



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA



Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

“Capacidad biocida del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* para el control de trips (Insecta: Thysanoptera) en pimiento bajo cubierta”



Tesis presentada para optar el título de Magister Scientiae de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata

Ing. Agr. María Emilia dos Santos Domingues

2022

Directora

Dra. Andrea V. Toledo – Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI),
Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP.

Co-Directora

Ing. Agr. Ms. Sc. Mariana del Pino – Curso de Horticultura y Floricultura – Facultad de
Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP.

Miembros del jurado

Dra. Nancy Greco

Dra. Susana Paradell

Dra. María Laura de Wysiecki

Fecha de defensa de tesis

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi familia que fueron los que me ayudaron y apoyaron para poder realizar la maestría y especialmente a mi abuela Emilia y a mi nona Camila, dos mujeres que fueron muy importantes en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Arnaldo Maciá (División Entomología, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, La Plata, Buenos Aires, Argentina) por su participación en el diseño experimental del ensayo a campo.

Al Dr. Arnaldo Maciá y a la Lic. Daniela Fuentes Rodríguez (Centro de Ecología Aplicada del Litoral (CECOAL-CONICET-UNNE), Laboratorio de Herbivoría y Control Biológico en Humedales (HeCoB), Corrientes, Argentina) por sus sugerencias y asistencia en los análisis estadísticos.

A la Dra. Claudia Cédola (CEPAVE-CONICET-UNLP), quien amablemente realizó la identificación de los ácaros depredadores.

*A la Dra. Nancy Greco (CEPAVE-CONICET-UNLP), que me dio la posibilidad de realizar una pasantía para la cría artificial de *Frankliniella occidentalis*.*

*A la Dra. Eliana Nieves (CEPAVE-CONICET-UNLP) por haberme brindado su tiempo y la información necesaria para poder realizar la cría artificial de *Frankliniella occidentalis*.*

Al Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI) por haber prestado las instalaciones para poder realizar el trabajo de laboratorio.

A mi Directora Andrea Toledo, por haber sido parte de esta etapa de mi vida, brindando todo su valioso conocimiento sobre los hongos entomopatógenos, apoyándome y guiándome en todo momento.

A mi co-directora Mariana del Pino por haberme inspirado por segunda vez a hacer una tesis y por haber brindado su valioso conocimiento de los cultivos, las plagas y sus enemigos naturales en el campo, dándome apoyo y asistencia en todo momento.

A mis directoras por la buena predisposición, amabilidad y tiempo dedicado para que todo salga correctamente, gracias.

A mis compañeros de maestría Viky y Gaby que ayudaron a que el transcurso de la misma sea de una manera muy confortante.

A mis amigas que siempre estuvieron pendientes del desarrollo de este trabajo.

A mis hermanos, mis suegros y cuñadas que me ayudaron con mis hijas en el transcurso de la maestría.

A mi papá, que me apoyó y dio las herramientas, el espacio y el tiempo para poder realizar el trabajo de campo.

A mi mamá, que siempre estuvo atenta a mis necesidades, apoyándome y cuidando de mis hijas para poder realizar la maestría.

Esencialmente a mi esposo Mauro que me acompañó día tras día hasta el último momento del trabajo dándome apoyo incondicional y ánimo para terminar esta segunda etapa de mi carrera.

A mis mellis Brisa y Jazmín las razones de mi vida.

ÍNDICE GENERAL

Índice de tablas	vi
Índice de figuras	vii
Abreviaturas	ix
Resumen	x
Abstract	xi
1. Introducción general	2
1.1. El cultivo de pimiento	5
1.1.1. Origen y situación botánica	5
1.1.2. Estadísticas	5
1.1.3. Morfología	5
1.1.4. Eco fisiología	6
1.1.5. Manejo del cultivo	6
1.1.6. Adversidades	7
1.2. Los trips	8
1.2.1. Importancia económica y distribución geográfica	8
1.2.2. <i>Frankliniella occidentalis</i>	9
1.2.3. Daños directos e indirectos	10
1.2.4. Peste negra	10
1.3. Control biológico de los trips	12
1.3.1. Generalidades.	12
1.3.2. Depredadores	13
1.3.3. Parasitoides	14
1.3.4. Entomopatógenos	14
1.3.5. Generalidades de los hongos entomopatógenos	15
1.3.6. Biología y patogénesis	16
1.3.7. <i>Beauveria bassiana</i>	17
1.3.8. <i>Beauveria bassiana</i> en el control de <i>Frankliniella occidentalis</i>	18
1.4. El control cultural	19
Hipótesis	20
Objetivo general	20
Objetivos específicos	21
Capítulo I. Materiales y Métodos	22
1. Trabajo de laboratorio	23
1.1. Identificación de las especies de trips presentes en el cultivo de pimiento	23
1.2. Cría de <i>Frankliniella occidentalis</i> en laboratorio	23
1.3. Ensayos de patogenicidad	24
2. Trabajo de campo	26
2.1. Ensayo en invernadero	26
2.1.1. Ubicación del establecimiento	26
2.1.2. Preparación del invernadero para el ensayo y manejo del cultivo	26
2.1.3. Diseño experimental y tratamientos aplicados al cultivo	28
2.1.4. Monitoreo de plagas, enfermedades y enemigos naturales	29
2.2. El inóculo	30

2.2.1. Preparación del inóculo _____	30
2.2.2. Aplicación del inóculo _____	31
2.3. Variables evaluadas _____	32
2.4. Análisis estadístico de los datos obtenidos _____	33
Capítulo II. Resultados _____	35
1. Resultados. Trabajo de laboratorio _____	36
1.1. Identificación de las especies de trips presentes en el cultivo de pimiento. _____	36
1.2. Ensayos de patogenicidad _____	36
2. Resultados. Trabajo de campo _____	37
2.1. Densidad de la población de trips durante todo el monitoreo y luego de la aplicación de <i>B. bassiana</i> _____	37
2.2. Trips muertos por <i>B. bassiana</i> . _____	41
2.3. Enemigos naturales _____	42
2.4. Incidencia de peste negra _____	43
2.5. Registros de temperatura y humedad _____	43
2.6. Rendimiento, tamaño y calidad de frutos _____	44
Capítulo III. Discusión _____	46
1. Discusión _____	47
1.1. Trabajo de laboratorio _____	47
1.2. Trabajo de campo _____	48
Capítulo IV. Conclusiones generales y perspectivas futuras _____	52
1. Conclusiones _____	53
2. Perspectivas futuras _____	53
Bibliografía _____	55
Anexo _____	66

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. NÚMERO DE TRIPS PROMEDIO CADA TRES FLORES MUESTREADAS EN CADA TRATAMIENTO DURANTE EL PERÍODO COMPRENDIDO ENTRE EL 25/11/2019 Y EL 27/3/2020.....	39
TABLA 2. NÚMERO DE TRIPS PROMEDIO DE TRES FLORES POR PLANTA MUESTREADAS EN LAS DISTINTAS FECHAS DE MUESTREO DISCRIMINANDO LOS TRATAMIENTOS APLICADOS AL CULTIVO DE PIMIENTO.....	39
TABLA 3. NÚMERO, TAMAÑO Y PESO DE FRUTOS COSECHADOS EN LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS APLICADOS AL CULTIVO DE PIMIENTO BAJO CUBIERTA.....	45
TABLA 4. PORCENTAJE DE FRUTOS AFECTADOS CON PESTE NEGRA Y PODREDUMBRE APICAL EN LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS APLICADOS AL CULTIVO DE PIMIENTO BAJO CUBIERTA.	45

