



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE GUAYAQUIL

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

TRABAJO EXPERIMENTAL

**EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE UN CONSORCIO
ENTOMOPATÓGENO PARA EL CONTROL DE COCHINILLA HARINOSA
(PLANOCOCCUS CITRI) UBICADA EN EL CAMPUS MARÍA
AUXILIADORA DE LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Trabajo de titulación previo a la obtención del
título de Ingeniera en Biotecnología

AUTORES: SOLANGE DEL ROCIO LITUMA CARRIEL

DOMÉNICA ANAHÍ MERINO MÉNDEZ

TUTORA: MSC. JOHANNA ALEXANDRA SOLÓRZANO MUÑOZ

GUAYAQUIL-ECUADOR

2024

CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotros, Solange del Rocio Lituma Carriel con documento de identificación N° 0930912688 y Doménica Anahí Merino Méndez con documento de identificación N° 0925985004; manifestamos que:

Somos los autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Guayaquil, 29 de febrero del año 2024

Atentamente,



Doménica Anahí Merino Méndez

C.I. 0925985004



Solange del Rocio Lituma Carriel

C.I. 0930912688

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Nosotros, Solange del Rocio Lituma Carriel con documento de identificación No. 0930912688 y Doménica Anahí Merino Méndez con documento de identificación 0925985004, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del Trabajo Experimental: **“EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE UN CONSORCIO ENTOMOPATÓGENO PARA EL CONTROL DE COCHINILLA HARINOSA (PLANOCOCCUS CITRI) UBICADA EN EL CAMPUS MARÍA AUXILIADORA DE LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA”**, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniero en Biotecnología, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 29 de febrero del año 2024

Atentamente,



Doménica Anahí Merino Méndez

C.I. 0925985004



Solange del Rocio Lituma Carriel

C.I. 0930912688

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Johanna Alexandra Solórzano Muñoz con documento de identificación N° 0917391534, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaró que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE UN CONSORCIO ENTOMOPATÓGENO PARA EL CONTROL DE COCHINILLA HARINOSA (PLANOCOCCUS CITRI) UBICADA EN EL CAMPUS MARÍA AUXILIADORA DE LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**, realizado por Solange del Rocio Lituma Carriel con documento de identificación N° 0930912688 y por Doménica Anahí Merino Méndez con documento de identificación 0925985004, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 29 de febrero del año 2024

Atentamente,



Msc. JOHANNA ALEXANDRA

SOLÓRZANO MUÑOZ

C.I.: 0917391534

Dedicatoria

A mis padres Maritza y Carlos, abuelos maternos Silvia y Washington, hermanas Gabriela y Dayannara; y hermano Carlos, por su cariño y apoyo en cada paso de mi vida. Aprecio el esfuerzo y sacrificio para poder obtener este título. A mi gato Mark y a mi perro Prince quienes han sido compañeros incondicionales y me han brindado apoyo emocional.

Doménica Anahí Merino Méndez

Dedico con profundo cariño y gratitud este trabajo de titulación a mis queridos padres, Rocio Carriel y Michel Lituma quienes han sido un sostén incondicional en cada etapa de mi vida. No puedo expresar lo agradecida que estoy por todas las formas en que han contribuido a mi crecimiento y aprendizaje. Lo que me han enseñado va más allá de las lecciones académicas; son enseñanzas de vida que nadie más podría impartir. Me considero afortunada de tenerlos a mi lado, llenándome de amor y apoyo constante, por brindarme su valioso tiempo siempre que lo he necesitado.

Asimismo, dedico este trabajo a mi fiel compañera, mi perra Dolce, quien ha estado a mi lado en cada momento de frustración, sacándome sonrisas cuando más las he necesitado.

Esta dedicatoria también va para todas las personas que han cruzado mi camino, alegrándome con su presencia o brindándome su apoyo en cada una de mis metas.

Solange del Rocio Lituma Carriel

Agradecimientos

Expresamos nuestro sincero agradecimiento a la Universidad Politécnica Salesiana, campus María Auxiliadora, por la concesión del espacio de experimentación que nos permitió llevar a cabo nuestro trabajo de experimentación.

Queremos extender nuestros agradecimientos a todos los distinguidos docentes de la carrera, cuya dedicación, pasión y esfuerzo han sido fuentes invaluable de conocimiento y motivación a lo largo de nuestro recorrido académico.

En particular, queremos manifestar nuestro profundo reconocimiento al Ph.D José Luis Ballesteros Lara por su inestimable ayuda y respaldo académico durante estos años. Asimismo, expresamos nuestro agradecimiento al MsC. Jaime Alberto Naranjo Morán, quien desde el inicio nos brindó su apoyo para la conceptualización de la tesis y su metodología, inspirándonos con su entusiasmo en cada clase impartida.

Al MsC. Joffre Ricardo Medina Villavicencio y al grupo GIAB por permitirnos ser participe del proyecto INSECTOS; y finalmente queremos agradecer a nuestra querida tutora, la MsC. Johanna Alexandra Solórzano Muñoz, le dedicamos un agradecimiento especial por su disposición constante y apoyo incondicional han sido elementos fundamentales para el desarrollo exitoso de nuestra tesis.

Estamos profundamente agradecidos por el valioso respaldo y contribuciones de todas estas personas e instituciones, sin las cuales este logro académico no hubiera sido posible.

Resumen

En la ciudad de Guayaquil, la plaga de la cochinilla supone una amenaza para diferentes especies de plantas. Se reporta la incidencia de estos organismos desde 2020, pero debido a la pandemia no se aplicaron medidas en un estadio de infesta temprano, por lo que se ha expandido sin control por toda la ciudad. Y, aunque se han empleado estrategias de tipo control biológico como el uso de uno de sus depredadores naturales, las mariquitas, es posible utilizar otras soluciones como el uso de hongos entomopatógenos, esta investigación tiene como objetivo evaluar la eficacia de un consorcio entomopatógenos conformado por las especies *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* y *Purpureocillium lilacinum* contra la especie de cochinillas *Planococcus citri* en plantas de limón. La estrategia experimental fue llevada a cabo en los predios de la Universidad Politécnica Salesiana, campus María Auxiliadora. Se infectaron *Planococcus citri* en los limoneros de entre 4 a 6 a meses, dos semanas antes de la aplicación de los tratamientos. Los 7 tratamientos, excepto el control de aplicación, consistieron en 3 diferentes concentraciones (200%, 100% y 50%) del control positivo (detergente químico) y el consorcio entomopatógeno. Se analizó el índice de mortalidad de cochinillas y la eficacia del consorcio. El tratamiento 3 (100%) produjo la mayor tasa de mortalidad; mientras que el tratamiento 2, del control positivo, y el tratamiento 3, del consorcio entomopatógeno, no mostraron diferencias significativas en cuanto eficacia. Además, se analizó clorofila antes y después del tratamiento, resultando en que el tratamiento 3 mostró diferencias significativas contra los tratamientos del control positivo.

Palabras clave: Consorcio entomopatógeno, *Planococcus citri*, control biológico, invertebrados, bioinsecticida

Abstract

In the city of Guayaquil, the mealybug pest suppose a threat to different plant species. The incidence of these organisms has been reported since 2020, but due to the pandemic, measures were not applied in an early infestation stage, which is why it has spread uncontrollably throughout the city. And, although biological control type strategies have been used, such as, the use of one of their natural predators, ladybugs, it is possible to use other solutions such as the use of entomopathogenic fungi, this research aims to evaluate the effectiveness of an entomopathogenic composed of the species *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* and *Purpureocillium lilacinum* against the mealybug specie *Planococcus citri* on lemon plants. The experimental strategy was carried out on the properties of the Salesian Polytechnic University, María Auxiliadora campus. *Planococcus citri* were infected in lemon trees between 4 to 6 months, two weeks before the application of the treatments. The 7 treatments, except the application control, consisted of 3 different concentrations (200%, 100% and 50%) of the positive control (chemical detergent) and the entomopathogenic consortium. The mortality rate of scale insects and the effectiveness of the consortium were analyzed. Treatment 3 (100%) produced the highest mortality rate; while treatment 2, from the positive control, and treatment 3, from the entomopathogenic consortium, did not show significant differences in efficacy. In addition, chlorophyll was analyzed before and after treatment, resulting in treatment 3 showing significant differences against the positive control treatments.

Keywords: Entomopathogenic consortium, *Planococcus citri*, biological control, invertebrates, bioinsecticide

Índice de contenidos

1	Capítulo I	1
1.1	Introducción	1
1.2	Antecedentes	3
1.3	Justificación.....	5
1.4	Problema de investigación.....	7
1.5	Delimitación	7
1.6	Delimitación temporal	8
1.7	Objetivos	8
1.7.1	Objetivo general	8
1.7.2	Objetivos específicos	8
1.8	Hipótesis.....	9
1.8.1	Hipótesis nula.....	9
1.8.2	Hipótesis alternativa.....	9
2	Capítulo II	10
2.1	Cochinilla	10
2.2	Morfología.....	11
2.3	Cochinillas y hormigas	13
2.4	Hongos entomopatógenos (HEPs).....	13

2.4.1	Modo de acción.....	14
2.4.2	Mecanismos patogénicos	15
2.5	Composición del consorcio entomopatógeno para biocontrol de cochinillas ...	16
2.5.1	Condiciones de crecimiento	20
2.6	Aplicaciones de los hongos entomopatógenos	20
2.7	Limón (<i>Citrus × aurantiifolia</i> (Christm.) Swingle)	21
3	Capítulo III	22
3.1	Lugar de estudio y ubicación geográfica	22
3.1.1	Toma de la muestra	22
3.1.2	Recolección de cochinillas	22
3.2	Identificación de <i>Planococcus citri</i>	22
3.2.1	Caracterización morfológica	23
3.2.2	Recolección de <i>Planococcus citri</i>	23
3.3	Infección.....	23
3.3.1	Acoplamiento	24
3.4	Diseño factorial para la evaluación de la eficacia del consorcio entomopatógenos en <i>Planococcus citri</i>	24
3.5	Aplicación de los tratamientos	25
3.6	Metodología para el conteo de mortalidad de <i>Planococcus citri</i>	26
3.7	Análisis estadístico	27

3.7.1	Estadístico para calcular la mortalidad.....	27
3.7.2	Estadístico para calcular la eficacia	27
3.7.3	Análisis de Varianza (Anova)	27
3.8	Clorofila	28
3.8.1	Estadístico clorofila.....	29
4	Capítulo IV	29
4.1	Resultados del acoplamiento con <i>Planococcus citri</i> en el limón <i>Citrus × aurantiifolia</i>	30
4.2	Resultado de mortalidad de las cochinillas <i>Planococcus citri</i>	30
4.3	Estimación de la eficacia de los tratamientos del consorcio entomopatógeno.	33
4.4	Comparación de la eficacia de tratamientos T3 y T2.....	35
4.4.1	Análisis de datos	35
4.5	Resultado de mortalidad de las cochinillas <i>Planococcus citri</i>	37
4.6	Comparación de los niveles de clorofila del T1, T2, T3 frente a las plantas antes de su experimentación	38
4.7	Discusión.....	39
5	Capítulo V	43
5.1	Conclusiones	43
5.2	Recomendaciones.....	44
6	Capítulo VI	46

6.1	Referencias bibliográficas	46
7	Capítulo VII.....	61
7.1	Anexos	61

Índice de ilustraciones

Ilustración 1 Fotografía satelital obtenida de la plataforma de Google Maps	8
Ilustración 2 Ciclo de vida <i>Planococcus citri</i>	13
Ilustración 3 Ciclo biológico de los hongos entomopatógenos	15
Ilustración 4 Diagramas de los estadios de las hembras de <i>Planococcus citri</i> ; (A) Primer estadio. (B) Segundo estadio. (C) Tercer estadio. (D) Cuarto estadio.....	23
Ilustración 5 Aplicación de los tratamientos	26
Ilustración 6 Infección de la cochinilla en la planta de limón; (A) Presencia de ninfas y ovisaco de <i>Planococcus citri</i> en la planta de limón <i>Citrus × aurantiifolia</i> . (B) Melaza encontrada en las hojas de la planta de limón <i>Citrus × aurantiifolia</i>	30
Ilustración 7 Mortalidad de <i>Planococcus citri</i> en tratamiento T3 (HEPs) a concentración de 2.0×10^9 conidios/ml en los días 5, 10 y 15.....	31
Ilustración 8 Mortalidad de <i>Planococcus citri</i> en tratamiento T3 (HEPs) a concentración de 1.0×10^9 /ml en los días 5, 10 y 15	31
Ilustración 9 Mortalidad de <i>Planococcus citri</i> en tratamiento T3 (HEPs) a concentración de 5.0×10^8 conidios/ml en los días 5, 10 y 15	32
Ilustración 10 Porcentajes de eficacia de las concentraciones del tratamiento 3.....	33
Ilustración 11 Porcentajes de eficacia del T3 frente a T1 y T2	34
Ilustración 12 Distribución normal de los tratamientos T2 y T3	36
Ilustración 13 Análisis de varianza	36
Ilustración 14 Mortalidad de las cochinillas <i>Planococcus citri</i> T1 frente a T3.....	37

Índice de tablas

Tabla 1 Taxonomía <i>Planococcus citri</i> (Risso)	10
Tabla 2 Taxonomía <i>Beauveria bassiana</i>	16
Tabla 3 Taxonomía <i>Metarhizium anisopliae</i>	17
Tabla 4 Taxonomía <i>Lecanicillium lecanii</i>	18
Tabla 5 Taxonomía <i>Purpureocillium lilacinum</i>	19
Tabla 6 Taxonomía <i>Citrus × aurantiifolia</i> (Christm.) Swingle	21
Tabla 7 Factor 2 Tratamientos	24
Tabla 8 Factor 3 Tratamientos	25
Tabla 10 Porcentaje de mortalidad de los tratamientos	35

Índice de anexos

Anexo 1	Conteo de cochinillas del T1.....	61
Anexo 2	Tabla de los resultados de la prueba de normalidad de T2 Y T3	61
Anexo 3	Tabla de prueba de Levene	62
Anexo 4	Tabla de los tratamientos (clorofila)	62
Anexo 5	Prueba de normalidad de todas las hojas infectadas con el tratamiento antes y después	63
Anexo 6	Prueba de homogeneidad de todas las hojas infectadas con el tratamiento antes y después.	64
Anexo 7	Anova de Welch generada usando la librería pingouin (0.5.4) de Python (3.10).....	64
Anexo 8	Diversidad de cochinillas en el campus	64
Anexo 9	Estructuras construidas para mantener en condiciones controladas a las plantas.....	66
Anexo 10	Medición de clorofila antes y después de los tratamientos.....	66
Anexo 11	Recolección de cochinillas	67
Anexo 12	Identificación bajo estereomicroscopio de <i>Planococcus citri</i>	67
Anexo 13	Infección de <i>Planococcus citri</i> en <i>Citrus</i> limón.....	67
Anexo 14	Aplicación de los tratamientos	68
Anexo 15	Huevos de cochinilla observada por estereomicroscopio	68
Anexo 16	Presencia de melaza en hojas de limón	68
Anexo 17	Presencia de hormigas en planta de limón	69
Anexo 18	Secreción de sustancia blanquecina proveniente de cochinilla	69
Anexo 19	Ficha técnica de consorcio de hongos entomopatógenos	70

Abreviatura de símbolos

HEPs: Hongos entomopatógenos

ANOVA: Analysis of Variance

SPAD: Soil Plant Analysis Development

Capítulo I

Antecedentes

1.1 Introducción

La cochinilla de los cítricos, *Planococcus citri* (Risso, 1813), es un insecto chupador de savia reconocido mundialmente que proviene de Asia, pero, se ha extendido en todo el mundo (Ghaffari et al., 2017). Se alimenta de una gran variedad de plantas ornamentales, frutales hasta de cítricos, de

donde proviene su nombre (Modafferi et al., 2024). Este parásito excreta una sustancia pegajosa llamada melaza que promueve la aparición de otros organismos que se alimentan de esta como las hormigas (Mansour et al., 2018, Herrick et al., 2019, Modafferi et al., 2024).

