

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA  
SEDE QUITO**

**CARRERA:  
INGENIERÍA AMBIENTAL**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:  
INGENIERA AMBIENTAL**

**TEMA:  
EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD Y SOBREVIVENCIA DE ESPORAS  
DE TRICHODERMA ASPERELLUM Y PURPUREOCILLIUM LILACINUM  
EN CUATRO TIPOS DE BIOFORMULACIONES**

**AUTORA:  
JOHANNA ELIZABETH BERMEO BONILLA**

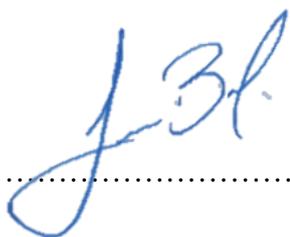
**TUTOR:  
FREDDY VICENTE CUARÁN SARZOSA**

**Quito, agosto del 2017**

## Cesión de derechos de autor

Yo Johanna Elizabeth Bermeo Bonilla con documento de identificación N° 0202103891, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajo de titulación intitulado: EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD Y SOBREVIVENCIA DE ESPORAS DE TRICHODERMA ASPERELLUM Y PURPUREOCILLIUM LILACINUM EN CUATRO TIPOS DE BIOFORMULACIONES, mismo que ha sido desarrollado para la obtención del título de: Ingeniera Ambiental, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autora me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.



.....

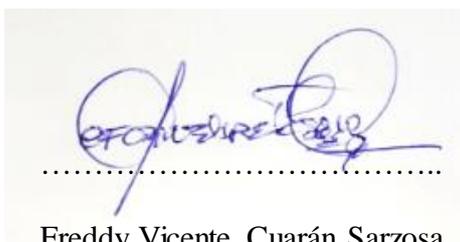
Johanna Elizabeth Bermeo Bonilla

0202103891

Agosto del 2017

### **Declaratoria de coautoría del docente tutor**

Yo, declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación  
EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD Y SOBREVIVENCIA DE ESPORAS DE  
TRICHODERMA ASPERELLUM Y PURPUREOCILLIUM LILACINUM EN  
CUATRO TIPOS DE BIOFORMULACIONES realizado por Johanna Elizabeth  
Bermeo Bonilla, obteniendo un producto que cumple con los requisitos estipulados  
por la Universidad Politécnica Salesiana para ser considerado como trabajo final de  
titulación.



Freddy Vicente Cuarán Sarzosa

1002477188

Quito, agosto 2017

## **DEDICATORIA**

El presente proyecto de titulación se lo dedico en primer lugar a Dios, quien supo darme la fuerza, valentía y entereza para seguir adelante, por no dejarme caer ante las adversidades que se presentaron en este camino y por permitirme cumplir una meta más.

A mis padres Oswaldo y Judith, por su sacrificio y esfuerzo para darme una profesión, aunque hemos pasado momentos difíciles siempre han sido mi apoyo e inspiración para poder superarme cada vez más, a mis hermanos y cuñadas por creer en mi capacidad y darme el apoyo moral cuando lo necesité.

A mis amigos y personas especiales en mi vida con quienes compartimos conocimiento, alegrías y tristezas, quienes durante esta etapa estuvieron a mi lado apoyándome para que este sueño se haga realidad.

**Johanna Bermeo B.**

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar quiero agradecer al Ing. Francisco Báez e Ing. Freddy Cuarán por aportar con sus conocimientos, criterio y orientaciones que han sido fundamentales para mi formación como profesional.

Al Ing. William Viera por su motivación y persistencia, quien ha inculcado en mí un sentido de seriedad y responsabilidad.

Al Ing. Trevor Jackson y el programa Ag- Research Nueva Zelanda por el financiamiento para la realización de esta investigación. Ha sido un privilegio poder contar con su ayuda.

Gracias al equipo de profesionales del INIAP, sin cuya colaboración este trabajo hubiese sido menos rico y entretenido. A su manera, cada uno ha sido capaz de ganarse mi admiración por todo el apoyo recibido durante el tiempo que ha durado este trabajo experimental.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>esp:</b>	Esporas
<b>FAO:</b>	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
<b>GC:</b>	Formulación en Gránulos Cubiertos
<b>gl:</b>	Grados de libertad
<b>GS:</b>	Formulación en Gránulos Solubles
<b>IFOAM:</b>	Federación Internacional de Movimientos de Agricultura Orgánica
<b>INEC:</b>	Instituto Nacional de Estadísticas y Censos
<b>INIAP:</b>	Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias
<b>FL:</b>	Formulación en Líquida
<b>MAGAP:</b>	Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca
<b>OMS:</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>PM:</b>	Formulación en Polvos Mojables
<b>UFC:</b>	Unidades Formadoras de Colonias
<b>USD:</b>	Dólar Estadounidense
<b>μl:</b>	Microlitro

## ÍNDICE

### CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN .....	1
--------------------	---

### CAPÍTULO II

2. OBJETIVOS.....	4
-------------------	---

2.1. Objetivo General .....	4
-----------------------------	---

2.2. Objetivos Específicos .....	4
----------------------------------	---

### CAPÍTULO III

3. MARCO TEÓRICO .....	5
------------------------	---

3.1. Definiciones.....	5
------------------------	---

3.2. Composición de las formulaciones.....	6
--	---

3.3. Tipos de formulaciones .....	6
-----------------------------------	---

3.4. Características de <i>T. asperellum</i> .....	9
--	---

3.5. Características de <i>P. lilacinum</i> .....	9
---	---

### CAPÍTULO IV

4. MATERIALES Y MÉTODOS .....	10
-------------------------------	----

4.2. Métodos .....	10
--------------------	----

4.2.1. Producción de microorganismos .....	11
--	----

4.2.2. Elaboración de bioformulaciones.....	13
---	----

4.2.3. Evaluación de la concentración del microorganismo .....	17
--	----

4.2.4. Evaluación de la viabilidad del microorganismo .....	19
---	----

4.2.5. Evaluación de la pureza del bioformulado.....	20
4.2.6. Análisis económico de bioformulaciones .....	20
4.3. Diseño experimental .....	21
CAPÍTULO V	
5. RESULTADOS Y DISCUSION.....	24
5.1. Viabilidad del microorganismo en la formulación .....	24
5.2. Concentración del microorganismo en la formulación .....	35
5.3. Pureza de la formulación .....	40
5.4. Análisis de Costos en la producción de bioformulaciones .....	49
CAPÍTULO VI	
6.1. CONCLUSIONES .....	58
6.2. RECOMENDACIONES .....	59
CAPÍTULO VII	
7. BIBLIOGRAFÍA.....	60
CAPÍTULO VIII	
8. ANEXOS .....	68

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Descripción de la clasificación taxonómica de los microorganismos <i>T. asperellum</i> y <i>P. lilacinum</i> .....	8
Figura 2. Disposición de los tamices para la cosecha de esporas de <i>T. asperellum</i> y <i>P. lilacinum</i> .....	12
Figura 3. Recuento de esporas en rejillas de la cámara Neubauer. ....	18
Figura 4. Resultados de la viabilidad en el día 1 .....	25
Figura 5. Resultados de la viabilidad en el día 15.....	27
Figura 6. Resultados de la viabilidad en el día 30.....	29
Figura 7. Resultados de la viabilidad en el día 45.....	31
Figura 8. Resultados de la viabilidad en el día 60.....	33
Figura 9. Resultados de la concentración en el día 30 .....	37
Figura 10. Resultados de la concentración en el día 60 .....	39
Figura 11. Resultados de la pureza en el día 1 .....	42
Figura 12. Resultados de la pureza en el día 15 .....	43
Figura 13. Resultados de la pureza en el día 30 .....	45
Figura 14. Resultados de la pureza en el día 45 .....	46
Figura 15. Resultados de la pureza en el día 60 .....	48
Figura 16. Resultados obtenidos de Costos Directos para cada tipo de formulación.	55
Figura 17. Resultados obtenidos de Costos Indirectos para cada tipo de formulación. .....	55
Figura 18. Resultados obtenidos de Costos Totales para cada tipo de formulación. .	56

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Materiales, equipos y reactivos para elaborar formulaciones .....	10
Tabla 2 Composición de bioformulación en gránulos solubles .....	14
Tabla 3 Composición de Biometrix para formulación en gránulos cubiertos .....	15
Tabla 4 Composición de bioformulación en gránulos cubiertos .....	16
Tabla 5 Composición de bioformulación en polvos mojables .....	16
Tabla 6 Composición de bioformulación líquida .....	17
Tabla 7 Tratamientos para la evaluación de estabilidad y sobrevivencia .....	23
Tabla 8 ANOVA de la Viabilidad en el día 1 .....	24
Tabla 9 Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 1 por fuente de variación .....	25
Tabla 10 Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 1 en la interacción.....	25
Tabla 11 ANOVA de la Viabilidad en el día 15 .....	26
Tabla 12 Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 15 por fuente de variación .....	27
Tabla 13 Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 15 para la interacción .	27
Tabla 14 ANOVA de la Viabilidad en el día 30 .....	28
Tabla 15 Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 30 por fuente de variación .....	28
Tabla 16 Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 30 para la interacción .	29
Tabla 17 ANOVA de la Viabilidad en el día 45 .....	29
Tabla 18 Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 45 por fuente de variación .....	30
Tabla 19 Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 45 para la interacción .	30
Tabla 20 ANOVA de la Viabilidad en el día 60 .....	31

Tabla 21 Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 60 por fuente de variación .....	32
Tabla 22 Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 60 para la interacción ..	32
Tabla 23 ANOVA de la Concentración en el día 30 .....	36
Tabla 24 Grupos de Significancia de la Concentración en el día 30 por fuente de variación.....	36
Tabla 25 Grupos de Significancia de la Concentración en el día 30 para la interacción .....	36
Tabla 26 ANOVA de la Concentración en el día 60 .....	38
Tabla 27 Grupos de Significancia de la Concentración en el día 60 por fuente de variación.....	38
Tabla 28 Grupos de Significancia de la Concentración en el día 60 para la interacción .....	38
Tabla 29 ANOVA de la Pureza en el día 1 .....	41
Tabla 30 Grupos de Significancia de la Pureza en el día 1 por fuente de variación ..	41
Tabla 31 Grupos de Significancia de la Pureza en el día 1 en la interacción.....	41
Tabla 32 ANOVA de la Pureza en el día 15 .....	42
Tabla 33 Grupos de Significancia de la Pureza en el día 15 en la interacción.....	43
Tabla 34 ANOVA de la Pureza en el día 30 .....	43
Tabla 35 Grupos de Significancia de la Pureza en el día 30 por fuente de variación	44
Tabla 36 Grupos de Significancia de la Pureza en el día 30 para la interacción .....	44
Tabla 37 ANOVA de la Pureza en el día 45 .....	45
Tabla 38 Grupos de Significancia de la Pureza en el día 45 por fuente de variación	46
Tabla 39 Grupos de Significancia de la Pureza en el día 45 para la interacción .....	46
Tabla 40 ANOVA de la Pureza en el día 60 .....	47

Tabla 41 Grupos de Significancia de la Pureza en el día 60 por fuente de variación	47
Tabla 42 Grupos de Significancia de la Pureza en el día 60 para la interacción	48
Tabla 43 Equipos para la elaboración de bioformulación en gránulos solubles y cubiertos	49
Tabla 44 Equipos para la elaboración de bioformulación en polvos mojables	50
Tabla 45 Equipos para la elaboración de bioformulación líquida	50
Tabla 46 Costo de insumos generales	51
Tabla 47 Costo de insumos específicos	51
Tabla 48 Costo de reactivos	52
Tabla 49 Costo por uso de materiales comunes en la elaboración de bioformulaciones	52
Tabla 50 Costo por uso de materiales específicos	52
Tabla 51 Costo de mano de obra directa e indirecta	53
Tabla 52 Costos Indirectos para la elaboración de bioformulaciones	53
Tabla 53 Costos Totales en la elaboración de bioformulados	54

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Muestra de datos de viabilidad. ....	68
Anexo 2. Muestra de datos de concentración.....	69
Anexo 3. Muestra de datos de pureza. ....	70
Anexo 4. Muestra de siembra para evaluar la viabilidad y pureza del formulado con <i>T. asperellum</i> . ....	71
Anexo 5. Muestra de siembra para evaluar la viabilidad y pureza del formulado con <i>P. lilacinum</i> . ....	71
Anexo 6. Sustrato de arroz inoculado con <i>P. lilacinum</i> .....	72
Anexo 7. Formación de pellets para la formulación en gránulos solubles. ....	72
Anexo 8. Almacenamiento del ingrediente activo para formulaciones .....	73
Anexo 9. Almacenamiento de formulaciones sólidas. ....	73
Anexo 10. Productos comerciales con <i>T. asperellum</i> y <i>P. lilacinum</i> .....	74
Anexo 11. Ficha Técnica TUSAL .....	75
Anexo 12. Ficha Técnica de MICOSPLAG WP .....	76
Anexo 13. Ficha Técnica LILACINOL .....	77
Anexo 14. Ficha Técnica de AMINO T .....	78
Anexo 15. Ficha Técnica de BIOPROTECTION TR .....	79
Anexo 16. Ficha Técnica de CHIMAL .....	80

## RESUMEN

Los microorganismos *Trichoderma asperellum* y *Purpureocillium lilacinum* son ampliamente utilizados por los agricultores en el control de nematodos y saneamiento de cultivos. Para que puedan ser aplicados con facilidad y se mantengan sus características de viabilidad se desarrollan formulaciones, que dan una protección adicional a las esporas. En esta investigación se evaluó cuatro tipos de formulaciones de elaboración artesanal: gránulos solubles, gránulos cubiertos, polvos mojables y líquida, utilizando materiales nacionales como zeolita granulada y bentonita. Dentro del estudio se analizó el método de producción masiva de esporas utilizando como sustrato arroz entero, las variables evaluadas para determinar la formulación más viable fueron: concentración del microorganismo, viabilidad del microorganismo, pureza y análisis económico del formulado. Las formulaciones con mejores características fueron polvos mojables y gránulos solubles, obteniendo valores de  $5,62 \times 10^8$  esporas/g,  $1,20 \times 10^8$  UFC/g y pureza superior al 98,04 %. Del análisis económico se concluye que en la producción de todos los tipos de formulaciones, los costos son menores a USD 127,00 para un lote de 4,00 kg de formulación, lo cual hace que sea competitivo frente a otros productos disponibles en el mercado.

## ABSTRACT

The microorganisms *Trichoderma asperellum* and *Purpureocillium lilacinum* are widely used by farmers in nematode control and crop sanitation. In order to be easily applied and their viability characteristics are maintained, formulations are developed, which give additional protection to the spores. In this research four types of handmade formulations were evaluated: soluble granules, covered granules, wettable powders and liquid, using national materials such as granulated zeolite and bentonite. In the study, the method of mass production of spores was analyzed using whole rice as substrate, the variables evaluated to determine the most viable formulation were: microorganism concentration, microorganism viability, purity and economic analysis of the formulation. The formulations with the best characteristics were wettable powders and soluble granules, obtaining values of  $5.62 \times 10^8$  spores / g,  $1.20 \times 10^8$  CFU / g and purity higher than 98.04%. From the economic analysis it is concluded that in the production of all types of formulations, the costs are less than USD 127.00 for a lot of 4.00 kg of formulation, which makes it competitive against other products available in the market.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

La tierra destinada a la actividad agrícola actualmente ocupa el 38% de la superficie terrestre (World Bank, 2017), siendo una de las fuentes de contaminación de agua, suelo y aire. Una de las causas recae en el uso de pesticidas, trayendo consigo problemas no solo para el medio ambiente, sino también para la salud humana (FAO, 2011).

Una de las alternativas para frenar la degradación ocasionada por el uso de productos sintéticos ha sido la capacitación e incentivación en la gestión integrada de plagas, generando grandes beneficios en cuanto al rendimiento de los cultivos (Settle & Garba, 2011) e ingresos para los agricultores. La degradación se da debido a que en ciertos casos el uso de pesticidas es excesivo por la ineficiencia que presentan, teniendo que aplicar una cantidad cada vez mayor, lo cual además de no controlar efectivamente la plaga, hace que los componentes se volatilicen o se acumulen en el suelo o agua como residuos peligrosos persistentes (Singbo, Lansink, & Emvalomatis, 2015).

En Ecuador el 47% de la superficie destinada a la agricultura utiliza algún tipo de pesticida sintético para el manejo de plagas y saneamiento de los cultivos, mientras que el 53% restante lo hace de manera ecológica mediante el uso de productos biológicos u orgánicos (INEC, 2013).

El empleo de hongos entomopatógenos como agentes de control se ha incrementado actualmente por la variedad de mecanismos de acción que estos poseen para el manejo eficaz de diferentes plagas (Téllez-jurado, Guadalupe, Ramírez, & Flores, 2009). Investigaciones han demostrado la efectiva capacidad que presenta *T. asperellum* y *P. lilacinum* para el control de hongos fitopatógenos (Vargas & Ramelli, 2015) y

nematodos en cultivos como plátano (Valencia, Guzmán, Villegas, & Castaño, 2014), tomate (*Solanum lycopersicum*) (Hernández-Ochandía et al., 2015) y papa (Núñez-Camargo, Carrión, Núñez-Sánchez, & López, 2012) debido a la adaptación que estos presentan frente a condiciones ambientales adversas de temperatura, humedad y actividad del agua. Los insumos biológicos constituyen un eje fundamental de la agricultura orgánica, puesto que al incorporar microorganismos vivos como ingrediente activo estos se integran de forma natural al ecosistema evitando así perjudicar al entorno (Fernández & Juncosa, 2002).

Una de las limitantes en Ecuador para utilizar insumos biológicos, es la reducida oferta en cuanto a este tipo de productos. Se conoce que solo el 4% de la superficie cultivada con transitorios (frutas y vegetales), utiliza insumos de tipo orgánico (INEC, 2015); puesto que el proceso de elaboración de bioformulaciones propuesto, no requiere procedimientos complejos y posee una baja inversión en relación a los costos de producción de otros insumos que incorporan hongos entomopatógenos en donde un lote de 60 libras se encuentra valorado aproximadamente en USD 140.366,00 (A. García, 2008). Se busca incrementar la oferta de insumos biológicos y a su vez beneficiar al sector agrícola, principalmente a quienes se dedican a la agricultura orgánica, que América Latina se ha incrementado en un 13% hasta el año 2015 (FiBL & IFOAM, 2017). Entidades como el MAGAP y el INIAP impulsan la creación de sistemas de producción orgánica, a través de la capacitación y asistencia a pequeños y medianos productores en varias comunidades del país.

El presente proyecto se desarrolló en el laboratorio de Control Biológico del Departamento de Protección Vegetal perteneciente a la Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) en el cantón Quito y provincia de Pichincha, con un periodo de ejecución de seis meses.

El planteamiento de la hipótesis para este trabajo experimental se lo realizó de acuerdo al comportamiento de las bioformulaciones (B) en torno a su estabilidad.

Considerándose como:

**H<sub>0</sub>:** B. gránulos solubles = B. gránulos cubiertos = B. polvos mojables = B. líquida

**H<sub>1</sub>:** Al menos un tipo de Bioformulación (B<sub>i</sub>) es diferente de las demás.

## CAPÍTULO II

### 2. OBJETIVOS

En el presente proyecto se han planteado como objetivos los siguientes:

#### 2.1. Objetivo General

Evaluar cuatro tipos de bioformulaciones incorporando esporas de *Trichoderma asperellum* y *Purpureocillium lilacinum* a nivel de laboratorio.

#### 2.2. Objetivos Específicos

- Realizar bioformulaciones incorporando esporas de *Trichoderma asperellum* y *Purpureocillium lilacinum* en presentaciones de gránulos solubles, gránulos cubiertos, polvos mojables y líquidas.
- Evaluar la calidad de cada uno de las bioformulaciones desarrolladas según parámetros establecidos por INIAP.
- Realizar un análisis económico de las bioformulaciones desarrolladas.

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. Definiciones

Se puede definir a la agricultura orgánica como:

Un sistema de producción que sostiene la salud de los suelos, los ecosistemas y las personas. Se basa en procesos ecológicos, biodiversidad y ciclos adaptados a las condiciones locales, en lugar del uso de insumos con efectos adversos. La agricultura orgánica combina la tradición, la innovación y la ciencia para beneficiar el ambiente compartido y promover relaciones justas y una buena calidad de vida para todos los involucrados (IFOAM, 2005).

La agricultura convencional se diferencia de la orgánica en que, en el primer caso los cultivos se los considera como un producto netamente comercial, en donde no se considera los efectos adversos que implica la aplicación de insumos químico o sintéticos y sus efectos sobre el medio ambiente como son la erosión, pérdida de nutrientes y fertilidad. En la agricultura orgánica los cultivos son considerados un producto de la naturaleza, la misma que merece respeto y la aplicación de medidas necesarias para su conservación (Zamilpa, Schwentesius, & Ayala, 2016). Estudios realizados en cafetales han demostrado que este tipo de agricultura ha generado un incremento de hasta el 72% en cuanto a diferencias de producción (Noriega et al., 2014).

Una de las formas de acondicionar los microorganismos para que puedan ser aplicados en campo, conservando e incrementando su eficacia y viabilidad es a través de las formulaciones, las cuales se definen como: “La combinación de varios ingredientes

para hacer que el producto sea útil y eficaz para la finalidad que se pretende y para la forma de aplicación prevista” (FAO & OMS, 2014, p. 4).

### **3.2. Composición de las formulaciones**

Los microorganismos benéficos utilizados en el control de plagas y enfermedades generalmente no son aplicados directamente en el campo, sino que previamente se incorporan otros ingredientes de tal manera que su comercialización y almacenamiento no afecten la eficacia del mismo. Las formulaciones se encuentran constituidas por:

**Ingrediente activo.** También conocido como materia activa o producto técnico, es el componente base de la formulación, pues es el que actúa directamente sobre la plaga o enfermedad, puede ser de tipo orgánico, sintético o biológico. La formulación puede tener uno, dos o más ingredientes activos, dependiendo de la capacidad que esta presente para combinarse (Enginyeria I Consultoria Costa S.L., 2013).

**Ingrediente inerte.** Conocido también como vehículo o carrier, es aquella sustancia o material que se incorpora con el ingrediente activo para modificar las propiedades físicas del mismo, de tal manera que la forma de aplicación se facilite, aunque se los denomina inertes no siempre son inocuos (Martínez & Moreno, 2016).

**Coadyuvantes.** Se los llama también aditivos, estos no interfieren con la eficacia del ingrediente activo, al contrario muchos de ellos la potencian. Permiten regular la acidez, dureza, romper la tensión superficial, entre otras propiedades tanto físicas como químicas. Se los utiliza con el fin de cumplir límites permisibles y facilitar la aplicación (Gerardo García & Tarango, 2009).

### **3.3. Tipos de formulaciones**

Los tipos de formulaciones van a depender de la materia inerte que sea utilizada como soporte (sólido, líquido o gaseoso), entre las que se pueden mencionar:

**Polvo.** Es una formulación sólida que dependiendo de la forma en la que se aplique puede ser de espolvoreo (cuando este es aplicado directamente, sin la necesidad de mezclarlo con algún otro componente), soluble (cuando se le añade un coadyuvante que le permite disolverse con el agua) y mojable (el cual forma una suspensión al mezclarse con agua, la misma que debe mantenerse mediante agitación) (ANASAC Control, 2013; Herzfeld & Sargent, 2008).

**Gránulos.** Es una formulación sólida de mayor tamaño que la de polvo, en donde el ingrediente activo se lo incorpora en partículas sólidas de arcilla o arena, estas pueden ser solubles si necesitan un medio líquido para ser disueltas y aplicarse, o dispersables si se los aplica directamente en el campo. Los gránulos de tipo soluble también se los llama pellets, puesto que para su elaboración se forma una mezcla pastosa, la misma que es extruida a través de un peletizador para obtener la longitud deseada (ANASAC Control, 2013; Herzfeld & Sargent, 2008).

**Concentrados.** Es una formulación líquida, que puede ser emulsificante si el solvente en el cual se soporta (generalmente de tipo oleoso o derivado de petróleo) no es soluble en el agua, por lo cual los coadyuvantes son los que permiten que se forme la emulsión. Como suspensión al contener sustancia no miscibles con el agua se necesita de agitación constante para homogenizar. Este tipo de formulación es de fácil aplicación pero presenta alto riesgo de derrame; como solución, la cual se disuelve fácilmente en el solvente, agua u otro (ANASAC Control, 2013; Herzfeld & Sargent, 2008).

**Fumigantes.** Se presentan en forma de gas a una temperatura superior a 5°C, puede ser un gas directamente o un líquido sometido a alta presión, su mecanismo de acción generalmente es por inhalación en insectos (Rogg, 2000).