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. CICLO DE VIDA DE THYSANOPTERA.....	10
FIGURA 2. SINTOMATOLOGÍA DE PESTE NEGRA (A) EN HOJAS Y (B) EN FRUTOS.	12
FIGURA 3. (A) <i>ORIOUS INSIDIOSUS</i> Y (B) <i>NEOSEIULUS (AMBLYSEIUS) CUCUMERIS</i> DEPREDANDO NINFAS DE TRIPS.	14
FIGURA 4. DESARROLLO DE UNA MICOSIS EN EL INSECTO HOSPEDADOR.	16
FIGURA 5. <i>BEAUVERIA BASSIANA</i> (A) AGRUPACIONES DE CONIDIOS FORMANDO LAS ESFERAS TÍPICAS. (B-D) CÉLULAS CONIDIÓGENAS CON BASES HINCHADAS Y RAQUIS DENTICULADOS QUE SE EXTIENDEN APICALMENTE CON UN CONIDIO FORMANDO SUCESIVAMENTE EN CADA DENTÍCULO.	18
FIGURA 6. CRÍA DE TRIPS EN LABORATORIO. (A) RECOLECCIÓN DE TRIPS A PARTIR DE FLORES FRESCAS PROVENIENTES DE UN CULTIVO DE CAMPO. (B) RECIPIENTES DE CRÍA. (C) CÁMARA DE CRÍA CON CONDICIONES DE TEMPERATURA, HUMEDAD Y FOTOPERIODO CONTROLADAS.	24
FIGURA 7. ENSAYO DE PATOGENICIDAD. (A) MATERIALES UTILIZADOS PARA PREPARAR LA SUSPENSIÓN DE CONIDIOS. (B) <i>B. BASSIANA</i> EN AEM2%. (C) RECIPIENTE ACONDICIONADO PARA LA INOCULACIÓN Y MANTENIMIENTO DE 30 ADULTOS DE <i>F. OCCIDENTALIS</i> . (D) MANTENIMIENTO DE INSECTOS TRATADOS Y CONTROLES BAJO CONDICIONES CONTROLADAS DE TEMPERATURA Y FOTOPERIODO.	25
FIGURA 8. MAPA DE LA LOCALIDAD DE FLORENCIO VARELA Y LOS PARTIDOS ALEDAÑOS.....	26
FIGURA 9. INSTALACIÓN DEL ENSAYO. (A) COLOCACIÓN DEL PLÁSTICO BLANCO EN LOS ENTRESURCOS. (B) IDENTIFICACIÓN DE LOS SECTORES CORRESPONDIENTES A LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS A APLICAR. (C) TRASPLANTE DE PLANTINES DE PIMIENTO EN ESTADO DE CUATRO HOJAS VERDADERAS.	28
FIGURA 10. DISTRIBUCIÓN AL AZAR DE LAS CUATRO REPETICIONES CORRESPONDIENTES A LOS TRATAMIENTOS APLICADOS AL CULTIVO DE PIMIENTO BAJO CUBIERTA. T: TESTIGO, TC: TESTIGO CON COBERTURA DE ENTRESURCOS. B: <i>B. BASSIANA</i> . BC: <i>B. BASSIANA</i> CON COBERTURA DE ENTRESURCOS.	29
FIGURA 11. MONITOREO Y EVALUACIONES. (A) MONITOREO SOBRE TRES PLANTAS DE CADA REPLICA (B) MONITOREO DE PLANTA ENTERA EN PREFLORACIÓN (C) MONITOREO DE TRES FLORES ABIERTAS POR PLANTA EN ANTESIS (D) MONITOREO DE ENEMIGOS NATURALES (E) MONITOREO DE LA TOTALIDAD DE LAS PLANTAS DEL ENSAYO PARA DETECTAR VISUALMENTE SÍNTOMAS DE VIROSIS.	30
FIGURA 12. PREPARACIÓN DEL INÓCULO: (A) DESARROLLO DE LA CEPA FÚNGICA (B) RASPADO DE MICELIO ESPORULADO CON LA UTILIZACIÓN DE UNA ESPÁTULA METÁLICA (C) FILTRADO DE LA SUSPENSIÓN DE ESPORAS PARA ELIMINAR RESTOS DE MICELIO. (D) REALIZACIÓN DE DILUCIONES SERIADAS 1/10. (E) COLOCACIÓN DE LA SUSPENSIÓN EN CÁMARA DE NEUBAUER PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CONIDIOS.....	31

FIGURA 13. APLICACIÓN: (A) APLICACIÓN CON PULVERIZADOR A PRESIÓN. (B) PLANTA DE PIMIENTO LUEGO DE LA APLICACIÓN.....	32
FIGURA 14. RENDIMIENTO, TAMAÑO Y CALIDAD DE FRUTOS: (A) COSECHA. (B) CLASIFICACIÓN DE LOS FRUTOS.....	33
FIGURA 15. CARACTERES MORFOLÓGICOS DIAGNÓSTICOS DE LA ESPECIE <i>FRANKLINIELLA OCCIDENTALIS</i> . (A) EJEMPLAR ADULTO DE <i>F. OCCIDENTALIS</i> . (B) LA SETA POST-OCULAR MAYOR ES MÁS DE LA MITAD DE LA LONGITUD DE LA SETA OCELAR, Y GENERALMENTE SE EXTIENDE CLARAMENTE HACIA EL EXTERIOR DE LA CABEZA. (C) LAS SETAS SENSORIALES EN LOS ANTENITOS DEL FLAGELO SON BIFURCADAS. (D) PRESENCIA DE DOS PEQUEÑAS SETAS ENTRE LAS SETAS POSTERO-MARGINALES DEL PRONOTO. (E) EL PEINE POSTERO-MARGINAL DE MICROTRIQUIAS DEL TERGITO VIII ES COMPLETO MEDIALMENTE Y LAS MICROTRIQUIAS SON LARGAS E IRREGULARES, CON SUS BASES AMPLIAMENTE TRIANGULARES.....	36
FIGURA 16. CURVAS DE SUPERVIVENCIA DE <i>FRANKLINIELLA OCCIDENTALIS</i> LUEGO DE LA INOCULACIÓN CON DOS CEPAS DE <i>BEAUVERIA BASSIANA</i> (BBCEP147 Y BBCEP189). EL TIEMPO DE SOBREVIVENCIA ESTÁ EXPRESADO EN DÍAS.	37
FIGURA 17. GRÁFICO DE CAJAS Y BIGOTES MOSTRANDO LA MEDIA \pm ES DE LA CANTIDAD TOTAL DE TRIPS (NINFAS + ADULTOS) CADA TRES FLORES POR PLANTA EN CADA TRATAMIENTO A LO LARGO DE TODAS LAS FECHAS DE MUESTREO.....	41
FIGURA 18. ADULTO DE <i>F. OCCIDENTALIS</i> MOSTRANDO EL DESARROLLO EXTERNO DE MICELIO DE <i>B. BASSIANA</i> CEP147.....	41
FIGURA 19. GRÁFICO DE CAJAS Y BIGOTES MOSTRANDO LA MEDIA \pm ES DE LA CANTIDAD DE TRIPS Y DEL DEPREDADOR <i>EUSEIUS FRUCTICOLUS</i> A LO LARGO DE TODAS LAS FECHAS DE MUESTREO, SIN DISCRIMINAR ENTRE TRATAMIENTOS. CANTIDAD TOTAL DE TRIPS POR FECHA DE MUESTREO DIVIDIDO 16 (4 RÉPLICAS \times 4 TRATAMIENTOS: 4T, 4TC, 4B, 4BC).....	43
FIGURA 20. GRÁFICO DE DISPERSIÓN DE PUNTOS MOSTRANDO LA CANTIDAD PROMEDIO DE TRIPS POR PLANTA CADA TRES FLORES POR FECHA DE MUESTREO JUNTO A LOS VALORES PROMEDIO DE TEMPERATURA ($^{\circ}$ C) Y HUMEDAD RELATIVA (%).	44