En Guayaquil, Ecuador en el año 2020 aparecieron los primeros brotes de la plaga reportados por el Municipio de la ciudad (Alvarez, 2023), generando una problemática de relevancia por estos últimos años. La cochinilla se ha propagado de forma beligerante extendiéndose a una gran variedad de plantas de la ciudad. (Zambrano, 2023). Estos insectos están presentes en parques, hogares, bosques, centros educativos; afectando todas las áreas verdes de distintas zonas de la ciudad. Una de las zonas afectadas es el campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana donde más del 50% de su extensión está cubierta por áreas verdes, los daños causados tienen un impacto negativo en el crecimiento foliar de las especies vegetales afectando también en su desarrollo.

Los hongos entomopatógenos (HEPs) infectan a la gran mayoría de artrópodos, incluido los insectos. Son rivales naturales capaces de terminar con poblaciones enteras de ciertas especies pertenecientes a ese Filum (Khan et al., 2012, Valbuena et al., 2021). Por ello, son una estrategia integral para el control sostenible de estos organismos. (Acheampong et al., 2020). A causa de su capacidad patogénica son usados como medida de biocontrol de plagas. Las aplicaciones de estos HEPs se pueden efectuar en combinación con otras especies fúngicas, lo cual es conocido como consorcio.

Entre los consorcios más renombrados tenemos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium lecani* y *Purpureocillium lilacinum* los cuales pueden trabajar en sinergia para crecer y reproducirse como patógenos oportunistas.

Los insectos se vuelven susceptibles a estos patógenos por la infección que provocan mediante esporas, el huésped se aferra a la superficie exterior del cuerpo del organismo y comienza a germinar descomponiendo al insecto desde adentro causándole la muerte (Gómez Ramírez et al., 2014). Del cuerpo sin vida del huésped emergen las hifas y pueden permanecer en los tejidos superiores del artrópodo, donde vuelven a esporular cuando las condiciones ambientales son adecuadas (Shin et al., 2020).

Debido a los mecanismos de acción de los HEPs surgen como una alternativa sostenible para el control de insectos poseyendo ventaja sobre los insecticidas químicos puesto que estos artrópodos han demostrado una creciente resistencia a los mismos (Abdollahdokht et al., 2022, Laudani et al., 2022, Modafferi et al., 2024). El objetivo de este estudio fue determinar la eficacia de un consorcio de HEPs en cochinillas harinosas (*Planococcus citri*) ubicadas en la Universidad Politécnica Salesiana campus "María Auxiliadora".

1.2 Antecedentes

Los HEPs parasitan y matan artrópodos en varios de sus estadíos ya sea, como larvas o adultos (Islam et al., 2021). En los últimos años, se han identificado 90 géneros y 700 especies de HEPs en diversas condiciones, de estos, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, son especies que albergan una amplia gama de huéspedes (González et al., 2020).

En el mercado internacional algunos productos a base de HEPs tienen como componente principal a *Beauveria Bassiana* (Anilkumar et al., 2017). Los pulgones y las moscas blancas son repelidos por productos micoinsecticidas que han sido creados para combatir una variedad de plagas, incluida la langosta del desierto y el escarabajo de la patata de Colorado en Rusia. Al igual que los mencionados anteriormente existen otros productos que son sustitutos ambientalmente beneficiosos de los pesticidas sintéticos (Bamisile et al., 2021).

Debido a su capacidad entomopatógena han sido empleados como método de control biológico, dando como resultado productos comerciales. Las formulaciones suelen consistir en una suspensión de esporas del hongo o del consorcio entomopatógeno, estas pueden ser aplicadas en algunas partes de la planta dentro del cultivo (Fernández et al., 2020).

En Chile, según el Servicio Agrícola y Ganadero, están registrados 34 productos a base de HEPs. El instituto de investigaciones agropecuarias de este país ha desarrollado formulaciones más estables mediante encapsulados, ya que uno de los principales inconvenientes del uso de HEPs es la exposición a la humedad relativa y radiación ultravioleta. La presentación de perlas recubiertas ha mostrado mayor viabilidad y favorecen el crecimiento del hongo al absorber el vapor de agua del ambiente (Fernández et al., 2020).

En Colombia, se encuentran 47 compañías que comercializan hongos y consorcios entomopatógenos, de estos últimos se encuentran asociaciones entre *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliarm* + *Purpureocillium lilacinum*; *Hirsutella thompsonii* Fisher + *Akanthomyces* sp.; *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin + *Paenibacillus popilliae* (Dutky); entre otros (Correal et al., 2018).

Los HEPs sirven como un control biológico de plagas como la cochinilla. En el estudio de Góngora y Gil-Palacio (2020), se analizaron cepas de *Metarhizium anisopliae* y *Metarhizium robertsii* contra este insecto en plantas en condiciones controladas se concluyó que *Metarhizium robertsii* debería ser usado en estudios posteriores ya que muestra una mayor tasa de mortalidad comparada con los métodos evaluados en el estudio.

El estudio de Cloyd y Herrick (2023) sugiere que los tratamientos aplicados en base en HEPs y los aplicados en conjunto con reguladores del crecimiento de insectos, no fueron efectivos debido a la capa cerosa que cubre a las cochinillas. Otros inconvenientes relacionados al uso de HEPs fueron las condiciones desfavorables de humedad relativa o temperatura, además de que los bioinsecticidas dejaban restos blanquecinos en las hojas que pueden afectar su estética y por consiguiente su precio de venta.

En otro estudio en México se determinó la patogenicidad de tres especies de HEPs: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Lecanicillium lecanii* en ninfas de *Dactylopius opuntiae*. Se mostraron resultados más efectivos con las últimas dos cepas. Siendo *Metarhizium anisopliae*, la cepa con mayor eficacia en el segundo instar de la plaga (Ramirez et al., 2019).

1.3 Justificación

Las plantas son de fundamental importancia debido a que ayudan a mejorar la calidad del aire produciendo oxígeno y mitigando el cambio climático al ser sumideros de carbono, de igual manera los árboles son de vital importancia ya que permiten la estabilidad del suelo evitando deslizamientos. Estas razones figuran como las principales para la conservación de estos organismos.

El municipio al ser el encargado del mantenimiento y conservación de las áreas verdes de la ciudad de Guayaquil ha buscado soluciones para combatir la plaga de cochinilla en estos espacios públicos. Ha implementado una serie de medidas (Alvarez, 2023) como la liberación de mariquitas y otros depredadores naturales de estos insectos, también, cortar el follaje como medida para disminuir la plaga. Las medidas antes descritas han tenido cierto éxito, pero la plaga de cochinillas se mantiene, por lo tanto, es necesario probar otras acciones para combatir esta infestación en espacios privados como es el caso del campus María Auxiliadora.

El campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana está cubierto por áreas verdes y un gran porcentaje de esas áreas están infectadas por cochinillas, entre las especies identificadas por las autoras de este trabajo se encuentran *Planococcus citri*, *Orthezia sp.* la cual es abundante en los árboles cítricos de la universidad y *Pseudococcus longispinus*.

Los daños causados por las Pseudococcidae tienen un impacto negativo en el follaje de las plantas debido a que estos insectos succionan la savia y no solo generan debilitamiento, sino que lo maximizan llevando a las plantas a la muerte. Debido a que la savia tiene en disolución todos los elementos que necesitan las plantas para crecer, reproducirse y sobrevivir (Carvalho et al., 2023; Daane et al., 2012; Mani y Shivaraju, 2016). Por su alimentación

excretan melaza, atraen a hormigas lo que tiende a agravar el problema puesto que ellas se encargan de movilizar a las cochinillas causando una mayor proliferación de la plaga.

Aunque el presente trabajo se centra en *Planococcus citri* existe una gran variedad de especies de Pseudococcidae que también están afectando a la ciudad y al campus María Auxiliadora, pero la especie de la que trata este estudio tiene más relevancia debido a que tiene una mayor resistencia a los insecticidas, por ello, son organismos perfectos para realizar la prueba de eficacia de pesticidas (Kim et al., 2023).

La *Planococcus citri* al mostrar mayor resistencia a los insecticidas y ser usada en Corea para evaluar la eficacia de insecticidas (Kim et al., 2023). Será una alternativa sobre las demás especies de cochinillas que afectan al campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana y a la ciudad de Guayaquil.

La aplicabilidad de los HEPs para el control de la cochinilla en el campus María Auxiliadora es una alternativa prometedora. Debido a que reduce el uso de insecticidas químicos, los cuales pueden tener efectos negativos en el medio ambiente y la salud humana. Además, los insecticidas químicos suelen generar resistencia, por otra parte, los biocontroladores como los HEPs tienen un mejor impacto debido a sus mecanismos de acción, donde los insectos se vuelven susceptibles a la infección cuando las esporas se aferran a la superficie exterior de su cuerpo. Una vez que estas esporas detectan señales en la cutícula, el patógeno comienza a germinar. Durante este proceso se segregan una variedad de enzimas que tienen como objetivo descomponer la cutícula del insecto.

La acción conjunta de estas enzimas y la presión mecánica generada por los tubos germinales resulta en la ruptura de la cutícula. Se originan las blastosporas que se diseminan

en el interior del insecto. Causando la muerte de este. Al fallecer, las hifas del hongo emergen y pueden permanecer en los tejidos superiores del cuerpo, donde pueden volver a esporular (Gómez Ramírez et al., 2014). Todas estas características permiten usar los consorcios de hongos como medidas de biocontrol de la cochinilla.

1.4 Problema de investigación

¿Cuál es la eficacia del consorcio entomopatógeno compuesto por los hongos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* y *Purpureocillium lilacinum* para el control de *Planococcus citri*?

1.5 Delimitación

La recolección de cochinillas se llevó a cabo en la sede María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana sede Guayaquil, km 19 vía a la costa. La estrategia experimental se desarrolló en los laboratorios de la misma sede.

Coordenadas (UTM): Zona 17, hemisferio S; 606321,30; 9757329,40

Ilustración 1 Fotografía satelital obtenida de la plataforma de Google Maps.



(Google, 2024)

1.6 Delimitación temporal

El trabajo de investigación experimental tuvo una duración de 1 mes y 15 días.

1.7 Objetivos

1.7.1 *Objetivo general*

Determinar la eficacia de un consorcio entomopatógeno en cochinillas *Planococcus citri* en la Universidad Politécnica Salesiana.

1.7.2 *Objetivos específicos*

- Determinar la tasa de mortalidad de *Planococcus citri* tratadas con un consorcio entomopatógeno compuesto por las especies *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*,

Lecanicillium lecanii y *Purpureocillium lilacinum* mediante la observación en condiciones de temperaturas controladas.

- Evaluar la eficacia de un consorcio entomopatógeno versus un insecticida químico aplicado en *Planococcus citri*.
- Estimar la concentración de clorofila encontrada en los ejemplares de los tratamientos aplicados.

1.8 Hipótesis

1.8.1 Hipótesis nula

El grupo del tratamiento del consorcio entomopatógeno no muestra diferencias significativas del grupo del control negativo.

1.8.2 Hipótesis alternativa

El grupo del tratamiento del consorcio entomopatógeno muestra diferencias significativas del grupo del control negativo.

Capítulo II

Marco teórico

2.1 Cochinilla

La cochinilla de los cítricos *Planococcus citri* (Risso, 1813) es un insecto chupador del orden hemíptera y de la familia Pseudococcidae que se alimenta de la savia de las plantas (Daane et al., 2012, Mani & Shivaraju, 2016, Carvalho et al., 2023), tiene una extensa distribución geográfica según la base de datos Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2023) cuenta con 703 registros georreferenciados incluido Ecuador el cual fue registrado como introducido en el año 2019 por Pagad (2020), las temperaturas óptimas para mayor rendimiento poblacional está entre 28° a 30° C (García et al., 2014), es una plaga que afecta desde noviembre del 2020 hasta la actualidad en las zonas forestales y urbanas de Guayaquil, Ecuador (Alvarez, 2023).

Tabla 1 Taxonomía *Planococcus citri* (Risso)

Taxonomía	
Reino	Animalia
Orden	Hemíptera
Suborden	Sternorrhyncha
Superfamilia	Coccoidea
Familia	Pseudococcidae
Subfamilia	Pseudococcinae
Género	Planococcus Ferris, 1950
Especie	<i>Planococcus citri</i> (Risso, 1813)

Fuente: Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2023)

2.2 Morfología

Los huevos son pequeños, de forma ovalada y color amarillo claro cuando son recién puestos. A medida que el embrión se desarrolla, el huevo adquiere un color amarillo oscuro. Los huevos se depositan en un ovisaco blanco formado por secreciones filamentosas de la hembra, esta estructura tiene una forma casi recta y mide entre 0,38 y 0,75 mm de longitud en este estadio machos y hembras son iguales (Viera Chiroque, 2019).

La ninfa I es la primera etapa de desarrollo de las cochinillas, son pequeñas de color amarillo claro y forma ovalada alargada. Cuando eclosiona, permanece entre 2 y 3 días en el ovisaco, y luego se traslada a las nervaduras de las hojas. Tiene pequeñas antenas y sus 3 pares de patas aún no tienen filamentos alrededor, el cuerpo es blando tanto machos como hembras poseen las mismas características en este estadio (Viera Chiroque, 2019).

La ninfa II de la *Planococcus citri* es de color amarillo brillante y forma ovalada. Se cubre de una sustancia pulverulenta de color blanco y disminuye su movimiento. En esta etapa, las ninfas hembras y machos comienzan a diferenciarse, las hembras mantienen las mismas características que la ninfa I, los machos, por su parte, crecen hasta una longitud promedio de 1,31 mm y un ancho de 0,58 mm, luego de 2 ó 3 días antes de que finalice este estadio, el color del macho se torna casi rosado y delgado aparece cubierto de sustancia algodonosa formándose como un capullo algodonoso (Viera Chiroque, 2019).

La ninfa III es muy similar a la hembra adulta pero más pequeña y aquí ya se observan los filamentos caudales mucho más formados alrededor del cuerpo, ya presenta la cubierta cerosa de color blanquecina, también se llega a observar los segmentos del cuerpo su movimiento es más lento. La ninfa posee una longitud promedio de 1.65 mm de largo y 0.80

mm de ancho (Viera Chiroque, 2019).

La pre-pupa del macho de la cochinilla harinosa es una etapa intermedia en su desarrollo, se termina de formar dentro de un capullo de algodón blanco, y tiene un movimiento casi nulo, sus alas aún no están desarrolladas, y son de color amarillo pálido. Luego pasa hacer una pupa el aspecto varía ya que ahora tiene una forma alargada, de color marrón oscuro, tiene un movimiento lento en este estadio no tiene alas (Viera Chiroque, 2019).