El tipo de formulación a elegir dependerá de la forma de aplicación que se requiera en campo, además del tipo de microorganismo que se busque incorporar al mismo, ya que los requerimientos variarán dependiendo de cada microorganismo y por ende la concentración final en la formulación. Una fracción de organismos entomopatógenos se encuentran en la división Ascomycota (Shah & Pell, 2003) a donde pertenecen tanto *T. asperellum* como *P. lilacinum* siendo estos ampliamente utilizados como una alternativa para el manejo preventivo de diferentes plagas. Algunas de las ventajas que presentan estos microorganismos se debe a su elevada capacidad reproductiva, habilidad de sobrevivir bajo condiciones desfavorables (temperatura y alcalinidad), eficiencia en la utilización de nutrientes, agresividad frente a organismos fitopatógenos (Santamarina, García, & Rosello, 2005) e induciendo la síntesis de proteínas de defensa en la planta (EPA Office of Pesticide Programs, 2011). La clasificación taxonómica de estos microorganismos se puede apreciar en la Figura 1.

<b>CLASIFICACION TAXONOMICA</b>		
<b>Reino</b>	Fungi	Fungi
<b>División</b>	Ascomycota	Ascomycota
<b>Subdivisión</b>	Pezizomycotina	Pezizomycotina
<b>Clase</b>	Sordariomycetes	Sordariomycetes
<b>Orden</b>	Hypocreales	Hypocreales
<b>Familia</b>	Hypocreaceae	Ophiocordycipitaceae
<b>Género</b>	Trichoderma	Purpureocillium
<b>Especie</b>	<i>T. asperellum</i>	<i>P. lilacinum</i>

Figura 1. Descripción de la clasificación taxonómica de los microorganismos *T. asperellum* y *P. lilacinum*.

Fuente: Samuels, Lieckfeldt, & Nirenberg, (1999); Luangsa-ard et al., (2011)

### **3.4. Características de *T. asperellum***

Se han encontrado altas concentraciones (49%) de la especie *T. asperellum* en muestras de suelo tomadas en la Región Andina tanto de Colombia como de Ecuador (Hoyos, Orduz, & Bissett, 2009), aunque también se lo aísla frecuentemente de plantas tropicales (Druzhinina et al, citado por Hoyos, Orduz & Bissett, 2009), lo cual indica que es capaz de adaptarse a condiciones ambientales variables, siendo la temperatura óptima para su crecimiento entre 25 y 30 °C (Guigón et al., 2010). Este hongo antagonista actúa como agente de control mediante la degradación de la pared celular del patógeno debido a las enzimas hidrolíticas que posee, siendo una de ellas la b-N-acetil-D-glucosaminidasa (Chet, Ramot, Viterbo, Friesem, & Oppenheim, 2003). Es el enemigo natural de una serie de enfermedades, entre las que se puede mencionar aquellas causadas por *Rhizoctonia solani* y *Botrytis cinerea* (Guigón et al., 2010)

### **3.5. Características de *P. lilacinum***

*P. lilacinum* es utilizado como un agente de control de nematodos como los del género *Meloidogyne spp* (Lamovšek, Urek, & Trdan, 2013), insectos (Waqas et al., 2012) y algunos artrópodos (Angelo et al., 2012). Este microorganismo puede ser aislado de diferentes sustratos como suelos, árboles, raíces, pastos, cultivos, nematodos e insectos (Luangsa-ard et al., 2011), tiene la capacidad de sobrevivir a temperaturas de hasta 60°C y pH 11 (Cavello, Hours, & Cavalitto, 2012), siendo la temperatura óptima entre 26 y 30 °C (Banu, Iyer, & Gunasekaran, 2006). El mecanismo de acción de este hongo saprófito se da por los “conjuntos de genes que codifican para G-protein Coupled Receptors (GPCRs), proteasas, glucósido hidrolasas y esterasas de hidratos de carbono que se requieren para la degradación de componentes de la cubierta de los huevos de nematodos” (Prasad, Varshney, & Adholeya, 2015).

## CAPÍTULO IV

### 4. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 4.1. Materiales

A continuación se detallan los equipos, materiales y reactivos utilizados para la realización del presente proyecto:

**Tabla 1**

*Materiales, equipos y reactivos para elaborar formulaciones.*

<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>
• Cajas Petri	• Autoclave	• Zeolita
• Cámara Neubauer	• Balanza analítica	• Aceite de parafina
• Ligas de caucho	• Cámara de flujo laminar	• Goma Xanthan
• Papel aluminio	• Cámara fotográfica	• Ácido láctico
• Tubos de ensayo	• Incubadora	• Almidón de yuca
• Peletizador	• Microscopio	• Bentonita
• Bisturí	• Refrigeradora	• Alcohol antiséptico y potable
• Pipetas graduadas de 100 y 1000 ul	• Agitador de laboratorio	• Talco simple
• Vasos de precipitación 500, 250 y 100 mL	• Vortex	• Agua destilada
• Probeta de 100 y 1000 mL		• Agar de papa y dextrosa (PDA)
• Matraz aforado de 250 y 500 mL		• Tritón 100x
• Asas Digralsky		
• Cubreobjetos		
• Espátula		
• Fundas de aluminio y plásticas		
• Frascos estériles para urocultivo		
• Arroz entero		

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

#### 4.2. Métodos

A continuación se detalla la metodología para obtener el ingrediente activo para las formulaciones con las esporas de *T. asperellum* y de *P. lilacinum*, además del procedimiento para la elaboración de las formulaciones propuestas.

#### **4.2.1. Producción de microorganismos**

Para la obtención de las esporas de *T. asperellum* como de *P. lilacinum* se utilizó la metodología descrita por Monzón, 2001. A partir de un cultivo puro se procedió a inocular en cajas Petri que contenían medio de cultivo PDA, posteriormente fueron incubadas a una temperatura de 28°C durante 8 días. Una vez retiradas de la incubadora las cajas Petri fueron colocadas en estanterías para que esporule el microorganismo. Para la producción se utilizó como sustrato arroz entero: se pesó 100 g por cada funda plástica de 15 x 25 cm, se humedeció al 20% con agua destilada y se grapó la parte superior, de tal manera que la funda quedase cerrada. Las fundas fueron esterilizadas en el autoclave durante 15 min a 121 °C, después fueron retiradas y se removió el arroz sin sacarlo de la funda, de tal manera que no existieran aglomeraciones de los granos, esto permitió que el hongo crezca de forma homogénea en todo el sustrato.

Para realizar la inoculación se preparó una suspensión de inóculo a partir del cultivo puro contenido en cajas Petri. En una de las cajas se colocó 1000 µl de agua con Tritón al 0.001% y se procedió al raspado de forma cuidadosa y superficial (evitando romper el medio de cultivo) utilizando una espátula pequeña, de esta manera se obtuvo el caldo madre, que fue depositado en un vaso de precipitación y se aforó hasta 40 ml con solución de agua con Tritón al 0.001%. La inoculación se la realizó utilizando una jeringa estéril de 10 ml. Con un bisturí estéril se hizo un corte vertical en la funda de aproximadamente 2 cm y se procedió a colocar 10 ml del caldo madre por cada funda que contenía 100 g de arroz entero. Se selló con cinta masking, se removió para distribuir el inóculo uniformemente y se etiquetó.

Una vez inoculadas, las fundas fueron colocadas en la incubadora a una temperatura entre a 28 °C, por 8 días. Para la etapa de secado, el arroz contenido en las fundas

plásticas fue transferido a fundas de papel de 15 x 30 cm, las mismas que fueron selladas con grapas y colocadas en sentido horizontal, de tal manera que el papel absorbiera la mayor cantidad de humedad posible contenida en el arroz. Las fundas se dejaron secar a temperatura ambiente (15 °C aproximadamente) por 15 días. Transcurrido este lapso se comprobó que el hongo estaba listo para cosechar debido a que al frotar el arroz con los dedos, las esporas se desprendían fácilmente en forma de polvo. Para realizar la cosecha se utilizaron tamices de número mesh 325, 200 y 150 dispuestos uno sobre otro en un agitador eléctrico de forma descendente, siendo el primer tamiz el correspondiente al número mesh 150 como se muestra en la Figura 2. El contenido de las fundas de papel fue colocado en el tamiz superior, dejándolo en agitación por 8 horas en donde se separó el polvo de los granos de arroz quedando las esporas retenidas en el tamiz de número mesh 325, las cuales fueron recolectadas y colocadas en fundas plásticas sin sellar. Las fundas que contenían la espora seca fueron almacenadas en un desecador, para posteriormente evaluar la concentración e incorporarlas en las formulaciones. Por cada 100 g de arroz inoculado se obtuvieron aproximadamente 30 g de espora en polvo.



#### **4.2.2. Elaboración de bioformulaciones**

La metodología utilizada para la elaboración de las bioformulaciones ha sido propuesta por el Programa Ag-Research de Nueva Zelanda y adaptada por el Laboratorio de Control Biológico perteneciente al Departamento Nacional de Protección Vegetal del INIAP.

##### **4.2.2.1. Bioformulación en Gránulos Solubles**

Para el caso de *T. asperellum* la elaboración de la bioformulación en gránulos solubles se realizó a partir de una solución de caldo madre, obtenido mediante el lavado del sustrato de arroz que contenía las esporas del microorganismo, con una solución de agua con Tritón al 0,001%, hasta alcanzar una concentración de  $1,04 \times 10^9$  esporas/ml de caldo madre. Mientras que para *P. lilacinum* el caldo madre se lo obtuvo mediante la adición de 113,29 g de espora seca (cosechada) a un volumen de 704,75 ml de agua con Tritón al 0,001%, alcanzando una concentración de  $2,59 \times 10^9$  esporas/ml de caldo madre.

Para la elaboración de esta formulación se procedió a desinfectar con alcohol antiséptico un *tupper*, en el cual se colocó bentonita y talco en una proporción 1:1 (p/p), estos polvos fueron mezclados con una espátula hasta que la mezcla presentara un color café claro uniforme, a continuación se agregó 66,25 g de almidón de yuca y se volvió a mezclar, hasta obtener nuevamente un color homogéneo. La mezcla de polvos (bentonita, talco y almidón de yuca) fueron colocados en una bandeja plástica desinfectada, en donde se procedió a añadir el caldo madre progresivamente en un volumen de 50 ml cada vez, esta mezcla se fue amasando de forma manual, hasta obtener una masa maleable, las cantidades pueden observarse en la Tabla 2. La masa fue colocada en un peletizador manual y mediante extrusión se dio la forma de los gránulos, los mismos que fueron colocados en bandejas plásticas y se los dejó secar a

temperatura ambiente (15 °C aproximadamente) por un lapso de 5 días, donde una vez secos fueron dispensados en fundas de aluminio con cierre hermético y se los almacenó en estanterías metálicas a temperatura ambiente.

**Tabla 2**

*Composición de bioformulación en gránulos solubles*

Componente	Unidad	Cantidad	Porcentaje (%)
<i>T. asperellum</i>			
Caldo madre	ml	703,75	43,31
Almidón de yuca	g	66,25	4,08
Bentonita: talco (1:1)	g	855,00	52,62
<b>Total</b>	<b>g</b>	<b>1625,00</b>	<b>100,00</b>
<i>P. lilacinum</i>			
Caldo madre	ml	500,00	35,18
Almidón de yuca	g	66,25	4,66
Bentonita: talco (1:1)	g	855,00	60,16
<b>Total</b>	<b>g</b>	<b>1421,25</b>	<b>100,00</b>

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

#### 4.2.2.2. Bioformulación en Gránulos Cubiertos

Para obtener esta formulación primero se elaboró Biometrix, el cual genera una consistencia coloidal en el caldo madre, favoreciendo la adhesión y absorción de las esporas al mineral usado como sustrato. El Biometrix se lo obtuvo mezclando con una espátula goma Xanthan y aceite de parafina, hasta obtener una mezcla pastosa a la cual se le adicionó el caldo madre que contenía esporas del microorganismo en cuestión, como se observa en la Tabla 3.

**Tabla 3***Composición de Biometrix para formulación en gránulos cubiertos*

<b>Componente</b>	<b>Unidad</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
<i>T. asperellum</i>			
Goma Xanthan	g	2,55	4,00
Aceite de parafina	ml	2,55	4,00
Caldo Madre	ml	58,62	92,00
<b>Total</b>	<b>ml</b>	<b>63,72</b>	<b>100,00</b>
<i>P. lilacinum</i>			
Goma Xanthan	g	2,55	4,00
Aceite de parafina	ml	2,55	4,00
Caldo Madre	ml	58,62	92,00
<b>Total</b>	<b>ml</b>	<b>103,72</b>	<b>100,00</b>

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

En un *tupper* desinfectado y seco se colocó zeolita, a la cual se le agregó progresivamente Biometrix en una cantidad de 10 ml cada vez, la misma que se mezcló enérgicamente, de tal manera que no existiesen grumos y se absorbiera por completo la sustancia coloidal. En otro *tupper* se colocó el aglutinante y diluyente sólido (bentonita y talco) en una proporción 1:1 (p/p), se revolió utilizando una espátula hasta obtener una mezcla homogénea, a la cual se le adicionó una porción extra de talco para evitar la permeabilidad, una vez homogenizada la mezcla de polvos (bentonita: talco y talco), se colocaron sobre la zeolita hasta cubrirla por completo, de tal manera que cada grano de zeolita quedase sellado por el polvo. Los gránulos fueron extendidos en bandejas plásticas para el secado, el mismo que fue a temperatura ambiente (15 °C aproximadamente) por tres días, una vez transcurrido este tiempo la formulación fue dispensada en fundas de aluminio con cierre hermético y se las colocó en estanterías metálicas para su almacenamiento a temperatura ambiente, tal como se muestra en la Tabla 4.

**Tabla 4***Composición de bioformulación en gránulos cubiertos*

Componente	Unidad	Cantidad	Porcentaje (%)
<i>T. asperellum</i>			
Biometrix	ml	127,44	11,30
Zeolita	g	849,61	75,36
Bentonita: talco (1:1)	g	62,63	5,56
Talco	g	87,76	7,78
<b>Total</b>	<b>g</b>	<b>1127,44</b>	<b>100,00</b>
<i>P. lilacinum</i>			
Biometrix	ml	63,72	11,30
Zeolita	g	424,81	75,36
Bentonita: talco (1:1)	g	31,32	5,56
Talco	g	43,88	7,78
<b>Total</b>	<b>g</b>	<b>563,73</b>	<b>100,00</b>

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**4.2.2.3. Bioformulación en Polvos Mojables**

Para obtener esta formulación se adicionó una parte de bentonita y otra de talco, en una proporción 1:1 (p/p), hasta obtener un color uniforme en la mezcla, posteriormente se incorporó la porción de almidón de yuca indicada en la Tabla 5 para cada microorganismo y se mezcló para homogenizar, a continuación se colocó la espora seca cosechada y utilizando una espátula, se revolvió energicamente para homogenizar toda la formulación. Inmediatamente se dispensó en fundas de aluminio con cierre hermético, para su almacenamiento en estanterías metálicas a temperatura ambiente (15°C aproximadamente).

**Tabla 5***Composición de bioformulación en polvos mojables*

Componente	Unidad	Cantidad	Porcentaje (%)
<i>T. asperellum</i>			
Espora seca	g	22,63	3,02
Almidón de yuca	g	53,25	7,10
Bentonita: talco (1:1)	g	674,18	89,88
<b>Total</b>	<b>g</b>	<b>750,06</b>	<b>100,00</b>
<i>P. lilacinum</i>			
Espora seca	g	150,00	10,00
Almidón de yuca	g	106,50	7,10
Bentonita: talco (1:1)	g	1243,50	82,90
<b>Total</b>	<b>g</b>	<b>1500,00</b>	<b>100,00</b>

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

#### 4.2.2.4. Bioformulación Líquida

Para obtener esta formulación se incorporó en un matraz una fracción de aceite de parafina y otra de Tritón 100x, el matraz fue tapado con papel aluminio y colocado en un agitador orbital de laboratorio a 100 rpm por 3 minutos, a continuación se adicionó la espora seca y se colocó nuevamente en el agitador a 150 rpm por 30 minutos. Las cantidades indicadas en la Tabla 6 fueron divididas en cuatro fracciones, de tal manera que la concentración de esporas en la solución sea homogénea. Una vez obtenidas las cuatro matraces con la formulación, el contenido de estas fue colocado en un solo matraz de mayor capacidad, el mismo que se lo colocó nuevamente en el agitador a 200 rpm por 15 minutos. Inmediatamente se dispuso la formulación en recipientes estériles de plástico con tapa y se los dispuso en un refrigerador para su almacenamiento a una temperatura de 6 °C aproximadamente, como se muestra en la Tabla 6.

**Tabla 6**

*Composición de bioformulación líquida*

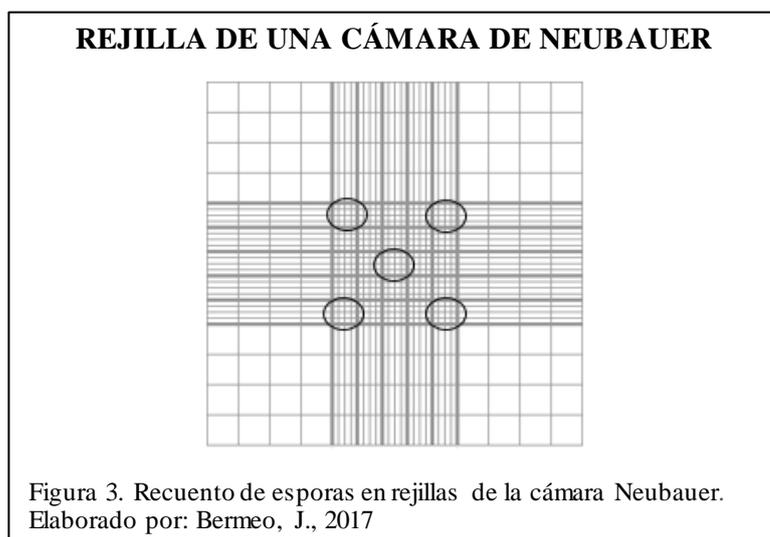
Componente	Unidad	Cantidad	Porcentaje (%)
<i>T. asperellum</i>			
Espora seca	g	5,00	0,25
Aceite de parafina	ml	1985,00	99,25
Tritón 100x	ml	10,00	0,50
<b>Total</b>	<b>ml</b>	<b>2000,00</b>	<b>100,00</b>
<i>P. lilacinum</i>			
Espora seca	g	49,02	2,45
Aceite de parafina	ml	1850,98	92,55
Tritón 100x	ml	100,00	5,00
<b>Total</b>	<b>ml</b>	<b>2000,00</b>	<b>100,00</b>

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

#### 4.2.3. Evaluación de la concentración del microorganismo

La metodología utilizada para la obtención de esta variable es el recuento microscópico en Cámara de Neubauer. Se preparó la muestra, para lo cual en un tubo de ensayo se colocó 9 ml de agua con Tritón al 0.001 % y 1 g de formulación sólida o 1 ml de

formulación líquida, posteriormente se agitó en el vortex a velocidad máxima por 1 minuto, a partir de esta solución se realizaron diluciones seriadas de base 10 desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-3}$ , de tal manera que la cantidad de esporas contadas den un resultado fiable de la concentración, puesto que a mayor concentración la lectura se dificulta. Se colocó el cubre objetos sobre la cámara de Neubauer en una superficie plana y con la ayuda de una micropipeta se tomaron 20  $\mu$ l de la muestra los cuales fueron depositados en uno de los extremos de la cámara permitiendo que esta se llene por capilaridad, observando que no aparezcan burbujas en el cubreobjetos. Se colocó la cámara de Neubauer en la bandeja del microscopio y se la fijó con la pinza, se enfocó el microscopio con el lente 40x hasta observar de forma nítida las esporas, el recuento se lo realizó en 5 cuadros como se observa en la Figura 3, considerando las esporas que se encontraren dentro del cuadro y descartando aquellas que tocaran los límites inferior y derecho, se repitió el procedimiento en la otra cámara y en total se realizaron 10 observaciones por muestra.



Las evaluaciones realizadas con respecto a esta variable consistieron en 3 periodos de 30 días cada uno, en donde la primera evaluación correspondió al día de empaquetado o envasado del producto, la segunda a los 30 días y la tercera a los 60 días, estos valores

se los expresó en esporas/g o esporas/ml, cuyo cálculo se realizó utilizando la siguiente fórmula (Bastidas, n.d.):

$$\text{Esporas/g} = (\# \text{ total de esporas en 10 celdas/10}) \times \text{Factor de cámara Neubauer} \times \text{Factor de dilución.}$$

Los datos obtenidos fueron registrados en una hoja dinámica de Excel.

#### **4.2.4. Evaluación de la viabilidad del microorganismo**

La viabilidad del microorganismo fue determinada utilizando el método de recuento en placa. Primero se pesó 1 g de formulación sólida o 1 ml de formulación líquida. Dentro de la cámara de flujo laminar se colocó la muestra de formulación en un tubo de ensayo al cual se agregó 9 ml de agua esterilizada con Tritón al 0.001%, se agitó en el Vortex por 1 minuto y se realizaron diluciones seriadas de base 10 desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-6}$ . Se rotularon tres placas (una para cada dilución) con medio de cultivo compuesto por PDA, Tritón al 0.001% y antibiótico, en las cuales se sembró 100 µl de inóculo (por placa) de las diluciones  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$ , mediante siembra por extensión, utilizando asas Digrafsky estériles. Las cajas fueron dispuestas en la incubadora a una temperatura de 28°C por un periodo de 4 días en el caso de *T. asperellum* y 6 días para *P. lilacinum*, ya que el primer microorganismo crece más rápidamente que el segundo. Transcurrida la etapa de incubación se procedió a realizar el recuento, para lo cual se escogieron las placas que mostraran entre 30 y 300 colonias.

Las evaluaciones realizadas con respecto a esta variable consistieron en 4 periodos de 15 días cada uno, en donde la primera evaluación correspondió al día de empaquetado o envasado del producto, el resultado obtenido en el recuento se lo expresó en UFC/g o UFC/ml utilizando la siguiente fórmula (Cano, 2006):

$$\text{UFC/g} = \# \text{ de colonias en caja Petri} \times \text{Factor de dilución} \times \text{Factor de ajuste}$$

Los datos obtenidos fueron registrados en una hoja dinámica de Excel.

#### **4.2.5. Evaluación de la pureza del bioformulado**

Se utilizó las siembras realizadas en las cajas Petri para la evaluación de la viabilidad del microorganismo. Se contabilizó el número de colonias de hongo benéfico existentes (*T. asperellum* o *P. lilacinum*) en cada una de las cajas Petri es decir aquellas que pertenecen a las diluciones  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$ .

Las evaluaciones realizadas con respecto a esta variable consistieron en 4 periodos de 15 días cada uno, en donde la primera evaluación correspondió al día de empaquetado o envasado del producto, mientras que el cálculo se lo realizó aplicando la siguiente fórmula (Castro, 2013):

$$\% \text{ Pureza} = (\# \text{ colonias de hongo benéfico} / \# \text{ colonias total}) \times 100$$

El dato se lo registró como porcentaje (%) en una hoja dinámica de Excel.

#### **4.2.6. Análisis económico de bioformulaciones**

Para determinar el costo de producción a nivel de laboratorio de los cuatro tipos de bioformulaciones propuestos en el presente proyecto (gránulos solubles y cubiertos, polvos mojables y líquida) se empleó el método de cálculo de Costos Directos, Indirectos y Total.

Los grupos de Costos Directos que se han considerado en este análisis son:

**Equipos.** Corresponde a todos los aparatos eléctricos y/o electrónicos que se utilizan en el proceso de producción de las bioformulaciones, se ha considerado 10% del dinero invertido en utilizar dicho equipo para el mantenimiento del mismo.

**Insumos.** Corresponde a todos los implementos que por su naturaleza se usan por única vez durante el proceso de producción de las bioformulaciones.

**Reactivos.** Corresponde a todos los productos químicos usados durante la producción de las bioformulaciones, en todos los casos el único reactivo utilizado ha sido Tritón 100x.

**Materiales.** Corresponde a todos los instrumentos o herramientas que tienen un tiempo de vida útil largo, y pueden ser usados para la producción de varios lotes de bioformulación.

**Mano de obra.** Corresponde al personal que controla, supervisa, ejecuta y apoya durante las fases de producción de la bioformulación por lo tanto se tiene mano de obra directa e indirecta, estos datos son comunes para todos los tipos de formulaciones.