ABREVIATURAS

BB	<i>Beauveria bassiana</i>
CCE	Combinación con Cobertura de Entresurcos
CEP	Cepa
CHGBA	Cinturón Hortícola del Gran Buenos Aires
MCBA	Mercado Central de Buenos Aires
CHP	Cinturón Hortícola Platense
CHFBA	Censo Horti-florícola de Buenos Aires
ha	Hectárea
MIP	Manejo Integrado de Plagas
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
NOA	Noroeste Argentino
Tn	Tonelada
TSWV	Virus del bronceado del tomate
PVY	Virus Y de la papa
TCSV	Tomato Chlorotic Spot Virus
GRSV	Groundnut Ring Spot Virus
CIDEFI	Centro de Investigaciones de Fitopatología
UNLP	Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales
CEPAVE	Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores
CONICET	Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas
TMS	Tiempo Medio de Supervivencia
UDE	Umbral de Daño Económico
ANOVA	Análisis de la varianza
MLG	Modelos lineales generalizados
LSD	Diferencias mínimas significativas

RESUMEN

El uso excesivo de fitosanitarios químicos para control de trips y del virus del bronceado del tomate (TSWV), no solo resulta nocivo para la salud humana, el ambiente y la biodiversidad, sino que al generar resistencia por parte de las plagas se vuelve ineficiente. En consecuencia, para lograr una producción sustentable y libre de residuos químicos, se deben explorar alternativas de control. Este trabajo plantea utilizar al hongo *Beauveria bassiana* (BB) en combinación con cobertura de entresurcos (CES) para disminuir la población de trips y la incidencia de TSWV. Para tal fin se realizó un ensayo en pimiento dulce de invernadero ubicado en Florencio Varela. El diseño experimental constó de cuatro tratamientos distribuidos al azar con cuatro repeticiones de 66 plantas cada una. Los tratamientos se identificaron como: T (sin inoculación de BB y sin CES), TC (con CES), B (con inoculación de BB) y BC (con inoculación de BB y CES). Se utilizó la cepa *B. bassiana* CEP147, por resultar efectiva en ensayos previos de laboratorio. Luego de detectar un trips por flor se realizaron cinco aplicaciones por pulverización foliar con un intervalo semanal. El ensayo duró cuatro meses, tiempo en el que se registró semanalmente la cantidad de trips en las tres plantas centrales de cada repetición, la presencia de enemigos naturales y TSWV y el rendimiento del cultivo, registrando cantidad de frutos, peso, largo, ancho y sanidad de los mismos. Los resultados arrojaron diferencias significativas entre los tratamientos, registrándose la menor cantidad de ninfas en el tratamiento B y de adultos en el tratamiento BC. Luego de la última aplicación la población de trips se mantuvo en niveles medios de abundancia, la incidencia de TSWV fue muy escasa y se incrementó la presencia del ácaro depredador *Euseius fructicolus*, que pudo haber contribuido al control de la plaga. Los frutos presentaron diferencias significativas, obteniéndose los más largos y más pesados en el tratamiento BC. Los resultados demostraron que es posible la producción sustentable de pimiento combinando simplemente el control biológico y el cultural, sin la aplicación de plaguicidas químicos.

ABSTRACT

The excessive use of chemical phytosanitary products to control thrips and the tomato spotted wilt virus (TSWV) is not only harmful to human health, the environment, and biodiversity, but also the resistance these generate in insects turns them inefficient in the long run. Consequently, to achieve sustainable and residue-free production, control alternatives must be explored. This work proposes the use of the fungus *Beauveria bassiana* (BB) in combination with interrow cover (IC) to reduce the population of thrips and the incidence of TSWV on sweet bell pepper cultures. For this purpose, a trial was carried out on a sweet bell pepper greenhouse located in Florencio Varela, consisting of four random distributed treatments with four repetitions of 66 plants each. The treatments assayed were: T (without BB inoculation and without IC), TC (with IC), B (inoculated with BB) and BC (inoculated with BB and IC). The *B. bassiana* CEP147 strain was used, based on its effectiveness from previous laboratory tests. After detecting one thrip per flower, five foliar spray applications were made with a weekly interval. The trial lasted four months, during this time the number of thrips in the three central plants of each repetition, the presence of natural enemies and TSWV, the number of fruits and their weight, length, width and health were monitored weekly. The results showed significant differences between treatments, registering the least number of nymphs in treatment B, and adults in treatment BC. After the last application, the thrips population remained at medium levels of abundance, the incidence of TSWV was very low, and the presence of the predatory mite *Euseius fructicolus* increased, which may have contributed to pest control. The fruits showed significant differences in their quality parameters, producing the longest and heaviest in the BC treatment. The results showed that sustainable pepper production is made possible by combining biological and cultural control, without the application of chemical pesticides.

Introducción general

1. Introducción general

La horticultura es una actividad que se realiza en casi todo el territorio argentino debido a la diversidad de climas que posee. Sin embargo, la producción comercial que abastece a los principales centros urbanos se localiza en determinadas regiones, algunas especializadas y otras llamadas cinturones verdes que rodean a las grandes ciudades. Las provincias de Buenos Aires, Mendoza y Córdoba concentran la mitad del total del volumen hortícola fresco producido en el país, seguidas en orden de importancia por Corrientes, Salta y Santiago del Estero. Dentro de los cinturones hortícolas, el del partido de La Plata (CHP), es el que mayor representación tiene en el país. El mismo forma parte del Cinturón Hortícola del Gran Buenos Aires (CHGBA), el cual comprende además los partidos de Florencio Varela, Berazategui, Almirante Brown, Esteban Echeverría, La Matanza, Merlo, Moreno, Cañuelas, General Rodríguez, Luján, Marcos Paz, Pilar y Escobar. El CHGBA concentra alrededor de 15.000 ha destinadas a la producción de hortalizas (Lozano 2018) registrándose durante el año 2021 el ingreso de 879.812 Tn al Mercado Central de Buenos Aires (MCBA) (Pineda 2022).

El CHP, que abarca unas 7.000 ha, se caracteriza por la gran diversificación de cultivos y variedades, cuyo destino principal es la comercialización en fresco hacia el mercado interno. Los principales productos que se obtienen en la zona son: alcaucil (*Cynara scolymus* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), pimiento dulce (*Capsicum annuum* L.), apio (*Apium graveolens* L.), lechuga (*Lactuca sativa* L.) y otras verduras de hoja (CHFBA 2005). El mismo concentra una de las mayores áreas de superficie cubierta por invernaderos, la que se estimó en 2016 mediante el uso de imágenes satelitales y la tecnología proporcionada por los Sistemas de Información Geográfica, en 5.462 ha, considerando también los partidos de Florencio Varela (401.9 ha) y Berazategui (418.21 ha) (Miranda 2018).

Uno de los cultivos más importantes que se realiza bajo cubierta es el pimiento dulce. En la Argentina se estiman unas 1.700 ha de producción de pimiento bajo invernadero, de las cuales 658 se encuentran en la provincia de Corrientes, 550 en Salta y Jujuy y 322 en Buenos Aires. Con respecto a la comercialización, la producción ingresada al MCBA, en el trienio 2014-2016, provino en un 37,2% de Salta, en un 27,9% de Corrientes y en un 26,7% de Buenos Aires (Molina 2017).

Entre los factores bióticos que afectan la producción y calidad del pimiento se encuentran los insectos plaga, dentro de los cuales los “trips” (Insecta: Thysanoptera)

revisten la mayor importancia económica asociada a los daños tanto directos como indirectos que causan a través de su alimentación y de su rol como vectores de virus (Quiroz et al. 2001). *Frankliniella occidentalis* (Pergande) es la especie de trips de mayor importancia, principalmente por su distribución cosmopolita y por su eficiencia para la transmisión de la mayoría de los tospovirus en casi todos los lugares testeados (Riley et al. 2011).