Las hembras adultas de esta especie *Planococcus citri* son de color amarillo, ovaladas y miden aproximadamente 3 y 4 mm de largo y entre 1,5 y 2 mm de ancho (Baker, 1978; Nakahara y Williams, 1980; Pirone, 1978; Pertuit, 1992; Carbajal, 2013) estas cochinillas están cubiertas de una capa blanca y cerosa que les da un aspecto similar al del polvo, tienen 18 pares de filamentos céreos, siendo los últimos ligeramente más largos y situados en la parte posterior su color varía desde el amarillo al marrón rojizo.

Los machos, por su parte, el tronco está dividido en tagmas, son más alargados que las hembras y pueden ser alados o ápteros sus patas son alargadas, las dimensiones del organismo son de 0,95 a 1 mm de longitud y de 0,2 a 0,3 mm de anchura, el abdomen es un cilindro alargado que se une completamente al cuerpo (Martínez F., 2003). No poseen aparato bucal o está atrofiado, en consecuencia, no generan melaza ni tienen relaciones simbióticas con otras especies además tienen un corto tiempo de vida (Viera Chiroque, 2019).

*Ilustración 2 Ciclo de vida *Planococcus citri**



(Los autores, 2024)

2.3 Cochinillas y hormigas

Entre las hormigas y algunas especies de cochinillas se tiene una relación simbiótica la cual se basa en el intercambio de recursos según Bravo & Cordoba (2023), las hormigas movilizan y protegen a la plaga de sus enemigos naturales a su vez ellas producen melaza, un líquido azucarado que sirve de alimento para las hormigas (García-Valente et al., 2009).

2.4 Hongos entomopatógenos (HEPs)

Los HEPs son microorganismos (Mantzoukas et al., 2022), rivales naturales de los insectos; capaces de terminar con poblaciones enteras de insectos plaga (Khan et al., 2012,

Valbuena et al., 2021). Es una alternativa sostenible a los pesticidas químicos, ya que son seguros para la salud humana y el medio ambiente (Bava et al., 2022).

Gran parte de los HEPs pertenecen a las divisiones Entomophthoromycota e Hypocreales. Ambos filos producen conidios y otras esporas asexuales; y cuando se desarrollan pueden vivir como patógenos de artrópodos obligados o facultativos (Barra-Bucarei, France & Pino, 2019).

2.4.1 *Modo de acción*

Los HEPs infectan a los insectos mediante un proceso que se divide generalmente en cuatro etapas (Shin et al., 2020). La primera es conocida como adherencia de los hongos a la superficie y en sí es la unión de los conidios donde las estructuras reproductivas, se adhieren a la cutícula del insecto mediante interacciones hidrofóbicas y electrostáticas inespecíficas (Butt et al., 2016; Davit Colo et al., 2022), la fase de adhesión es un condicionante es la fase más importante, ya que todo depende de la cantidad de esporas que se adhieren a la cutícula para generar la muerte del insecto (Butt et al., 2016, Miranda et al., 2024).

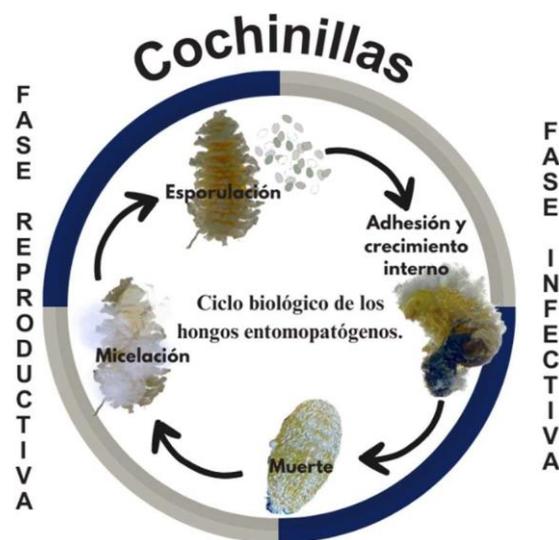
La segunda etapa es la germinación ocurre una vez que los conidios se han adherido, germinan y forman el apresorio, una estructura que penetra la cutícula del insecto, durante esta etapa sigue la penetración además de actuar enzimas hidrolíticas también participan moléculas que inhabilitan las respuestas inmunitarias del huésped (Butt et al., 2016, Miranda et al., 2024); para que el hongo finalmente ingrese y secreta fosfolipasa C para hidrolizar los enlaces fosfodiéster que se encuentran en la membrana celular del huésped (Santi et al., 2010, Miranda et al., 2024).

En la tercera etapa el hongo llega al hemocele, pasando de forma micelial a la forma

levaduriforme la cual les permite multiplicarse con mayor facilidad generando una ventaja sobre el insecto (Téllez-Jurado et al., 2009, Miranda et al., 2024). La multiplicación de las hifas produce toxinas que matan al insecto (Shin et al., 2020).

Debido a la muerte del insecto los nutrientes se agotan como las fuentes de nitrógeno esto provoca que adquiera su forma micelial (Freimoser et al., 2003, Miranda et al., 2024). Por último, ocurre una dispersión de esporas y genera adhesión en un nuevo huésped (Tanada y Kaya, 2012, Miranda et al., 2024).

Ilustración 3 Ciclo biológico de los hongos entomopatógenos



(Los autores, 2024)

2.4.2 *Mecanismos patogénicos*

Los HEPs utilizan una variedad de mecanismos para causar la muerte de los insectos. Los mecanismos más comunes incluyen la toxicidad donde producen toxinas que matan a los insectos. En segundo lugar, la infección ocurre cuando las hifas del patógeno invaden los tejidos del insecto, causando la muerte por malnutrición o daño mecánico y otro de los más

comunes es la inducción de respuestas inmunes: Los hongos inducen respuestas inmunes en los insectos, que pueden resultar en la muerte del insecto. (Nguyen et al., 2022). Los HEP tienen un ciclo de vida complejo que incluye una fase parasitaria y una fase saprobia. En la fase parasitaria, infecta y mata a un insecto, en la fase saprobia, el organismo crece en material orgánico muerto (Kovaleva et al., 2022).

2.5 Composición del consorcio entomopatógeno para biocontrol de cochinillas

Los hongos entomopatógenos con mayor relevancia en el trópico se encuentra la *Beauveria bassiana* uno de los más estudiados en el mundo por ser el adversario de patogenicidad común para los insectos, perteneciente al orden Hypocreales y la familia Cordycipitaceae, este patógeno tiene una alta diversidad de huéspedes de aproximadamente 700 especies (Vega 2018: Akrich et al., 2023), provoca un crecimiento micelial blanco en ninfas y adultos, las esporas asexuales tienen forma de hilados semiesféricos aplanados se generan luego de 20 días a 25° C (Sarubbi et al., 2023).

Tabla 2 Taxonomía *Beauveria bassiana*

Taxonomía	
Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Cordycipitaceae
Género	<i>Beauveria</i> Vuill., 1912

Especie	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.-Criv.) Vuill.
----------------	---

Fuente: Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2023)

El *Metarhizium anisopliae* forma parte de los patógenos más estudiados del trópico pertenece al orden Hypocreales, familia Clavicipitaceae (Golzan et al., 2023), genera un crecimiento micelial septado empieza de color blanco, pero, cambia con el tiempo a un color verde oscuro, crece tanto en ninfas como adultos sus esporas asexuales tienen una forma cilíndrica ovoide se generan luego de 15 días a 25° C (Sarubbi et al., 2023).

Tabla 3 Taxonomía *Metarhizium anisopliae*

Taxonomía	
Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Clavicipitaceae
Género	<i>Metarhizium</i> Sorokin
Especie	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Metschn) Sorokin

Fuente: Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2023)

El hongo *Lecanicillium lecanii* tiene un ritmo de colonización lento, puede afectar tanto a ninfas como adultos (Amutha & Gulsar Banu, 2015), tiene una extensa cantidad de

huéspedes, incluidos artrópodos como las cochinillas, pulgones entre otros, se caracteriza por tener una larga vida útil y un mecanismo de acción eficaz y una alta especificidad del huésped (Ghaffari et al., 2017).

Tabla 4 Taxonomía *Lecanicillium lecanii*

Taxonomía	
Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Cordycipitaceae
Género	<i>Akanthomyces</i> Lebert
Especie	<i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm) Zare & W.Gams

Fuente: Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2023)

El hongo *Purpureocillium lilacinum* pertenece a la familia Ophiocordycipitaceae fue estructurado basándose en su importancia médica (Luangsa-Ard et al., 2011). Las temperaturas en las que puede sobrevivir este patógeno tienen un amplio rango desde los 8 a 38 °C con temperaturas óptimas de 26 a 30° C (Srilakshmi et al.,2017).

Tabla 5 Taxonomía *Purpureocillium lilacinum*

Taxonomía	
Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Ophiocordycipitaceae
Género	<i>Purpureocillium Luangsa-ard et al.</i>
Especie	<i>Purpureocillium lilacinum (Thom)</i>

Fuente: Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2023)

El *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* son hongos efectivos en diferentes plagas de insectos y en diferentes estadios de los insectos (Bidyarani Devi et al., 2016) estos patógenos aplicados en cochinillas evidencian efectividad, sus mecanismos de acción tienden a tener diferentes tiempos de duración en cada una de las fases de su ciclo biológico (Amutha & Gulsar Banu, 2015).

Los organismos *Lecanicillium lecanii* y la *Beauveria bassiana* han demostrado que penetran la cutícula de las ninfas de *Planococcus citri* ya que producen lipasas, proteasas y quitinasas que en combinación degradan la cutícula (Avalos Vela & Wilson-Kugg, 2015).

Los especímenes *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* presentan distintos mecanismos de acción ya que eliminan el insecto y además forman relaciones de beneficio

con las plantas (Litwin et al., 2020).

2.5.1 Condiciones de crecimiento

Diversos estudios muestran que la temperatura promedio óptima para HEPs del filo Hypocreales es de 30 C y un porcentaje de humedad relativa del 95% (Kamga et al., 2022).

2.6 Aplicaciones de los hongos entomopatógenos

Los HEP se utilizan para el control de plagas en una amplia gama de cultivos, incluyendo cereales, frutas, hortalizas y ornamentales, también se utilizan para el control de plagas forestales y urbanas (Pacheco et al., 2019).

Estos microorganismos usados como bioinsecticidas tienen características destacables como: seguridad al mostrar poco o nulo impacto en el medio ambiente o salud humana; resistencia, ya que, aunque pueden generar resistencia esta no es absoluta (Dubovskiy et al., 2013); selectividad, ya que algunas especies infectan ciertas especies o un grupo de insectos; no producen residuos; se pueden producir masivamente con sustratos accesibles como el arroz (Hidalgo & Tello, 2022); (Barra-Bucarei, France & Pino, 2019).

Aunque son una alternativa sostenible, los HEPs son susceptibles a las condiciones de temperatura, humedad, radiación ultravioleta y uso de otros pesticidas. Por estas razones se recomienda almacenar correctamente los bioinsecticidas a base de HEPs y realizar su aplicación recomendada por la empresa, además, es recomendado conocer el manejo fitosanitario en cultivos cercanos por si estos pueden generar afectaciones, por ejemplo, por el uso de pesticidas (Barra-Bucarei, France & Pino, 2019).

2.7 Limón (*Citrus × aurantiifolia* (Christm.) Swingle)

El limón *Citrus × aurantiifolia* (Christm.) Swingle es una de las frutas más consumidas mundialmente y una de las más cultivadas del Ecuador (Santistevan et al., 2015). Conocida vulgarmente como limón sutil tiene una forma ligeramente redonda, con un extremo cónico. Su sabor es muy ácido, jugoso y con un aroma fuerte (Indriyani et al., 2023). Las plagas que suelen atacar son moscas blancas, escamas o cochinillas del tronco y follaje, las cochinillas se suelen ubicar en el cáliz y por su picadura puede provocar la caída de su follaje, una vez que los frutos son grandes la cochinilla prefiere ubicarse en la zona de contacto entre fruto y hoja, atraen actividad fumagina la cual deteriora la planta (Castillo, 2019).

Tabla 6 Taxonomía *Citrus × aurantiifolia* (Christm.) Swingle

Taxonomía	
Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Sapindales
Familia	Rutaceae
Género	Citrus L.
Especie	<i>Citrus × aurantiifolia</i>

Fuente: Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2023)

Capítulo III

Materiales y métodos

2.8 Lugar de estudio y ubicación geográfica

Esta investigación fue evaluada bajo condiciones controladas, en los predios de la Universidad Politécnica Salesiana sede Guayaquil.

2.8.1 *Toma de la muestra*

Las muestras fueron obtenidas de los árboles presentes en la universidad. Se recogieron cochinillas para su identificación y posterior aplicación de los tratamientos.

2.8.2 *Recolección de cochinillas*

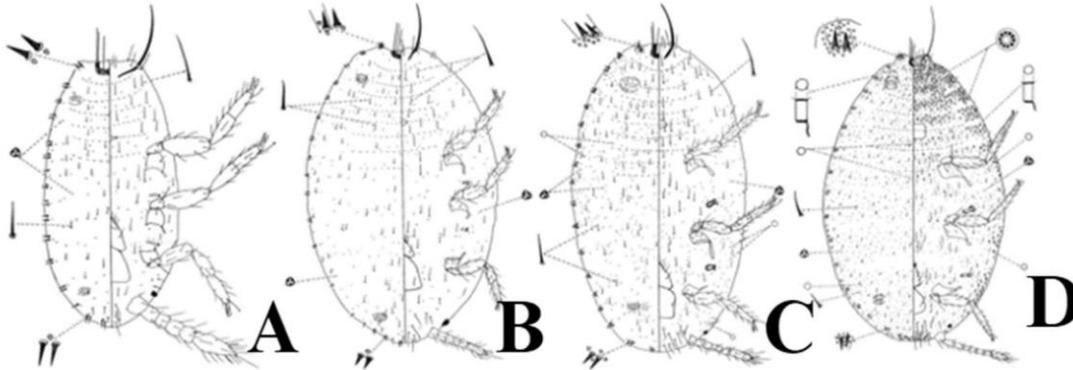
Para la colecta del material entomológico, se realiza un muestreo aleatorio en todo el campus para identificar las cochinillas con características similares a la *Planococcus citri*, para facilitar la recolección se usa un pincel y se sitúan los ejemplares en un envase para su posterior análisis.

2.9 Identificación de *Planococcus citri*.

Se utilizó un estereomicroscopio para hacer una comparación con las claves taxonómicas correspondientes al espécimen basadas en la caracterización morfológica propuesta por Williams y Granaras (1992), y Wakgari y Giliomee (2005).

2.9.1 Caracterización morfológica

Ilustración 4 Diagramas de los estadios de las hembras de *Planococcus citri*; (A) Primer estadio. (B) Segundo estadio. (C) Tercer estadio. (D) Cuarto estadio.



(Wakgari & Giliomee, 2005)

2.9.2 Recolección de *Planococcus citri*.

Una vez identificada la *Planococcus citri* mediante estereomicroscopio, se realizó un muestreo focalizado seleccionando las áreas que habían sido analizadas con anterioridad en las cuales se hubo presencia del artrópodo, se determinó en qué plantas había una mayor población de la plaga para facilitar la identificación de sus nidos y la recolección de especímenes. Este proceso de recolección se llevó a cabo durante una semana aproximadamente.