En lo que respecta a los Costos Indirectos se han considerado todos aquellos que no intervienen directamente en el proceso de producción de las formulaciones, como son material de aseo, material de oficina, vestuario, energía eléctrica, movilización, infraestructura y agua potable. Mientras que los costos Totales resultan de la sumatoria de los valores correspondientes a Costos Directos e Indirectos.

### **4.3. Diseño experimental**

Para este proyecto se utilizó un Diseño Completamente al Azar inserto en un factorial 4 x 2 con un número total de 30 observaciones para cada tratamiento.

#### **4.3.1. Análisis estadístico**

Para determinar diferencias estadísticas significativas entre las variables se realizó el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey al 5% para determinar rangos de significación en los tratamientos evaluados.

#### 4.3.2. Variables Independientes

En el presente proyecto las variables independientes están constituidas por Microorganismos y Bioformulaciones, cuyas características se especifican a continuación:

**Microorganismos (m).** Para las bioformulaciones se utilizaron dos cepas identificadas por el Departamento de Protección Vegetal Estación Experimental Litoral Sur.

- m1 *T. asperellum*
- m2 *P. lilacinum*

**Bioformulaciones (b).** Se elaboraron cuatro diferentes tipos de bioformulaciones para cada uno de los microorganismos evaluados.

- b1: Bioformulación en gránulos solubles
- b2: Bioformulación en gránulos cubiertos
- b3: Bioformulación en polvos mojables
- b4: Bioformulación líquida

#### 4.3.3. Variables Dependientes

Las variables dependientes en este estudio están conformadas por:

- Viabilidad del microorganismo (esporas/g)
- Concentración del microorganismo (UFC/g)
- Pureza del producto (%)
- Costos de producción (USD)

#### 4.3.4. Unidad experimental

La unidad experimental estuvo compuesta en el caso de formulaciones sólidas (granulada y polvo) por una funda de aluminio con cierre hermético de 9,80 cm de

ancho por 17,80 cm de alto con capacidad para 100 g y para formulaciones líquidas por un envase plástico de 5,40 cm de diámetro por 6 cm de alto con capacidad para 100 ml, en cada recipiente se colocó una muestra de 50 g o 50 ml de formulación respectivamente.

#### 4.3.5. Tratamientos

Los tratamientos resultan de la interacción de los factores en estudio (microorganismos (2) x bioformulaciones (4)), en total resultan ocho tratamientos, como se observa en la Tabla 7.

**Tabla 7**

*Tratamientos para la evaluación de estabilidad y sobrevivencia.*

Tratamiento	Código	Descripción
T1	m1 b1	Esporas de <i>T. asperellum</i> en bioformulación de gránulos solubles.
T2	m1 b2	Esporas de <i>T. asperellum</i> en bioformulación de gránulos cubiertos.
T3	m1 b3	Esporas de <i>T. asperellum</i> en bioformulación de polvos mojables.
T4	m1 b4	Esporas de <i>T. asperellum</i> en bioformulación líquida.
T5	m2 b1	Esporas de <i>P. lilacinum</i> en bioformulación de gránulos solubles.
T6	m2 b2	Esporas de <i>P. lilacinum</i> en bioformulación de gránulos cubiertos.
T7	m2 b3	Esporas de <i>P. lilacinum</i> en bioformulación de polvos mojables.
T8	m2 b4	Esporas de <i>P. lilacinum</i> en bioformulación líquida.

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

## CAPÍTULO V

### 5. RESULTADOS Y DISCUSION

#### 5.1. Viabilidad del microorganismo en la formulación

El análisis de varianza realizado para el primer día de evaluación mostró variaciones significativas ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) para todos los factores demostrando que estos interactúan entre sí (Tabla 8). La prueba Tukey indica que el microorganismo con mejores características para el primer día de evaluación es *P. lilacinum*, con una viabilidad de  $2,01 \times 10^8$  UFC/g, mientras que en formulaciones, las de tipo gránulos (solubles y cubiertos) presentaron los mejores resultados (Tabla 9). Estas diferencias significativas a su vez se evidencian en la prueba de Tukey realizada para la interacción microorganismo-formulación, donde las formulaciones en gránulos se ubican en el primer rango con *P. lilacinum*. El efecto contrario sucede con la formulación líquida, la cual para los dos tipos de microorganismo se encuentran en los últimos grupos de significancia (c y d) (Tabla 10). Como se observa en la Figura 4 las formulaciones muestran un comportamiento similar para ambos microorganismos (*T. asperellum* y *P. lilacinum*) siendo los gránulos solubles y cubiertos los que presentan mejores resultados, sin embargo *P. lilacinum* tiene valores más altos en todos los tipos de formulación, a excepción de la líquida en donde tienen un valor similar.

**Tabla 8**

*ANOVA de la Viabilidad en el día 1*

Fuente de variación	gl	F
Microorganismo	1	330,77 **
Formulación	3	341,82 **
Microorganismo*Formulación	3	35,00 **

Nota: Significancia ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) \* significativo, \*\* altamente significativo.

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 9***Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 1 por fuente de variación*

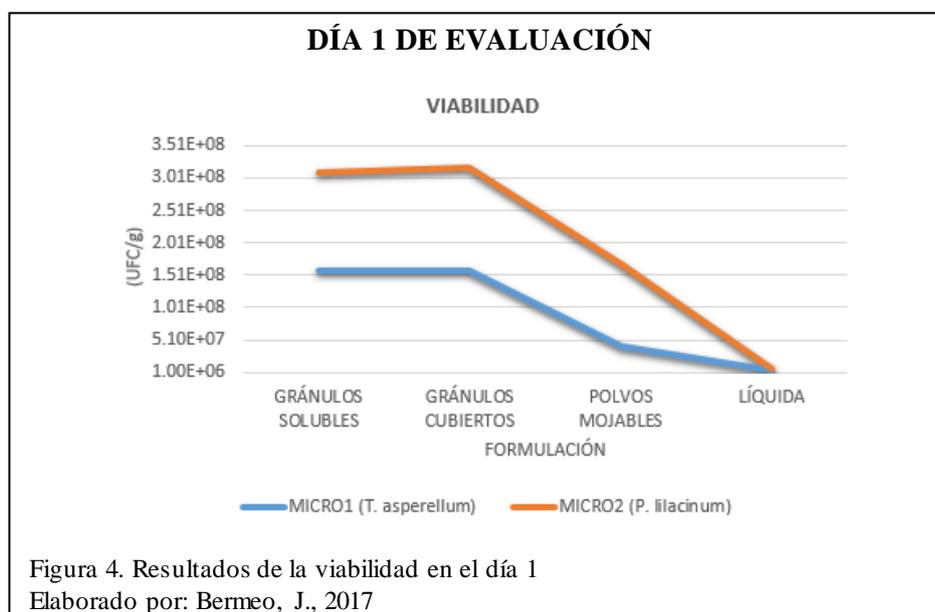
Fuente de variación	Media (UFC/g)	Grupo
Microorganismo		
<i>P. lilacinum</i>	2,01 x 10 <sup>8</sup>	a
<i>T. asperellum</i>	9,05 x 10 <sup>7</sup>	b
Formulación		
Gránulos cubiertos	2,38 x 10 <sup>8</sup>	a
Gránulos solubles	2,33 x 10 <sup>8</sup>	a
Polvos Mojables	1,05 x 10 <sup>8</sup>	b
Líquida	5,18 x 10 <sup>6</sup>	c

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 10***Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 1 en la interacción*

Microorganismo	Formulación	Media (UFC/g)	Grupo
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos cubiertos	3,17 x 10 <sup>8</sup>	a
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos solubles	3,09 x 10 <sup>8</sup>	a
<i>P. lilacinum</i>	Polvos Mojables	1,69 x 10 <sup>8</sup>	b
<i>T. asperellum</i>	Gránulos cubiertos	1,59 x 10 <sup>8</sup>	b
<i>T. asperellum</i>	Gránulos solubles	1,57 x 10 <sup>8</sup>	b
<i>T. asperellum</i>	Polvos Mojables	4,18 x 10 <sup>7</sup>	c
<i>P. lilacinum</i>	Líquida	7,38 x 10 <sup>6</sup>	cd
<i>T. asperellum</i>	Líquida	2,97 x 10 <sup>6</sup>	d

Elaborado por: Bermeo, J., 2017



En la evaluación realizada transcurridos 15 días desde el empaqueo de la formulación se evidenciaron diferencias significativas para todas las fuentes de variación,

presentándose interacción entre los factores de estudio (Tabla 11). En el caso de microorganismos *P. lilacinum* mostró viabilidad de  $1,49 \times 10^8$  UFC/g la cual aunque es superior a la del segundo microorganismo es inferior a la que presentó en el primer día de evaluación ( $2,01 \times 10^8$  UFC/g), mientras que *T. asperellum* muestra pequeñas variaciones con respecto al primer día, además con respecto a las formulaciones en el primer grupo se encontraron los gránulos solubles. En cuanto a las formulaciones en polvos mojables y líquida, estas se mantuvieron en los grupos c y d respectivamente (Tabla 12). En la interacción microorganismo-formulación la prueba Tukey muestra que los datos son dispersos ya que se despliegan siete grupos de significancia, pero la formulación de tipo gránulo soluble continúa siendo la mejor con *P. lilacinum* ubicándose en el primer grupo (Tabla 13). Como se observa en la Figura 5 la formulación con mejores resultados para *T. asperellum* y *P. lilacinum* fue en gránulos solubles seguida de gránulos cubiertos, siendo *P. lilacinum* aquel con los valores más altos de viabilidad en todos los casos, a excepción de la formulación líquida que presenta valores bajos con respecto a los otros tipos de formulación pero son similares para los dos microorganismos.

**Tabla 11**

*ANOVA de la Viabilidad en el día 15*

Fuente de variación	gl	F
Microorganismo	1	97,37 **
Formulación	3	328,46 **
Microorganismo*Formulación	3	9,70 **

Nota: Significancia (p-valor < 0,05) \* significativo, \*\* altamente significativo.

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 12***Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 15 por fuente de variación*

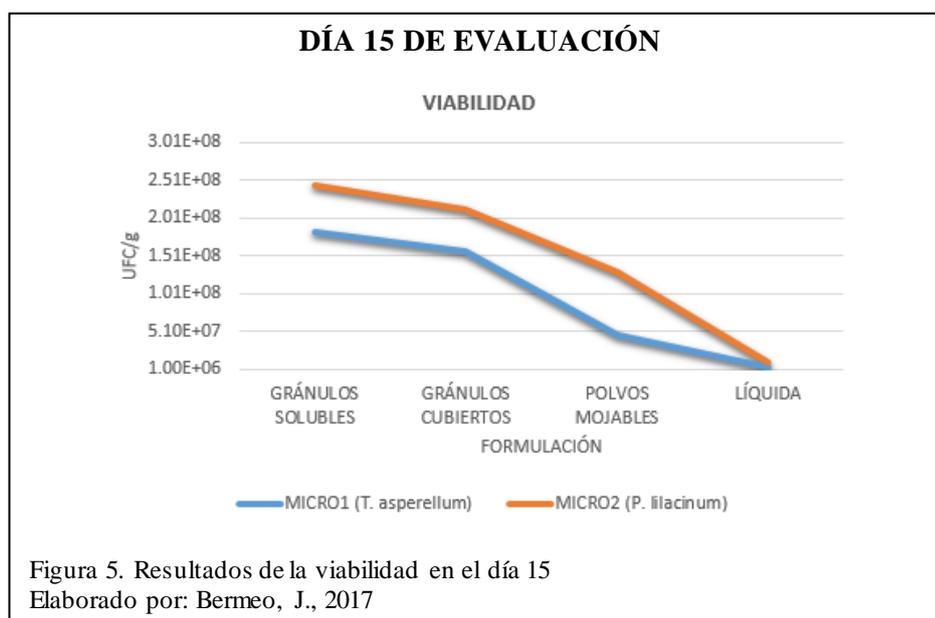
Fuente de variación	Media (UFC/g)	Grupo
Microorganismo		
<i>P. lilacinum</i>	1,49 x 10 <sup>8</sup>	a
<i>T. asperellum</i>	9,75 x 10 <sup>7</sup>	b
Formulación		
Gránulos solubles	2,13 x 10 <sup>8</sup>	a
Gránulos cubiertos	1,84 x 10 <sup>8</sup>	b
Polvos Mojables	8,87 x 10 <sup>7</sup>	c
Líquida	5,94 x 10 <sup>6</sup>	d

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 13***Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 15 para la interacción*

Microorganismo	Formulación	Media (UFC/g)	Grupo
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos solubles	2,44 x 10 <sup>8</sup>	a
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos cubiertos	2,12 x 10 <sup>8</sup>	ab
<i>T. asperellum</i>	Gránulos solubles	1,83 x 10 <sup>8</sup>	bc
<i>T. asperellum</i>	Gránulos cubiertos	1,57 x 10 <sup>8</sup>	cd
<i>P. lilacinum</i>	Polvos Mojables	1,30 x 10 <sup>8</sup>	d
<i>T. asperellum</i>	Polvos Mojables	4,70 x 10 <sup>7</sup>	e
<i>P. lilacinum</i>	Líquida	9,05 x 10 <sup>6</sup>	f
<i>T. asperellum</i>	Líquida	2,82 x 10 <sup>6</sup>	f

Elaborado por: Bermeo, J., 2017



Como se observa en la Tabla 14 el análisis de varianza realizado para la evaluación a los 30 días presenta diferencias significativas para todas las fuentes de variación,

existiendo interacción entre los factores. Los dos tipos de microorganismos mantienen los valores de viabilidad obtenidos a los 15 días de evaluación siendo *P. lilacinum* el mejor, encontrándose en el primer grupo. Las formulaciones granuladas se ubican dentro del primer grupo mientras que las líquidas en el último, es decir con los valores de viabilidad más bajos según la prueba Tukey tal como se observa en la Tabla 15, mientras que en la interacción las formulaciones con mejores resultados fueron los gránulos solubles para *P. lilacinum* como se observa en la Tabla 16. En la Figura 6 se observan que para *T. asperellum* y *P. lilacinum* la formulación con mejores resultados fue en gránulos solubles seguida de gránulos cubiertos, la formulación en polvos mojables y líquida se encontraron en el penúltimo y último lugar respectivamente, además se muestra que *P. lilacinum* presentó los valores más altos de viabilidad en todos los tipos de formulación.

**Tabla 14**

*ANOVA de la Viabilidad en el día 30*

Fuente de variación	gl	F
Microorganismo	1	114,54 **
Formulación	3	312,30 **
Microorganismo*Formulación	3	27,96 **

Nota: Significancia (p-valor < 0,05) \* significativo, \*\* altamente significativo.

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 15**

*Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 30 por fuente de variación*

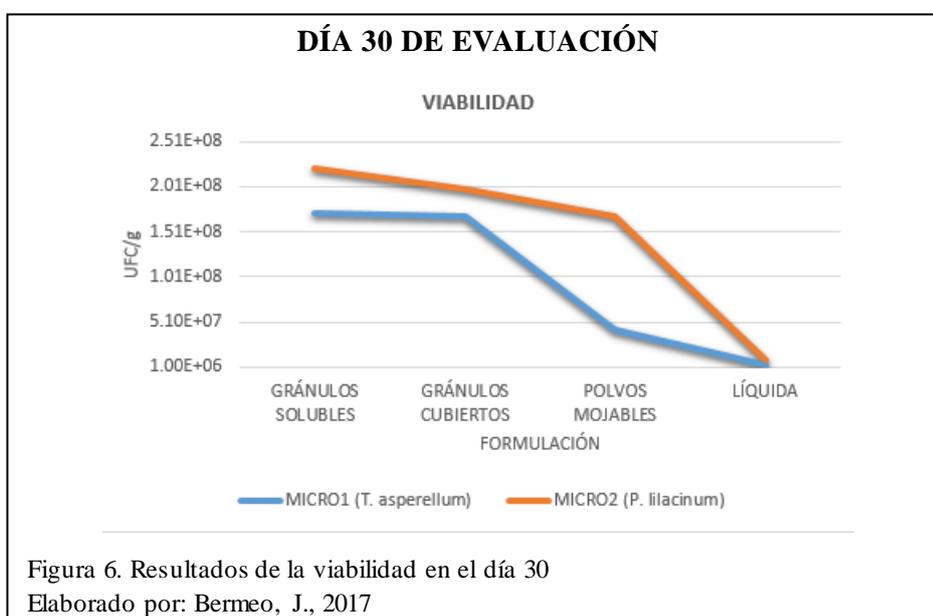
Fuente de variación	Media (UFC/g)	Grupo
Microorganismo		
<i>P. lilacinum</i>	1,49 x 10 <sup>8</sup>	a
<i>T. asperellum</i>	9,62 x 10 <sup>7</sup>	b
Formulación		
Gránulos solubles	1,97 x 10 <sup>8</sup>	a
Gránulos cubiertos	1,83 x 10 <sup>8</sup>	a
Polvos Mojables	1,05 x 10 <sup>8</sup>	b
Líquida	5,45 x 10 <sup>6</sup>	c

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 16***Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 30 para la interacción*

Microorganismo	Formulación	Media (UFC/g)	Grupo
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos solubles	2,22 x 10 <sup>8</sup>	a
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos cubiertos	1,98 x 10 <sup>8</sup>	ab
<i>T. asperellum</i>	Gránulos solubles	1,71 x 10 <sup>8</sup>	b
<i>P. lilacinum</i>	Polvos Mojables	1,69 x 10 <sup>8</sup>	b
<i>T. asperellum</i>	Gránulos cubiertos	1,68 x 10 <sup>8</sup>	b
<i>T. asperellum</i>	Polvos Mojables	4,19 x 10 <sup>7</sup>	c
<i>P. lilacinum</i>	Líquida	8,11 x 10 <sup>6</sup>	d
<i>T. asperellum</i>	Líquida	2,79 x 10 <sup>6</sup>	d

Elaborado por: Bermeo, J., 2017



En la Tabla 17 se muestran los valores obtenidos durante la evaluación realizada a los 45 días, donde existen diferencias significativas para todas las fuentes de variación, existiendo interacción entre los factores según el análisis de varianza. *P. lilacinum* demostró ser el mejor al igual que las dos formulaciones granuladas, como se observa en la Tabla 18. En la interacción se evidencia que la formulación en gránulos solubles combinada con *P. lilacinum* se encuentra en el primer grupo (a). *T. asperellum* se ubicó dentro de los grupos c y d con las formulaciones en gránulos y polvos mojables respectivamente como se muestra en la Tabla 19. En la Figura 7 se observan que para *P. lilacinum* la formulación con mejores resultados fue gránulos solubles, seguida de

gránulos cubiertos y polvos mojables, mientras que para *T. asperellum* la formulación con mejores resultados fue gránulos cubiertos, seguida de gránulos solubles. Para ambos microorganismos la formulación líquida se ubicó en el último lugar con valores similares, presentando los valores más bajos de viabilidad.

**Tabla 17**

*ANOVA de la Viabilidad en el día 45*

Fuente de variación	gl	F
Microorganismo	1	182,62 **
Formulación	3	378,26 **
Microorganismo*Formulación	3	29,75 **

Nota: Significancia (p-valor < 0,05) \* significativo, \*\* altamente significativo.

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 18**

*Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 45 por fuente de variación*

Fuente de variación	Media (UFC/g)	Grupo
Microorganismo		
<i>P. lilacinum</i>	1,55 x 10 <sup>8</sup>	a
<i>T. asperellum</i>	9,60 x 10 <sup>7</sup>	b
Formulación		
Gránulos solubles	1,94 x 10 <sup>8</sup>	a
Gránulos cubiertos	1,86 x 10 <sup>8</sup>	a
Polvos Mojables	1,09 x 10 <sup>8</sup>	b
Líquida	1,14 x 10 <sup>7</sup>	c

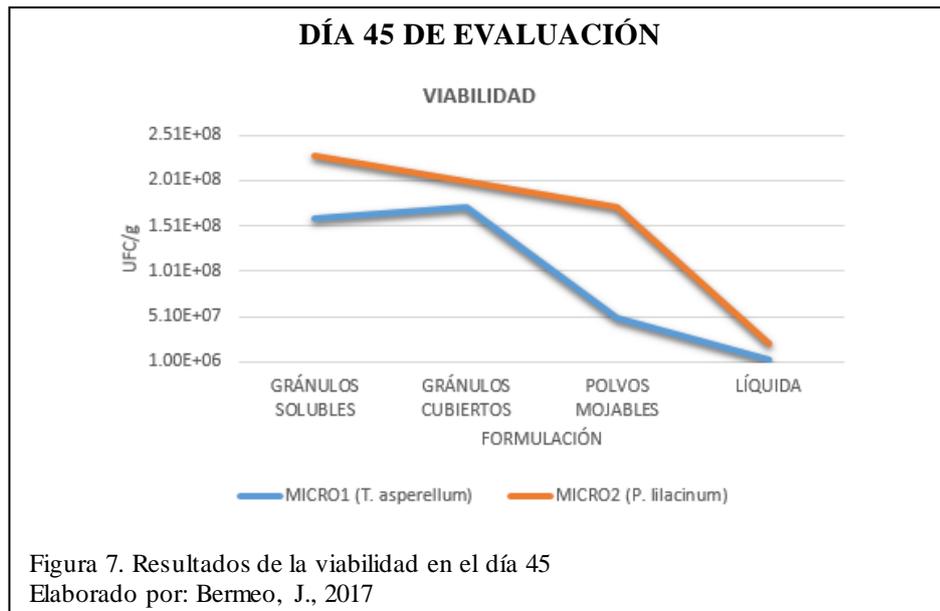
Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 19**

*Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 45 para la interacción*

Microorganismo	Formulación	Media (UFC/g)	Grupo
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos solubles	2,28 x 10 <sup>8</sup>	a
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos cubiertos	2,00 x 10 <sup>8</sup>	b
<i>T. asperellum</i>	Gránulos cubiertos	1,72 x 10 <sup>8</sup>	c
<i>P. lilacinum</i>	Polvos Mojables	1,71 x 10 <sup>8</sup>	c
<i>T. asperellum</i>	Gránulos solubles	1,59 x 10 <sup>8</sup>	c
<i>T. asperellum</i>	Polvos Mojables	4,86 x 10 <sup>7</sup>	d
<i>P. lilacinum</i>	Líquida	2,03 x 10 <sup>7</sup>	e
<i>T. asperellum</i>	Líquida	2,61 x 10 <sup>6</sup>	e

Elaborado por: Bermeo, J., 2017



La Tabla 20 muestra el último día de evaluación (día 60), donde se evidenciaron variaciones que no fueron significativas para el tipo de microorganismo, sin embargo existe interacción entre los factores. La prueba de Tukey que se encuentra en la Tabla 21, con respecto a las fuentes de variación demostró que los dos microorganismos se encuentran en un mismo grupo es decir que no existen diferencias estadísticas, además las formulaciones en gránulos (solubles y cubiertos) fueron las mejores en esta evaluación. En la interacción las formulaciones granuladas y *T. asperellum* obtuvieron el mejor resultado, como en evaluaciones anteriores las formulaciones granuladas son las mejores tanto de forma independiente como en la interacción con los microorganismos, tal como se observa en la Tabla 22. En la Figura 8 se observa que *P. lilacinum* tiene valores más bajos que *T. asperellum* en las formulaciones de tipo gránulos (solubles y cubiertos), sin embargo en ambos casos la formulación en gránulos cubiertos supera a los gránulos solubles. La formulación en polvos mojables se acopla mejor a *P. lilacinum* con valores similares a las de tipo gránulo, mientras que en *T. asperellum* los valores de viabilidad en este tipo de formulación se reducen considerablemente.

**Tabla 20***ANOVA de la Viabilidad en el día 60*

Fuente de variación	gl	F
Microorganismo	1	0,07
Formulación	3	175,46 **
Microorganismo*Formulación	3	38,24 **

Nota: Significancia (p-valor < 0,05) \* significativo, \*\* altamente significativo.