En las últimas campañas agrícolas de la década del '90 se comenzaron a registrar pérdidas en la producción de pimientos provenientes de cultivos bajo cubierta atribuidas a *F. occidentalis*, diagnosticándose en coincidencia con la presencia del vector, el virus de la “**peste negra**”, *Tomato spotted wilt virus* (TSWV). La relación entre el TSWV y *F. occidentalis* fue verificada en todo el mundo, considerándose a esta especie como una de las más eficientes en su transmisión (Carrizo 1998). Desde que la enfermedad fuera registrada en la Argentina, en el año 1995 (Dal Bó et al. 1995) junto con el primer registro de *F. occidentalis* (De Santis 1995), las pérdidas económicas han sido considerables, no solo en el cultivo de pimiento, sino también en tomate, lechuga, alcaucil, apio y diferentes especies ornamentales (Dal Bó 2011).

En la actualidad, los productores se valen de un conjunto de herramientas destinadas al control de plagas de cultivos bajo cubierta, entre ellas se destacan el uso de variedades de plantas resistentes y la implementación de medidas culturales, como el control de la vegetación espontánea, la colocación de mallas para evitar el ingreso de las plagas a los invernaderos y el uso de mantillos o coberturas plásticas del suelo que además de conservar la humedad, inhiben el desarrollo de malas hierbas y previenen o desvían la penetración de los insectos en el suelo y en las plantas (Díaz-Pérez 2010). Sin embargo, en el caso de los trips el control está basado fundamentalmente en el “enfoque terapéutico”, entendido como un tipo de control químico con aplicaciones sistemáticas de insecticidas sin tener en cuenta el monitoreo previo (Polack y Mitidieri 2005; Carrizo y Amela García 2017). La utilización excesiva de productos químicos fitosanitarios presenta desventajas que no sólo se limitan al mayor costo económico y ambiental, sino que también aumentan la incidencia de las plagas. Otra de las desventajas es la eliminación de enemigos naturales, por lo que los ataques de plagas se vuelven cada vez más severos y, surgen como problemas, plagas que hasta el momento se encontraban por debajo del nivel de daño económico (Polack 2008).

Para lograr entonces una producción sustentable se deben implementar estrategias que preserven la biodiversidad como así también la salud de los trabajadores rurales, sus

familias y la comunidad en general. Es por eso que se recurre a un Manejo Integrado de Plagas (MIP) que consiste en la cuidadosa consideración de todas las técnicas disponibles para combatir las plagas y la posterior integración de medidas apropiadas que disminuyan el desarrollo de sus poblaciones. El MIP combina estrategias y prácticas específicas de gestión biológica, cultural (física y mecánica), química y agrícola para producir cultivos sanos y minimizar la utilización de plaguicidas, mitigando o reduciendo al mínimo los riesgos que plantean estos productos para la salud humana y el medio ambiente (FAO 2022). Asimismo, se basa en el monitoreo como herramienta fundamental para estimar el estado sanitario del cultivo, conocer los niveles de densidad de las plagas y tomar decisiones en cuanto a la elección de estrategias de manejo (Polack y Mitidieri 2012).

Dentro de las estrategias específicas de control biológico, los hongos entomopatógenos poseen un gran potencial como biocontroladores, ya que tienen una capacidad de reproducción extremadamente alta, un tiempo de generación muy corto, y en ocasiones son muy específicos en su accionar, parasitando únicamente al hospedador con el cual han co-evolucionado. Además, poseen fases saprofitas en las cuales pueden sobrevivir sin el hospedador y permanecer en el medio hasta que éste vuelva a aparecer (Kendrik 2000). Su utilización no permite el desarrollo de resistencia por parte de los organismos blanco y su aplicación suele ser compatible con otros agentes de control biológico, algunos fungicidas y muchos otros tipos de pesticidas (Goettel et al. 1990; Goettel y Hajek 2001; Vestergaard et al. 2003; Wraight et al. 2007). De manera similar, las prácticas culturales como el control físico y mecánico tienen las ventajas de no poseer consecuencias ambientales negativas y de no dejar residuos en los productos agrícolas. Además, no están sujetas a aranceles de importación, regulaciones de cuarentena, legislaciones de seguridad alimentaria o actitudes negativas por parte de los consumidores, e incluso pueden mejorar la eficacia de los métodos de control biológico y de polinización (Weintraub y Berlingerl 2004).

Debido a lo expuesto, y dado que las prácticas actuales de manejo de *F. occidentalis* en pimiento (control químico con aplicaciones sistemáticas de insecticidas sin tener en cuenta el monitoreo previo) resultan insostenibles tanto desde el punto de vista económico como ambiental (Mound 2013), el presente trabajo plantea el manejo de esta especie a través de la utilización del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Vals. - Criv.) Vuill. (Hypocreales: Cordycipitaceae) como una técnica de control biológico inundativo, usado solo y en combinación con una técnica de control mecánico de cobertura de suelo, utilizando el monitoreo como herramienta de evaluación.

1.1. El cultivo de pimiento

1.1.1. Origen y situación botánica

El pimiento ha sido cultivado en Centro y Sudamérica mucho antes de la llegada de Cristóbal Colón, específicamente en Perú y Bolivia (Nuez et al. 1996). Perteneció a la familia de las solanáceas, Tribu Solaneae, la cual posee alrededor de 1.250 especies reunidas en 18 géneros (Hunziker 1979). Dentro del género, se encuentran cinco especies domesticadas, siendo la más cultivada el pimiento dulce, *Capsicum annuum* L., denominado vulgarmente morrón, ají o chile (Nuez et al. 1996).

1.1.2. Estadísticas

Durante el año 2021 han ingresado al MCBA un total de 27.405 Tn de pimiento, siendo las provincias de Salta (12.282 Tn), Corrientes (7.538 Tn) y Buenos Aires (6.009 Tn) las productoras del 94 % del total de pimiento ofertado (Pineda 2022).

1.1.3. Morfología

El pimiento es una planta herbácea que se cultiva en forma anual en zonas templadas, aunque puede presentarse como perenne en áreas tropicales. Su aspecto es lampiño, de tallos erguidos y de crecimiento limitado, con altura y forma de desarrollo muy variables en función del cultivar y de las condiciones del cultivo. Las hojas enteras o bien con un largo pecíolo o casi sésiles, tienen una forma entre lanceolada y ovoida, con el borde entero o muy ligeramente sinuado en la base. Las flores suelen ser solitarias en cada nudo, con el pedúnculo inclinado hacia abajo en la antesis. El cáliz, de una sola pieza, está formado por sépalos verdes que persisten y se endurecen hasta madurar el fruto. La corola es usualmente blanca lechosa, con la base de los pétalos formando un tubo muy corto. El fruto es una baya cartilaginosa hueca, con la superficie lisa y brillante, de color y forma variable y característico del cultivar. En el interior de la baya discurren 2 o 4 tabiques incompletos a lo largo de la pared del fruto, uniéndose sólo en la base sobre la placenta. En esta región se insertan las semillas, aplastadas, normalmente de 4 a 5 mm de diámetro, de color blanco amarillento (Nuez et al. 1996). Dentro de las variedades dulces de *C. annuum* se pueden diferenciar tres tipos de frutos según su forma: el “Blocky” (cuya sección longitudinal es cuadrangular y su largo es aproximadamente igual

al ancho), “Lamuyo” (sección longitudinal rectangular y largo mayor que ancho) e “Italiano” (sección longitudinal triangular, frutos alargados, estrechos y acabados en punta) (Pilatti y Favaro 1995). A diferencia de lo que ocurre a nivel mundial, donde el pimiento más utilizado es el “Blocky”, cuyas formas regulares permiten una estandarización de la producción y de su manipulación (García y Mierez 2006), en nuestro país en las principales regiones de producción de pimiento, el tipo más difundido para destino fresco es el “Lamuyo”. La difusión de cada uno de ellos, está relacionada a la preferencia según gusto y costumbre de cada consumidor, su mayor rendimiento y su mejor adaptación a la producción y comercialización de cada sitio en particular.