2.10 Infección

Para iniciar el proceso de infección, se visualizaron las cochinillas con un estereomicroscopio para identificar la especie (*Planococcus citri*) y seleccionar las cochinillas vivas. Se utilizó la metodología de Buena y colaboradores (2019) los cuales recomiendan usar gasa para la aplicación de las cochinillas a la planta. Se separaron en grupos

de 20 por cada gasa, con un total de tres gasas por cada planta obteniendo un total de 60 cochinillas por planta, el proceso de infección se completó en aproximadamente 3 días.

2.10.1 Acoplamiento

Una vez que los árboles de *Citrus × aurantiifolia* estuvieron infectados con la *Planococcus citri* se esperó dos semanas a que el insecto se acoplara a la nueva planta hospedera, se controlaron las condiciones para asegurar el éxito del proceso de acoplamiento.

2.11 Diseño factorial para la evaluación de la eficacia del consorcio entomopatógenos en *Planococcus citri*.

Para la investigación se realiza un diseño factorial completo con 3 factores y 3 niveles en tratamientos y concentración de tratamientos, 1 nivel para el control negativo, permitiendo evaluar todos los efectos e interacciones.

Factor 1: Mortalidad: *Planococcus citri* (Variable dependiente)

Factor 2: Tratamientos: T1, T2 y T3

Factor 3: Concentración tratamientos: C1, C2 y C3

Tabla 7 Factor 2 Tratamientos

Factor 2: Tratamientos	
T1 (control negativo)	Agua
T2 (control positivo)	Insecticida químico (Detergente potásico)
T3 (unidad experimental)	Consortio (<i>Beauveria bassiana</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> , <i>Lecanicillium lecanii</i> y <i>Purpureocillium lilacinum</i>).

Tabla 8 Factor 3 Tratamientos

Factor 3: Concentración		T2	T3
C1	200%	30,22 p/v	2.0×10^9 conidios/ml
C2	100%	15,11 p/v	1.0×10^9 conidios/ml
C3	50%	7,55 p/v	5.0×10^8 conidios/ml

La concentración en el T1 correspondiente al control negativo es única.

En el factor 1 presenta un nivel la mortalidad, el factor 2 tres niveles los 3 tratamientos y en el factor 3 siete niveles las 7 diferentes concentraciones por lo cual se requieren 21 plantas de limón *Citrus × aurantiifolia* de entre 4 a 6 meses para la aplicación de los tratamientos en la experimentación.

2.12 Aplicación de los tratamientos

Para la aplicación de los tratamientos a las plantas se utilizó equipo de protección completo, incluyendo guantes, botas, máscara y gafas, para evitar cualquier contacto directo con el producto además se realizó la aplicación en un área con ventilación óptima para prevenir la contaminación cruzada. Tras la aplicación, se esperó una hora antes de regresar las plantas a las casetas construidas para su protección,

Para la experimentación se construyeron casetas para dar resguardo de depredadores y agentes externos que puedan afectar la muestra, durante este periodo las plantas se mantuvieron en condiciones controladas de temperatura (24°C) sin recibir luz directa.

Ilustración 5 Aplicación de los tratamientos.



(Los autores,2024)

2.13 Metodología para el conteo de mortalidad de *Planococcus citri*.

Una vez aplicados los tratamientos se tomaron resultados de mortalidad a los 5, 10 y 15 días, el conteo de *Planococcus citri* se realizó de forma manual; se seleccionó de cada una de las plantas una hoja por muestreo al azar para luego ser observada en el estereomicroscopio se examinó toda la superficie de la hoja, incluyendo el anverso, reverso y borde. Donde se dividieron las cochinillas en dos grupos vivas y muertas, los criterios morfológicos para su clasificación fueron las cochinillas vivas deben ser móviles con cuerpo blando las muertas deben estar inmóviles, el cuerpo rígido.

2.14 Análisis estadístico

2.14.1 Estadístico para calcular la mortalidad.

Finalmente, se realiza la evaluación estadística de los tratamientos calculando el porcentaje de mortalidad de la plaga con la fórmula mencionada por (Gómez Herrera et al., 2018).

Porcentaje de mortalidad de las cochinillas

$$\%M = \frac{N^{\circ} \text{ de insectos muertos}}{\text{Total de insectos}} \times 100$$

2.14.2 Estadístico para calcular la eficacia.

Se calculó la eficacia en relación a la variable número de individuos muertos (mortalidad) de una población homogénea por lo cual se decidió usar la fórmula descrita por Schneider-Orelli (1947).

Porcentaje de eficacia del consorcio entomopatógeno

$$\%E = \left(\frac{\% \text{ de mort. en muestra tratada} - \% \text{ de mort. en muestra testigo}}{\% \text{ de mort. en muestra testigo}} \right) \times 100$$

%E= Porcentaje de eficacia.

% mort. en muestra tratada (Porcentaje de mortalidad del T3)

% mort. en muestra testigo (Porcentaje de mortalidad del T1 o T2)

2.14.3 Análisis de Varianza (Anova)

Se usó el software estadístico IBM SPSS Statistic versión 25 para realizar la prueba de homogeneidad, normalidad y ANOVA unidireccional de los datos obtenidos de la mortalidad y para las gráficas se usó las hojas de cálculo de Google.

El análisis de varianza (ANOVA) es una herramienta estadística fundamental en la investigación biológica, ya que permite comparar la influencia de más de 2 factores independientes sobre una variable de interés (Azizi et al., 2022). En esta investigación la variable a analizar es la mortalidad.

Para poder realizar la prueba de ANOVA unidireccional se debe cumplir 3 requisitos, primero debe haber más de 2 variables independientes, punto número dos deben seguir una distribución normal en cada uno de los grupos, la prueba a utilizar depende del número de muestra si la muestra es menor a 50 como es en nuestro caso se utiliza la prueba de Shapiro-Wilk, como tercer requisito debe existir homogeneidad de varianzas en cada grupo esto se lo puede confirmar con la prueba de Levene (Azizi et al., 2022).

Al interpretar la prueba de ANOVA se debe conocer el p-valor para determinar si es menor a 0,05 y aceptar la hipótesis alternativa que plantea que hay diferencias significativas entre tratamientos en caso de ser mayor a 0,05 se acepta la hipótesis nula que demuestra que no existen diferencias significativas en los tratamientos (Azizi et al., 2022).

2.15 Clorofila

Al medir la clorofila se usó el equipo digital AMTAST el cual es un medidor de contenido relativo de clorofila en hojas (unidad SPAD) con un rango de medición de clorofila: 0,0 - 99,9 SPAD es de alta sensibilidad con un intervalo de tiempo de medición es de menos de 3 segundos.

Se llevaron a cabo las mediciones de clorofila de todas las plantas antes y después de las aplicaciones de los tratamientos para luego comprobar si hubieron diferencias significativas en la clorofila de alguno de los tratamientos.

2.15.1 *Estadístico clorofila*

Se calculó el promedio de cada uno de los valores obtenidos por el medidor de clorofila en cada uno de los tratamientos con sus respectivas concentraciones, se aplicaron las pruebas de normalidad y homogeneidad mencionadas anteriormente para luego determinar si hubo diferencias significativas de clorofila en los tratamientos.

Al no cumplir con requisito de homogeneidad no se puede realizar la prueba de ANOVA unidireccional por lo cual se debería aplicar ANOVA de Welch ya que este no se ve afectado por varianzas desiguales, para este análisis se realizó la prueba post hoc de Tukey para correlacionar las medias y ver las diferencias significativas entre los tratamientos.

Al efectuar la prueba de normalidad y homogeneidad de la clorofila se usó el programa IBM SPSS Statistic versión 25, para aplicar el ANOVA de Welch y la prueba post hoc de Tukey se usó la librería *pingouin* (0.5.4) de *Python* versión (3.10).

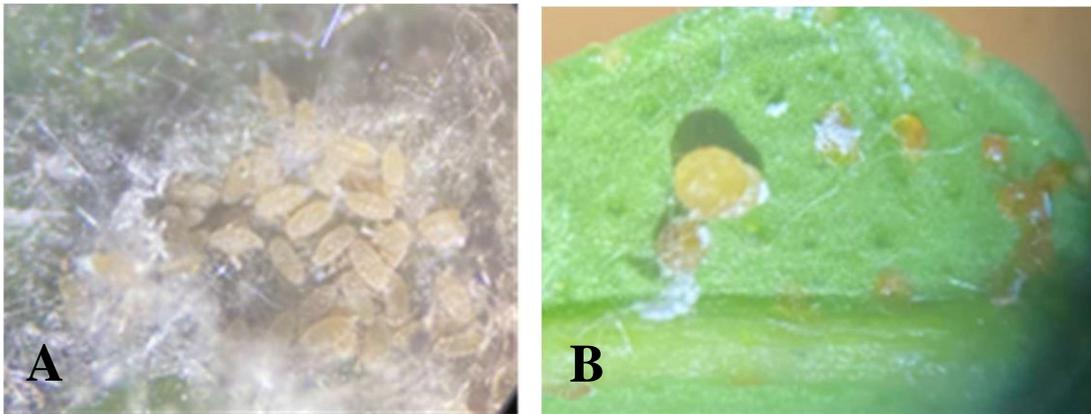
Capítulo IV

Resultados y discusiones

4.1 Resultados del acoplamiento con *Planococcus citri* en el limón *Citrus × aurantiifolia*.

El proceso de acoplamiento de las cochinillas a las plantas de limón duró dos semanas, luego de ese periodo, se pudo observar formación de varios ovisacos en todas las plantas, además se encontró presencia de melaza el cual refleja que la población estaba activa y establecida.

Ilustración 6 Infección de la cochinilla en la planta de limón; (A) Presencia de ninfas y ovisaco de Planococcus citri en la planta de limón Citrus × aurantiifolia. (B) Melaza encontrada en las hojas de la planta de limón Citrus × aurantiifolia.



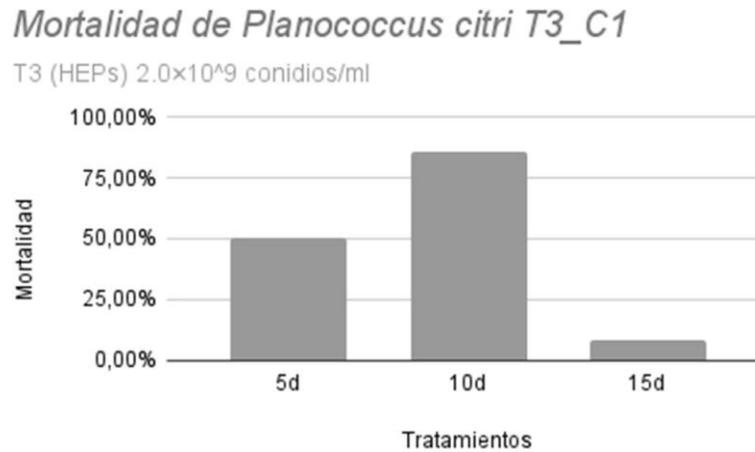
(Los autores, 2024)

4.2 Resultado de mortalidad de las cochinillas *Planococcus citri*

El tratamiento 3 correspondiente al consorcio entomopatógeno compuesto por las especies *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* y

Purpureocillium lilacinum a una concentración de 2.0×10^9 conidios/ml se observa un promedio total a lo largo de los 15 días de 47,80% de mortalidad, donde alcanza el punto más alto en el día 10 con un 86% de mortalidad como se observa en la ilustración 7.

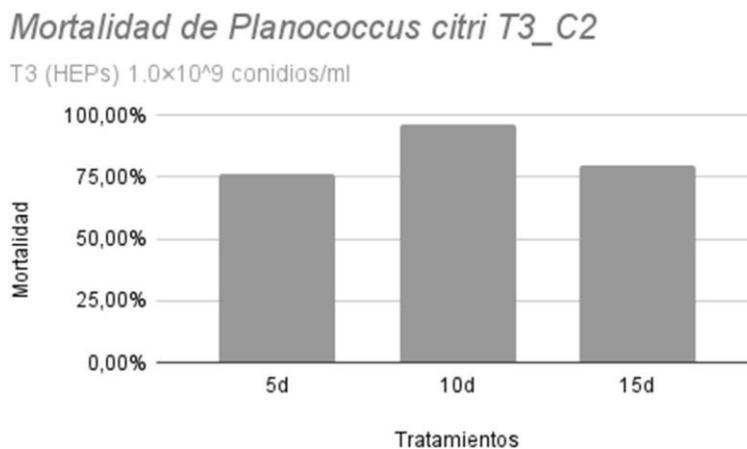
Ilustración 7 Mortalidad de *Planococcus citri* en tratamiento T3 (HEPs) a concentración de 2.0×10^9 conidios/ml en los días 5, 10 y 15.



(Los autores, 2024)

La unidad experimental en concentración 1.0×10^9 conidios/ml del tratamiento 3 obtuvo un promedio del 84% de mortalidad, el mayor porcentaje se obtuvo el día 10 con un 96% como se muestra en la ilustración 8

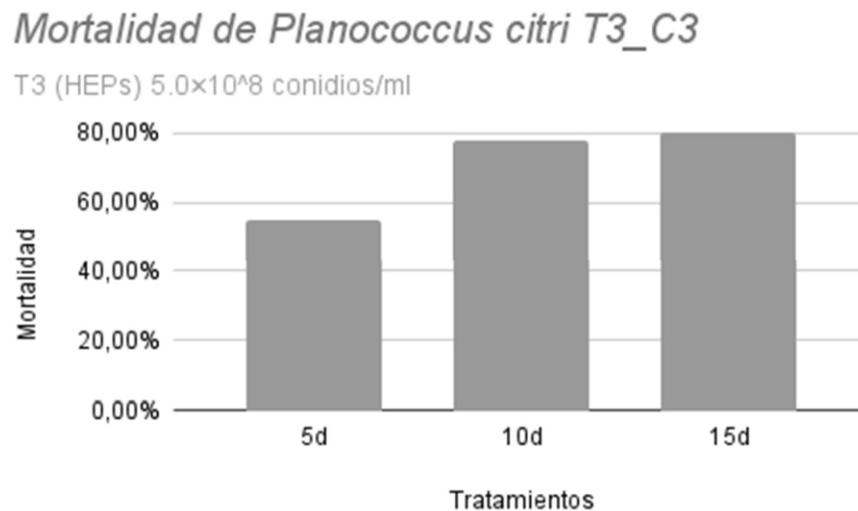
Ilustración 8 Mortalidad de *Planococcus citri* en tratamiento T3 (HEPs) a concentración de 1.0×10^9 conidios/ml en los días 5, 10 y 15.



(Los autores, 2024)

El T3 de la concentración 5.0×10^8 conidios/ml alcanzó su punto máximo de mortalidad el día 15 con un 80% y con un promedio general de todos los días del 71% reflejado en la ilustración 9.

Ilustración 9 Mortalidad de Planococcus citri en tratamiento T3 (HEPs) a concentración de 5.0×10^8 conidios/ml en los días 5, 10 y 15.