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 21***Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 60 por fuente de variación*

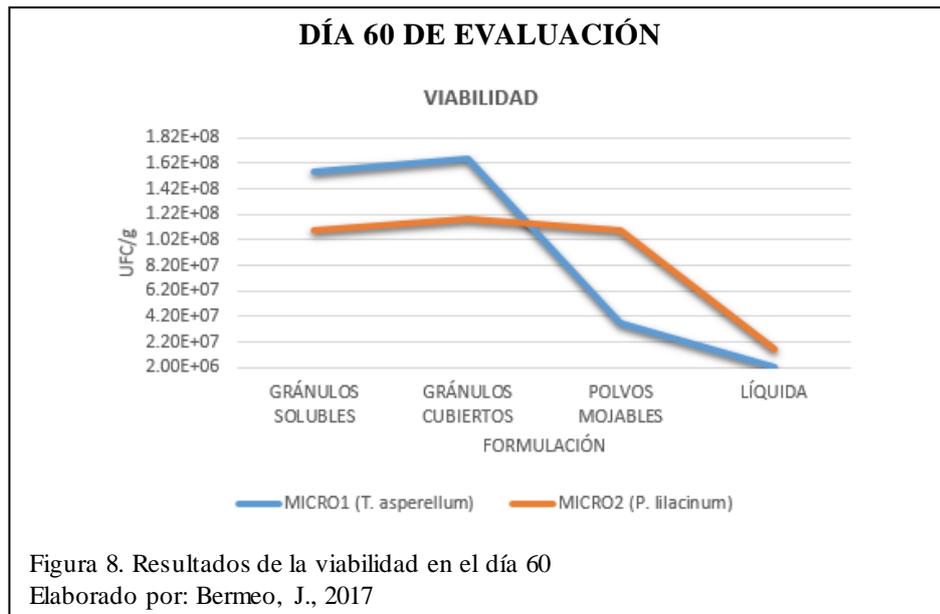
Fuente de variación	Media (UFC/g)	Grupo
Microorganismo		
<i>T. asperellum</i>	9,02 x 10 <sup>7</sup>	a
<i>P. lilacinum</i>	8,90 x 10 <sup>7</sup>	a
Formulación		
Gránulos cubiertos	1,43 x 10 <sup>8</sup>	a
Gránulos solubles	1,32 x 10 <sup>8</sup>	a
Polvos Mojables	7,33 x 10 <sup>7</sup>	b
Líquida	9,37 x 10 <sup>6</sup>	c

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 22***Grupos de Significancia de la Viabilidad en el día 60 para la interacción*

Microorganismo	Formulación	Media (UFC/g)	Grupo
<i>T. asperellum</i>	Gránulos cubiertos	1,66 x 10 <sup>8</sup>	a
<i>T. asperellum</i>	Gránulos solubles	1,55 x 10 <sup>8</sup>	a
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos cubiertos	1,19 x 10 <sup>8</sup>	b
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos solubles	1,10 x 10 <sup>8</sup>	b
<i>P. lilacinum</i>	Polvos Mojables	1,10 x 10 <sup>8</sup>	b
<i>T. asperellum</i>	Polvos Mojables	3,64 x 10 <sup>7</sup>	c
<i>P. lilacinum</i>	Líquida	1,63 x 10 <sup>7</sup>	cd
<i>T. asperellum</i>	Líquida	2,38 x 10 <sup>6</sup>	d

Elaborado por: Bermeo, J., 2017



Durante el proceso de evaluación que fueron en total 60 días, se evidencia que el microorganismo que presenta valores más altos en cuanto a viabilidad es *P. lilacinum* el mismo que inicia con una viabilidad superior a *T. asperellum*, sin embargo en la evaluación realizada a los 15 días este valor empieza a disminuir, a diferencia de *T. asperellum* que mantiene los valores desde el inicio del experimento llegando a incrementarlo al final del mismo.

En cuanto a formulaciones, las que han obtenido valores más altos durante los 60 días de evaluación han sido las granuladas, ocupando el primer lugar las formulaciones en gránulos solubles; resultados similares se observan al evaluar la interacción microorganismo-formulación en donde los gránulos solubles se ajustan mejor a los requerimientos tanto de *P. lilacinum* como de *T. asperellum*. Las formulaciones en polvos mojables y líquidas se han encontrado en el tercer y cuarto lugar respectivamente.

Se han identificado un máximo de siete grupos de significancia, demostrando que los datos se encuentran dispersos; estas variaciones pueden explicarse como una falta de homogenización del ingrediente activo en el producto, lo cual se debe a que es un

proceso artesanal, efectos similares se han dado en otras investigaciones como la realizada por Herrera, Sánchez, & Blanco (2013) que mostró altas diferencias entre la primera y novena semana de valuación al elaborar formulaciones granuladas de forma artesanal.

Los resultados obtenidos con respecto a la estabilidad de los formulados sólidos son similares a otros estudios realizados con formulaciones que contienen como soporte talco, donde se mantuvo la viabilidad por hasta por 60 días según Kloepper & Schroth (1981) y 90 días según Sadi & Masoud (2012).

Las pérdidas de viabilidad en las formulaciones almacenadas a temperatura ambiente son similares a investigaciones realizadas por Ruiz, Gomez, & Villamizar (2015), quienes demuestran que en las de tipo polvo mojable son inferiores al 5% durante el tiempo de almacenamiento sin refrigeración, mientras que en las granuladas las mayores pérdidas son del 17,3 % en un lapso de 6 meses, lo cual puede ser generado por los componentes propios de la formulación o el proceso de manufactura del mismo como lo indica Marino, Villamizar, Espinel, & Cotes (2004) en su estudio sobre la caracterización de prototipos de bioplaguicidas, quien indica que a pesar de estas pérdidas las características físicas y microbiológicas de la formulación continúan siendo las adecuadas.

De acuerdo con García & Salas (2011) la manipulación de las formulaciones granuladas o de tipo sólido presentan notables ventajas tanto en la elaboración como en la aplicación en campo. Actualmente el mercado ofrece bioinsumos que contienen los hongos *T. asperellum* y *P. lilacinum* como MICOSPLAG WP cuya presentación en polvos mojables contiene  $1 \times 10^8$  UFC/g (BIOTECNOLOGÍA, 2011) y TUSAL WG que se presenta en forma de gránulos con una viabilidad de  $1 \times 10^7$  UFC/g (CERTIS EUROPE, 2015). Considerando la presente investigación, las formulaciones

granuladas y en polvo resultan competitivas frente a otras disponibles comercialmente, ya que muestran valores similares de viabilidad.

## **5.2. Concentración del microorganismo en la formulación**

En el primer día de evaluación de la concentración de microorganismos no existen diferencias significativas, puesto que este valor fue único ya que se lo tomó a partir de la formulación sin dispensar.

En la Tabla 23 el análisis de varianza realizado en el día 30 de evaluación muestra variaciones significativas entre los microorganismos y formulaciones, presentando interacción entre los mismos. En el caso de microorganismos *P. lilacinum* se encuentra en el primer grupo con una concentración de  $2,27 \times 10^8$  esporas/g, mientras que en las formulaciones los gránulos solubles superan los valores de concentración que sus similares, es decir que estos son los mejores, como se observa en la Tabla 24. En el caso de la interacción microorganismo-formulación *P. lilacinum* presenta mejores resultados con gránulos solubles como se observa en la Tabla 25. En la Figura 9 se observa que los dos microorganismos tienen diferente comportamiento con respecto a las formulaciones, *P. lilacinum* presenta los valores más altos de concentración en la formulación en gránulos solubles, seguida de gránulos cubiertos y polvos mojables. *T. asperellum* tiene valores altos en la formulación en gránulos cubiertos, seguida de gránulos solubles y polvos mojables. Para ambos microorganismos la formulación líquida presenta los resultados más bajos de concentración.

**Tabla 23***ANOVA de la Concentración en el día 30*

Fuente de variación	gl	F
Microorganismo	1	63,61 **
Formulación	3	490,22 **
Microorganismo*Formulación	3	90,99 **

Nota: Significancia (p-valor < 0,05) \* significativo, \*\* altamente significativo.

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 24***Grupos de Significancia de la Concentración en el día 30 por fuente de variación*

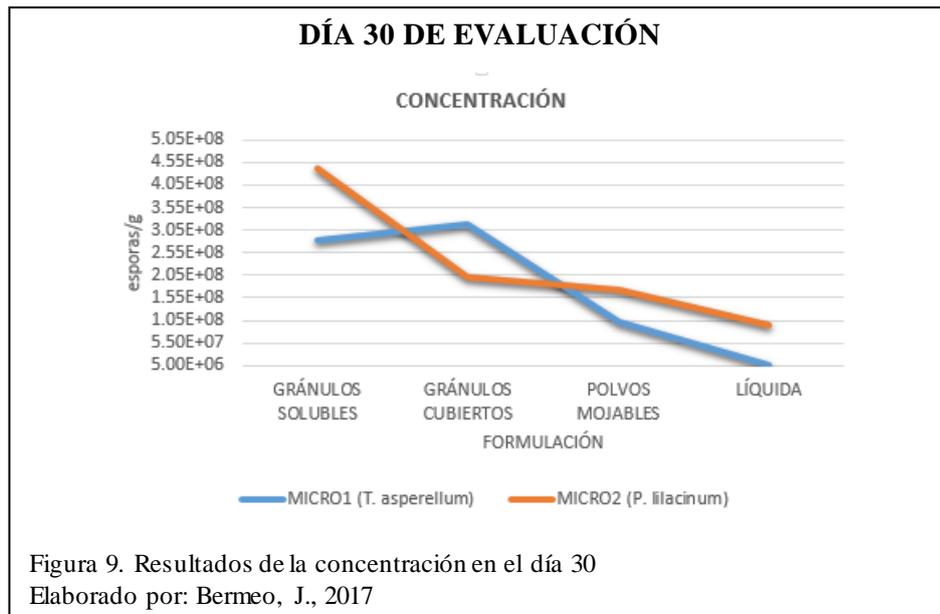
Fuente de variación	Media (esporas/g)	Grupo
Microorganismo		
<i>P. lilacinum</i>	2,27 x 10 <sup>8</sup>	a
<i>T. asperellum</i>	1,77 x 10 <sup>8</sup>	b
Formulación		
Gránulos solubles	3,63 x 10 <sup>8</sup>	a
Gránulos cubiertos	2,59 x 10 <sup>8</sup>	b
Polvos Mojables	1,35 x 10 <sup>8</sup>	c
Líquida	5,06 x 10 <sup>7</sup>	d

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 25***Grupos de Significancia de la Concentración en el día 30 para la interacción*

Microorganismo	Formulación	Media (esporas/g)	Grupo
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos solubles	4,42 x 10 <sup>8</sup>	a
<i>T. asperellum</i>	Gránulos cubiertos	3,19 x 10 <sup>8</sup>	b
<i>T. asperellum</i>	Gránulos solubles	2,84 x 10 <sup>8</sup>	b
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos cubiertos	2,00 x 10 <sup>8</sup>	c
<i>P. lilacinum</i>	Polvos Mojables	1,71 x 10 <sup>8</sup>	c
<i>T. asperellum</i>	Polvos Mojables	1,00 x 10 <sup>8</sup>	d
<i>P. lilacinum</i>	Líquida	9,53 x 10 <sup>7</sup>	d
<i>T. asperellum</i>	Líquida	6,07 x 10 <sup>6</sup>	e

Elaborado por: Bermeo, J., 2017



En la Tabla 26 el análisis de varianza para la evaluación a los 60 días dio como resultado diferencias significativas para todas las fuentes de variación, existiendo interacción entre los factores. La prueba Tukey de la Tabla 27 demostró que *P. lilacinum* presenta valores mayores a *T. asperellum*, los cuales a su vez superan los obtenidos en la evaluación a los 15 días, en lo que respecta a formulaciones, las mejores fueron en gránulos solubles. En la Tabla 28 se encuentra la interacción microorganismo-formulación, donde *P. lilacinum* presenta mejores resultados con gránulos solubles mientras que *T. asperellum* se ubica en el tercer grupo con la formulación en polvos mojables obteniendo valores mucho más bajos. En la Figura 10 se observa que los dos microorganismos tienen un comportamiento similar con respecto a las formulaciones, a excepción de la formulación en gránulos solubles en donde *P. lilacinum* tiene valores superiores con respecto a las otras formulaciones, mientras que *T. asperellum* tiene valores bajos en la formulación antes mencionada. En el segundo y tercer lugar de concentración se encuentra la formulación en polvos mojables y gránulos cubiertos, siendo *P. lilacinum* aquel con los valores más altos.

**Tabla 26***ANOVA de la Concentración en el día 60*

Fuente de variación	gl	F
Microorganismo	1	295,80 **
Formulación	3	263,00 **
Microorganismo*Formulación	3	104,61 **

Nota: Significancia (p-valor < 0,05) \* significativo, \*\* altamente significativo.

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 27***Grupos de Significancia de la Concentración en el día 60 por fuente de variación*

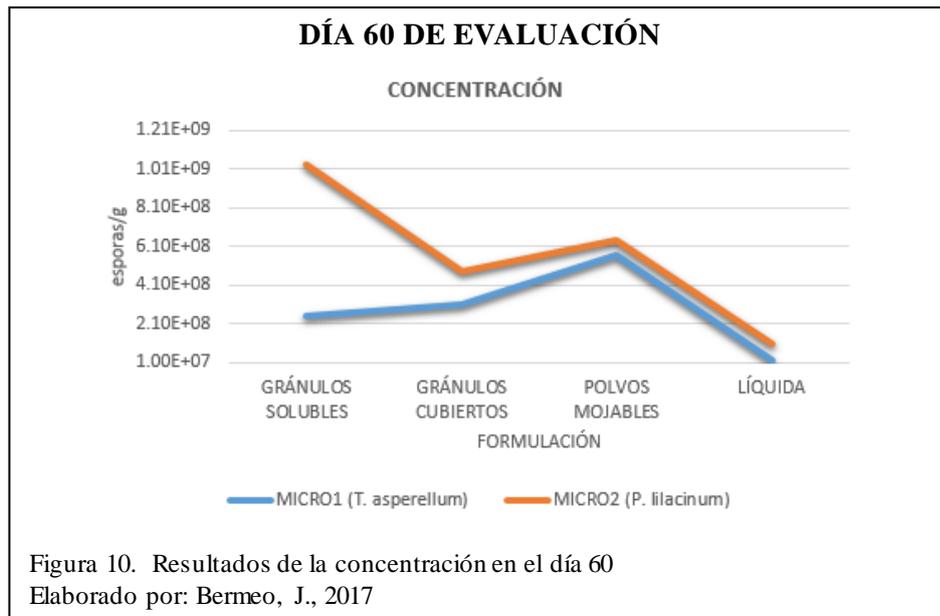
Fuente de variación	Media (esporas/g)	Grupo
Microorganismo		
<i>P. lilacinum</i>	5,66 x 10 <sup>8</sup>	A
<i>T. asperellum</i>	2,85 x 10 <sup>8</sup>	B
Formulación		
Gránulos solubles	6,43 x 10 <sup>8</sup>	A
Polvos Mojables	6,02 x 10 <sup>8</sup>	A
Gránulos cubiertos	3,94 x 10 <sup>8</sup>	B
Líquida	6,35 x 10 <sup>7</sup>	C

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 28***Grupos de Significancia de la Concentración en el día 60 para la interacción*

Microorganismo	Formulación	Media (esporas/g)	Grupo
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos solubles	1,03 x 10 <sup>9</sup>	A
<i>P. lilacinum</i>	Polvos Mojables	6,43 x 10 <sup>8</sup>	B
<i>T. asperellum</i>	Polvos Mojables	5,62 x 10 <sup>8</sup>	BC
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos cubiertos	4,81 x 10 <sup>8</sup>	C
<i>T. asperellum</i>	Gránulos cubiertos	3,06 x 10 <sup>8</sup>	D
<i>T. asperellum</i>	Gránulos solubles	2,53 x 10 <sup>8</sup>	D
<i>P. lilacinum</i>	Líquida	1,08 x 10 <sup>8</sup>	E
<i>T. asperellum</i>	Líquida	1,84 x 10 <sup>7</sup>	E

Elaborado por: Bermeo, J., 2017



Los productos comerciales generalmente utilizan las formas reproductoras del hongo entomopatógeno (clamidosporas y esporas), siendo las esporas aquellas que se producen en mayor cantidad ya sea en medios líquidos o sólidos, como lo afirma Cano et al. (2004). En base a los resultados obtenidos se puede determinar que el microorganismo que ha alcanzado los valores más altos en cuanto a concentración es *P. lilacinum*. Entre las formulaciones la mejor es la de gránulos solubles, seguida de gránulos cubiertos, mientras que polvos mojables y líquida se encuentra en penúltimo y último lugar respectivamente, para un periodo de evaluación de 60 días.

En la interacción microorganismo-formulación quienes presentan mayor estabilidad con respecto a la concentración en el tiempo son *P. lilacinum* con gránulos solubles ya que se encuentran dentro del primer grupo de significancia, obteniendo una concentración de  $1,03 \times 10^9$  esporas/g al final del experimento, mientras que *T. asperellum* se acopla mejor a las formulaciones granuladas en un periodo de 30 días, pero si el almacenamiento es mayor la concentración aumenta notablemente a favor de la formulación en polvos mojables. En ambos casos la interacción con *T. asperellum*

se ubica en el rango BC de significancia, obteniendo un valor de  $5,62 \times 10^8$  esporas/g, mientras que los gránulos cubiertos obtienen un valor de  $3,06 \times 10^8$  esporas/g.

Las variaciones de estabilidad de las conidias se ve afectada por el tipo de formulación en que estas sean incorporadas según Santos, García, Cotes, & Villamizar (2012), ya que en una de sus investigaciones realizadas sobre *Trichoderma spp.* manifiesta que el tipo de formulación empleado mejora la estabilidad, puesto que protege al ingrediente activo (esporas del microorganismo) de las condiciones ambientales variables (temperatura y humedad), y concluyen que la formulación en polvo es la que presenta mayor estabilidad frente a la granulada, debido al estrés producido durante el proceso de elaboración del formulado.

Actualmente se ofertan en el mercado productos formulados que incorporan *P. lilacinum* con concentraciones desde  $1,00 \times 10^9$  esporas/g como Lilacinol y Chimal (BIOCONTROL, 2006; GRUPO VERSA, n.d.), mientras que con *T. asperellum* se ofertan productos como Bioprotection TR y Amino T (AGRINOVA SCIENCE, n.d.; Doctor Obregón S.A., 2016) con concentraciones superiores a  $1,00 \times 10^8$  esporas/g, estos valores son similares a los obtenidos en el presente estudio, razón por la cual pueden ser competitivos, considerando que la elaboración de estos es de tipo artesanal.

### **5.3. Pureza de la formulación**

El análisis de varianza realizado para el primer día del experimento, muestra que las variaciones son significativas para los microorganismos y las formulaciones, sin embargo no existe interacción entre los mismos (Tabla 29). En la prueba Tukey se identificó que tanto *P. lilacinum* como la formulación en gránulos cubiertos se encuentran en el primer grupo (a), es decir que muestran los mejores resultados (Tabla 30). En la Tabla 31 se identifica que para *P. lilacinum* las formulaciones con mejores resultados fueron gránulos cubiertos y líquida. En la Figura 11 se observa que los dos

tipos de microorganismos tienen un comportamiento similar en cuanto al tipo de formulación, a excepción de la formulación líquida, donde *P. lilacinum* tiende a incrementar el porcentaje de pureza, mientras que *T. asperellum* tiende a valores bajos. *T. asperellum* obtuvo los valores más altos de pureza con la formulación en gránulos cubiertos al igual que *P. lilacinum*.

**Tabla 29**

*ANOVA de la Pureza en el día 1*

Fuente de variación	Gl	F
Microorganismo	1	6,16 *
Formulación	3	4,17 **
Microorganismo*Formulación	3	1,14

Nota: Significancia (p-valor < 0,05) \* significativo, \*\* altamente significativo.

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 30**

*Grupos de Significancia de la Pureza en el día 1 por fuente de variación*

Fuente de variación	Media (%)	Grupo
Microorganismo		
<i>P. lilacinum</i>	99,56	a
<i>T. asperellum</i>	99,05	b
Formulación		
Gránulos cubiertos	99,80	a
Polvos Mojables	99,33	ab
Líquida	99,31	ab
Gránulos solubles	98,78	b

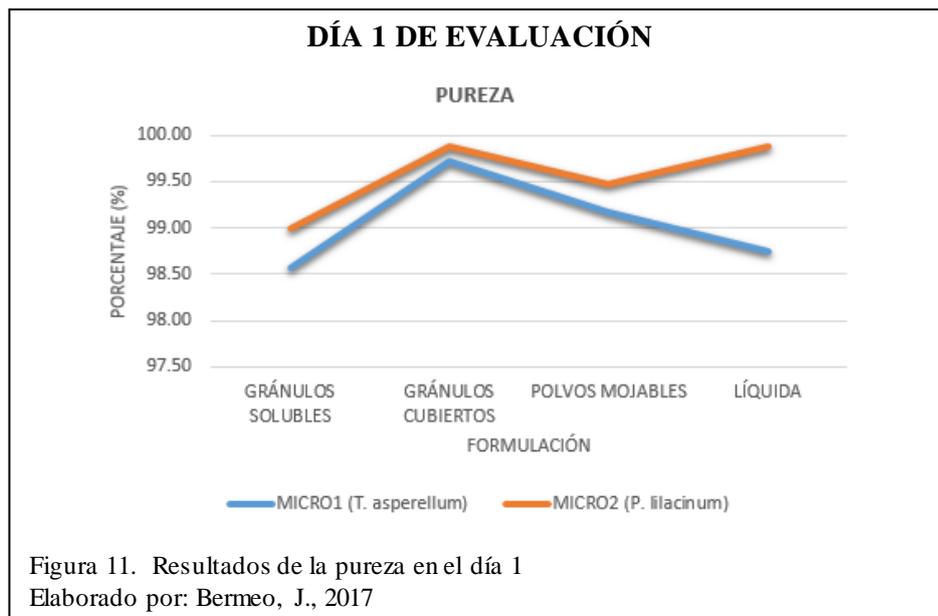
Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 31**

*Grupos de Significancia de la Pureza en el día 1 en la interacción*

Microorganismo	Formulación	Media (%)	Grupo
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos cubiertos	99,88	a
<i>P. lilacinum</i>	Líquida	99,88	a
<i>T. asperellum</i>	Gránulos cubiertos	99,72	ab
<i>P. lilacinum</i>	Polvos Mojables	99,48	ab
<i>T. asperellum</i>	Polvos Mojables	99,17	ab
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos solubles	98,99	ab
<i>T. asperellum</i>	Líquida	98,74	ab
<i>T. asperellum</i>	Gránulos solubles	98,57	b

Elaborado por: Bermeo, J., 2017



En la Tabla 32 el análisis de varianza muestra que a los 15 días de evaluación existe interacción entre los factores de estudio, sin embargo en la Tabla 33 se observa que los datos se ubican dentro de un mismo rango, es decir que no existen diferencias estadísticas entre los mismos. En la Figura 12 se evidencia que *P. lilacinum* presentó un porcentaje de pureza del 100% con las formulaciones en gránulos solubles y líquida, mientras que las formulaciones en gránulos cubiertos y polvos mojables mostraron valores similares de pureza entre ellos, siendo estos inferiores al valor mencionado al inicio. *T. asperellum* mostró valores altos de pureza con la formulación en gránulos cubiertos (99,86%) y los más bajos con la formulación líquida (98,43%).

**Tabla 32**

*ANOVA de la Pureza en el día 15*

Fuente de variación	Gl	F
Microorganismo	1	1,87
Formulación	3	0,61
Microorganismo*Formulación	3	4,22 **

Nota: Significancia (p-valor < 0,05) \* significativo, \*\* altamente significativo.