1.1.4. Eco fisiología

El desarrollo óptimo del cultivo de pimiento requiere temperaturas diurnas entre 20 y 25 °C y nocturnas entre 16 y 18 °C. El cero fisiológico es de 10 °C y por debajo de 15 °C su crecimiento se ve afectado (Pilatti y Favaro 1995). Es una planta muy exigente en luminosidad, sobre todo en los primeros estados de reproducción (Prieto et al. 2003).

Prefiere terrenos profundos, ricos en materia orgánica, sueltos, bien aireados y permeables, donde no exista la posibilidad de estancamiento de agua. Es menos tolerante a la salinidad que el tomate y no es sensible a la acidez, adaptándose bien a un rango de pH entre 5,5 y 7,0 (Vilmorín Díaz 1977).

1.1.5. Manejo del cultivo

Actualmente, el pimiento dulce para consumo en fresco, se inicia en invernadero por almácigo y trasplante, principalmente por el costo de la semilla y la alta tecnología utilizada en las zonas de producción, y para lograr cosechas más tempranas que permitan amortizar el costo del invernadero y del cultivo. En la Argentina, la producción de plantines se realiza en plantineras comerciales especializadas en la producción de solanáceas. Para su implantación en invernaderos, en la zona de La Plata y alrededores, se realizan lomos altos y anchos por la alta susceptibilidad de las cultivares existentes a los marchitamientos provocados por enfermedades, y además se aplican tratamientos al suelo para controlar enfermedades y nematodos. El riego se realiza por goteo, y se usa *mulching* plástico para cubrir los lomos. Si las plantaciones son muy tempranas, aún

dentro de invernaderos, se realizan protecciones adicionales de tipo túneles temporarios para prevenir bajas temperaturas que detengan el crecimiento (del Pino 2020).

El trasplante se realiza cuando las plantas tienen cuatro hojas verdaderas y existe una correcta relación entre la parte aérea y la radicular. Esto es importante porque es preciso generar una buena cantidad de raíces ya que, de no ser así, en los períodos de mayor necesidad de absorción de agua se producirían desequilibrios que conducirían a la caída de flores y frutos o quemado de frutos (Balcaza 2006). Luego del trasplante pasan unos días hasta que la planta retoma el crecimiento hasta formar 8 a 12 hojas, y dependiendo de las características genéticas del material utilizado, se inicia la floración. Con la primera flor ocurre la bifurcación del tallo principal, originándose lo que se denomina horqueta o cruz y se inicia la labor cultural denominada conducción o tutorado, con la poda de formación. Es importante que durante la antesis floral la planta reciba su temperatura óptima. Tanto la floración como la fructificación son independientes del fotoperiodo (Pilatti y Favaro 1995). La conducción suele ser a tres o cuatro guías. Se realiza con hilo de polipropileno liso que se ata en la base de la planta y se enrolla a lo largo de la guía hasta un alambre superior que se ubica a lo largo de la hilera de plantas de un extremo al otro del invernáculo. Luego, la poda se realiza eliminando las ramas o brotes internos y priorizando los externos. También se realizan labores de desbrote basal, deshoje, raleo de flores, raleo de frutos pequeños, raleo de frutos medianos (con imperfecciones), y también se puede realizar una poda de rejuvenecimiento (Nuez et al. 1996). El cultivo es sensible al frío, requiriendo para su desarrollo temperaturas medias de 18 a 22 °C. Valores por debajo de 15 °C o por encima de 35 °C producen caída de las flores e impiden la formación de frutos (<https://www.sinavimo.gob.ar/cultivo/capsicum-annuum>). Por tal motivo, en la zona del CHP suele sembrarse en almácigos entre los meses de mayo y junio, para trasplantarse en julio y realizar las primeras cosechas de frutos maduros en diciembre.

1.1.6. Adversidades

Dentro de las adversidades abióticas y bióticas que presenta el cultivo de pimiento podemos mencionar las enfermedades y las plagas. Entre las enfermedades de origen abiótico (denominadas fisiogénicas) se destacan la podredumbre apical y el golpe de sol, mientras que entre las de origen biótico podemos destacar y diferenciar a: **1. Las bacterianas** como la podredumbre blanda de los frutos producida por *Erwinia caratovora*

pv. caratovora, la marchitez bacteriana ocasionada por *Pseudomonas solanacearum* y la mancha bacteriana, cuyo agente etiológico es *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria*. **2. Las fúngicas** entre las que se pueden mencionar la fusariosis ocasionada por distintas especies de *Fusarium*, la antracnosis producida por distintas especies de *Colletotrichum* y la podredumbre gris y la cercosporiosis ocasionadas por *Botrytis cinerea* y *Cercospora capsici*, respectivamente. **3. Las virales** donde el virus del bronceado del tomate (TSWV) y el virus Y de la papa (PVY) resultan los agentes etiológicos que mayores daños producen.

En cuanto a las plagas, podemos citar una gran variedad de insectos como los trips *Frankliniella occidentalis* (Pergande), *Frankliniella schultzei* (Trybom) y *Thrips tabaci* (Lindemann) (Thysanoptera), las moscas blancas *Bemisia tabaci* (Gennadius) y *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Aleyrodidae), los pulgones *Aphis gossypii* (Glover) y *Myzus persicae* (Sulzer) (Aphididae), los ácaros *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Tarsonemidae) y *Tetranychus urticae* (Koch) (Tetranychidae), los dípteros minadores como *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Agromyzidae) y los nematodos de los géneros *Meloidogyne* (Meloidogynidae) y *Nacobbus* (Pratylenchidae). En los últimos años en la zona de La Plata y alrededores tanto los trips como la peste negra (TSWV) transmitida por ellos, son considerados los mayores limitantes del cultivo (Nuez et al. 1996; Cáceres et al. 2011; Polack y Mitidieri 2012; Peruzzi et al. 2012; del Pino 2020).

1.2. Los trips

1.2.1. Importancia económica y distribución geográfica

Los trips son insectos pequeños (1-3 mm) pertenecientes al Orden Thysanoptera, caracterizados por la presencia de alas angostas con venación reducida y márgenes provistos de largas setas, por la reducción de las uñas en los adultos, la presencia de pretarsos con vesículas eversibles y la conformación del aparato bucal, el cual presenta como estiletes perforadores las dos lacinias maxilares y la mandíbula izquierda (Grimaldi y Engel 2005). Son gregarios y generalmente fitófagos. Atacan cultivos de interés para el hombre y algunas especies son portadoras de diversos virus. De las 14 especies reportadas como vectores de fitopatógenos, en la Argentina solo se han registrado *F. occidentalis*, *F. schultzei*, *F. gemina* (Bagnall) y *T. tabaci* (De Borbón et al. 2006). La primera de ellas, con una distribución cosmopolita, es considerada la de mayor importancia económica, debido principalmente a su eficiencia en la transmisión de virosis (Riley et al. 2011). Es

una plaga que predomina en los invernaderos y que ataca flores y cultivos hortícolas durante sus etapas reproductivas (Carrizo y Klasman 2001; Carrizo y Benítez 2002). Para el área hortícola de La Plata, las condiciones térmicas durante la mayor parte del año resultan adecuadas tanto para el desarrollo como para la reproducción de la mayoría de las especies mencionadas (Bergant y Trdan 2006).

