urticae* Rkoch. (Acari: Tetranychidae) en laboratorio en Chapingo, estado de México. *Entomología mexicana*. 40-45 p.
- Scholte, E; J. B.G.J, Knols; R. A, Samson; W, Takken. 2004. Entomopathogenic fungi for mosquito control: A review. *Journal of insect Science*. 24 p.
- Tanada, Y; Kaya, Y. 2015. *Insect Pathology*. Academic Press. San Diego, California, Usa. 215 p.
- Telle.A.2019. Biología y aplicación de hongos entomopatígenos. Memorias IV Curso Nacional de Control Biológico. Universidad Nacional de Nueva León. México.36 p.
- Thomas, M. B y Read, A. F. 2007. Can fungal biopesticides control malaria *Nature Microbiology Reviews* 5: 377 - 383.
- Valdés, B; Vélez, P; Y Montoya, E. 2019. Caracterización enzimática y patogenicidad de aislamientos de *Beauveria bassiana* sobre la Broca del Café.106-118 p.
- Yong, A. 2004. El Cultivo del Rosal y su Propagación. *Cultivos Tropicales del Departamento de Fitotecnia*.139-16 p.
- Zare, R; Gams, W. 2015. A Revision of *Verticillium* Section *Prostrata*. Iv. The Genera *Lecanicillium* and *Simplicillium* Gen.1-50 p.
- Castillo C. et al. 2011. Caracterización morfológica de *Beauveria Bassiana*, aislada de diferentes insectos en Trujillo – Venezuela , Universidad de los Andes

ANEXOS



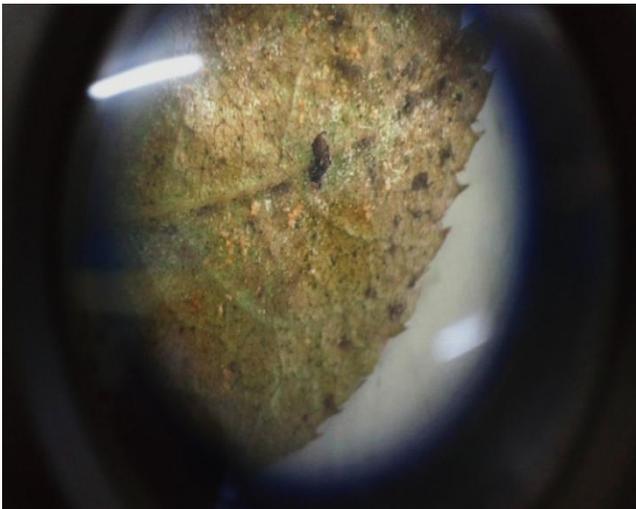
Fotografía 1. Planta de rosal infestada por *Tetranychus* sp.



Fotografía 2. Preparación de los entomopatógenos con los protocolos de bioseguridad.



Fotografía 3. Colecta de las muestras para análisis en el laboratorio.



(4a)

Fotografía 4a.- Se observa en la muestra 1 a *Tetranychus* sp. después de la aplicación de los entomopatógenos.



(4b)

Fotografía 4b.- En la muestra 2 se evidencia la infestación de *Lecanicillium lecanii* en el ácaro *Tetranychus* sp



Fotografía 5. Identificación de las muestras en el laboratorio de entomología

Datos Meteorológicos:

FECHA	Temperatura (°C)	Humedad (%)	Precipitación(mm)
24/04/2018	14.3	73.8	4.8
09/05/2018	15.1	76.2	1.9
25/05/2018	13.4	55.9	0.0
10/06/2018	13.7	52.7	0.0
26/06/2018	13.1	50.5	0.0
11/07/2018	14.2	56.3	0.0

Fuente: SENAMHI / DRD - 2018

GLOSARIO

Micosis: enfermedad causada por un hongo.

Apresorio: Estructura adhesiva, achatada, a partir de la cual se origina una hifa afilada que rompe la cutícula de una célula epidérmica del huésped por punción.

Hongo: grupo de organismos eucariotas entre los que se encuentran los mohos, las levaduras y los organismos productores de setas.

Conidio: esporas asexuales que a menudo están pigmentadas y son resistentes a la desecación, sirven para dispersar al hongo hacia nuevos hábitats.

Tubo germinativo: extensión filamentosa, que transporta esporas de un hongo.

Entomopatógeno: se refiere al microorganismo que es capaz de causar una enfermedad al insecto plaga.

Enzima: proteínas complejas que producen un cambio químico específico en todas las partes del cuerpo.

Hifa: unidades estructurales de la mayoría de los hongos, sobre todo en los filamentos, que en su conjunto recibe el nombre de micelio.

Hemocele: Cavidad no revestida de peritoneo llena de sangre o hemolinfa característica de muchos invertebrados.