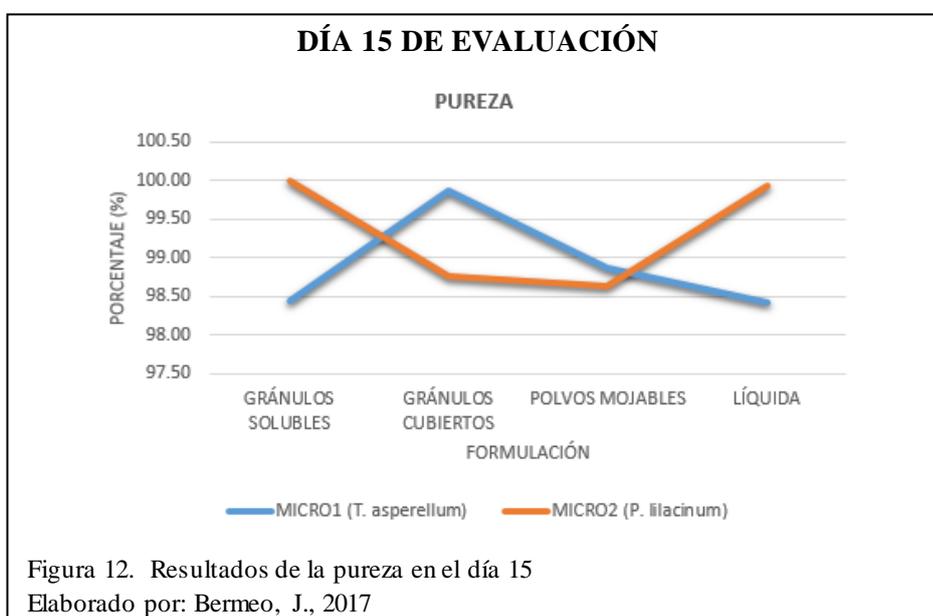
Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 33**

*Grupos de Significancia de la Pureza en el día 15 en la interacción*

Microorganismo	Formulación	Media (%)	Grupo
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos solubles	100,00	a
<i>P. lilacinum</i>	Líquida	99,94	a
<i>T. asperellum</i>	Gránulos cubiertos	99,86	a
<i>T. asperellum</i>	Polvos Mojables	98,87	a
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos cubiertos	98,77	a
<i>P. lilacinum</i>	Polvos Mojables	98,64	a
<i>T. asperellum</i>	Gránulos solubles	98,45	a
<i>T. asperellum</i>	Líquida	98,43	a

Elaborado por: Bermeo, J., 2017



El análisis de varianza realizado a los 30 días del experimento mostró variaciones significativas para los tipos de formulación, no existe interacción entre los factores de estudio como se observa en la Tabla 34. En Tabla 35 la prueba Tukey indica que tanto microorganismos como formulaciones se encuentran dentro de un mismo grupo es decir que todos presentan buenos resultados de pureza. En la Tabla 36 se observa que en la interacción microorganismo-formulación no existen valores diferentes estadísticamente, por lo cual existe un solo grupo de significancia. En la Figura 13 se observa que los dos microorganismos presentan un comportamiento similar con

respecto al tipo de formulación, estos valores se encuentran entre el 98,50 y 100,00% de pureza.

**Tabla 34**

*ANOVA de la Pureza en el día 30*

Fuente de variación	gl	F
Microorganismo	1	0,43
Formulación	3	3,41 *
Microorganismo*Formulación	3	1,22

Nota: Significancia (p-valor < 0,05) \* significativo, \*\* altamente significativo.

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 35**

*Grupos de Significancia de la Pureza en el día 30 por fuente de variación*

Fuente de variación	Media (%)	Grupo
Microorganismo		
<i>T. asperellum</i>	99,16	a
<i>P. lilacinum</i>	98,98	a
Formulación		
Polvos Mojables	99,64	a
Gránulos solubles	99,40	a
Gránulos cubiertos	98,63	a
Líquida	98,61	a

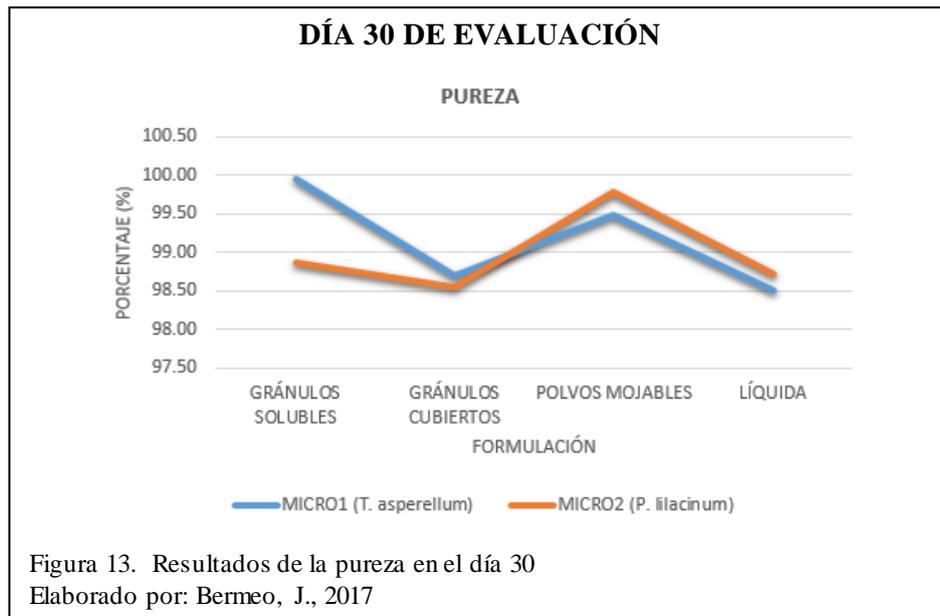
Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 36**

*Grupos de Significancia de la Pureza en el día 30 para la interacción*

Microorganismo	Formulación	Media (%)	Grupo
<i>T. asperellum</i>	Gránulos solubles	99,95	a
<i>P. lilacinum</i>	Polvos Mojables	99,78	a
<i>T. asperellum</i>	Polvos Mojables	99,49	a
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos solubles	98,86	a
<i>P. lilacinum</i>	Líquida	98,71	a
<i>T. asperellum</i>	Gránulos cubiertos	98,71	a
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos cubiertos	98,55	a
<i>T. asperellum</i>	Líquida	98,50	a

Elaborado por: Bermeo, J., 2017



En la Tabla 37 el análisis de varianza a los 45 días del experimento demuestra diferencias significativas para todas las fuentes de variación, presentándose interacción entre los factores de estudio. La prueba Tukey indica que los grupos de significancia con los valores más altos y por lo tanto mejores recaen sobre *P. lilacinum* y la formulación en polvos mojables, como se muestra en la Tabla 38. Mientras que en la interacción la formulación líquida se ajusta mejor a *P. lilacinum* según la Tabla 39. En la Figura 14 se observa que los dos microorganismos tienen un comportamiento similar en las formulaciones de gránulos cubiertos y polvos mojables, sin embargo *P. lilacinum* muestra porcentajes más altos de pureza con las formulaciones líquida al contrario de *T. asperellum* que tiene los valores más bajos con este tipo de formulación.

### Tabla 37

ANOVA de la Pureza en el día 45

Fuente de variación	gl	F
Microorganismo	1	12,93 **
Formulación	3	4,76 **
Microorganismo*Formulación	3	5,06 **

Nota: Significancia (p-valor < 0,05) \* significativo, \*\* altamente significativo.

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 38***Grupos de Significancia de la Pureza en el día 45 por fuente de variación*

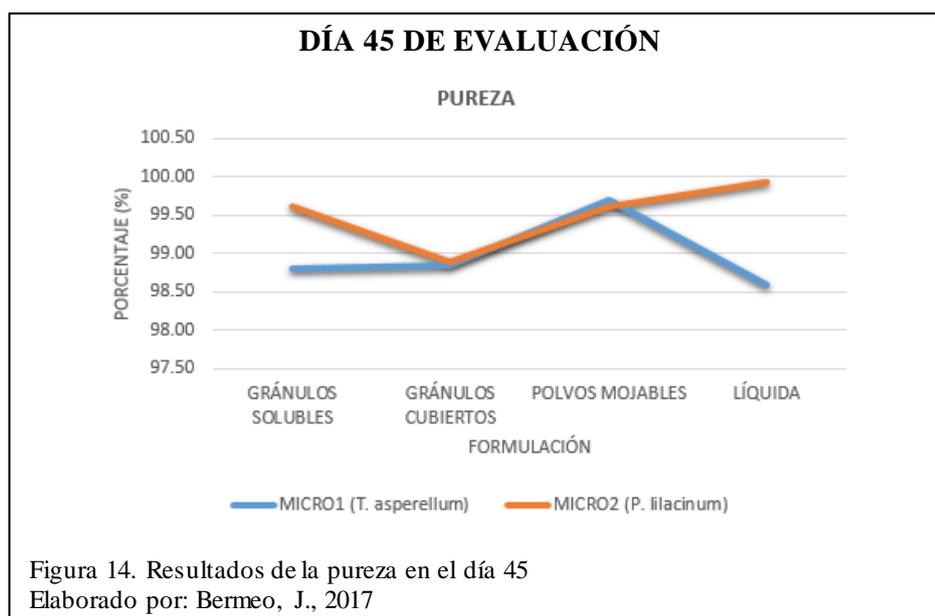
Fuente de variación	Media (%)	Grupo
Microorganismo		
<i>P. lilacinum</i>	99,52	a
<i>T. asperellum</i>	98,99	b
Formulación		
Polvos Mojables	99,66	a
Líquida	99,27	ab
Gránulos solubles	99,22	ab
Gránulos cubiertos	98,87	b

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 39***Grupos de Significancia de la Pureza en el día 45 para la interacción*

Microorganismo	Formulación	Media (%)	Grupo
<i>P. lilacinum</i>	Líquida	99,94	a
<i>T. asperellum</i>	Polvos Mojables	99,70	ab
<i>P. lilacinum</i>	Polvos Mojables	99,62	ab
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos solubles	99,62	ab
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos cubiertos	98,89	bc
<i>T. asperellum</i>	Gránulos cubiertos	98,84	bc
<i>T. asperellum</i>	Gránulos solubles	98,81	bc
<i>T. asperellum</i>	Líquida	98,59	c

Elaborado por: Bermeo, J., 2017



El análisis de varianza realizado a los 60 días de evaluación mostró diferencias significativas para todas las fuentes de variación, existiendo interacción entre los

factores según la Tabla 40. En la Tabla 41 se aprecia que la prueba Tukey mostró que *P. lilacinum* y polvos mojables presentan los mejores resultados en cuanto a pureza. En la Tabla 42 se muestran los grupos de significancia para la interacción microorganismo-formulación, los cuales fueron dos, encontrándose únicamente la formulación líquida con *T. asperellum* en el último grupo. En la Figura 15 se observa que *P. lilacinum* tiene valores similares de concentración en todas las formulaciones al igual que *T. asperellum*, sin embargo se observa un descenso considerable con respecto a los otros datos en la formulación líquida razón por la cual esta se ubicó en un rango diferente de los otros tratamientos.

**Tabla 40**

*ANOVA de la Pureza en el día 60*

Fuente de variación	gl	F
Microorganismo	1	10,16 **
Formulación	3	3,37 *
Microorganismo*Formulación	3	4,53 **

Nota: Significancia (p-valor < 0,05) \* significativo, \*\* altamente significativo.

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 41**

*Grupos de Significancia de la Pureza en el día 60 por fuente de variación*

Fuente de variación	Media (%)	Grupo
Microorganismo		
<i>P. lilacinum</i>	99,96	a
<i>T. asperellum</i>	99,74	b
Formulación		
Polvos Mojables	99,95	a
Gránulos solubles	99,91	ab
Gránulos cubiertos	99,88	ab
Líquida	99,66	b

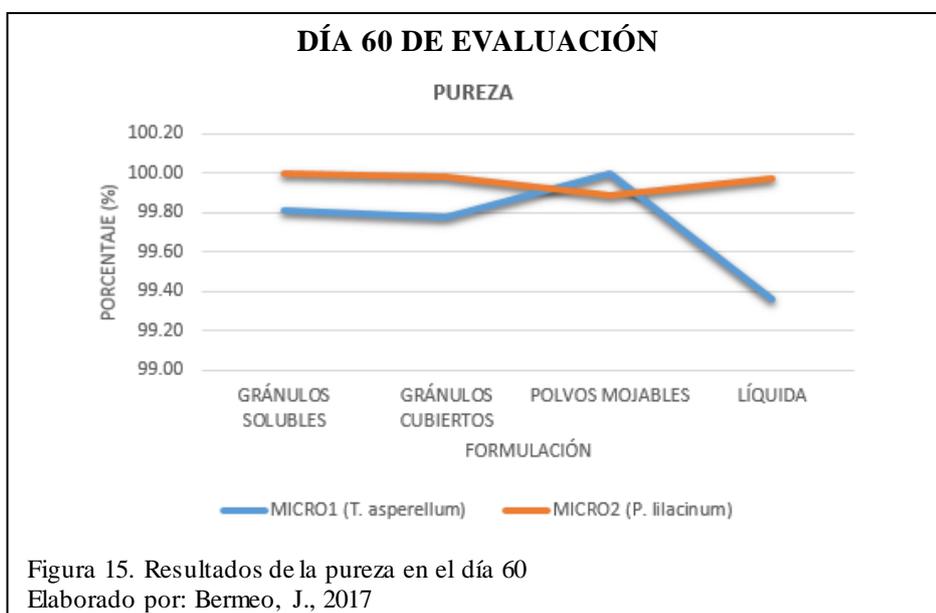
Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 42**

*Grupos de Significancia de la Pureza en el día 60 para la interacción*

Microorganismo	Formulación	Media (%)	Grupo
<i>T. asperellum</i>	Polvos Mojables	100,00	a
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos solubles	100,00	a
<i>P. lilacinum</i>	Gránulos cubiertos	99,98	a
<i>P. lilacinum</i>	Líquida	99,97	a
<i>P. lilacinum</i>	Polvos Mojables	99,89	a
<i>T. asperellum</i>	Gránulos solubles	99,81	a
<i>T. asperellum</i>	Gránulos cubiertos	99,78	a
<i>T. asperellum</i>	Líquida	99,36	b

Elaborado por: Bermeo, J., 2017



Al procesar los datos se puede observar que las formulaciones sólidas presentan los resultados más altos de pureza, siendo las medias de contaminación no mayor al 2,00% durante todo el experimento ya que los valores de pureza se encuentran sobre el 98,00%. Al presentar valores bajos de contaminación en las formulaciones de ambos microorganismos, se puede decir que todas son de calidad aceptable en cuanto a nivel de pureza, debido a que existe la posibilidad de contaminación externa durante la siembra en las cajas Petri. Estos resultados también se han observado en otros procedimientos artesanales donde se han elaborado formulaciones, como el de Santos et al. (2014) quienes encontraron hasta  $3,67 \times 10^4$  UFC/g correspondientes a bacterias,

mohos y levaduras. De igual manera Jenkins & Grzywacz (2003) consideran estos valores de contaminación como aceptables dentro de los estándares de países líderes en control biológico.

#### 5.4. Análisis de Costos en la producción de bioformulaciones

De acuerdo a la capacidad de los equipos disponibles en laboratorio se determinó que los lotes de producción son de 8000 ml/día para formulaciones líquidas, mientras que para formulaciones sólidas al no requerir equipos la capacidad de producción se incrementa de forma directamente proporcional a la mano de obra disponible, alcanzando una producción de hasta 4000 g/día de formulación por persona. Se ha considerado que cada lote sólido es distribuido en fundas de aluminio con una cantidad de 100 g cada una, mientras que el lote líquido se lo distribuye en envases plásticos de 200 ml. Por lo tanto la capacidad total de producción alcanza los 20 lotes/mes, lo cual equivale a 160 litros/mes de formulación líquida y 80 kg/mes de formulación sólida.

En las siguientes Tablas se detallan los costos que intervienen en la producción de formulaciones tipo granulo soluble, granulo cubierto, polvo mojable y líquida.

**Tabla 43**

*Equipos para la elaboración de bioformulación en gránulos solubles y cubiertos*

Cantidad	Nombre	Costo USD	Horas Trabajo	Horas Útiles	Costo USD/hora	Mantenimiento 10%	Costo USD/lote
1	Agitador de tamices	940,00	24	10.400	0,09	0,01	2,17
1	Autoclave	4.000,00	4	10.400	0,38	0,04	1,56
1	Balanza analítica	1.528,00	2	10.400	0,15	0,02	0,32
1	Cámara de flujo laminar	3.600,00	6	10.400	0,35	0,04	2,14
1	Incubadora	786,00	24	43.800	0,02	0,00	0,48
1	Microscopio	900,00	2	10.400	0,09	0,01	0,19
<b>TOTAL</b>							<b>6,86</b>

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 44***Equipos para la elaboración de bioformulación en polvos mojables*

<b>Cantidad</b>	<b>Nombre</b>	<b>Costo USD</b>	<b>Horas Trabajo</b>	<b>Horas Útiles</b>	<b>Costo USD/hora</b>	<b>Mantenimiento 10%</b>	<b>Costo USD/lote</b>
1	Agitador de tamices	940,00	24	10.400	0,09	0,01	2,17
1	Autoclave	4.000,00	2	10.400	0,38	0,04	0,80
1	Balanza analítica	1.528,00	2	10.400	0,15	0,02	0,32
1	Cámara de flujo laminar	3.600,00	6	10.400	0,35	0,04	2,14
1	Incubadora	786,00	24	43.800	0,02	0,00	0,48
1	Microscopio	900,00	2	10.400	0,09	0,01	0,19
<b>TOTAL</b>							<b>6,10</b>

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 45***Equipos para la elaboración de bioformulación líquida*

<b>Cantidad</b>	<b>Nombre</b>	<b>Costo USD</b>	<b>Horas Trabajo</b>	<b>Horas Útiles</b>	<b>Costo USD/hora</b>	<b>Mantenimiento 10%</b>	<b>Costo USD/lote</b>
1	Agitador de tamices	940,00	24	10.400	0,09	0,01	2,17
1	Agitador orbital	1.800,00	5	10.400	0,17	0,02	0,87
1	Autoclave	4.000,00	2	10.400	0,38	0,04	0,80
1	Balanza analítica	1.528,00	2	10.400	0,15	0,02	0,32
1	Cámara de flujo laminar	3.600,00	6	10.400	0,35	0,04	2,14
1	Incubadora	786,00	24	43.800	0,02	0,00	0,48
1	Microscopio	900,00	2	10.400	0,09	0,01	0,19
1	Refrigerador	1.600,00	24	43.800	0,04	0,00	0,96
<b>TOTAL</b>							<b>7,93</b>

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 46***Costo de insumos generales*

Nombre	Presentación	Precio USD	Costo U. USD/u	Cantidad Q/lote	Costo USD/lote
Alcohol antiséptico	4,00 L	8,00	2,00	1,00	2,00
Alcohol industrial	4,00 L	11,00	2,75	0,50	1,38
Arroz entero	100,00 lb	45,00	0,45	2,20	0,99
Cinta masking	1,00 u	1,50	1,50	0,25	0,38
Fundas de papel	50,00 u	2,00	0,04	10,00	0,40
Fundas plásticas	100,00 u	2,00	0,02	10,00	0,20
Guantes de manejo	100,00 u	6,00	0,06	2,00	0,12
Hoja de bisturí	100,00	1,50	0,15	1,00	0,15
Jeringa de 10ml	100,00 u	16,00	0,16	1,00	0,16
Mascarilla	50,00 u	5,00	0,10	1,00	0,10
Papel aluminio	6,00 m	4,00	0,67	2,00	1,34
Papel toalla	135,00 u	4,00	0,03	25,00	0,75
<b>TOTAL</b>					<b>7,97</b>

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 47***Costo de insumos específicos*

Nombre	Presentación	Precio USD	Costo U. USD/u	Cantidad Q/lote	Costo USD/lote
<b>GRÁNULOS SOLUBLES</b>					
Agua destilada	4,00 L	2,60	0,65	2,05	1,33
Almidón de yuca	1,10 lb	0,86	0,78	0,36	0,28
Bentonita	25,00 kg	5,00	0,20	1,01	0,20
Fundas de aluminio	100,00 u	31,80	0,32	40,00	12,80
Talco simple	1,00 kg	3,60	3,60	1,06	3,82
<b>TOTAL</b>					<b>18,43</b>
<b>GRÁNULOS CUBIERTOS</b>					
Aceite de Parafina	1,00 L	6,00	6,00	0,20	1,20
Agua destilada	4,00 L	2,60	0,65	0,72	0,47
Bentonita	25,00 kg	5,00	0,20	0,11	0,02
Fundas de aluminio con cierre hermético	100,00 u	31,80	0,32	40,00	12,80
Goma Xanthan	500,00 g	14,00	0,03	18,02	0,54
Talco simple	1,00 kg	3,60	3,60	0,42	1,51
Zeolita	1,00 kg	8,00	8,00	3,01	24,08
<b>TOTAL</b>					<b>40,62</b>
<b>POLVOS MOJABLES</b>					
Almidón de yuca	1,10 lb	0,86	0,78	0,63	0,49
Bentonita	25,00 kg	5,00	0,20	1,80	0,36
Talco simple	1,00 kg	3,60	3,60	1,80	6,48
Fundas de aluminio con cierre hermético	100,00 u	31,80	0,32	40,00	12,80
<b>TOTAL</b>					<b>20,13</b>
<b>LÍQUIDA</b>					
Aceite de parafina	1,00 L	6,00	6,00	4,00	24,00
Frascos de plástico	1,00 u	0,25	0,25	40,00	10,00
<b>TOTAL</b>					<b>34,00</b>

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 48***Costo de reactivos*

Formulación	Presentación	Precio USD	Costo U USD/u	Cantidad Q/lote	Costo USD/lote
Gránulos solubles	1000,00 ml	19,50	0,02	2,04	0,04
Gránulos cubiertos	1000,00 ml	19,50	0,02	1,00	0,02
Polvos mojables	1000,00 ml	19,50	0,02	0,03	0,00
Líquida	1000,00 ml	19,50	0,02	20,03	0,40

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 49***Costo por uso de materiales comunes en la elaboración de bioformulaciones*

Cantidad	Nombre	Costo USD	Horas Trabajo	Horas Útiles	Costo USD/hora	Costo USD/lote
1	Cámara Neubauer	53,00	3	10.400	0,01	0,02
1	Cubre objetos	2,70	3	10.400	0,00	0,00
1	Espátula	2,70	4	10.400	0,00	0,00
2	Frascos de vidrio autoclavable 1000 ml	7,00	5	10.400	0,00	0,01
1	Lámpara de alcohol	3,50	5	10.400	0,00	0,00
1	Marcador para vidrio	2,00	8	10.400	0,00	0,00
1	Probeta de 500 ml	12,54	4	10.400	0,00	0,00
1	Tamiz #150	25,00	8	10.400	0,00	0,02
1	Tamiz #200	25,00	8	10.400	0,00	0,02
1	Tamiz #325	25,00	8	10.400	0,00	0,02
2	Vaso de precipitación de 500 ml	5,80	4	10.400	0,00	0,00
<b>TOTAL</b>						<b>0,09</b>

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 50***Costo por uso de materiales específicos*

Cantidad	Nombre	Costo USD	Horas Trabajo	Horas Útiles	Costo USD/hora	Costo USD/lote
<b>Gránulos Solubles</b>						
10	Bandeja plástica	2,40	8	10.400	0,0002	0,02
1	Peletizador manual	50,00	4	10.400	0,0048	0,02
4	Tupper	5,00	6	10.400	0,0005	0,01
<b>TOTAL</b>						<b>0,05</b>
<b>Gránulos Cubiertos</b>						
10	Bandeja plástica	2,40	8	10.400	0,0002	0,02
4	Tupper	5,00	6	10.400	0,0005	0,01
<b>TOTAL</b>						<b>0,03</b>
<b>Polvos Mojables</b>						
4	Tupper	5,00	6	10.400	0,0005	0,01
<b>TOTAL</b>						<b>0,01</b>
<b>Líquida</b>						
16	Erlenmeyer 250 ml	10,00	6	10.400	0,0009	0,09
4	Erlenmeyer 1000 ml	32,00	2	10.400	0,0030	0,02
<b>TOTAL</b>						<b>0,11</b>

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 51***Costo de mano de obra directa e indirecta*

Cantidad	Descripción	Costo	Dedicación	Costo	
		USD/mes	% Tiempo	USD/año	USD/lote
<b>DIRECTA</b>					
1	Técnico encargado del proceso	900,00	100	10.800,00	45,00
<b>SUBTOTAL</b>				<b>10.800,00</b>	<b>45,00</b>
<b>INDIRECTA</b>					
1	Personal de limpieza y apoyo	650,00	10	7.800,00	3,25
1	Jefe o responsable	2.000,00	10	24.000,00	10,00
<b>SUBTOTAL</b>				<b>31.800,00</b>	<b>13,25</b>
<b>TOTAL</b>				<b>42.600,00</b>	<b>58,25</b>

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

**Tabla 52***Costos Indirectos para la elaboración de bioformulaciones*

Detalle	Costo	Costo
	USD/mes	USD/lote
Material de aseo	50,00	2,50
Material de oficina	50,00	2,50
Vestuario	25,00	1,25
Energía eléctrica	35,00	1,75
Movilización	40,00	2,00
Infraestructura	50,00	2,50
Agua potable	10,00	0,50
<b>TOTAL</b>		<b>13,00</b>

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

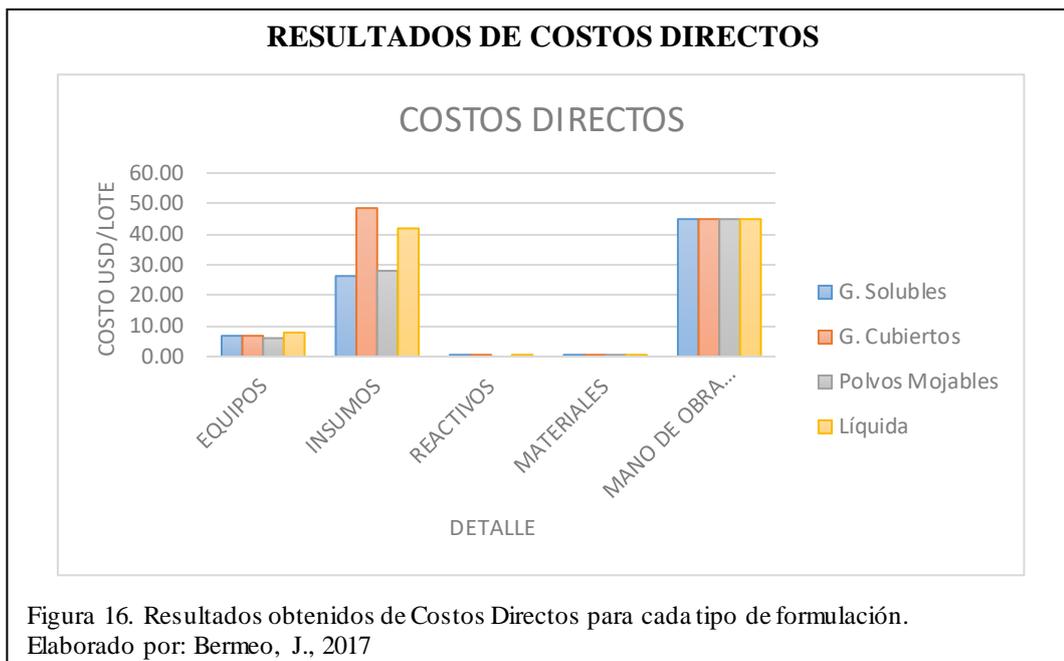
Los costos totales para cada tipo de formulación se los ha obtenido mediante la sumatoria de los valores correspondientes a Costos Directos e Indirectos. Estos valores se detallan en la Tabla 53.