1.2.2. *Frankliniella occidentalis*

F. occidentalis, posee un tamaño de aproximadamente 0,9 a 1,2 mm de longitud, para machos y hembras, respectivamente. Los machos son de coloración amarillo pálido mientras que las hembras presentan distinta coloración según la estación, siendo las formas claras dominantes durante la estación estival. Además, se ha visto que *F. occidentalis* exhibe polimorfismo local, pudiendo coexistir diversos morfos de color y tamaño en una misma localidad (De Santis 1995; González 1999; Cloyd 2009). Tanto ninfas como adultos presentan un aparato bucal picador succionador, con el cual ocasionan daños en la epidermis de los vegetales.

La reproducción puede ser sexual o asexual y la cantidad de huevos por hembra varía de acuerdo con la temperatura y la disponibilidad de polen en el cultivo (Saini y Alvarado 2000). La duración del ciclo en invernadero es muy corta, de tan solo 14 días a 26 °C (Lacasa 1990). Los huevos son reniformes, de color blanco hialino y de unas 200 micras de longitud, encontrándose insertos dentro de los tejidos vegetales. A partir de los huevos emergen las ninfas de primer estadio, translúcidas y de ojos rojos, transformándose posteriormente en ninfas de segundo estadio, de color amarillo y abdomen engrosado. Después de completar esa fase, la ninfa de segundo estadio deja de alimentarse y cae al suelo para iniciar las últimas dos fases de desarrollo, prepupa y pupa. La prepupa se diferencia de la ninfa de segundo estadio por el desarrollo de los esbozos alares externos, mientras que la pupa se diferencia de la prepupa por un mayor desarrollo de estos esbozos alares y por la disposición hacia atrás de las antenas (Fig. 1) (Gaum et al. 1994; Van Rjin et al. 1995; Mc Donald et al. 1998). No todas las ninfas caen al suelo, un número significativo puede permanecer sobre la planta hospedante, sobre todo si éstas tienen una arquitectura floral compleja (Reitz 2009). Este ciclo de vida particular, compartido con los Aleyrodidae (moscas blancas), se conoce como remetabolía.

Este insecto se encuentra distribuido en todas las zonas productoras, tanto en cultivos a campo como en invernaderos, ya que posee un amplio rango de hospedantes como tomate, pimiento, lechuga, ornamentales y malezas (Saini y Alvarado 2000).

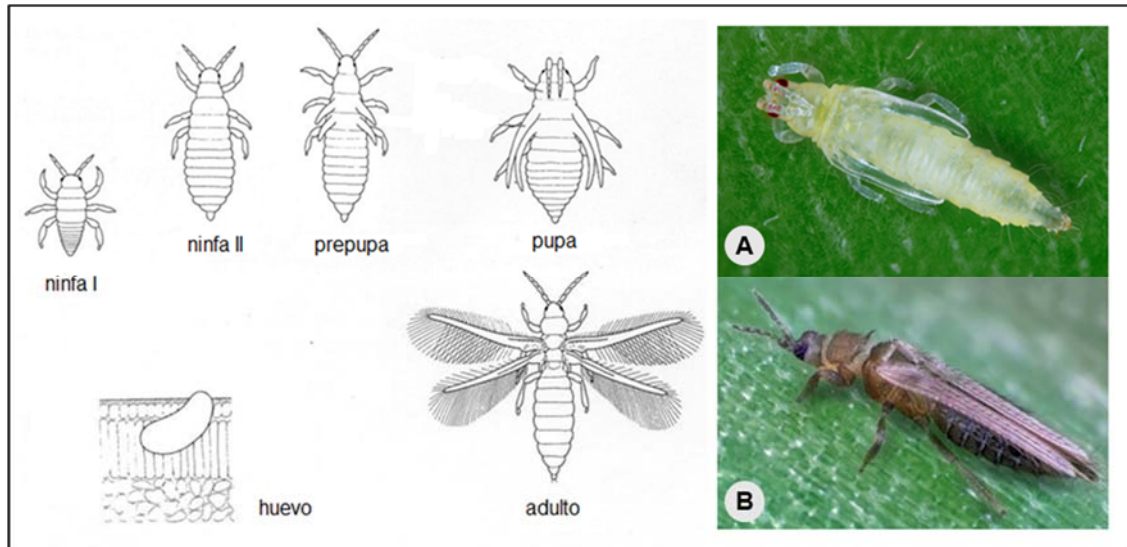


Figura 1. Ciclo de vida de Thysanoptera. (A) Estado de pupa. (B) Adulto.

Fuentes: <https://nzacfactsheets.landcareresearch.co.nz/factsheet/InterestingInsects/Greenhouse-thrips---Heliiothrips-haemorrhoidalis.html>

https://twitter.com/Thrips_iD/status/1206319954808705025/photo/2https://issuu.com/cariendaffue/docs/g_v_mei-jun_2021_finaal/s/12273766

1.2.3. Daños directos e indirectos

Los daños provocados por *F. occidentalis* pueden clasificarse en directos e indirectos. Los directos los producen tanto ninfas como adultos al raspar, picar y succionar el contenido celular de los tejidos. El daño por alimentación se manifiesta como manchas plateadas de bordes irregulares en los frutos y como manchas bronceadas en el envés y amarillamiento en la cara superior de las hojas. Los daños por oviposición provocados por la hembra al incrustar los huevos en tejidos tiernos consisten en abultamientos que se ven como puntuaciones cloróticas en las hojas observadas al trasluz y en los frutos verdes (Cáceres et al. 2011). Los daños indirectos son producidos por los adultos al actuar principalmente como vectores del TSWV (Granval y Gracia 1999).

1.2.4. Peste negra

Entre las enfermedades virales que afectan a las solanáceas y que causan importantes pérdidas económicas se destaca la "**peste negra**", causada por un complejo

de virus pertenecientes al género *Tospovirus*, familia Bunyaviridae. Estos son “Tomato Chlorotic Spot Virus” (TCSV), “Groundnut Ring Spot Virus” (GRSV) y “Tomato Spotted Wilt Virus” (TSWV). Estos virus son transmitidos por trips, los cuales los adquieren a partir de una planta infectada durante los estadios ninfales y los transmiten durante su etapa adulta (Moritz et al. 2004). Entre las 14 especies reportadas como vectores, *F. occidentalis* es considerada la de mayor importancia, principalmente por su distribución cosmopolita y por su eficiencia para la transmisión de la mayoría de los tospovirus en la mayoría de los lugares testeados (Riley et al. 2011).

El TSWV, considerado el miembro más importante y la especie tipo dentro del género, ocasiona una variedad de síntomas en las plantas hospedantes, los que pueden incluir marchitez, manchas de diverso tipo, alteraciones en el crecimiento e incluso la muerte (Carrizo y Amela García 2017) (Fig. 2).

Las altas tasas de infección han llevado a pérdidas económicas considerables en un número creciente de países, por lo que el TSWV se considera uno de los diez virus fitopatógenos más destructivos, pudiendo infectar más de 900 especies de plantas cultivadas y no cultivadas (Tomlinson 1987; Goldbach y Peters 1994; Parrella et al. 2003).