(Los autores, 2024)

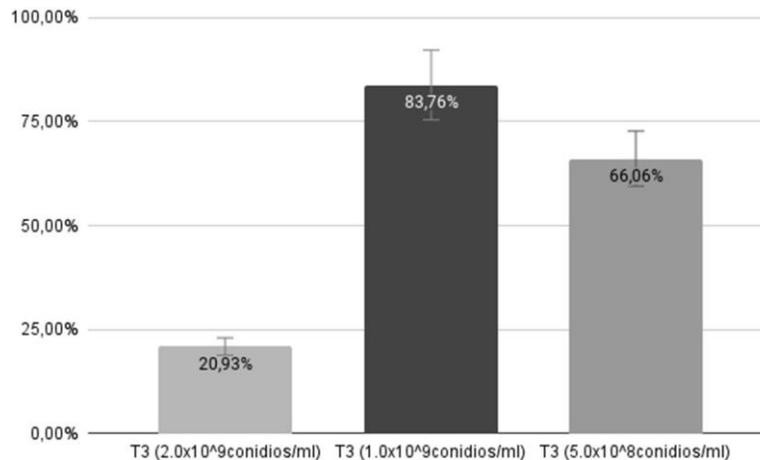
El mayor porcentaje de mortalidad lo produjo el tratamiento 3 con concentración de 1.0×10^9 conidios/ml alcanzando un promedio individual del 84%, seguido de la concentración 5.0×10^8 conidios/ml con un 71%; mientras que el menor porcentaje del tratamiento 3 lo presentó la concentración 2.0×10^9 con un promedio del 47,80%.

El análisis de los resultados correspondientes al porcentaje de mortalidad de *Planococcus citri* al evaluar el tratamiento 3 a diferentes concentraciones de las unidades experimentales en el lapso de 15 días alcanzó un promedio total del 67,63% a diferencia del tratamiento 1 que mostró una mortalidad del 2,5%.

4.3 Estimación de la eficacia de los tratamientos del consorcio entomopatígeno.

Según la fórmula descrita por Schneider Orelli para calcular el porcentaje de eficacia de un tratamiento que siguen una distribución normal, se pudo obtener los valores porcentuales de la eficacia de cada uno de los tratamientos T3 (HEPs) en sus tres concentraciones 2.0×10^9 conidios/ml, 1.0×10^9 conidios/ml y 5.0×10^8 conidios/ml como se describe en la ilustración 10.

Ilustración 10 Porcentajes de eficacia de las concentraciones del tratamiento 3.



(Los autores, 2024)

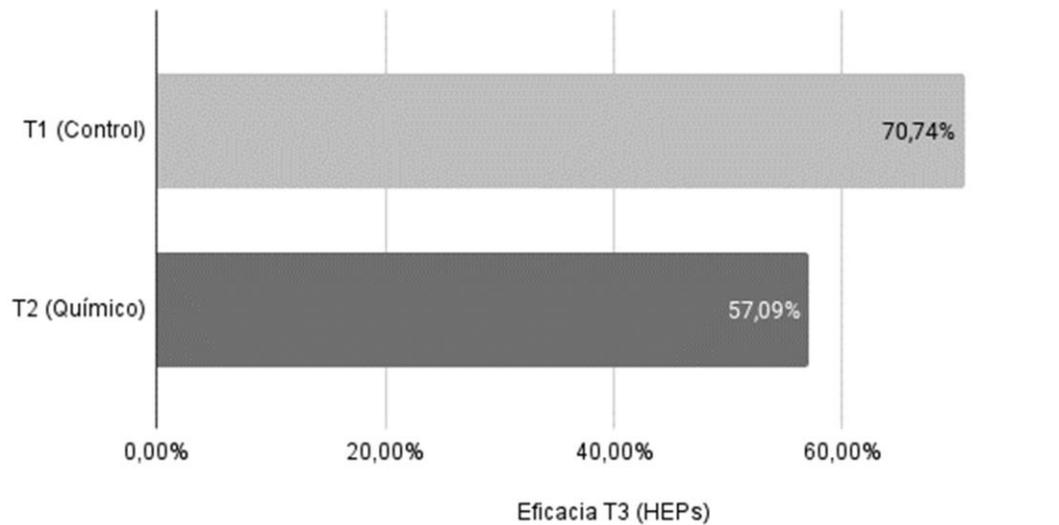
La concentración T3 1.0×10^9 conidios/ml demostró el mayor porcentaje de eficacia alcanzando un 83,76% frente a él T1 control negativo, seguido de la concentración 5.0×10^8 conidios/ml con un valor cercano del 66,06% y por último la concentración 2.0×10^9 conidios/ml tuvo el menor porcentaje de efectividad con un 20,93%.

Además, se calculó con la fórmula de Schneider Orelli el porcentaje de eficacia de todo el T3 en frente al T1 (control negativo) y el T2 (control positivo) se sacó el porcentaje final de cada uno de los tratamientos para así obtener el nivel de eficacia.

Ilustración 11 Porcentajes de eficacia del T3 frente a T1 y T2.

Eficacia de T3 (HEPs) con la fórmula Schneider-Orelli.

Porcentaje de eficacia del T3 frente al T2 (control positivo) y T1 (control negativo).



(Los autores, 2024)

Los porcentajes mostraron resultados mayores al 50% en ambos casos, la comparativa con el control negativo el T1 llegó a un 70,74% de efectividad de todo el T3 (consorcio entomopatógeno) y un 57,09% de efectividad frente al T2 (control químico).

4.4 Comparación de la eficacia de tratamientos T3 y T2.

4.4.1 *Análisis de datos*

Para comprobar la eficacia del T3 (consorcio entomopatógeno) a través de su mortalidad y compararlo con el control positivo el T2 (detergente químico) a 3 concentraciones en un periodo de 15 días con toma de muestra cada 5 días, se realizaron 18 lecturas: 9 con el consorcio entomopatógeno y 9 con el detergente químico como se puede observar en la Tabla 10.

Tabla 9 Porcentaje de mortalidad de los tratamientos.

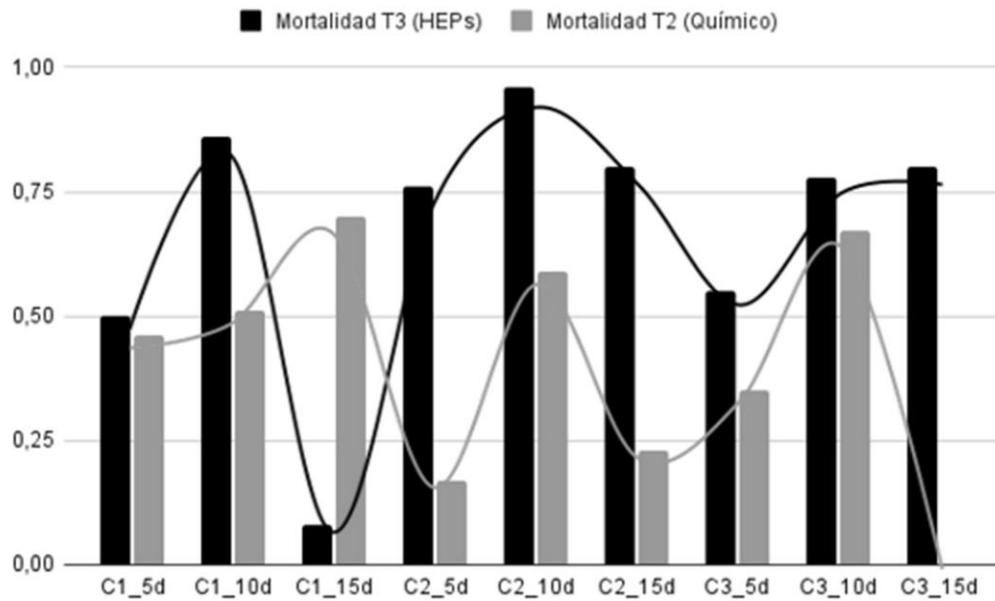
Porcentaje de mortalidad de los tratamientos

Día	T3_C1	T3_C2	T3_C3	T2_C1	T2_C2	T2_C3
5	0,50	0,76	0,55	0,46	0,17	0,35
10	0,86	0,96	0,78	0,51	0,59	0,67
15	0,08	0,80	0,80	0,70	0,23	0

Tabla. (Los autores, 2024)

Se realizaron diferentes pruebas estadísticas como la prueba de Shapiro-Wilk y se pudo demostrar que todos los tratamientos siguen una distribución normal como se puede ver en la ilustración 12. La prueba de Levene fue otra prueba estadística que se realizó para obtener el valor de 0.355 verificando la homogeneidad de las varianzas de cada uno de los grupos Anexo 3.

Ilustración 12 Distribución normal de los tratamientos T2 y T3.



(Los autores, 2024)

Se decidió realizar la prueba ANOVA para determinar si existe diferencia significativa entre tratamientos.

Ilustración 13 Análisis de varianza

ANOVA

Mortalidad	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.620	5	.124	2.052	.143
Within Groups	.726	12	.060		
Total	1.346	17			

En este caso en el análisis de varianza el valor de ($p=0,143$) demostró que no hay diferencias significativas entre los T2 y T3 en ninguna de las concentraciones, por lo que se descarta la utilización de la prueba post hoc de Tukey.

4.5 Resultado de mortalidad de las cochinillas *Planococcus citri*.

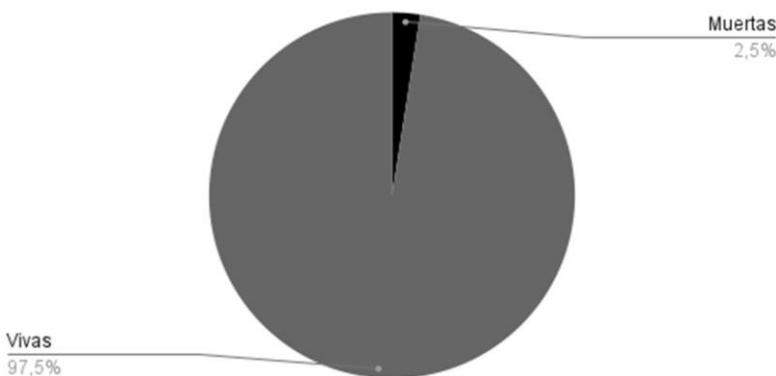
La mortalidad de las cochinillas observadas del grupo control (T1), al igual que el grupo experimental conformado de HEPs (T3) se cuantifican en 3 tomas de forma individual a los 5, 10 y 15 días después de la aplicación del tratamiento 3, para cada muestreo se recolectó una hoja por cada planta infectada, en los siguientes gráficos se muestran los porcentajes de mortalidad del grupo control y el grupo experimental con los datos recopilados.

En la muestra control a lo largo del periodo de 15 días de experimentación con el método antes mencionado únicamente se encontró mortalidad al día 5 de experimentación representado por 10 cochinillas muertas, determinando un 2% de mortalidad como se detalla en la ilustración 14.

Ilustración 14 Mortalidad de las cochinillas *Planococcus citri* T1 frente a T3

*Mortalidad de *Planococcus citri* en T1*

T1 (Control negativo) en los días 5, 10 y 15.



(Los autores, 2024)

4.6 Comparación de los niveles de clorofila del T1, T2, T3 frente a las plantas antes de su experimentación.

Se clasificaron 8 tratamientos, 3 para el T3 (consorcio entomopatógeno), 3 para el T2 control positivo (detergente químico), 1 del T1 de control negativo y 1 para todos los 24 árboles en que se tomaron la cantidad de clorofila antes de cualquier tratamiento.

Los tratamientos presentan una distribución normal mediante el estadístico de Shapiro-Wilk representado en el Anexo 5 además se realiza la prueba de Levene donde las varianzas en cada grupo no presentan homogeneidad de varianzas Anexo 6.

Se eligió un ANOVA de Welch además se aplicó una prueba de Tukey mediante la librería *pingouin (0.5.4)* de *Python (3.10)* que se presenta en la Anexo 7. Se conoce que este método ajusta los grados de libertad y las sumas de cuadrados para ver las diferencias en las varianzas entre los grupos no homogéneos, los resultados indican que hay diferencias significativas entre al menos dos grupos de tratamientos, con un valor de p (0.000717). Además, el tamaño del efecto (η^2) es relativamente alto (0.787918), indicando que los tratamientos explican una gran proporción de la variabilidad observada en los datos.

Estos resultados indican las comparaciones específicas entre los tratamientos donde se encontraron diferencias significativas. La interpretación se realiza considerando el p-valor y otras métricas como el Factor de Bayes (BF10) y el tamaño del efecto (Hedges' g).

Se encontró que el tratamiento T3 en concentración C1 (2.0×10^9 conidios/ml) demuestra una diferencia significativa entre el y el tratamiento T3 con concentración C3 (5.0×10^8 conidios/ml) con un ($p\text{-unic} = 0,009859$) menor a 0,05. Esto sugiere que estos

tratamientos tienen un impacto significativamente diferente en la cantidad de clorofila presente en los árboles con tratamientos de diferentes concentraciones.

Se observa una diferencia significativa entre el tratamiento T3 en concentración C1 (2.0×10^9 conidios/ml) y el tratamiento T2 con concentración C1 (30,22 p/v) con un valor de ($p\text{-unic} = 0.031713$) el cual implica que los tratamientos tienen un impacto significativamente diferente en la cantidad de clorofila en comparación entre sí.

Existe una diferencia significativa entre el tratamiento T3 en concentración C1 (2.0×10^9 conidios/ml) y el tratamiento T2 con concentración C2 (15,11 p/v) con un valor de ($p\text{-corr} = 0.012579$).

Además, se encuentra un valor de ($p\text{-corr} = 0.008383$) demostrando diferencias significativas del T3 en concentración C1 (2.0×10^9 conidios/ml) y el tratamiento T2 con concentración C3 (7,55 p/v). A su vez se encontró una diferencia significativa en los niveles de clorofila con un valor de ($p\text{-unic} = 0.049781$) en el tratamiento T3 en concentración C1 (2.0×10^9 conidios/ml) y los ejemplares antes del tratamiento.

Se encontraron diferencias significativas en los niveles de clorofila en el tratamiento T1 (control negativo) frente a las muestras antes del tratamiento.

4.7 Discusión

Aunque existen varios trabajos enfocados en el control biológico de cochinillas, la mayoría se centran en el uso de una cepa de hongo, en lugar de un consorcio entomopatígeno. La relevancia de la declaración previa es que los consorcios muestran interacciones, positivas o negativas, que afectan su eficacia como biocontrol. Por ejemplo, un consorcio compuesto

de dos cepas de *Beauveria bassiana*, mostró un 17% más de mortalidad que los tratamientos usaron cepas individuales; sin embargo, su porcentaje de mortalidad fue bajo: 30 %. Se encontraron metabolitos en los insectos muertos tratados con el consorcio que pueden suprimir el sistema inmune de la oruga (Da Costa Stuart et al., 2023). En otra investigación, se determinó que la combinación de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* fue más virulenta que usar cepas individuales, contra plagas insecto de *Momordia charantia* (Naveeda, 2018).

Los tratamientos de HEPs en cochinillas bajo ambientes de laboratorio controlado suelen mostrar mayor efectividad que los analizados en campo, debido a las condiciones controladas una vez conociendo esto se declara lo siguiente el alto porcentaje de mortalidad que demostraron algunos de los tratamientos en nuestra investigación se infiere que es causado por la correcta aplicación de los mismo, la poca exposición a sus depredadores naturales y diferentes condiciones externas, asegurando así que los tratamientos actuaran sobre la *Planococcus citri*, además se debe considerar que todos los tratamientos estuvieron bajo una temperatura controlada (24°C) este es un punto a considerar ya que los hongos no tienen un desarrollo adecuado ante temperaturas desfavorables (Cloyd y Herrick, 2023).