**Tabla 53***Costos Totales en la elaboración de bioformulados*

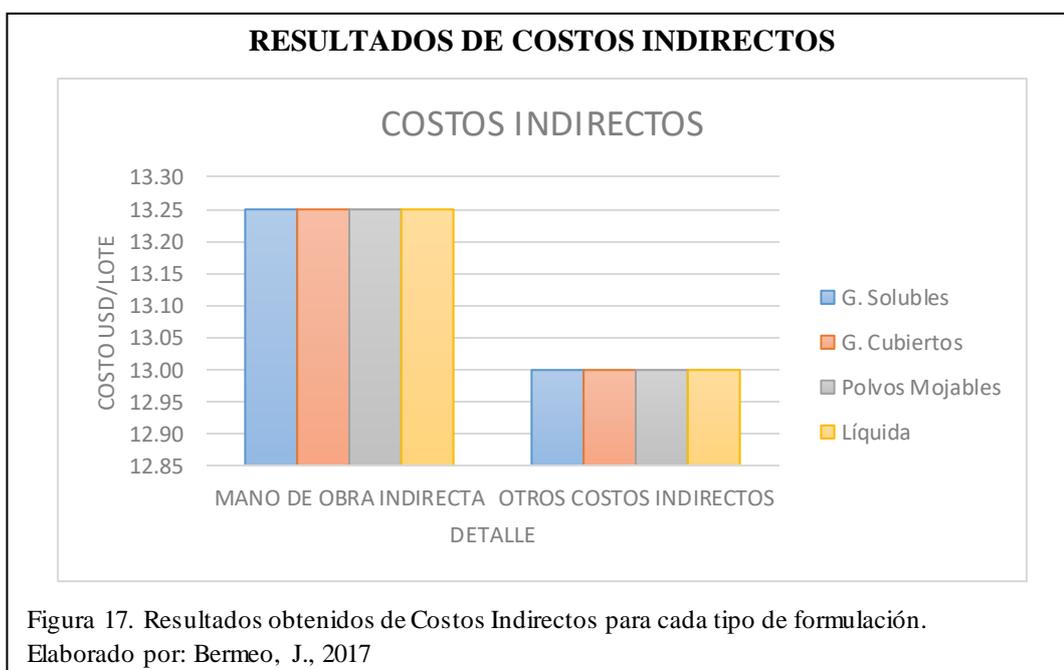
<b>Detalle</b>	<b>Gránulos Cubiertos</b>	<b>Gránulos Solubles</b>	<b>Polvos Mojables</b>	<b>Líquida</b>
Equipos	6,86	6,86	6,10	7,93
Insumos	26,40	48,59	28,10	41,97
Reactivos	0,04	0,02	0,00	0,40
Materiales	0,14	0,12	0,10	0,20
Mano de obra	58,25	58,25	58,25	58,25
Costos Indirectos	13,00	13,00	13,00	13,00
<b>TOTAL</b>	<b>104,69</b>	<b>126,84</b>	<b>105,55</b>	<b>121,75</b>

Elaborado por: Bermeo, J., 2017

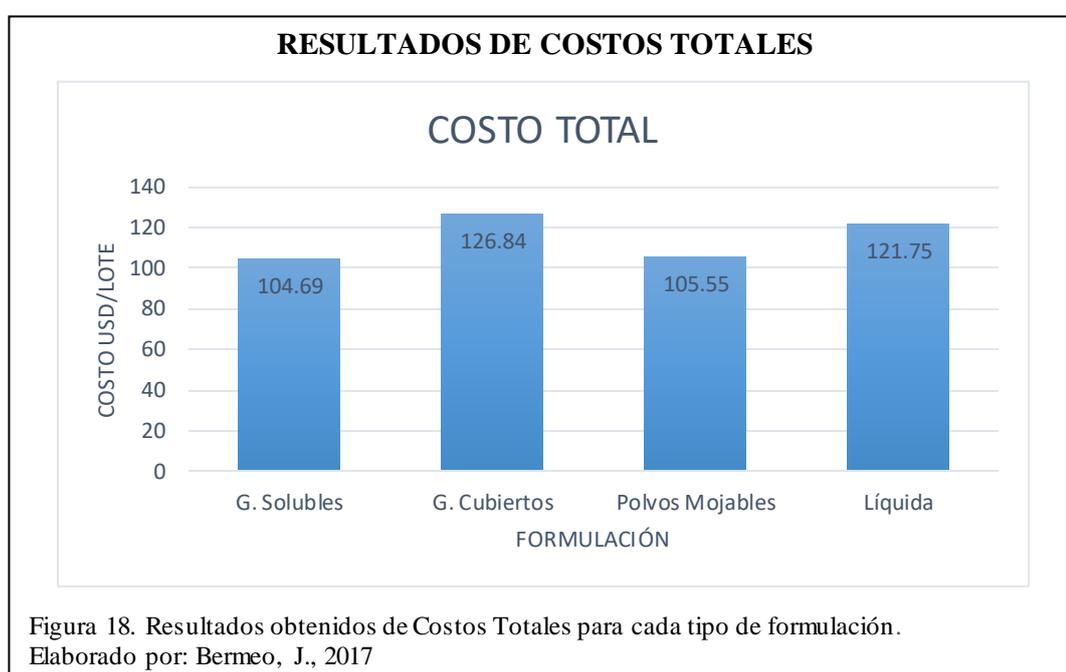
En la Figura 16 se puede apreciar la comparación entre Costos Directos asociados a la elaboración de cada tipo de formulación. Las fuentes de variación más significativas en este tipo de costos recae sobre los equipos e insumos, en donde en cuanto a equipos el menor costo de producción recae a favor de la formulación en Polvos Mojables (PM) con un costo de USD 6,10 por lote, en segundo lugar Gránulos Solubles (GS) y Cubiertos (GC) con un costo de USD 6,86 por lote y en último lugar la formulación Líquida (FL) con un costo de USD 7,93 por lote. En cuanto a insumos la formulación en GC ocupa el primer lugar con un costo de USD 26,40 por lote, seguida por PM con un costo de USD 28,10 por lote, FL con un costo de USD 41,97 por lote y resulta más costosa la formulación en GS con un valor de USD 48,59 por lote. Los reactivos tienen un valor menor a USD 0,40 por lote ya que son utilizados en cantidades menores a 5,00 ml/lote, mientras que los materiales resultan tener un costo menor a USD 0,20 por lote ya que se parte de la existencia de un laboratorio que dispone del equipo básico para elaborar las formulaciones, y estos al tener un tiempo de vida útil extenso se reportan con un costo por uso mínimo. En lo que respecta a mano de obra directa esta es homogénea para cualquier tipo de formulación que se requiera producir.



En la Figura 17 se pueden apreciar los Costos Indirectos asociados a la producción de cada tipo de formulación, estos costos no presentan variación, ya que tanto la mano de obra como los denominados otros costos están asociados al uso de la infraestructura, por lo tanto el valor final es el mismo en todos los casos.



En la Figura 18 se pueden apreciar las variaciones del Costo Total de elaborar un lote de formulación. Gránulos Solubles es la formulación con el menor costo de producción (USD 104,69 por lote), los siguientes tipos de formulación se los ha comparado con respecto a la de menor costo, por lo tanto en segundo lugar están los Polvos Mojables con USD 0,86 por lote de diferencia, en tercer lugar la formulación Líquida con USD 17,06 por lote de diferencia y en último lugar la formulación en Gránulos Cubiertos con USD 22,15 por lote de diferencia.



En base a los resultados obtenidos de costos se puede determinar que la formulación en gránulos solubles y polvos mojables son las más económicas en cuanto a producción; con respecto al almacenamiento la formulación líquida representaría un costo adicional ya que requiere refrigeración para mantener la viabilidad del producto mientras que las de tipo sólido se almacenan a temperatura ambiente (15°C aproximadamente). La metodología de obtención de los microorganismos es considerada de bajo costo y alta eficiencia, según Padilla, Leguizamón, & Velásquez (2001). La elaboración de las formulaciones propuestas en esta investigación resulta

competitivo en el mercado ya que un producto formulado con los microorganismos propuestos generalmente se lo encuentra en un valor cercano a USD 100,00 por kg como es Lilacinol y Tusal (BIO TECSA, n.d.; Fitoagricola, n.d.), mientras que el propuesto puede llegar a costar hasta la cuarta parte, es decir 4 kilos de formulación sólida por entre USD 105,00 y 127,00 .

## CAPÍTULO VI

### 6.1. CONCLUSIONES

- La elaboración artesanal de formulaciones tiene un procedimiento sencillo que no requiere el empleo de equipos especializados y los componentes que la conforman pueden ser adquiridos con facilidad, por lo tanto pueden ser desarrollados por cualquier persona u organismo interesado.
- En base a la calidad de las formulaciones tanto para *P. lilacinum* como para *T. asperellum* las formulaciones sólidas son las que presentan valores de sobrevivencia y estabilidad aceptables, siendo los gránulos cubiertos los que ocupan el primer lugar, con valores superiores a  $1,20 \times 10^8$  UFC/g al término de 60 días de almacenamiento a temperatura ambiente, con una pureza superior al 98,00% siendo estos valores similares a otros productos comerciales que se encuentran actualmente en el mercado.
- En términos de concentración del formulado *P. lilacinum* presenta una media de valores superiores a *T. asperellum* durante un tiempo de evaluación de 60 días, *P. lilacinum* obtuvo valores altos con la formulación de gránulos solubles llegando hasta de  $1,03 \times 10^9$  esporas/g en la, mientras que *T. asperellum* obtuvo un valor de a  $5,62 \times 10^8$  esporas/g con la formulación en polvos mojables.
- El análisis económico demuestra que la elaboración de formulaciones no genera costos de producción representativos en comparación con la cantidad de formulado a obtener, por lo que resulta rentable producir de forma masiva este tipo de productos.

## 6.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda que los componentes bentonita, talco y zeolita para las formulaciones en gránulos sean secados en una estufa a 45°C, 24 horas antes de elaborar la formulación para que los componentes líquidos puedan absorberse mejor, además procurar que estos se encuentren a temperatura ambiente al adicionar el ingrediente activo.
- En la elaboración de pellets para gránulos solubles se recomienda trabajar de forma ágil, ya que el producto tiende a secarse con rapidez lo cual hace la extrusión más complicada.
- Continuar con las evaluaciones de las formulaciones por al menos 12 meses en períodos de 30 a 45 días para evaluar el comportamiento de las mismas.

## CAPÍTULO VII

### 7. BIBLIOGRAFÍA

- AGRINOVA SCIENCE. (n.d.). AMINO T:Trichoderma Harzianum. Retrieved August 1, 2017, from [http://www.agrinova.com/productos/trichoderma\\_harzianum\\_amino\\_t.htm](http://www.agrinova.com/productos/trichoderma_harzianum_amino_t.htm)
- ANASAC Control. (2013). *Plaguicidas*. Chile. Retrieved from <http://www.anasaccontrol.cl/website/wp-content/uploads/2013/06/Plaguicidas.pdf>
- Angelo, I. C., Fernandes, É. K. K., Bahiense, T. C., Perinotto, W. M. S., Golo, P. S., Moraes, A. P. R., & Bittencourt, V. R. E. P. (2012). Virulence of *Isaria* sp. and *Purpureocillium lilacinum* to *Rhipicephalus microplus* tick under laboratory conditions. *Parasitology Research*, *111*(4), 1473–1480. <http://doi.org/10.1007/s00436-012-2982-y>
- Banu, J. G., Iyer, R., & Gunasekaran, M. (2006). Mass multiplication and formulation of a nematophagous fungus, *Paecilomyces lilacinus*. *International Journal of Nematology*, *16*(2), 145–152. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/259478399>
- Bastidas, O. (n.d.). *Conteo Celular con Hematocitómetro: Uso Elemental del Hematocitómetro* (Technical Note). Retrieved from [www.celeromics.com](http://www.celeromics.com)
- BIO TECSA. (n.d.). LILACINOL WP. Retrieved August 1, 2017, from <https://bio-tecsa.jimdo.com/agricultura-orgánica/productos-para-agricultura/control-de-plagas/#cc-m-product-5898101257>
- BIOCONTROL. (2006). LILACINOL. Retrieved August 1, 2017, from [http://www.controlbiologico.com/ficha\\_tecnica\\_peacelomyces\\_LILACINOL.pdf](http://www.controlbiologico.com/ficha_tecnica_peacelomyces_LILACINOL.pdf)
- BIOTECNOLOGÍA, O. (2011). Micosplag WP. Colombia. Retrieved from [www.sag.cl/sites/default/files/MICOSPLAG\\_01-12-2011.pdf](http://www.sag.cl/sites/default/files/MICOSPLAG_01-12-2011.pdf)
- Cano, E., Carballo, M., Chaput, P., Fernandez, O., González, L., Gruber, A., ...

- Salazar, D. (2004). *Control biológico de plagas agrícolas*. (CATIE, Ed.) *Revista Lasallista de Investigación* (1a ed., Vol. 12). Managua: Corporación Universitaria Lasallista. Retrieved from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1794-44492015000100008&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-44492015000100008&lng=en&tlng=es)
- Cano, S. (2006). *MÉTODOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO*.
- Castro, L. (2013). *Control de calidad en los procesos de producción de hongos entomopatógenos y del parasitoide Cotesia flavipes en Costa Rica*. Costa Rica.
- Cavello, I. A., Hours, R. A., & Cavalitto, S. (2012). Bioprocessing of "Hair Waste" by *Paecilomyces lilacinus* as a Source of a Bleach-Stable, Alkaline, and Thermostable Keratinase with Potential Application as a Laundry Detergent Additive: Characterization and Wash Performance Analysis. *Biotechnology Research International*, 2012, 369308. <http://doi.org/10.1155/2012/369308>
- CERTIS EUROPE. (2015). TUSAL: LO MEJOR PARA EL SUELO. España. Retrieved from [http://www.certiseurope.es/uploads/media/TUSAL\\_03\\_08\\_2015\\_01.pdf](http://www.certiseurope.es/uploads/media/TUSAL_03_08_2015_01.pdf)
- Chet, I., Ramot, O., Viterbo, A., Friesem, D., & Oppenheim, A. (2003). Regulation of two homodimer hexosaminidases in the mycoparasitic fungus *Trichoderma asperellum* by glucosamine. *Current Genetics*, 45(4), 205–213. <http://doi.org/10.1007/s00294-003-0478-0>
- Doctor Obregón S.A. (2016). *Trichoderma asperellum: Bioprotection TR*. México. Retrieved from <http://www.doctor-obregon.com/Pages/Trichoderma.aspx>
- Enginyeria I Consultoria Costa S.L. (2013). *TEMA 1: PLAGUICIDAS. DESCRIPCIÓN Y GENERALIDADES I ENGINYERIA I CONSULTORIA*. Barcelona. Retrieved from <http://www.eccosta.com/online/tema1>
- EPA Office of Pesticide Programs, U. (2011). *Trichoderma asperellum strain T34 BIOPESTICIDES REGISTRATION ACTION DOCUMENT*. Retrieved from [https://www3.epa.gov/pesticides/chem\\_search/reg\\_actions/registration/decision\\_PC-119209\\_14-Oct-11.pdf](https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-119209_14-Oct-11.pdf)

- FAO. (2011). El estado de los recursos de tierras y aguas del mundo para la alimentación y la agricultura: La gestión de los sistemas en situación de riesgo. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/015/i1688s/i1688s00.pdf>
- FAO, & OMS. Código Internacional de Conducta para la Gestión de Plaguicidas (2014). Retrieved from [http://www.who.int/about/licensing/copyright\\_form/en/index.html](http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html)
- Fernández, C., & Juncosa, R. (2002). Biopesticidas: ¿la agricultura del futuro? *Phytoma*, 141, 14–19. Retrieved from <http://futurecobioscience.com/pdf/biopesticidas-agricultura-futuro-39.pdf>
- FiBL, & IFOAM. (2017). *El mundo de la agricultura orgánica 2017*. Retrieved from <http://www.ifoam.bio/en/news/2017/02/09/world-organic-agriculture-2017>
- Fitoagricola. (n.d.). TUSAL (1 Kgr.). Dosificado en 2x500 gr. - Tienda Online de Semillas Y Plaguicidas. Retrieved August 1, 2017, from <https://www.fitoagricola.net/es/tienda-online/Catalog/show/tusal-1-kgr-dosificado-en-2x500-gr-299598>
- García, A. (2008). *Proyecto de creación y puesta en marcha de la empresa Bioinsumos de Colombia Ltda., Laboratorio Productor de Hongos Entomopatógenos y Antagonistas para el manejo de plagas y enfermedades en cultivos de interés agrícola*. Universidad de La Salle.
- García, G., & Salas, P. (2011). Eficiencia de las dosis de diferentes formulaciones del herbicida atrazina + simazina en el control de malezas en el cultivo de maíz. *Investig. Agrar.*, 13(2), 81–86.
- García, G., & Tarango, S. (2009). *Coadyuvantes y aspersiones foliares* (Folleto técnico No. 28). México.
- GRUPO VERSA. (n.d.). CHIMAL. Retrieved August 1, 2017, from <http://www.agroquimicos-organicosplm.com/chimal-12366-3#inicio>
- Guigón, C., Guerrero, V., Vargas, F., Carvajal, E., Ávila, G. D., Bravo, L., ... Lorito, M. (2010). Identificación Molecular de Cepas Nativas de *Trichoderma* spp. su Tasa de Crecimiento in vitro y Antagonismo contra Hongos Fitopatogenos.

*Revista Mexicana de Fitopatología*, 28(2), 87–96. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=88996470&lang=es&site=ehost-live>

Hernández-Ochandía, D., Rodríguez, M. G., Peteira, B., Miranda, I., Arias, Y., & Martínez, B. (2015). Efecto de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt y Nirenberg sobre el desarrollo del tomate y *Meloidogyne incognita* (Kofoid Y White). *Revista Protección Vegetal*, 30(2), 139–147.

Herrera, E., Sánchez, V., & Blanco, H. (2013). FORMULACIÓN DE GRÁNULOS BASES PARA LA INCORPORACIÓN DE INGREDIENTES ACTIVOS CON EFECTO BIOLÓGICO SOBRE EL HONGO SIMBIÓTICO CULTIVADO POR LAS HORMIGAS FORRAJERAS DEL GÉNERO *Atta*. *Agronomía Costarricense*, 37(2), 55–69. <http://doi.org/0377-9424>

Herzfeld, D., & Sargent, K. (2008). Chapter 4 Pesticide Formulation. In U. of M. Extension (Ed.), *Private Pesticide Applicator Training Manual* (4th ed., pp. 85–108). <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Hoyos, L., Orduz, S., & Bissett, J. (2009). Genetic and metabolic biodiversity of *Trichoderma* from Colombia and adjacent neotropic regions. *Fungal Genetics and Biology*, 46(9), 615–631. <http://doi.org/10.1016/j.fgb.2009.04.006>

IFOAM. (2005). Definición de Agricultura Orgánica. Retrieved June 7, 2017, from <http://www.ifoam.bio/en/organic-landmarks/definition-organic-agriculture>

INEC. (2013). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC)*. Retrieved from <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/plaguicidas-y-su-destino-final-en-la-agricultura-2013/>

INEC. (2015). *Información Ambiental en la Agricultura 2015*. Retrieved from [http://190.152.152.74/documentos/web-inec/Encuestas\\_Ambientales/Informacion\\_ambiental\\_en\\_la\\_agricultura/2015/Presentacion\\_informacion\\_ambiental\\_en\\_la\\_agricultura\\_2015.pdf](http://190.152.152.74/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/Informacion_ambiental_en_la_agricultura/2015/Presentacion_informacion_ambiental_en_la_agricultura_2015.pdf)

Jenkins, N. E., & Grzywacz, D. (2003). Towards the standardization of quality control of fungal and viral biological control agents. In J. C. van Lenteren (Ed.), *Quality control and production of biological control agents: theory and testing*

*procedures* (pp. 247–263). Wallingford: CABI.  
<http://doi.org/10.1079/9780851996882.0247>

- Kloepper, J. . ., & Schroth, M. N. (1981). Development of a Powder Formulation of Rhizobacteria for Inoculation of Potato Seed Pieces. *Phytopathology*, *71*(6), 590–592. <http://doi.org/10.1094/Phyto-71-590>
- Lamovšek, J., Urek, G., & Trdan, S. (2013). Biological Control of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.): Microbes against the Pests / BIOTIČNO ZATIRANJE OGORČIC KORENINSKIH ŠIŠK (*Meloidogyne* spp.): MIKROORGANIZMI PROTI ŠKODLJIVCEM. *Acta Agriculturae Slovenica*, *101*(2). <http://doi.org/10.2478/acas-2013-0022>
- Luangsa-ard, J., Houbraken, J., van Doorn, T., Hong, S.-B., Borman, A. M., Hywel-Jones, N. L., ... F, S. (2011). *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiology Letters*, *321*(2), 141–149. <http://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02322.x>
- Marino, P., Villamizar, L., Espinel, C., & Cotes, A. (2004). Caracterización de prototipos de bioplaguicidas granulados a base de *Metarhizium anisopliae* para el control de *Ancognatha scarabaeoides* (Coleóptera: Nelolonthidae). *Revista Colombiana de Entomología*, *30*(1), 43–49. Retrieved from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0120-04882004000100007&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-04882004000100007&lng=es&nrm=iso)
- Martínez, A., & Moreno, A. (2016). *Usuario profesional de productos fitosanitarios*. (P. S.A, Ed.) (Mundi-Pren). España.
- Monzón, A. (2001). Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*, (63), 95–103.
- Noriega, G., Cárcamo, B., Gómez, M., Schwentesius, R., Cruz, S., Leyva, J., ... Martínez, A. (2014). Intensificación de la producción en la agricultura orgánica : caso café \* Intensification of production in organic agriculture : coffee case Resumen. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *5*(1), 163–169. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263129782014>
- Núñez-Camargo, M. del C., Carrión, G., Núñez-Sánchez, A., & López, J. (2012).