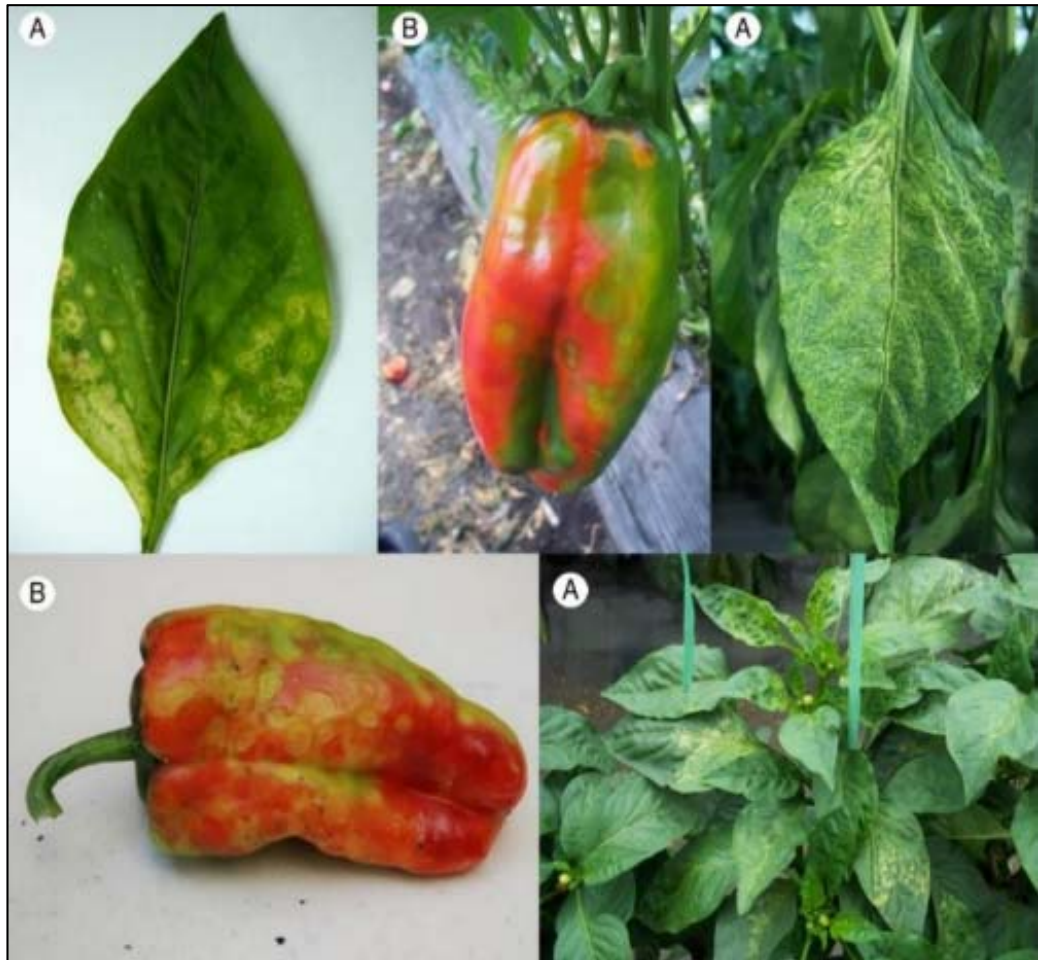


Figura 1. Sintomatología de Peste Negra (A) en hojas y (B) en frutos.

Fuente: https://inta.gob.ar/sites/default/files/enfermedades_virales_en_cinturon_platense_1_ferrand.pdf

1.3. Control biológico de los trips

1.3.1. Generalidades.

El control biológico involucra el uso de poblaciones de enemigos naturales para reducir poblaciones de especies plagas a densidades menores, ya sea de forma temporal o permanente (Van Driesche et al. 2007).

Van den Bosch (1971) se refirió al control biológico como la manipulación de los enemigos naturales por el ser humano para controlar los artrópodos plaga y lo diferenció del control natural que ocurre, según este autor, sin intervención humana.

Dentro del control biológico se distinguen:

- 1- **Control biológico clásico o neoclásico:** importación e introducción de un enemigo natural para controlar una plaga exótica o nativa.

- 2- **Control biológico aumentativo:** cría artificial de un enemigo natural para su liberación en el cultivo de modo inoculativo o inundativo.
- 3- **Control biológico por conservación:** conservación de enemigos naturales por medio de manipulaciones ambientales para proteger y aumentar su abundancia, diversidad y efectividad.

En el marco del control biológico, el complejo de enemigos naturales de una plaga está conformado por depredadores, parasitoides y entomopatógenos (virus, bacterias, protozoos, nematodos y hongos) (De Bach 1964; Van Emden 2003; Kean et al. 2003; Landis et al. 2005; Polack et al. 2020).

1.3.2. Depredadores

Entre los enemigos naturales de los trips se destacan los depredadores. Algunos de ellos son especies generalistas como *Chrysoperla* sp. (Neuroptera: Chrysopidae), *Eriopis connexa* (Germ), *Hippodamia convergens* (Guer), *Adalia bipunctata* L., *Coccinella ancoralis* (Germ) (Coleoptera: Coccinellidae), *Geocoris* sp. y *Nabis* sp. (Hemiptera: Nabidae). Sin embargo, el principal enemigo natural asociado a los trips es *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae). En los cultivos pueden encontrarse también, aunque en menor densidad otras especies de *Orius* como: *O. brevicollis* (Blanchard) y *O. tristicolor* (Buchanan-White) (Funderburk et al. 2000; Funderburk 2009; Lefebvre et al. 2013; Viglianchino 2020).

También, se destacan los ácaros depredadores pertenecientes a la familia Phytoseiidae, principalmente *Amblyseius swirskii* (Athias-Henriot), especie exótica natural de la zona del Mediterráneo ampliamente utilizada como organismo de control biológico de trips en Europa y Estados Unidos y que fue detectada también en la Argentina (Cédola y Polack 2011; Viglianchino 2020). También se mencionan otros géneros como *Euseius* y *Neoseiulus* (Acari: Phytoseiidae) que consumen además de polen, principalmente huevos y los primeros estadios ninfales de la plaga (Allen 2009; Vangansbeke et al. 2017) (Fig. 3).

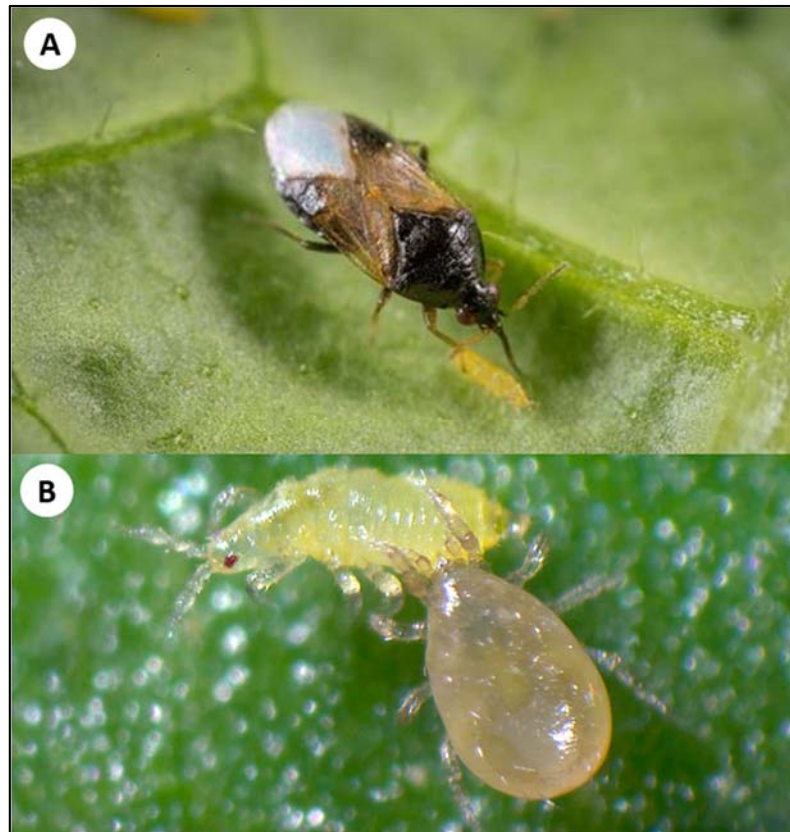


Figura 2. (A) *Orius insidiosus* y (B) *Neoseiulus (Amblyseius) cucumeris* depredando ninfas de trips. Fuentes: <https://inta.gob.ar/documentos/protocolo-y-evaluacion-orius-insidiosus> <https://www.interempresas.net/Horticola/Articulos/372944-llegada-frio-convierte-Neoseiulus-cucumeris-protagonista-control-biologico-trips.html>

1.3.3. Parasitoides

La mayoría de los parasitoides registrados en la bibliografía son himenópteros endoparásitos de estadios ninfales y se encuentran dentro de la familia Eulophidae (géneros *Ceraninus*, *Thripobius*, *Goetheana*, *Entedonastichus* y *Pedobius*) y Tetrastichinae (*Thripastichus*). Unos pocos géneros como por ejemplo *Megaphragma* (Trigchogrammatidae) y *Polynema* (Mymaridae) poseen especies que se comportan como parásitos de huevos (Loomans y Van Lenteren 1995).