Se sugiere que ese es el motivo de que el tratamiento experimental 3 de (HEPs) tuvo un mayor valor porcentual en su mortalidad a comparación del tratamiento T2 (detergente químico), aunque en niveles de eficacia se pudo demostrar que estadísticamente son iguales.

En el estudio de Buena y colaboradores (2019) se demostró mortalidad únicamente en uno de sus productos con un promedio general del 38,32% mostrando un mayor nivel de mortalidad el día 14, el segundo y tercer producto de ese estudio no mostraron una mortalidad

en la cochinilla (*Nipaecoccus nipae Maskell*) mayor a un 10% además no mostraron diferencias significativas con el testigo.

A diferencia de los resultados obtenidos en nuestra investigación los cuales mencionan que el tratamiento 3 en todas sus concentraciones genera mortalidad y muestra diferencias significativas con el testigo, las concentraciones de 2.0×10^9 conidios/ml y 1.0×10^9 conidios/ml revelan un índice de mortalidad mayor el día 10 llegando a un 86% y 96% ese día pero con un promedio general de 47,80% y 84% al contrario de la concentración 5.0×10^8 conidios/ml del consorcio que muestra mayor mortalidad el día 15 alcanzando un 80% y con un promedio general de todos los días del 71% nuestro estudio al igual que el de Buena y colaboradores (2019) se encontró que la respuesta de la mortalidad de las cochinillas aunque sea en uno de sus tratamientos llegó a su punto máximo después del día 10.

Al igual que los resultados obtenidos, los HEPs muestran una eficacia alta en un estudio basado en el uso de cepas de *Metarhizium anisopliae* y *Metarhizium robertsii* para el control biológico de *Puto barberi* bajo condiciones de laboratorio, que resultó en porcentajes de 75,9% y 85,4, respectivamente; mientras que, la aplicación de estos HEPs en los almácigos produjo la reducción de la población de cochinillas en 55% y 78%. Mostrando que *Metarhizium robertsii* posee una mayor eficacia contra esta cochinilla. (Góngora y Gil, 2020)

Mejores resultados que los obtenidos se muestran en la investigación de Karaka y colaboradores (2016). Bajo condiciones de laboratorio, se analizan cepas individuales de *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* y *Paecilomyces lilacinus*. Se expone que la primera cepa muestra un 100% de mortalidad al día 5, el segundo y el tercero llegan a un 82% y un 96% de mortalidad, respectivamente, al séptimo día.

Una concentración alta de clorofila es signo de la salud de una planta y es un indicador de la tasa de fotosíntesis (Mohesh & Basumatary, 2018). Y, la infesta por herbívoros supone una afectación indirecta al crecimiento de una planta por la supresión de actividad fotosintética; en un estudio se determinó que después de 38 días con una infesta inicial alta de cochinillas de la especie *Phenacoccus solenopsis*, del género Pseudococcidae, se mostró una reducción de un 57,3% en el contenido relativo de clorofila en tomate (Huang et al., 2013).

En estudios recientes, se ha analizado la capacidad endófito de los HEPs. En el trabajo de Veloz-Badillo y colaboradores (2019) se analiza la capacidad endófito de *Beauveria bassiana*, resultando en no encontrar efectos en la concentración de clorofila (en unidades SPAD). Mientras, la investigación de Greenfield y colaboradores (2016) muestra una contribución negativa de la concentración del contenido de clorofila en hoja, luego de emplear diferentes concentraciones de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. Por otro lado, después de la inoculación en raíces de *Triticum durum L. cv. Calero* (trigo) con *Metarhizium brunneum*, la concentración de clorofila incrementó, pero en hojas jóvenes (González-Guzmán et al., 2020).

Mostrando resultados diferentes en el presente trabajo, dado que se muestran diferencias significativas de la concentración de clorofila en hojas entre el tratamiento T3 en concentración C1 comparado con los tres tratamientos empleando el control positivo (detergente químico) y el antes del tratamiento.

Capítulo V

Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

- El mayor porcentaje de mortalidad lo produjo el tratamiento 3 con concentración de 1.0×10^9 conidios/ml alcanzando un promedio individual del 84% en todo el tiempo de experimentación. El consorcio muestra mayor mortalidad contra el control negativo y control positivo.
- Las concentraciones altas en el tratamiento 3 demostraron un efecto letal a corto plazo y en concentración baja mostró un mayor grado de mortalidad al día 15, indicando un efecto gradual de letalidad
- Se reveló que en términos de eficacia el tratamiento 2 correspondiente al control positivo y el tratamiento 3 del consorcio de hongos entomopatógenos son estadísticamente iguales a lo largo del periodo de experimentación.
- El tratamiento 3 correspondiente al consorcio de hongos entomopatógeno demostró ser una alternativa eficaz al insecticida químico para el control de *Planococcus citri*, debido a que se observó una mayor mortalidad de la plaga y una reducción significativa de la población con el uso del tratamiento 3 frente al T1 control negativo y T2 control positivo.
- El tratamiento 3 concentración 2.0×10^9 conidios/ml demostró un aumento significativo con el nivel de clorofila de todos los tratamientos 2, con el tratamiento 3 concentración 5.0×10^8 conidios/ml y con el porcentaje de clorofila

antes de la aplicación de los tratamientos, concluye que la presencia de hongos puede ser un factor estimulante para la síntesis de clorofila.

5.2 Recomendaciones

- Se recomienda extender el periodo de experimentación para evaluar el efecto que podría llegar a tener los tratamientos en un tiempo mayor de 15 días.
- Se sugiere evaluar el comportamiento de las cochinillas debido a que en alguna de nuestras plantas de experimentación se las encontraron escondidas, se infiere que esta conducta podría estar relacionada con la notoria presencia de agentes mortíferos.
- Es aconsejable probar los tratamientos a condiciones naturales para probar su efectividad, en especial el de hongos entomopatógenos para confirmar si es un factor determinante la temperatura.
- Se advierte que podrían aparecer hormigas al paso de los días de la experimentación lo cual es aconsejable, especialmente en estudios de mayor duración, examinar la interacción entre las hormigas y las cochinillas.
- Es recomendable evaluar si los tratamientos con hongos entomopatógenos muestran una disminución en la eficacia en presencia de hormigas.
- Se indica que es debido realizar una aplicación periódica de los productos, ya que algunas cochinillas tienden a formar sus ovisacos, y las ninfas pueden llegar a evitar el contacto directo con el tratamiento.
- Se recomienda continuar evaluando los porcentajes de clorofila, ya que hasta el momento solo se ha considerado el valor total de la clorofila, sin

identificar otras formas específicas de clorofila ni realizar un examen a través de espectroscopia, lo que podría aportar información adicional y detallada sobre las diferentes variantes de clorofila presentes en las plantas y como pueden llegar afectar a las mismas.

- Es aconsejable hacer un estudio para determinar las especies predominantes de cochinillas encontradas en el campus María Auxiliador de la Universidad Politécnica Salesiana.
- Se sugiere aplicar los tratamientos a otras especies de cochinillas, ya que existe una gran diversidad de estos insectos en el campus.

Capítulo VI

6.1 Referencias bibliográficas

Abdollahdokht, D., Gao, Y., Faramarz, S., & Ghasemi, H. (2022). *Conventional agrochemicals towards nano-biopesticides: an overview on recent advances*. Chem. Biol. Technol. Agric., 9(2), 120. <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00281-0>

Acheampong, M. A., Coombes, C. A., Moore, S. D., & Hill, M. P. (2020). *Temperature tolerance and humidity requirements of select entomopathogenic fungal isolates for future use in citrus IPM programmes*. Journal of Invertebrate Pathology, 174, 107436. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107436>

Akrich, A., Righi, K., Righi, F. A., et al. (2023). *Characterization of a new isolate of Beauveria bassiana in Algeria and evaluation of its pathogenicity against the cowpea aphid (Aphis craccivora Koch)*. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 33, 73. <https://doi.org/10.1186/s41938-023-00723-x>

Amutha, M., & Gulsar Banu, J. (2015). *Variation in Mycosis of Entomopathogenic Fungi on Mealybug, Paracoccus marginatus (Homoptera: Pseudococcidae)*. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, 87(2), 343–349. doi:10.1007/s40011-015-0624-8

Anilkumar, R., Edison, L., Sukumaran, P. (2017). *Exploitation of Fungi and Actinobacteria for Sustainable Agriculture*. 10.1007/978-981-10-6847-8_6.

Azizi, F., Ghasemi, R., & Ardalan, M. (2022, julio 7). *Dos errores comunes al aplicar la prueba ANOVA: Guía para investigadores biológicos*. Preprints, 2022070082. <https://doi.org/10.20944/preprints202207.0082.v1>

Baker, R. (1978). *"Insect and related pests of flower and foliage plants."* N.C. Agric. Ext. Svc. N.C. State University, Raleigh, N.C.

Bamisile, B., Akutse, K., Siddiqui, J., Xu, Y. (2021). . *Model Application of Entomopathogenic Fungi as Alternatives to Chemical Pesticides: Prospects, Challenges, and Insights for Next-Generation Sustainable Agriculture*. Front. Plant Sci., 30 September 2021. Sec. Plant Pathogen Interactions. Volume 12 - 2021 | <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.741804>

Barra-Bucarei, L., France, A. F., & Pino, C. P. (2019). *Entomopathogenic fungi*. En Springer eBooks (pp. 123-136). https://doi.org/10.1007/978-3-030-24733-1_11

Bava, V., De Luca, E., & Locci, R. (2022). *Fungal entomopathogens: A review of their diversity, ecology and applications*. Biological Control, 148, 104620.

Bidyarani Devi, E., Premabati Devi, E., & Deepshikha (2016). *Hongos entomopatógenos: una revisión sobre las perspectivas de los hongos entomopatógenos como potentes agentes de control biológico de plagas de insectos*. Revista Internacional de Investigación Actual en Biociencias y Biología Vegetal, 3(9), 74-82. [doi:10.20546/ijcrbp.2016.309.011](https://doi.org/10.20546/ijcrbp.2016.309.011)

Bravo, Y. V., Cordoba, L.M. (2023). *Manejo agroecológico del cultivo de café (Coffea arábica), hacia una agricultura sostenible*. Universidad Nacional Abierta y a

Distancia - UNAD. Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente - ECAPMA. Programa de Agronomía. <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/56453>

Butt, T. M., Coates, C. J., Dubovskiy, I. M. & Ratcliffe, N. A. (2016). Chapter Nine - *Entomopathogenic Fungi: New Insights into Host-Pathogen Interactions*. En B. Lovett y R. J. St. Leger (Eds.), *Advances in Genetics*, 94, 307-364

Carbajal, S. (2013). *Identificación taxonómica, morfología y comportamiento de Planococcus (Hemiptera: Pseudococcidae) en el cultivo de vid (Vitis vinifera)* (No. H10 C65 2013). Sociedad Entomológica del Perú, Lima (Perú).

Carvalho, M. M. P., Corrêa Reis, L. A., Pinheiro, M. L. C., Moreira, M. M., Vieira, D. A., & Souza, B. (2023). *Is a diet of Planococcus citri nymphs and adults suitable for Chrysoperla externa for use in biological control?*. *Revista Brasileira De Entomologia*, 67(1), e20220010. <https://doi.org/10.1590/1806-9665-RBENT-2022-0010>

Castillo Carrillo, P. S. (2019). *Insectos y ácaros plagas en cítricos con énfasis en el cultivo de limón sutil (Tesis de Ingeniero Agrónomo)*. Universidad de Tumbes, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Agronomía, Departamento Académico de Agronomía. Tumbes, Perú.

Chirinos, D., Castro, R., Cun, J., Castro, J., Peñarrieta, S., Solis, L., Geraud-Pouey., F. (2020). Los insecticidas y el control de plagas agrícolas: la magnitud de su uso en cultivos de algunas provincias de Ecuador. DOI: https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num1_art:1276

Cloyd, R. & Herrick, N. (2023). Are Entomopathogenic Fungal-based Insecticides and Insect Growth Regulator Mixtures Effective Against the Citrus Mealybug, *Planococcus*

citri (Hemiptera: Pseudococcidae), Feeding on Coleus, Solenostemon scutellarioides, Plants under Greenhouse Conditions?. *HORTSCIENCE* 58(10):1225–1229. 2023. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI17291-23>

Correal, C., Torres, L., Villamar, L., Rivero V., Bustillo, A., Zuluaga, M., Cotés, A. *Hongos entomopatógenos en el control biológico de insectos plaga. En: Espinel Correa C, Torres Torres LA, Villamizar Rivero LF, Bustillo Pardey AE, Zuluaga Mogollón MV, Cotes Prado AE, editores. Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros. Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria; 2018. p. 334-367. Recuperado a partir de: <http://editorial.agrosavia.co/index.php/publicaciones/catalog/download/21/13/166-1?inline=1>*

Da Costa Stuart, A. K., Furuie, J. L., Cataldi, T. R., Stuart, R. M., Zawadneak, M. A. C., Labate, C. A., & Pimentel, I. C. (2023). *Metabolomics of the interaction between a consortium of entomopathogenic fungi and their target insect: Mechanisms of attack and survival. Pesticide Biochemistry And Physiology, 191, 105369.* <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2023.105369>

Daane, K. M., Almeida, R. P. P., Bell, V. A., Walker, J. T. S., Botton, M., Fallahzadeh, M., Mani, M., Miano, J. L., Sforza, R., Walton, V. M., & Zaviezo, T. (2012). *Biology and Management of Mealybugs in Vineyards. Arthropod Management in Vineyards* (pp. 271-307). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4032-7_12

Davit Colo, B., Pedrini, N., & Girotti, J. R. (2022). *Ecología química y genes involucrados en la interacción entre insectos tenebriónidos y hongos entomopatógenos.*

Tesis doctoral, Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Exactas, Departamento de Ciencias Biológicas.

Dubovskiy, I. M., Whitten, M. M. A., Yaroslavtseva, O. N., Greig, C., Kryukov, V. Y., Grizanova, E. V., Mukherjee, K., Vilcinskas, A., Глупов, В. В., & Butt, T. M. (2013). *Can insects develop resistance to insect pathogenic fungi?* PLOS ONE, 8(4), e60248. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060248>

Estrada, A., Berrouet, M., Giraldo, J. (2016). *Toxicidad por neonicotinoides: revisión de tema y reporte de dos casos.* Med U.P.B. 2016;35(1): 41-46. DOI: 10.18566/medupb.v35n1.a06

Fernández, N., Sepúlveda, S., Ceballos, R. (2020). *Formulaciones de Hongos Entomopatógenos: HEPs 2.0 para el control de insectos plaga. TIERRA ADENTRO · Sanidad Vegetal, soluciones basadas en la naturaleza.* <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/68431/6.pdf?sequence=7&isAllowed=y>

Freimoser, F. M., Grundschober, A., Tuor, U. & Aebi, M. (2003). *Regulation of hyphal growth and sporulation of the insect pathogenic fungus Entomophthora thripidum in vitro.* FEMS Microbiology Letters, 222(2), 281-287. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00315-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00315-X)

García-Álvarez, N. C., Urías-López, M. A., Hernández-Fuentes, L. M., Osuna-García, J. A., Medina-Torres, R., & González Carrillo, J. A. (2014). *Distribución temporal y potencial reproductivo de la cochinilla rosada del hibisco (Hemiptera: Pseudococcidae) en*

Nayarit, México. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 5(1), 5-16. Recuperado en 23 de noviembre de 2023, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342014000100001&lng=es&tlng=es

García-Valente, F., Ortega-Arenas, L. D., González-Hernández, H., Villanueva-Jiménez, J. A., López-Collado, J., González-Hernández, A., & Arredondo-Bernal, H. C. (2009). *Parasitismo natural e inducido de Anagyrus kamali sobre la cochinilla rosada en brotes de teca, en Bahía de Banderas, Nayarit*. *Agrociencia*, 43(7), 729-738. Recuperado en 23 de noviembre de 2023, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952009000700007&lng=es&tlng=es:

GBIF Secretariat. (2023). GBIF Backbone *Taxonomy*. Checklist dataset. <https://doi.org/10.15468/39omei>

Ghaffari, S., Karimia, J., Kamali, S., & Mahdikhani Moghadam, E. (2017). *Biocontrol of Planococcus citri (Hemiptera: Pseudococcidae) by Lecanicillium longisporum and Lecanicillium lecanii in laboratory and greenhouse conditions*. *Journal of Asian and Pacific Entomology*, 20(2), 605-612. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2017.03.019>

Golzan, S. R., Talaei-Hassanlou, R., Homayoonzadeh, M., & Safavi, S. A. (2023). *Role of cuticle-degrading enzymes of Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae in virulence on Plodia interpunctella (Lepidoptera, Pyralidae) larvae*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 26(2), 102038. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2023.102038>.