- Evaluación de la Patogenicidad in vitro de *Purpureocillium lilacinum* sobre *Globodera rostochiensis*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15(2), 126–134. Retrieved from <http://hdl.handle.net/20.500.11799/39970>
- Padilla, B., Leguizamón, J., & Velásquez, E. (2001). *Metarhizium anisopliae* PARA EL CONTROL DE *Meloidogyne* spp. *CENICAFE Colombia*, 52(4), 249–269.
- Prasad, P., Varshney, D., & Adholeya, A. (2015). Whole genome annotation and comparative genomic analyses of bio-control fungus *Purpureocillium lilacinum*. *BMC Genomics*, 16(1), 1004. <http://doi.org/10.1186/s12864-015-2229-2>
- Rogg, H. (2000). *Manual de Entomología Agrícola de Ecuador*. (ABYA-YALA, Ed.). Quito.
- Ruiz, J., Gomez, M., & Villamizar, L. (2015). Prototipo de formulación y atmósfera de empaque para la cepa antagonista *Pseudomonas fluorescens* Ps006. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XVII(2), 95–102. <http://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v17n2.54282>
- Sadi, M. S., & Masoud, A. (2012). Effect of pH on stability, Sunflower growth promotion and biocontrol potential of a talc-based formulation of *Pseudomonas fluorescens* UTPF61. *Australian Journal of Crop Science*, 6(3), 463–469. Retrieved from [http://www.cropj.com/mirnasari\\_6\\_3\\_2012\\_463\\_469.pdf](http://www.cropj.com/mirnasari_6_3_2012_463_469.pdf)
- Samuels, G., Lieckfeldt, E., & Nirenberg, H. (1999). *Trichoderma asperellum*, a new species with warted conidia, and redescription of *T. viride*. *Sydowia*, 51, 71–88.
- Santamarina, M. P., García, F., & Rosello, J. (2005). *Trichoderma: mecanismos de control* (27 Jornadas de Productos Fitosanitarios No. 172). España.
- Santos, A., García, M., Cotes, A. M., & Villamizar, L. (2012). Efecto de la formulación sobre la vida útil de bioplaguicidas a base de dos aislamientos colombianos de *Trichoderma koningiopsis* Th003 y *Trichoderma asperellum* Th034. *Revista Iberoamericana de Micología*, 29(3), 150–156. <http://doi.org/10.1016/j.riam.2011.11.002>
- Santos, A., Uribe, L. A., Ruiz, J. C., Tabima, L., Gómez, J. A., & Villamizar, L. F. (2014). Nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* SfNPV003:

compatibilidad con agroquímicos y estabilidad en condiciones de almacenamiento. *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu.*, 15(2), 219–228. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v15n2/v15n2a08.pdf>

Settle, W., & Garba, M. H. (2011). Sustainable crop production intensification in the Senegal and Niger River basins of francophone West Africa. *International Journal of Agricultural Sustainability*. <http://doi.org/10.3763/ijas.2010.0559>

Shah, P. A., & Pell, J. K. (2003). Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61(5–6), 413–423. <http://doi.org/10.1007/s00253-003-1240-8>

Singbo, A. G., Lansink, A. O., & Emvalomatis, G. (2015). Estimating shadow prices and efficiency analysis of productive inputs and pesticide use of vegetable production. *European Journal of Operational Research*, 245(1), 265–272. <http://doi.org/10.1016/j.ejor.2015.02.042>

Téllez-jurado, A., Guadalupe, M., Ramírez, C., & Flores, Y. M. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista Mexicana de Micología.*, 80.

Valencia, R., Guzmán, Ó., Villegas, B., & Castaño, J. (2014). Manejo integrado de nematodos fitoparásitos en almácigos de plátano dominico hartón (. *Luna Azul*, (39), 165–185. Retrieved from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1909-24742014000200011&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-24742014000200011&lng=en&tlng=es).

Vargas, H., & Ramelli, E. (2015). Biodisponibilidad de *Trichoderma asperellum* en el tiempo en suelo Andisol en condiciones de laboratorio y campo. *Revista Lasallista de Investigación*, 12(1), 72–80. Retrieved from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1794-44492015000100008&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-44492015000100008&lng=en&tlng=es).

Waqas, W., M, U. G., Yong, J. K., Ehsan, U., Shamas ul Islam, S., & Kashif, A. (2012). Testing *Paecilomyces lilacinus*, diatomaceous earth and *Azadirachta indica* alone and in combination against cotton aphid (*Aphis gossypii* Glover) (Insecta: Homoptera: Aphididae). *African Journal of Biotechnology*, 11(4), 821–828.

<http://doi.org/10.5897/AJB11.2446>

World Bank. (2017). World Development Indicators: Agricultural inputs. Retrieved April 20, 2017, from <http://wdi.worldbank.org/table/3.2#>

Zamilpa, J., Schwentesius, R., & Ayala, D. (2016). State of the art about the criticism of organic agriculture. *Acta Universitaria*, 26(2), 20–29. <http://doi.org/10.15174/au.2016.854>

## CAPÍTULO VIII

### 8. ANEXOS

#### Anexo 1. Muestra de datos de viabilidad.

TRATAMIENTO	DILUCIÓN			UFC/g
	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	
T1R1	i	175	60	1.75E+08
T1R2	i	232	187	2.32E+08
T1R3	i	234	61	2.34E+08
T1R4	i	143	66	1.43E+08
T1R5	i	180	56	1.80E+08
T1R6	i	203	39	2.03E+08
T1R7	i	148	63	1.48E+08
T1R8	i	152	82	1.52E+08
T1R9	i	196	39	1.96E+08
T1R10	i	134	41	1.34E+08
T1R11	i	128	38	1.28E+08
T1R12	i	115	53	1.15E+08
T1R13	i	138	45	1.38E+08
T1R14	i	176	40	1.76E+08
T1R15	i	165	112	1.65E+08
T1R16	i	170	93	1.70E+08
T1R17	i	140	65	1.40E+08
T1R18	i	128	70	1.28E+08
T1R19	i	98	19	9.80E+07
T1R20	i	143	73	1.43E+08
T1R21	i	96	53	9.60E+07
T1R22	i	147	30	1.47E+08
T1R23	i	118	34	1.18E+08
T1R24	i	93	30	9.30E+07
T1R25	i	190	87	1.90E+08
T1R26	i	170	136	1.70E+08
T1R27	i	182	103	1.82E+08
T1R28	i	132	98	1.32E+08
T1R29	i	196	138	1.96E+08
T1R30	i	208	142	2.08E+08
	Incontable			

**Anexo 2.** Muestra de datos de concentración.

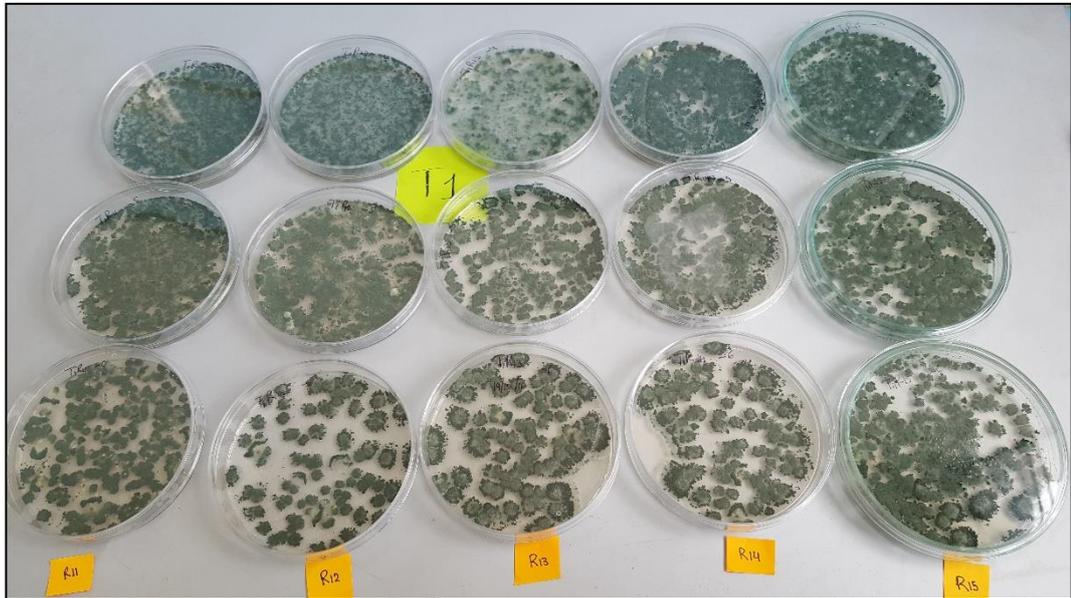
TRATAMIENTO	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	PROMEDIO	ESP/gramo
T1R1	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1.6	2.92E+08
T1R2	2	1	0	4	2	2	0	4	0	2	1.7	3.10E+08
T1R3	0	1	0	2	3	0	4	3	0	3	1.6	2.92E+08
T1R4	1	0	0	1	1	1	3	4	0	1	1.2	2.19E+08
T1R5	1	1	1	2	2	2	2	3	2	3	1.9	3.46E+08
T1R6	2	1	2	1	1	2	2	3	1	1	1.6	2.92E+08
T1R7	2	2	0	3	1	2	2	1	1	2	1.6	2.92E+08
T1R8	1	2	1	2	1	2	1	4	1	2	1.7	3.10E+08
T1R9	1	2	1	4	2	2	1	1	2	3	1.9	3.46E+08
T1R10	4	2	2	0	1	3	1	1	2	2	1.8	3.28E+08
T1R11	1	1	3	1	1	1	1	1	1	2	1.3	2.37E+08
T1R12	1	2	3	1	2	1	2	0	1	1	1.4	2.55E+08
T1R13	0	1	1	2	1	1	0	1	0	1	0.8	1.46E+08
T1R14	1	2	1	2	0	1	3	2	3	2	1.7	3.10E+08
T1R15	1	2	1	3	2	1	0	2	1	2	1.5	2.73E+08
T1R16	2	2	1	2	1	3	2	3	2	1	1.9	3.46E+08
T1R17	0	3	1	3	2	2	3	2	2	2	2	3.65E+08
T1R18	3	1	1	3	2	2	4	2	1	1	2	3.65E+08
T1R19	1	3	3	0	2	1	3	1	1	1	1.6	2.92E+08
T1R20	2	1	2	1	1	1	0	0	1	2	1.1	2.00E+08
T1R21	0	1	2	0	1	1	2	1	1	1	1	1.82E+08
T1R22	2	1	0	2	2	1	0	1	1	1	1.1	2.00E+08
T1R23	1	2	0	1	1	1	4	1	1	3	1.5	2.73E+08
T1R24	3	2	2	1	1	3	2	1	0	3	1.8	3.28E+08
T1R25	0	2	1	1	2	1	1	2	3	1	1.4	2.55E+08
T1R26	0	2	3	1	2	1	2	3	1	2	1.7	3.10E+08
T1R27	2	2	1	2	3	4	0	1	0	1	1.6	2.92E+08
T1R28	4	2	1	1	0	3	1	2	1	2	1.7	3.10E+08
T1R29	1	3	0	2	0	4	2	1	1	1	1.5	2.73E+08
T1R30	1	3	1	0	2	2	3	2	1	2	1.7	3.10E+08

Los resultados de viabilidad se expresan en esporas/gramo de formulación.

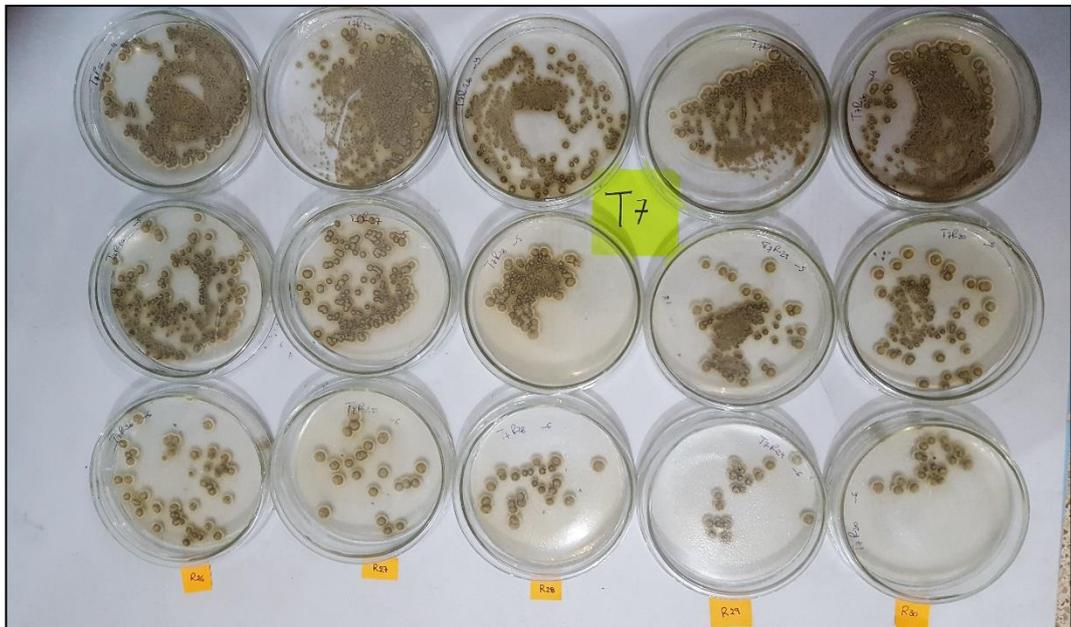
**Anexo 3.** Muestra de datos de pureza.

TRATAMIENTO	CONTAMINACION	PURO	TOTAL	% PUREZA
T1R1	0	158	158	100.00
T1R2	0	183	183	100.00
T1R3	0	120	120	100.00
T1R4	0	210	210	100.00
T1R5	0	160	160	100.00
T1R6	0	186	186	100.00
T1R7	0	198	198	100.00
T1R8	0	198	198	100.00
T1R9	0	172	172	100.00
T1R10	0	186	186	100.00
T1R11	0	192	192	100.00
T1R12	2	189	191	98.95
T1R13	0	190	190	100.00
T1R14	0	250	250	100.00
T1R15	0	230	230	100.00
T1R16	0	201	201	100.00
T1R17	1	187	188	99.47
T1R18	0	140	140	100.00
T1R19	0	162	162	100.00
T1R20	0	143	143	100.00
T1R21	0	146	146	100.00
T1R22	0	141	141	100.00
T1R23	0	178	178	100.00
T1R24	0	152	152	100.00
T1R25	0	120	120	100.00
T1R26	0	139	139	100.00
T1R27	0	137	137	100.00
T1R28	0	142	142	100.00
T1R29	0	143	143	100.00
T1R30	0	188	188	100.00

**Anexo 4.** Muestra de siembra para evaluar la viabilidad y pureza del formulado con *T. asperellum*.



**Anexo 5.** Muestra de siembra para evaluar la viabilidad y pureza del formulado con *P. lilacinum*.



**Anexo 6.** Sustrato de arroz inoculado con *P. lilacinum*



**Anexo 7.** Formación de pellets para la formulación en gránulos solubles.



En esta imagen se muestra la forma en la que se obtiene el formulado en gránulos solubles, mediante el uso de un peletizador manual.

**Anexo 8.** Almacenamiento del ingrediente activo para formulaciones



**Anexo 9.** Almacenamiento de formulaciones sólidas.



Anexo 10. Productos comerciales con *T. asperellum* y *P. lilacinum*



AMINO T



TUSAL



CHIMAL

## Anexo 11. Ficha Técnica TUSAL

Fungicida

**TUSAL®**  
LO MEJOR PARA EL SUELO

TUSAL® es un fitosanitario registrado en el MAGRAMA con el n° 24.244 y compuesto por dos cepas de Trichodermas (T11: *Trichoderma asperellum* y T25: *Trichoderma atroviride*) seleccionadas por sus características agronómicas:

- Gran capacidad de adaptación a todo tipo de suelos y sustratos.
- Desarrollo rápido en suelo produciendo la ocupación de todo el espacio.
- Resistencia a fungicidas sistémicos.
- Excelente control de las principales enfermedades de suelo (*Filophtora*, *Fusarium*, *Rizoctonia*, *Pitium*, *Esclerotinia*...).
- Capacidad de estimulación vegetal y desarrollo de resistencias.

**CONTROL**

**TUSAL®**

TUSAL® es el biofungicida con mayor concentración en Trichodermas seleccionadas del mercado (equivalente a 2x10<sup>9</sup> UFC/g), garantizando la mejor eficacia preventiva y de control de enfermedades producidas por hongos de suelo.

TUSAL® se presenta en forma de microgranulado soluble en agua, que garantiza:

- Mejor efecto fungicida:
  - ✓ Mayor velocidad de liberación del principio activo (T11 y T25).
  - ✓ Mayor resistencia ante condiciones adversas.
- Mayor estabilidad en la conservación y transporte.
- Fácil aplicación.

**Modo de acción**

TUSAL® actúa contra los hongos de suelo, responsables de las enfermedades, de 4 formas diferentes:

- 1- Las Trichodermas de TUSAL® crecen rápidamente, colonizando toda la superficie de suelo, para evitar de esta forma que los hongos fitopatógenos se instalen y puedan provocar lesiones sobre los tejidos de la raíz. Proceso que se conoce como **ANTAGONISMO**.

Trichoderma creciendo sobre la raíz de la planta

- 2- Las cepas T11 y T25 producen compuestos que actúan sobre los hongos patógenos y hacen que estos se debiliten, para ser finalmente atacados por TUSAL®. Proceso conocido como **MICOPARASITISMO**.

Trichoderma vs. Rhizoctonia

- 3- TUSAL® produce y libera al suelo metabolitos inhibidores del desarrollo de hongos fitopatógenos, no permitiendo que se instalen y desarrollen en la zona de instalación del producto. Este proceso se denomina **ANTIBIOSIS**.
- 4- Las Trichodermas que contiene TUSAL® inducen a la planta a generar metabolitos para crear resistencias frente al ataque de microorganismos fitopatógenos. Proceso conocido como **INDUCCIÓN**.

ANTAGONISMO

MICOPARASITISMO

INDUCCIÓN

ANTIBIOSIS

Hongos que causan enfermedades

**¿Cómo aplicar TUSAL® en hortalizas?**

**CONDICIONES PARA LA APLICACIÓN**

- Temperatura del suelo: óptima de 25-30 °C. No se recomiendan aplicaciones con T° < 10-15 °C ni > 30 °C.
- Ph del suelo: amplio espectro.
- Salinidad del suelo: ≤ 60 g/l.
- Humedad del suelo: 70-80%

**MANEJO**

- Dejar hidratar los microgránulos de TUSAL® 5 minutos antes de suspender en el agua con agitación.
- La suspensión debe ser utilizada el día de su preparación.
- Agitar antes y durante la aplicación.
- Realizar el tratamiento durante la última fase del riego (aprox. 2000 lts).

**MEZCLAS**

TUSAL® puede ser aplicado en mezcla con otros productos de aplicación al suelo. Evitar la mezcla en el mismo tanque junto a fertilizantes minerales. Consultar con el equipo técnico de Certis la tabla de compatibilidades del producto.

**APLICACIÓN EN CAMPO/INVERNADERO**

Aplicar por riego por goteo en tratamientos escalonados:

- El primero a 1 kg/Ha en el momento del trasplante (si existe poco enraizamiento, puede retrasarse la aplicación 15 días).
- Los sucesivos tratamientos a 0.5 Kg/Ha, a intervalos de 15-30 días. Máximo número de aplicaciones: 5.
- La dosis máxima acumulada no debe superar los 3 Kg/Ha.

**APLICACIÓN EN SEMILLERO**

La aplicación de TUSAL® en semillero ha de asegurar una dosis de 15-20 gr. por cada 1000 plántulas, recomendando diluciones de 2 gr. por litro. Las dosis se ajustarán en función del cultivo y de las características de las bandejas de semillero.

CALDO DE APLICACIÓN	N° plántulas	Dosis de producto
100 L	10.000	200 g
50 L	5.000	100 g
10 L	1.000	20 g
2 l	200	4 g

\*Dilución 2g/L

**CONSEJOS DE USO**

Se aconseja aplicar TUSAL® en cada nuevo ciclo de cultivo, de manera que haya un equilibrio constante del producto. Para acelerar el efecto de TUSAL® y garantizar la adecuada instalación de las cepas T11 y T25 en el suelo próximo recomienda el uso de TRICHEER® (a una dosis por tratamiento de 5 L/Ha, coincidiendo con las aplicaciones de TUSAL®).

(TRICHEER® está aconsejado para su aplicación junto con TUSAL® favoreciendo la estimulación, fortalecimiento y nutrición de las cepas de Trichodermas).

**ALMACENAMIENTO**

Conservar el producto en un lugar seco, preferiblemente a temperatura de refrigeración (4 °C). Nunca almacenar el producto por encima de 20 °C y/o por debajo de 4 °C.

## Anexo 12. Ficha Técnica de MICOSPLAG WP

**PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS**

MICOSPLAG WP es un agente biológico en base a esporas de la cepa Cenicafe Ma 9236 del hongo *Metarhizium anisopliae*, Cepa Cenicafe Bb 9205 del hongo *Beauveria bassiana* y Cepa Cenicafe P1 9301 del hongo *Paeecilomyces lilacinus*

**PARA SU SEGURIDAD DURANTE LA MANIPULACIÓN Y APLICACIÓN:** Evite el contacto con la piel, los ojos y vestimenta. Evite la inhalación de polvo o la aspersión. No ingerir, no comer, beber o fumar durante la aplicación. Durante la manipulación, usar antiparras, delantal impermeable, protector de nariz y boca, guantes impermeables, botas de goma. Durante la aplicación usar botas de goma, guantes impermeables, overol de protección, antiparras y mascarar con filtro. No permitir el ingreso de personas extrañas al área de aplicación. No aplicar con viento superior a 5 km/hr.

**PARA SU SEGURIDAD DESPUÉS DE LA APLICACIÓN:** Después de la jornada de trabajo cambiar la ropa y lavarse antes de comer, beber o fumar. Lave la ropa de trabajo antes de volver a usarla.

**INFORMACIÓN ECOTOXICOLÓGICA:** No presenta ecotoxicidad, ya que está omnipresente en la naturaleza y se encuentra comúnmente en suelo, agua y aire. No es tóxico a organismos acuáticos, aves, animales, ni abejas.

**SÍNTOMAS DE INTOXICACIÓN:** En caso de ingestión, posible diarrea. En caso de contacto con la piel u ojos, posible irritación.

**PRIMEROS AUXILIOS**

**CONTACTO CON LOS OJOS O PIEL:** Lave inmediatamente con abundante agua. Si persiste una irritación, consulte a un médico.

**INGESTIÓN:** No inducir el vómito. Consultar a un médico y mostrarle la etiqueta del producto.

**INHALACIÓN:** Trasladar al afectado al aire fresco. Si se presenta alguna molestia, consultar a un médico y mostrarle la etiqueta del producto.

**TRATAMIENTO MÉDICO DE EMERGENCIA:** Sintomático y de sostén.

**ANTÍDOTO:** No posee antídoto específico.

**"LA ELIMINACIÓN DE RESIDUOS DEBERÁ EFECTUARSE DE ACUERDO CON INSTRUCCIONES DE LA AUTORIDAD COMPETENTE"**

MANUTENER FUERA DEL ALCANCE DE LOS NIÑOS Y DE PERSONAS INEXPERTAS. INUTILIZAR Y ELIMINAR LOS ENVASES DE ACUERDO CON INSTRUCCIONES DE LAS AUTORIDADES COMPETENTES. NO LAVAR LOS ENVASES O EQUIPOS DE APLICACIÓN EN LAGOS, RÍOS Y OTRAS FUENTES DE AGUA. EN CASO DE INTOXICACIÓN MOSTRAR LA ETIQUETA, EL FOLLETO O EL ENVASE AL PERSONAL DE SALUD.

**TELÉFONOS DE EMERGENCIA:**  
 BTA: (7) 771 93 94  
 SANATRADE S.A.: (7) 443 81 40 o (02) 7699757

- NO TRANSPORTAR NI ALMACENAR CON ALIMENTOS, PRODUCTOS VEGETALES O CUALESQUIERA OTROS QUE ESTÉN DESTINADOS AL USO O CONSUMO HUMANO O ANIMAL -  
 CONSERVAR EN SU ENVASE ORIGINAL, BIEN CERRADO, ETIQUETADO, EN UN LUGAR FRESCO, SECO, BAJO LLUVIA, A TEMPERATURA MÍNIMA DE 10°C Y MÁXIMA DE 50°C EN SE DEBE ALMACENAR EN BODEGA QUE CUMPLA CON NORMATIVA, DURACIÓN DEL PRODUCTO EN ENVASE SELLADO, 2 AÑOS.

# Micos Plag<sup>®</sup> WP

**POLVO MOJABLE (WP).  
 NEMATOCIDA BIOLÓGICO**

**Micosplag WP**, es un nematocida biológico compuesto por tres cepas de hongos entomopatógenos con acción sobre diferentes nematodos según cuadro de instrucciones de uso.