Gómez Herrera, H. A., González Mejía, O., & González Cortázar, J. C. (2018). *Vegetales pulverizados para el manejo de Sitophilus zeamais Motschulsky en almacenamiento*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(4), 859-870. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i4.1396>

Gómez Ramírez, H., Zapata Granja, A., Torres Del Águila, E., & Tenorio Cantoral, M. (2014). *Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos*. Laboratorio de Entomopatógenos SCB - SENASA.

Góngora, C. E., & Gil-Palacio, Z. N. (2020). *Control biológico de cochinillas de las raíces del café con hongos entomopatógenos*. *Cenicafe*, 71(2), 53–65. <https://doi.org/10.38141/10778/71204>

González, G., Venegas, C., González, O., Vargas, H., Jiménez, M., Pérez, E., Azuara, A., *Abundancia y distribución de hongos entomopatógenos en diferentes localidades y ambientes del sur de Tamaulipas*, *Revista mexicana de ciencias agrícolas* (2020), doi: <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i3.1550>

González–Guzmán, A., Sacristán, D., Sánchez-Rodríguez, A. R., Barrón, V., Torrent, J., & Del Campillo, M. C. (2020). *Soil Nutrients Effects on the Performance of Durum Wheat Inoculated with Entomopathogenic Fungi*. *Agronomy*, 10(4), 589. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040589>

Greenfield, M., Gómez-Jiménez, M. I., Ortiz, V., Vega, F. E., Kramer, M., & Parsa, S. (2016). *Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae endophytically colonize cassava roots following soil drench inoculation*. *Biological control : theory and applications in pest management*, 95, 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.01.002>

Herrick, N. J., Cloyd, R. A., & Raudenbush, A. L. (2019). *Systemic insecticide applications: Effects on citrus mealybug (Hemiptera: Pseudococcidae) populations under greenhouse conditions*. *Journal of Economic Entomology*, 112(4), 1048-1054. doi:10.1093/jee/toy352

Hidalgo, D., y Tello, C. (2022). *Manual para la producción de hongos entomopatógenos y análisis de calidad de bioformulados. Manual N° 128. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Santo Domingo. La Concordia, Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador. 35 p.*

Huang, J., Zhang, P., Zhang, J., Lu, Y., Huang, F., & Li, M. (2013). *Chlorophyll Content and Chlorophyll Fluorescence in Tomato Leaves Infested With an Invasive Mealybug, Phenacoccus solenopsis (Hemiptera: Pseudococcidae)*. *Environmental Entomology*, 42(5), 973-979. <https://doi.org/10.1603/en12342>

Indriyani, N. N., Al Anshori, J., Permadi, N., Nurjanah, S., & Julaeha, E. (2023). *Componentes bioactivos y sus actividades a partir de diferentes partes de Citrus aurantifolia (Christm.) Swingle for Food Development*. *Foods*, 12(10), 2036. <https://doi.org/10.3390/foods12102036>

Instituto de Investigaciones Agropecuarias (2021) *Revista Tierra Adentro N° 115. "Sanidad Vegetal: soluciones basadas en la naturaleza"*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Tierra Adentro. 115. 31-35 pp

Kamga, S. F., Ndjomatchoua, F. T., Guimapi, R. A., Klingen, I., Tchawoua, C., Hjelkrem, A. R., Thunes, K. H., & Kakmeni, F. M. M. (2022). *The effect of climate variability in the efficacy of the entomopathogenic fungus Metarhizium acridum against the desert*

locust Schistocerca gregaria. Scientific Reports, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11424-0>

Karaca, G., Kayahan, A., Şimşek, B., & Karaca, İ. (2016). *Effects of some entomopathogenic fungi on Citrus Mealybug Planococcus citri (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae)*. *Entomologica*, 47, 39-44. <https://doi.org/10.15162/0425-1016/452>

Khan, S., Guo, I., Maimaiti, Y., Mijit, M. y Qiu, D. (2012). *Hongos entomopatógenos como agente de biocontrol microbiano*. *Biotecnología de variedades vegetales moleculares*, 3(63-79).

Kim, B. S., Park Min-Goo, Gil-Hah Kim, & Jeong-Oh Yang. (2023). *Development of a Concurrent Treatment Technique of Ethyl Formate and Mixtures (Nitrogen, Phosphine) to Control Citrus Mealybug (Planococcus citri)*. *Insects*, 14(9), 720. <https://doi.org/10.3390/insects14090720>

Kovaleva, O., & Lacey, L. (2022). *Fungal entomopathogen life cycles: Diversity, complexity and challenges*. *Fungal Ecology*, 28, 100483

Laudani, F., Campolo, O., Caridi, R., Latella, I., Modafferi, A., Palmeri, V., Sorgonà, A., Zoccali, P., & Giunti, G. (2022). *Based Nano-Insecticide*. *Insects*, 13(12), 1150. <https://doi.org/10.3390/insects13121150>

Luangsa-Ard, J.; Houbraken, J.; van Doorn, T.; Hong, S.B.; Borman, A.M.; Hywel-Jones, N.L.; Samson, R.A. *Purpureocillium, a new genus for the medically important Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2011, 321, 141–149

Mani, M., & Shivaraju, C. (2016). *Mealybugs and their management in agricultural and horticultural crops*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2677-2>

Mansour, R., Belzunces, L. P., Suma, P., Zappalà, L., Mazzeo, G., Grissa-Lebdi, K., Russo, A., & Biondi, A. (2018). *Vine and citrus mealybug pest control based on synthetic chemicals. A review*. *Agronomy for Sustainable Development*, 38(37), 1-18. doi:10.1007/s13593-018-0376-6

Mantzoukas, S., Papadopoulos A., & Hatzigeorgiou D. (2022). *Fungal entomopathogens: A promising tool for sustainable pest management*. *Journal of Pest Science*, 95(1), 1-17.

Martinez Ferrer, M. t. (2003). *Biología y control del cotonet Planococcus citri (Homoptera: Pseudococcidae) en huertos de cítricos*. Valencia

Ministerio del ambiente y agua. (2021). *Guía para la gestión adecuada de plaguicidas*. <https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2021/01/Guia-para-la-gestion-adecuada-de-plaguicidas.pdf>

Miranda, A. V. C., Espejo, Y. del C. B., Salas, J. L. T. F., González, H. H. S., Aguilera, J. G., & Martínez, L. A. (2021). *Biopesticides: Mechanisms of biocidal action in pest insects*. *Research, Society and Development*, 10(7), e42010716893. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i7.16893>

Modafferi, A., Ricupero, M., Mostacchio, G., Latella, I., Zappalà, L., Palmeri, V., Garzoli, S., Giunti, G., & Campolo, O. (2024). *Bioactividad de la nanoemulsión a base de aceite esencial de Allium sativum contra Planococcus citri y su depredador Cryptolaemus*

montrouzieri. Industrial Crops and Products, 208.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117837>

Mohesh, M., & Basumatary, M. (2018). *Estimation of the chlorophyll concentration in seven Citrus species of Kokrajhar district, BTAD, Assam, India. Tropical Plant Research*, 5(1). <https://doi.org/10.22271/tpr.2018.v5.i1.012>

Nakahara, S., and Williams, M. L. (1980). "*The soft scale insects found in the continental United States (Homoptera: Coccidae). A syllabus prepared for the 1974 Coddidology Training Session.*" Beltsville, MD: USDA

Naveeda S. (2018). *Microbial consortium for the management of insect pest pf bitter bround (Momordica charantia L.)*. Ph.D Diss. Department of Agricultural Entomology College of Agriculture, Vellayani. <https://krishikosh.egranth.ac.in/handle/1/5810143120>.

Naveeda S. *Microbial consortium for the management of insect pest pf bitter bround (Momordica charantia L.)*. Ph.D Diss. Department of Agricultural Entomology College of Agriculture, Vellayani. <https://krishikosh.egranth.ac.in/handle/1/5810143120>

Nguyen, D., & Kim, C. (2022). *Fungal entomopathogens: Mechanisms of action and applications*. Journal of Fungal Biology, 16(2), 129-144.

Pacheco, J., González, M., & López, J. (2019). *Fungal entomopathogens for the control of agricultural pests: A review*. Journal of Pest Science, 92(2), 225-245.

Pagad, S. (2020). *Áreas Protegidas - Registro Global de Especies Introducidas e Invasoras - Islas Galápagos, Ecuador. Grupo de especialistas en especies invasoras ISSG. Conjunto de datos de la lista de verificación*. <https://doi.org/10.15468/7ui6n0>. Consultado el 23 de noviembre de 2023 a través de GBIF.org.

Pertuit, A. J., Jr. (1977). "Influence of temperature during long-night exposures on growth and flowering of 'Mace,' 'Thor,' and 'Telstar' kalanchoes." *HortScience*. 12(1); 48-49.

Pirone, P. P. (1978). "Mealybugs." *In Diseases and Pests of Ornamental Plants*, 5th ed., New York: Wiley, p. 62.

Pla, Laura. (2006). *Biodiversidad: Inferencia basada en el índice de Shannon y la riqueza*. *Interciencia*, 31(8), 583-590. Recuperado en 08 de diciembre de 2023, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000800008&lng=es&tlng=es.

Polit, F. & Echeverría, Z. (2023). *EVALUACIÓN PATOGENICA DE Beauveria bassiana y Metarhizium anisopliae PARA EL BIOCONTROL DEL Cosmopolites sordidus EN CULTIVOS DE BANANO*. [Trabajo de titulación previo a la obtención de título de Ingeniería en Biotecnología]

Ramirez, C., Morales, F., Alatorre, R., Mena, J., Méndez, S. (2019). *Efectividad de hongos entomopatógenos sobre la mortalidad de Dactylopius opuntiae (Hemiptera: Dactylopiidae) en condiciones de laboratorio*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* publicación especial número 22. <https://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/index.php/agricolas/article/download/1854/2127?inline=1>

Ramirez, O. (2017). *Curvas de acumulacion*. <https://rpubs.com/osoramirez/300134>

Santi, L., Beys da Silva, W. O., Berger, M., Guimarães, J. A., Schrank, A. & Vainstein, M. H. (2010). *Conidial surface proteins of Metarhizium anisopliae: Source*

of activities related with toxic effects, host penetration and pathogenesis. *Toxicon*, 55(4), 874-880. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.12.012>

Santistevan Méndez, M., Julca Otiniano, A., & Helfgott Lerne, S. (2015). *Caracterización de las fincas productoras del cultivo limón en las localidades de Manglaralto y Colonche, (Santa Elena, Ecuador).* *Revista Científica y Tecnológica UPSE*, 3(1), 133-142.

Sarmiento, C. (2003). *Metodologías de captura y estudio de las hormigas en F. Fernandez. (Ed.). Introducción a las hormigas de la región Neotropical.* Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. <http://repository.humboldt.org.co/bitstream/handle/20.500.11761/32961/978-958-8151-23-6.pdf>

Sarubbi, H., Resquín-Romero, G., & Garrido-Jurado, I. (2023). *Identificación de hongos entomopatógenos nativos asociados a Mahanarva fimbriolata Stahl en sistemas silvopastoriles (Urochloa brizantha cv. MG-5 y Eucalyptus spp.).* *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 33, 110. <https://doi.org/10.1186/s41938-023-00756-2>: <https://ejbpc.springeropen.com/articles/10.1186/s41938-023-00756-2>

Shin, H., Lee, S., & Lee, J. (2020). *Molecular mechanisms of fungal entomopathogens.* *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(10), 2129-2140.

Srilakshmi, A., Sai Gopal, D. V. R., & Narasimha, G. (2017). *Impact of bioprocess parameters on cellulase production by Purpureocillium lilacinum isolated from forest soil.* *Int J Pharm Bio Sci*, 8(1), 157-165.

Tanada, Y. & Kaya, H. K. (2012). *Insect Pathology*. Academic Press. <https://www.sciencedirect.com/book/9780123849847/insect-pathology>

Téllez-Jurado, A., Cruz Ramírez, M. G., Mercado Flores, Y., Asaff Torres, A. & Arana-Cuenca, A. (2009). *Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos insectos*. *Revista mexicana de micología*, 30, 73-80. https://www.researchgate.net/publication/237041725_Mecanismos_de_accion_y_respuesta_en_la_relacion_de_hongos_entomopatogenos_e_insectos

Valbuena Puentes, A. H., Galindo Soracá, A. M., & Boyacá Quintana, Y. M. (2021). *Efecto del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana (balsamo) Vuillemin en el control de la oveja ked (Melophagus ovinos)*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 32(2), e18362. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v32i2.18362>

Vega, F. E. (2018). *El uso de hongos entomopatógenos como endófitos en el control biológico: una revisión*. *Micología*, 110(1), 4-30. doi:10.1080/00275514.2017.1418578.

Veloz-Badillo, G. M., Riveros-Ramírez, J., Angel-Cuapio, A., Arce-Cervantes, O., Flores-Chávez, B., Espitia-López, J., Loera, O., & Garza-López, P. M. (2019). *The endophytic capacity of the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana caused inherent physiological response in two barley (Hordeum vulgare) varieties*. *3 Biotech*, 9(1), 12. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1548-9>

Viera Chiroque, M. C. (2019). *Ciclo biológico de Planococcus citri (Risso) "chanchito blanco" en cultivo de vid variedad Red Globe*. Piura, 2016 (Tesis de Ingeniero Agrónomo). Universidad Nacional de Piura. Facultad de Agronomía. Escuela Profesional de Agronomía. Piura, Perú.

Wakgari, W., & Giliomee, J. H. (2005). *Description of adult and immature females of six mealybug species (Hemiptera: pseudococcidae) found on*. ResearchGate. https://www.researchgate.net/publication/285785204_Description_of_adult_and_immature_females_of_six_mealybug_species_Hemiptera_Pseudococcidae_found_on_citrus_in_South_Africa

Waqar Islam, Muhammad Adnan, Asad Shabbir, Hassan Naveed, Yakubu Saddeeq Abubakar, Muhammad Qasim, Muhammad Tayyab, Ali Noman, Muhammad Shahid Nisar, Khalid Ali Khan, Habib Ali. (2021), *Insect-fungal-interactions: A detailed review on entomopathogenic fungi pathogenicity to combat insect pests*, *Microbial Pathogenesis*, Volume 159, 105122, ISSN 0882-4010, <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105122>

Zambrano, A. (2023). *Gracias al tratamiento contra la cochinilla, los árboles de Urdesa recuperan su follaje*. Alcaldía de Guayaquil. <https://www.guayaquil.gob.ec/gracias-tratamiento-contr-la-cochinilla-arboles-de-urdesa-recuperan-su-follaje/>

Capítulo VII

Anexos/apéndices

7.1 Anexos

Anexo 1 Conteo de cochinillas del T1

T1 (Control)																			
Días	5d			%			10d			%			15d			%			Total
Cochinillas muertas	4	4	1	9	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	10			
Cochinillas vivas	17	58	7	82	4	52	278	334	3	32	11	54	470						
Mortalidad%				10%						0%			0%			2%			
Total	21	62	8	91	5	52	278	335	4	33	11	48	474						

Anexo 2 Tabla de los resultados de la prueba de normalidad de T2 Y T3

		Shapiro-Wilk		
Tratamiento				
Mortalidad	T3_C1	.998	3	.915
	T3_C2	.893	3	.363
	T3_C3	.810	3	.138
	T2_C1	.898	3	.380
	T2_C2	.855	3	.253
	T2_C3	.999	3	.951

Anexo 3 Tabla de prueba de Levene

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Mortalidad	Based on Mean	1.129	5	12	.397
	Based on Median	.757	5	12	.597
	Based on Median and with adjusted df	.757	5	8.649	.603
	Based on trimmed mean	1.109	5	12	.405

Anexo 4 Tabla de los tratamientos (clorofila)

Planta	Antes	Resultado	Planta	Tratamiento	Resultado
1	8	9,47	1	4	7,3
2	8	10,2	2	4	10,57
3	8	9,93	3	4	12,77
4	8	12,5	4	5	6,97
5	8	10,23	5	5	10,3
6	8	9,37	6	5	9,1
7	8	7,53	7	6	9,33
8	8	10,53	8	6	4,93
9	8	9,3	9	6	5,7
10	8	10,23	10	1	20,13
11	8	10,53	11	1	14,6
12	8	10,73	12	1	21,4
13	8	9,23	13	2	35,13

14	8	9,1	14	2	18,8
15	8	10,8	15	2	17,57
16	8	9	16	3	9,3
17	8	10,43	17	3	7,03
18	8	10,23	18	3	9,13
19	8	8,63	19	7	17,6
20	8	9,7	20	7	18,5
21	8	9,07	21	7	18,37

Anexo 5 Prueba de normalidad de todas las hojas infectadas con el tratamiento antes y después.

Tests of Normality

		Shapiro-Wilk		
TratClorof				
Clorofila	T3_C1	.884	3	.337
	T3_C2	.802	3	.120
	T3_C3	.806	3	.128
	T2_C1	.987	3	.785
	T2_C2	.975	3	.695
	T2_C3	.877	3	.314
	T1	.774	3	.054
	Antes del Tratamiento	.949	21	.329

Tests of Normality

		Shapiro-Wilk		
TratClorof				
Clorofila	T3_C1	.884	3	.337
	T3_C2	.802	3	.120
	T3_C3	.806	3	.128
	T2_C1	.987	3	.785
	T2_C2	.975	3	.695
	T2_C3	.877	3	.314
	T1	.774	3	.054
	Antes del Tratamiento	.949	21	.329

Anexo 6 Prueba de homogeneidad de todas las hojas infectadas con el tratamiento antes y después.

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Clorofila	Based on Mean	15.551	7	34	.000
	Based on Median	1.762	7	34	.128
	Based on Median and with adjusted df	1.762	7	3.146	.339
	Based on trimmed mean	13.408	7	34	.000

Anexo 7 Anova de Welch generada usando la librería pingouin (0.5.4) de Python (3.10)

```

▶ pip install pandas pingouin openpyxl

Requirement already satisfied: pandas in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (1.5.3)
Collecting pingouin
  Downloading pingouin-0.5.4-py2.py3-none-any.whl (198 kB)
    198.9/198.9 kB 4.5 MB/s eta 0:00:00
Requirement already satisfied: openpyxl in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (3.1.2)
Requirement already satisfied: python-dateutil>=2.8.1 in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (from pandas) (2.8.2)
Requirement already satisfied: pytz>=2020.1 in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (from pandas) (2023.4)
Requirement already satisfied: numpy>=1.21.0 in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (from pandas) (1.25.2)
Requirement already satisfied: scipy in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (from pingouin) (1.11.4)
Requirement already satisfied: matplotlib in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (from pingouin) (3.7.1)
Requirement already satisfied: seaborn in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (from pingouin) (0.13.1)
Requirement already satisfied: statsmodels in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (from pingouin) (0.14.1)
Requirement already satisfied: scikit-learn in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (from pingouin) (1.2.2)
Collecting pandas-flavor (from pingouin)
  Downloading pandas_flavor-0.6.0-py3-none-any.whl (7.2 kB)
Requirement already satisfied: tabulate in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (from pingouin) (0.9.0)
Requirement already satisfied: et-xmlfile in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (from openpyxl) (1.1.0)
Requirement already satisfied: six>=1.5 in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (from python-dateutil>=2.8.1->pandas) (1.16.0)
Requirement already satisfied: contourpy>=1.0.1 in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (from matplotlib->pingouin) (1.1.0)
Requirement already satisfied: cyycler>=0.10 in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (from matplotlib->pingouin) (0.12.1)
Requirement already satisfied: fonttools>=4.22.0 in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (from matplotlib->pingouin) (4.22.0)
Requirement already satisfied: kiwisolver>=1.0.1 in /usr/local/lib/python3.10/dist-packages (from matplotlib->pingouin) (1.4.5)

```

Anexo 8 Diversidad de cochinillas en el campus.

```

[ ] from pingouin import pairwise_ttests # Para la prueba post hoc

[ ] # Nombre del archivo Excel
    archivo_excel = 'Dataclorofila.xlsx'

    # Cargar el archivo Excel en un DataFrame
    df = pd.read_excel(archivo_excel)

▶ import pandas as pd
import pingouin as pg

▶ # Cargar el archivo Excel en un DataFrame
df = pd.read_excel('Dataclorofila.xlsx')

# Realizar ANOVA de Welch
resultado_anova = pg.welch_anova(dv='Resultado', between='Tratamiento', data=df)
print(resultado_anova)

[ ]

```

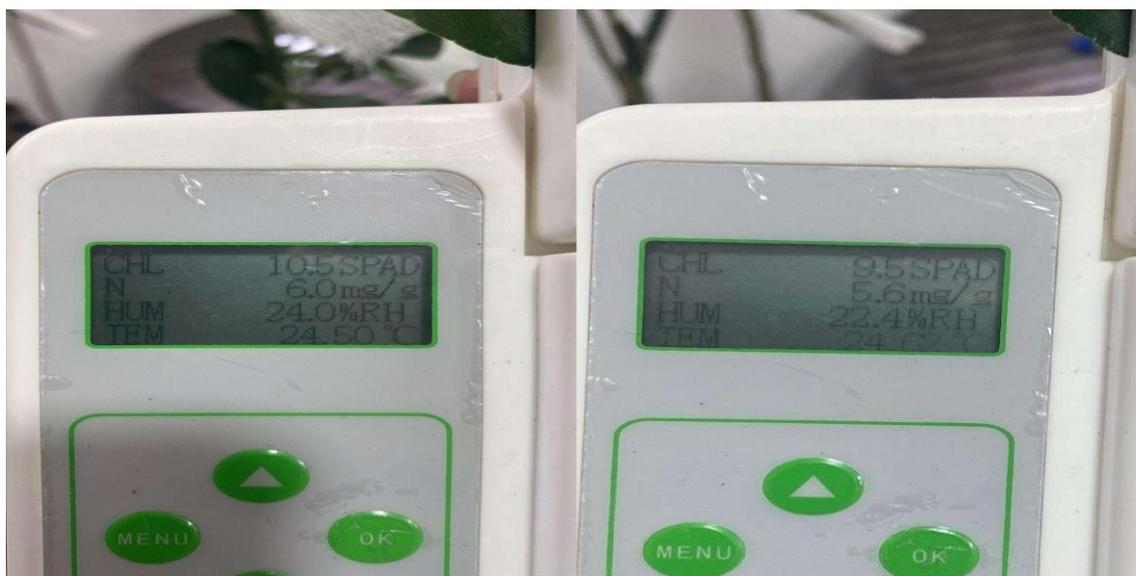
	Source	ddf1	ddf2	F	p-unc	np2
	0 Tratamiento	7	6.947141	16.88634	0.000717	0.787918

Especie	Superficie dorsal	Superficie ventral
<i>Orthezia sp.</i>		
<i>Phenacoccus solani</i>		
<i>Pseudococcus calceolariae</i>		
<i>Pseudococcus longispinus</i>		
<i>Planococcus sp.</i>		

Anexo 9 Estructuras construidas para mantener en condiciones controladas a las plantas



Anexo 10 Medición de clorofila antes y después de los tratamientos



Anexo 11 Recolección de cochinillas



Anexo 12 Identificación bajo estereomicroscopio de *Planococcus citri*



Anexo 13 Infección de *Planococcus citri* en *Citrus limón*



Anexo 14 Aplicación de los tratamientos.



Anexo 15 Huevos de cochinilla observada por estereomicroscopio.



Anexo 16 Presencia de melaza en hojas de limón



Anexo 17 Presencia de hormigas en planta de limón



Anexo 18 Secreción de sustancia blanquecina proveniente de cochinilla



Anexo 19 Ficha técnica de consorcio de hongos entomopatógenos



FICHA TÉCNICA

Pasaje Amazonas N51-31 y Río Arajuno
Teléfonos: +593 2-3302144/ 0998331002
E mail: francisco.zurita@ecbiotech.com
www.ecbiotech.com

EFICAX

INSECTICIDA BIOLÓGICO (de amplio espectro)

1. INFORMACIÓN GENERAL

EFICAX, es un insecticida biológico de tipo microbial, de amplio espectro, formulado con conidios de cuatro diferentes cepas de hongos entomopatógenos: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* y *Purpureocillium lilacinum*, los cuales han demostrado actividad insecticida para diferentes tipos de insectos plaga que atacan a los cultivos dedicados a la obtención de alimentos, productos industriales, maderables, fibras, medicinales y otros.

Las aplicaciones de **EFICAX**, son recomendadas para controlar la presencia de insectos plaga a nivel del follaje y del suelo de los cultivos de la siguiente manera: *Beauveria bassiana*, para controlar coleópteros, lepidópteros (cutzos, catzos, gorgojos, picudo del banano y la palma, barrenador del tallo de la caña) *Metarhizium anisopliae*, para controlar coleópteros (demotispa), cercópidos, orthopteros, cicadelidos y chinches (salivazo, grillos, saltones de la hoja, etc.), *Lecanicillium lecanii*, para controlar aphidos, trialeurodes, bemiscia dípteros (pulgones, moscas blancas, minadores y trips) y *Purpureocillium lilacinum* que es una cepa ovicida de trips, cochinilla, sagalassa, mosca blanca, etc.

Los hongos entomopatógenos que hacen parte de la formulación de **EFICAX**, enferman y causan la muerte de los insectos plaga. Una vez que las estructuras asexuales del hongo entran en contacto con el insecto, especialmente los conidios, se producen una serie de señales de reconocimiento, estimulando su germinación sobre la cutícula del insecto, invadiendo tanto su cuerpo como su sistema circulatorio. El efecto de la aplicación es evidente entre los 8 a 12 días después de que el insecto entra en contacto con los conidios del hongo.

2. COMPOSICIÓN

El producto contiene *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Lecanicillium lecanii*, y *Purpureocillium*, en una concentración equivalente a 1.0×10^9 conidios por mL de biopreparado. Además contiene dispersantes y estabilizantes.

3. PROPIEDADES

Olor : ligeramente a coco
Color : ligeramente turbio
Solubilidad : soluble 100% en agua

4. DOSIFICACIÓN

Las dosificaciones de EFICAX, según el tipo de cultivos a tratarse, se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Dosis de EFICAX, a aplicarse para el control de insectos plaga de los Cultivos

No Ord	CULTIVO	INSECTOS PLAGA	DOSIS	APLICACIÓN
1	Arroz	Mosquilla Barrenador del tallo Trips Sogata Chinche de la espiga	1-2L/ha	Foliar-suelo
2	Aguacate	Perforador de ramas y tallos Pasador del fruto Chinches	1-4L/ha	Foliar- suelo
3	Cebolla	Minador de la hoja Ácaros	1-2L/ha	Foliar-suelo
4	Cítricos	Piojo blanco Pulgón Mosca blanca Ácaros	1-2L/ha	Foliar- suelo
5	Espárragos	Trips Heliiothis virescens Copitarsia incommoda Spodoptera frugiperda	1 a 4L/ha	Foliar- suelo
6	Hortalizas	Gusano tierrero Gusano de la col Gusano de la pella Pulgón Mosca blanca Cutzo	1-4L/ha	Foliar- suelo
7	Frejol	Mosca blanca Lorito verde Comedores de hojas Arañita roja	1-2L/ha	Foliar-suelo
8	Papaya	Lorito verde Mosca de la papaya	1-2L/ha	Foliar- suelo

		Pulgón verde Ácaros Mosca blanca		
9	Palma africana	Sagalassa Cochinilla	1-2L	Suelo
10	Tomate de árbol	Pulgones Chinche patón Gusano trozador Cutzo	1-2L/ha	Foliar- suelo
11	Banano y plátano	Trips Cochinilla Picudo negro Mosca blanca gigante	1-2L/ha	Foliar- suelo
12	Mango	Mosca de la fruta Falso Piojo blanco	1-2L/ha	Foliar- suelo
13	Café	Broca del fruto Minador de la hoja Palomilla de las raíces	1-2L/ha	Foliar-suelo
14	Cacao	Pulgón Ácaros Capsidos Chinches Salivazo Trips	1-2L/ha	Foliar-suelo
15	Pastos	Salivazo Chinches	1-2L/ha	Foliar- suelo

Según sea el nivel de infestación de los insectos a los cultivos las dosis por hectárea van de 1 a 2 litros de producto por hectárea, diluidos en 200 litros de agua, dependerá mucho los niveles de infestación. Si encontramos una plaga con incidencia muy alta se deberá acortar los periodos de aplicación hasta controlarla de manera efectiva.

Es recomendable agitar el frasco que contiene **EFICAX** antes de su utilización, para hacer luego una premezcla inicial en dos litros de agua limpia a fin de lograr una mayor homogenización del producto, posteriormente se ajustará esta premezcla con el volumen deseado, es decir con la cantidad total de agua a aplicarse en el campo.

El agua a utilizarse para la preparación de la solución, debe tener un pH entre 5.0 y 7.5 y durezas inferiores a 1500 ppm de carbonatos de calcio. En caso de aguas que no se ajusten a estos parámetros utilice coadyuvantes correctores de pH y/o dureza.

5. APLICACIÓN

La aplicación de la solución dosificada con **EFICAX**, debe hacerse según sea el caso al follaje o al suelo. Cuando la aplicación se hace al follaje debe mojarse bien el haz y el envés de las hojas, así como los tallos y ramas del cultivo. Cuando la aplicación se hace al suelo debe realizarse en "drench" sobre base húmeda. La