**COMPOSICIÓN GARANTIZADA**

*Metarhizium anisopliae* cepa Cenicafe Ma 9236\*\*

+ *Beauveria bassiana* cepa Cenicafe Bb 9205\*\*

+ *Paeecilomyces lilacinus* cepa Cenicafe P1 9301\*\*\*

Coformulantes c.s.p.c

\*\*Contiene un mínimo de  $5 \times 10^4$  ufc/g

\*\*\*Contiene un mínimo de  $5 \times 10^4$  ufc/g

\*\*\*\*Contiene un mínimo de  $1 \times 10^3$  ufc/g

P/P

80% p/p (800g/kg)

100 % p/p (1Kg)

AUTORIZACIÓN DEL SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO N° 1734

CONTENIDO NETO: 100 g

LEA DETENIDAMENTE ESTA ETIQUETA ANTES DE USAR EL PRODUCTO

**NO INFLAMABLE - NO CORROSIVO - NO EXPLOSIVO**

LOTE N°

FORMULACIÓN:

VENCE:

FABRICADO EN COLOMBIA POR:

**ORIU BIOTECNOLOGÍA**

Carrera 37 N° 33 B-33, P.BX. (57) 96703494

Barranquilla, COLOMBIA

IMPORTADO Y DISTRIBUIDO EN CHILE POR:

**SANATRADE S.A.**

Av. del Condor N° 800, DE 3A

Huechuraba, Santiago

Fono (7) 443040 Fax (7) 443030

ventas@sanagro.cl

www.sanatrade.cl

**INSTRUCCIONES DE USO**

MICOSPLAG WP es un Nematocida Biológico formulado con esporas en latencia de los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Paeecilomyces lilacinus* para el manejo de Nematodos fitófagos del suelo como se explica en el siguiente cuadro:

CULTIVO	PLAGA	DOSES	ÉPOCA DE APLICACIÓN
VID (Vitis vinifera)	<b>Nematodos:</b> <i>Xiphinema americanum s.l.</i> <i>Xiphinema index</i> <i>Meloidogyne ethiopica</i> <i>Helicotylenchus spp.</i> <i>Paratylenchus spp.</i>	300 g/ha	Antes o durante el periodo de inicio de actividad de los Nematodos. Según la población de Nematodos, repetir en post cosecha. Máximo 4 aplicaciones en la temporada. En infestaciones altas la dosis a usar es de 300 grs por ha.
TOMATE ( <i>Solanum lycopersicum</i> )	<b>Nematodos:</b> <i>Meloidogyne ethiopica</i> <i>Helicotylenchus spp.</i> <i>Pratylenchus spp.</i>	100 - 200 g/ha	Aplicar en el sistema de riego al inicio de la temporada o por aspersión dirigida al cuello de la planta, cuando se detecta el daño. Máximo 4 aplicaciones en la temporada. En infestaciones altas la dosis a usar es de 200 grs por ha, para infestaciones bajas usar dosis de 100 grs.
Berries-ARÁNDANOS ( <i>Vaccinium sp.</i> )	<b>Nematodos:</b> <i>Xiphinema americanum s.l.</i> <i>Xiphinema index</i> <i>Meloidogyne ethiopica</i>	300 g/ha	Aplicar via sistema de riego al inicio de la temporada o por aspersión dirigida al cuello de la planta. En infestaciones altas la dosis a usar es de 300 grs por ha. En infestaciones bajas la dosis a usar es de 200 grs por ha.
Frutales hoja (Cafuco, Durazno, cereza, ciruela, manzano, poma, almendra, nogal, granada, membrillo)	<b>Nematodos:</b> <i>Xiphinema americanum s.l.</i> <i>Xiphinema index</i> <i>Meloidogyne ethiopica</i>	300 g/ha	Aplicar en el sistema de riego al inicio de la temporada o por aspersión dirigida al cuello de la planta. Máximo 4 aplicaciones en la temporada. En infestaciones altas la dosis a usar es de 300 grs por ha.
Frutales hoja (Pardaleno, Lino, mandarina, naranja, palta, zapallo)	<b>Nematodos:</b> <i>Xiphinema americanum s.l.</i> <i>Xiphinema index</i> <i>Meloidogyne ethiopica</i>	300 g/ha	Aplicar en el sistema de riego al inicio de la temporada o por aspersión dirigida al cuello de la planta. Máximo 4 aplicaciones en la temporada. En infestaciones altas la dosis a usar es de 300 grs por ha.

**PREPARACIÓN DE LA MEZCLA:** Diluya la dosis recomendada en 20 litros de agua. Deje reposar por 30 minutos. Después vierta el contenido en la bomba y complete con la cantidad de agua necesaria. La mezcla debe ser agitada y aplicarse a más tardar 8 horas después de preparada. Si se aplica con otros agroquímicos compatibles se agrega al final en el orden de la mezcla

**INCOMPATIBILIDAD:** Es incompatible con fungicidas químicos.

**FITOTOXICIDAD:** No es fitotóxica, ya que por su composición biológica entra en simbiosis con las plantas, estimulando a la planta al desarrollo de masa radicular.

**PERÍODO DE CURENCIA:** La carencia del producto es de cero días.

**TIEMPO DE REINGRESO:** Periodo de reingreso es de 7 horas. Después de la aplicación una vez que se ha secado el depósito sobre el follaje en el caso de ser humano. En animales no corresponde ya que los cultivos antes descritos no son para consumo animal.

**NOTA AL COMPRADOR:**

El producto en su fabricación ha sido sometido a estrictos controles de calidad, garantizando el porcentaje de ingrediente Activo de los envases sellados. Como su almacenamiento y aplicación escapan de nuestro control directo, declinamos toda responsabilidad por riesgos derivados de su mala aplicación y almacenaje inadecuado.

UTILICE LA DOSIS SEGÚN LA RECOMENDACIÓN TÉCNICA

CONSULTE CON UN ASISTENTE TÉCNICO

Anexo 13. Ficha Técnica LILACINOL

	LILACINOL	Código: BCFC 1002 Hojas: 1 de 2 Revisado: 2006-01-23
	FICHA TÉCNICA	
<p><b>1. NOMBRE COMERCIAL:</b> LILACINOL WP</p> <p><b>2. EMPRESA FABRICANTE:</b> BIOCONTROL</p> <p><b>3. TIPO DE PLAGUICIDA:</b> Nematicida biológico con base en el hongo Paecilomyces lilacinus. El Paecilomyces lilacinus es un hongo imperfecto que pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, clase Hyphomycetes, caracterizado por la formación de micelio septado con producción de conidias que nacen a partir de hifas ramificadas.</p> <p><b>4. MODO DE ACCION:</b> El Paecilomyces lilacinus es parásito de varias especies de nematodos plagas. El hongo inicia su ataque cuando las conidias entran en contacto sobre el nematodo; una vez que la conidia germine, esta produce enzimas que disuelven la cutícula haciendo un pequeño agujero a través del cual el hongo comienza a crecer en el cuerpo produciendo unas toxinas que mata el nematodo. El hongo se reproduce formando millones de conidias que están en capacidad de infectar otros nematodos.</p> <p><b>5. CONTENIDO DE INGREDIENTES ACTIVOS:</b> Mínimo 100 millones de conidias viables por gramo.</p> <p><b>6. CONTENIDO DE INGREDIENTES INERTES:</b> Talco OMYATALC 44</p> <p><b>7. TIPO DE FORMULACION:</b> Polvo mojable WP</p> <p><b>8. pH:</b> 5.0 - 7.0</p> <p><b>9. HUMEDAD:</b> Máximo 5 %</p> <p><b>10. ESTABILIDAD:</b> 6 meses; temperatura máxima de 24°C</p> <p><b>11. PRECAUCIONES:</b> No exponer el producto a altas temperaturas o en congelación; no mezclar con ácidos, bases, desinfectantes del suelo o fungicidas.</p> <p><b>12. RECOMENDACIONES DE USO Y APLICACIÓN:</b> Se recomienda mezclar con agua en un rango de pH de 5.0 -7.0, sugiriéndose el uso de un corrector en caso necesario adicionando, primero el corrector al agua, y luego el producto. Aplicar 1-2 gramos por litro de agua</p> <p><b>13. PRESENTACION:</b> Frasco de 200 gramos de producto comercial</p> <p><b>14. CATEGORIA TOXICOLOGICA:</b> Categoría IV (ligeramente tóxico)</p>		

**Anexo 14.** Ficha Técnica de AMINO T

	<b>AMINO T</b>	Código: 90.07 Hojas: 1 de 2 Revisado:
	FICHA TÉCNICA	
<p><b>1. NOMBRE COMERCIAL:</b> AMINO T</p> <p><b>2. EMPRESA FABRICANTE:</b> AGRINOVA SCIENCE</p> <p><b>3. MODO DE ACCION:</b> AMINO T posee excelentes cualidades para el control biológico de enfermedades fúngicas (<i>Fusarium sp.</i>, <i>Rhizoctonia sp.</i> y <i>Pithium sp.</i>, entre otros). Favorece la colonización de las raíces de la planta con <i>T. harzianum</i> reduciendo así la posibilidad de colonización por otros organismos patógenos. Por tanto, <i>T. harzianum</i> compite con el resto de microorganismos para conseguir nutrientes y finalmente dominar la rizosfera. Es un bioestimulante del crecimiento radicular y también foliar, que protege a la planta ante posibles ataques fúngicos. Si la planta está infectada, AMINO T favorece la recuperación de la misma.</p> <p><b>4. CONTENIDO DE INGREDIENTES ACTIVOS:</b> 1x10<sup>8</sup> conidias (100 millones de conidias) por gramo</p> <p><b>5. CONTENIDO DE INGREDIENTES INERTES:</b> Aminoácidos: 32,0 % p/p. Nitrógeno (N): 3,4 % p/p.</p> <p><b>6. DOSIS Y APLICACIONES:</b> Cítricos y frutales: 100-150 g/hl Hortícolas: 80-130 g/hl Flores y ornamentales: 80-100 g/hl Cítricos y frutales: Primera aplicación de 5 a 7 kg/ha con repeticiones de 2 kg/ha cada 30 días. Hortícolas y ornamentales: Primera aplicación de 3 a 5 kg/ha con repeticiones de 1 kg/ha cada 15 días durante el ciclo de cultivo. Flores y ornamentales: Primera aplicación de 2 a 4 kg/ha con repeticiones de 1 kg/ha cada 15 días durante el ciclo de cultivo. Olivos y vides: Primera aplicación de 4 a 6 kg/ha con repeticiones de 1,5 kg/ha cada 30 días.</p> <p><b>7. INCOMPATIBILIDAD:</b> AMINOT no se recomienda aplicar o mezclar con ningún tipo de plaguicida. Mantener fuera del alcance de los niños. Mantener alejado de alimentos, bebidas y piensos.</p> <p><b>8. PRESENTACION:</b> Envases de 1 kg. y de 5 kg.</p>		

Anexo 15. Ficha Técnica de BIOPROTECTION TR

	<p><b>BIOPROTECTION TR</b></p>	<p>Código: Hojas: 1 de 2 Revisado:</p>			
<table border="1"> <tr> <td data-bbox="296 398 735 1960"> <p><b>1. NOMBRE COMERCIAL:</b> BIOPROTECTION TR</p> <p><b>2. EMPRESA FABRICANTE:</b> LABOATORIOS DR. OBREGÓN</p> <p><b>3. TIPO DE PLAGUICIDA:</b> Biopreparado del hongo antagónico <i>Trichoderma asperellum</i>.</p> <p><b>4. MODO DE ACCION:</b> Competición: Compite por sustrato en la rizosfera y filosfera con los patógenos de las plantas. Antibiosis: Produce una gran cantidad de antibióticos que son fungotóxicos. Inducción a resistencia: Al instalarse en las raíces y hojas induce a la planta a producir fitoalexinas que le dan resistencia a las plantas al ataque de hongos patógenos. Mycoparasitismo: Trichoderma es capaz de parasitar micelios de hongos. Simbiótico: Ayuda a la proliferación de micorrizas y bacterias fijadoras de nitrógeno, con lo que la planta requiere hasta un 20% menos de nutrientes químicos <i>Trichoderma</i> hongo de color verde, <i>Rhizoctonia</i> color Café.</p> <p><b>5. CONTENIDO DE INGREDIENTES ACTIVOS:</b> 2.5X10<sup>9</sup> esporas viables</p> <p><b>6. PRESENTACIÓN:</b> Líquida y en polvo</p> <p><b>7. DOSIS Y APLICACIÓN:</b> Las dosis recomendadas son de 6 Kg por hectárea cuando se aplican por primera vez. Las siguientes aplicaciones varían de 1 a 3 Kg por hectárea. Dosis inoculativa: La frecuencia de aplicaciones varia dependiendo de las enfermedades a controlar. En el caso de enfermedades de follaje la frecuencia varía de 15 a 30 días. Cuando las enfermedades son radicales es preferible hacer aplicaciones semanales o quincenales.</p> <p><b>8. INCOMPATIBILIDAD:</b> AMINOT no se recomienda aplicar o mezclar con ningún tipo de plaguicida. Mantener fuera del alcance de los niños. Mantener alejado de alimentos, bebidas y piensos.</p> <p><b>9. RECOMENDACIONES:</b> Realice la aplicación uniforme. Se sugiere en focos de infección aplicar el producto granulado o sea, el arroz impregnado con el hongo y un posterior riego, las demás áreas aplicar por aspersión o inyectado.</p> <p><b>10. CONSERVACIÓN DEL PRODUCTO:</b> Las esporas de los hongos están altamente hidratadas y su germinación se ve estimulada por el calor, por lo que es importante refrigerar a una temperatura entre 1 °C y 10 °C. A esta temperatura el producto se puede conservar hasta 4 meses lo mismo que el hongo suspendido en agua.</p> </td> <td data-bbox="735 398 1070 1960"> <p>FICHA TÉCNICA</p> </td> <td data-bbox="1070 398 1394 1960"></td> </tr> </table>			<p><b>1. NOMBRE COMERCIAL:</b> BIOPROTECTION TR</p> <p><b>2. EMPRESA FABRICANTE:</b> LABOATORIOS DR. OBREGÓN</p> <p><b>3. TIPO DE PLAGUICIDA:</b> Biopreparado del hongo antagónico <i>Trichoderma asperellum</i>.</p> <p><b>4. MODO DE ACCION:</b> Competición: Compite por sustrato en la rizosfera y filosfera con los patógenos de las plantas. Antibiosis: Produce una gran cantidad de antibióticos que son fungotóxicos. Inducción a resistencia: Al instalarse en las raíces y hojas induce a la planta a producir fitoalexinas que le dan resistencia a las plantas al ataque de hongos patógenos. Mycoparasitismo: Trichoderma es capaz de parasitar micelios de hongos. Simbiótico: Ayuda a la proliferación de micorrizas y bacterias fijadoras de nitrógeno, con lo que la planta requiere hasta un 20% menos de nutrientes químicos <i>Trichoderma</i> hongo de color verde, <i>Rhizoctonia</i> color Café.</p> <p><b>5. CONTENIDO DE INGREDIENTES ACTIVOS:</b> 2.5X10<sup>9</sup> esporas viables</p> <p><b>6. PRESENTACIÓN:</b> Líquida y en polvo</p> <p><b>7. DOSIS Y APLICACIÓN:</b> Las dosis recomendadas son de 6 Kg por hectárea cuando se aplican por primera vez. Las siguientes aplicaciones varían de 1 a 3 Kg por hectárea. Dosis inoculativa: La frecuencia de aplicaciones varia dependiendo de las enfermedades a controlar. En el caso de enfermedades de follaje la frecuencia varía de 15 a 30 días. Cuando las enfermedades son radicales es preferible hacer aplicaciones semanales o quincenales.</p> <p><b>8. INCOMPATIBILIDAD:</b> AMINOT no se recomienda aplicar o mezclar con ningún tipo de plaguicida. Mantener fuera del alcance de los niños. Mantener alejado de alimentos, bebidas y piensos.</p> <p><b>9. RECOMENDACIONES:</b> Realice la aplicación uniforme. Se sugiere en focos de infección aplicar el producto granulado o sea, el arroz impregnado con el hongo y un posterior riego, las demás áreas aplicar por aspersión o inyectado.</p> <p><b>10. CONSERVACIÓN DEL PRODUCTO:</b> Las esporas de los hongos están altamente hidratadas y su germinación se ve estimulada por el calor, por lo que es importante refrigerar a una temperatura entre 1 °C y 10 °C. A esta temperatura el producto se puede conservar hasta 4 meses lo mismo que el hongo suspendido en agua.</p>	<p>FICHA TÉCNICA</p>	
<p><b>1. NOMBRE COMERCIAL:</b> BIOPROTECTION TR</p> <p><b>2. EMPRESA FABRICANTE:</b> LABOATORIOS DR. OBREGÓN</p> <p><b>3. TIPO DE PLAGUICIDA:</b> Biopreparado del hongo antagónico <i>Trichoderma asperellum</i>.</p> <p><b>4. MODO DE ACCION:</b> Competición: Compite por sustrato en la rizosfera y filosfera con los patógenos de las plantas. Antibiosis: Produce una gran cantidad de antibióticos que son fungotóxicos. Inducción a resistencia: Al instalarse en las raíces y hojas induce a la planta a producir fitoalexinas que le dan resistencia a las plantas al ataque de hongos patógenos. Mycoparasitismo: Trichoderma es capaz de parasitar micelios de hongos. Simbiótico: Ayuda a la proliferación de micorrizas y bacterias fijadoras de nitrógeno, con lo que la planta requiere hasta un 20% menos de nutrientes químicos <i>Trichoderma</i> hongo de color verde, <i>Rhizoctonia</i> color Café.</p> <p><b>5. CONTENIDO DE INGREDIENTES ACTIVOS:</b> 2.5X10<sup>9</sup> esporas viables</p> <p><b>6. PRESENTACIÓN:</b> Líquida y en polvo</p> <p><b>7. DOSIS Y APLICACIÓN:</b> Las dosis recomendadas son de 6 Kg por hectárea cuando se aplican por primera vez. Las siguientes aplicaciones varían de 1 a 3 Kg por hectárea. Dosis inoculativa: La frecuencia de aplicaciones varia dependiendo de las enfermedades a controlar. En el caso de enfermedades de follaje la frecuencia varía de 15 a 30 días. Cuando las enfermedades son radicales es preferible hacer aplicaciones semanales o quincenales.</p> <p><b>8. INCOMPATIBILIDAD:</b> AMINOT no se recomienda aplicar o mezclar con ningún tipo de plaguicida. Mantener fuera del alcance de los niños. Mantener alejado de alimentos, bebidas y piensos.</p> <p><b>9. RECOMENDACIONES:</b> Realice la aplicación uniforme. Se sugiere en focos de infección aplicar el producto granulado o sea, el arroz impregnado con el hongo y un posterior riego, las demás áreas aplicar por aspersión o inyectado.</p> <p><b>10. CONSERVACIÓN DEL PRODUCTO:</b> Las esporas de los hongos están altamente hidratadas y su germinación se ve estimulada por el calor, por lo que es importante refrigerar a una temperatura entre 1 °C y 10 °C. A esta temperatura el producto se puede conservar hasta 4 meses lo mismo que el hongo suspendido en agua.</p>	<p>FICHA TÉCNICA</p>				

Anexo 16. Ficha Técnica de CHIMAL

	CHIMAL	Hojas: 1 de 2 Reg: RSCO-NEMA-0907-307-002-007																				
FICHA TÉCNICA																						
<p><b>1. NOMBRE COMERCIAL:</b> CHIMAL</p> <p><b>2. EMPRESA FABRICANTE:</b> AGROQUÍMICOS VERSA, S.A. DE C.V.</p> <p><b>3. TIPO DE PLAGUICIDA:</b> CHIMAL® es un polvo humectable de esporas y micelio del hongo <i>Paecilomyces lilacinus</i>, útil para el control biológico de nematodos.</p> <p><b>4. CONTENIDO DE INGREDIENTES ACTIVOS:</b> No menos de 5.1 x 10<sup>9</sup> conidias/g</p> <p><b>5. CONTENIDO DE INGREDIENTES INERTES:</b> Antiaglomerante, desecante, agente humectante, dispersante y adherente 93.47%.</p> <p><b>6. DOSIS Y APLICACIÓN:</b> Abra con cuidado el empaque con la ayuda de unas tijeras, pese con la ayuda de una báscula o con algún otro utensilio graduado específico para este uso, la cantidad indicada de CHIMAL® y viértala en un recipiente conteniendo la mitad de su capacidad de agua limpia, agite y posteriormente agregue al tanque de aplicación o mochila de aspersión y agite nuevamente. Si requiere aplicar combinando agroquímicos, mezcle estos por separado y vierta en el tanque.</p>																						
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Cultivo</th> <th>Plaga</th> <th>Dosis (g/ha)</th> <th>Observaciones</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Jitomate, chile, papa, tabaco, berenjena (SL)</td> <td>Nemátodo agallador (<i>Meloidogyne incognita</i>)</td> <td>250-500</td> <td>Realizar 3 aplicaciones en <i>drench</i> a la base del tallo de la planta, a intervalos de 5 días.</td> </tr> <tr> <td>Crisantemo, girasol, gérbena, áster (SL)</td> <td>Nemátodo filiforme (<i>Pratylenchus neglectus</i>)</td> <td>250-500</td> <td>Realizar una aplicación en <i>drench</i>, tres días después del trasplante, de ser el caso, realizar dos aplicaciones adicionales a intervalos de 5 días; volumen de aplicación 500-600 L/ha.</td> </tr> <tr> <td>Papaya (SL)</td> <td>Nemátodo agallador (<i>Meloidogyne sp</i>)</td> <td>200-600</td> <td>Realizar dos aplicaciones en <i>drench</i> a la base del tallo, a intervalo de 14 días, utilizando un volumen de aplicación 100 ml de agua/planta.</td> </tr> <tr> <td>Piña (SL)</td> <td>Nemátodo agallador (<i>Meloidogyne sp</i>)</td> <td>400-600</td> <td>Realizar dos aplicaciones en <i>drench</i> a la base de la planta, a intervalo de 14 días.</td> </tr> </tbody> </table>			Cultivo	Plaga	Dosis (g/ha)	Observaciones	Jitomate, chile, papa, tabaco, berenjena (SL)	Nemátodo agallador ( <i>Meloidogyne incognita</i> )	250-500	Realizar 3 aplicaciones en <i>drench</i> a la base del tallo de la planta, a intervalos de 5 días.	Crisantemo, girasol, gérbena, áster (SL)	Nemátodo filiforme ( <i>Pratylenchus neglectus</i> )	250-500	Realizar una aplicación en <i>drench</i> , tres días después del trasplante, de ser el caso, realizar dos aplicaciones adicionales a intervalos de 5 días; volumen de aplicación 500-600 L/ha.	Papaya (SL)	Nemátodo agallador ( <i>Meloidogyne sp</i> )	200-600	Realizar dos aplicaciones en <i>drench</i> a la base del tallo, a intervalo de 14 días, utilizando un volumen de aplicación 100 ml de agua/planta.	Piña (SL)	Nemátodo agallador ( <i>Meloidogyne sp</i> )	400-600	Realizar dos aplicaciones en <i>drench</i> a la base de la planta, a intervalo de 14 días.
Cultivo	Plaga	Dosis (g/ha)	Observaciones																			
Jitomate, chile, papa, tabaco, berenjena (SL)	Nemátodo agallador ( <i>Meloidogyne incognita</i> )	250-500	Realizar 3 aplicaciones en <i>drench</i> a la base del tallo de la planta, a intervalos de 5 días.																			
Crisantemo, girasol, gérbena, áster (SL)	Nemátodo filiforme ( <i>Pratylenchus neglectus</i> )	250-500	Realizar una aplicación en <i>drench</i> , tres días después del trasplante, de ser el caso, realizar dos aplicaciones adicionales a intervalos de 5 días; volumen de aplicación 500-600 L/ha.																			
Papaya (SL)	Nemátodo agallador ( <i>Meloidogyne sp</i> )	200-600	Realizar dos aplicaciones en <i>drench</i> a la base del tallo, a intervalo de 14 días, utilizando un volumen de aplicación 100 ml de agua/planta.																			
Piña (SL)	Nemátodo agallador ( <i>Meloidogyne sp</i> )	400-600	Realizar dos aplicaciones en <i>drench</i> a la base de la planta, a intervalo de 14 días.																			
<p><b>7. INCOMPATIBILIDAD:</b> CHIMAL® es compatible con cipermetrina, clethodim, y fertilizantes foliares que tengan registro vigente y estén autorizados en los cultivos aquí indicados.</p> <p><b>8. FITOTOXICIDAD:</b> CHIMAL® no es fitotóxico a los cultivos aquí indicados, si es aplicado de acuerdo a las recomendaciones de esta etiqueta.</p> <p><b>9. PRIMEROS AUXILIOS:</b> En caso de inhalación retire al individuo hacia un lugar fresco y ventilado. Si cayó en los ojos, lávelos con abundante agua limpia por lo menos durante 15 minutos.</p>																						