1.3.4. Entomopatógenos

Dentro de los entomopatógenos se destacan los hongos, debido a que presentan como ventaja, respecto a los virus, bacterias y protozoos, el hecho de poder infectar al

hospedador a través del tegumento sin la necesidad de ser ingeridos. Esto los posiciona como excelentes candidatos para el control de insectos picadores suctores.

1.3.5. Generalidades de los hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos poseen un gran potencial como agentes de control biológico, ya que tienen una capacidad de reproducción extremadamente alta, un tiempo de generación muy corto, y en ocasiones son muy específicos en su accionar, parasitando únicamente al hospedador con el cual han co-evolucionado. Además, poseen fases saprofitas en las cuales pueden sobrevivir sin el hospedador y permanecer en el medio hasta que este vuelve a aparecer (Kendrik 2000). Su utilización no permite el desarrollo de resistencia por parte de los organismos blanco y su aplicación suele ser compatible con otros agentes de control biológico, algunos fungicidas y muchos otros tipos de pesticidas (Goettel et al. 1990; Goettel y Hajek 2001; Vestergaard et al. 2003; Wraight et al. 2007). A nivel mundial, se han registrado casos en los que ciertos micoplaguicidas actúan como agentes de control biológico clásico, multiplicándose a niveles suficientemente altos para continuar causando mortalidad a niveles significativos por varios años, sin tener que repetir la aplicación. Este es el caso, por ejemplo, de *Beauveria brongniartii* (Saccardo) Petch (Hypocreales: Cordycipitaceae), el cual fue aplicado en pastizales y huertos de Suiza para controlar al escarabajo *Melolontha melolontha* L (Coleoptera: Scarabaeidae) y fue detectado en el suelo 14 años después de la aplicación, lo cual se atribuyó al éxito del producto en el control de la plaga (Zelger 1996; Enkerli et al. 2004). Si bien existen alrededor de 750 especies de hongos patógenos de insectos (Hajek 1997), los Ascomycota del orden Hypocreales, *Beauveria bassiana* (Vals. - Criv.) Vuillemin, *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin, *M. rileyi* (Farl.) Kepler, S.A. Rehner y Humber, *Lecanicillium* spp., *Cordyceps fumosorosea* (Wize) Kepler, B. Shrestha y Spatafora y *C. farinosa* (Holmsk.) Kepler, B. Shrestha y Spatafora, son los que en los últimos 50 años han llamado la atención como agentes microbianos de control de plagas, existiendo más de 170 productos comerciales en base a estas especies alrededor del mundo (Faria y Wraight 2007).

1.3.6. Biología y patogénesis

La primera etapa del ciclo de infección generalizado de un hongo en un insecto hospedador se inicia con la adhesión de los propágulos infectivos (conidios) a la cutícula. Esta adhesión depende de interacciones químicas y físicas entre la superficie del conidio y la capa de cera del tegumento del hospedador (Boucias y Pendland 1983). Luego de la adhesión comienza la germinación de los conidios sobre la superficie cuticular, dónde en algunos casos se produce la formación de apresorios. Luego, el tubo germinativo ejerce presión sobre la cutícula y mediante la liberación de enzimas lipolíticas, proteolíticas y quitinolíticas penetra hacia el interior del hospedador. Una vez que se encuentra dentro del hospedador se produce la multiplicación del patógeno en el hemocele y, en ciertas especies fúngicas, la producción de toxinas u otros metabolitos secundarios con actividad tóxica. Además de la liberación de estas toxinas, una vez dentro del insecto, el entomopatógeno agota sus nutrientes y obstruye los órganos provocándole su muerte. En última instancia, el micelio sale hacia el exterior atravesando el tegumento o en ciertos casos a través de los órganos de los sentidos o de los orificios respiratorios (espiráculos), esporula sobre la superficie del cadáver y finalmente se produce la diseminación de los propágulos infectivos (Alves 1998) (Fig. 4).

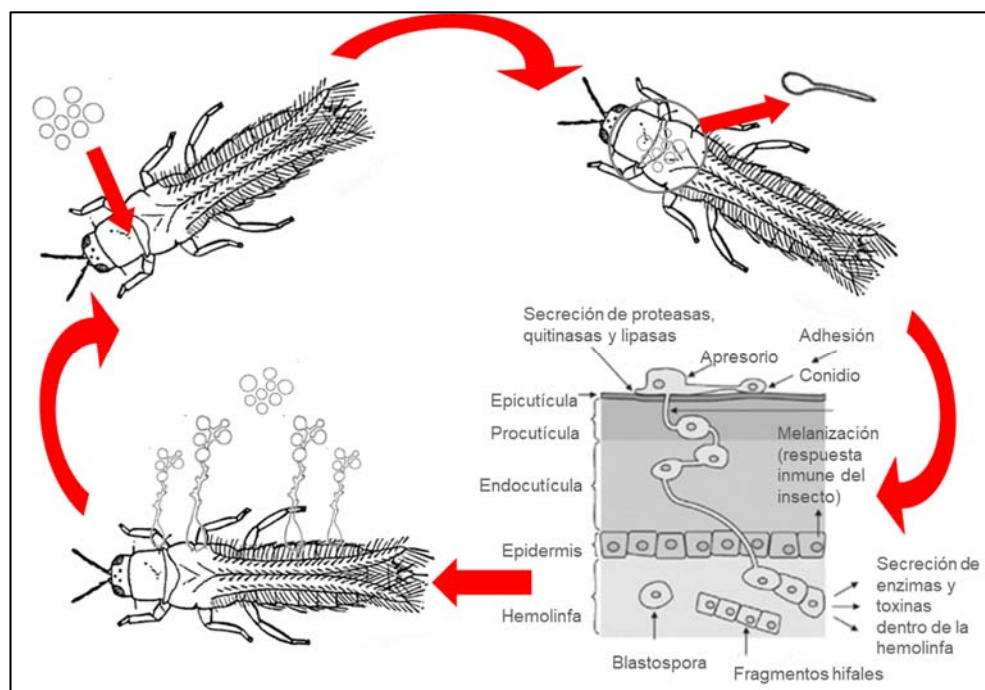


Figura 3. Desarrollo de una micosis en el insecto hospedador. Fuente: La figura fue construida tomando imágenes de: <https://www.pthorticulture.com/en/training-center/critters-down-under-thrips/>, Samuels et al. (2016) y https://www.researchgate.net/figure/Estructuras-morfologicas-principales-del-hongo-Beauveria-bassiana-A-Esporas-esfericas_fig2_333293462

1.3.7. *Beauveria bassiana*

Beauveria bassiana es uno de los hongos entomopatógenos mayormente utilizados para el control de plagas en todo el mundo, debido entre otras características a su amplio rango de hospedadores, fácil multiplicación masiva, aplicación y compatibilidad con ciertos fungicidas sintéticos y enemigos naturales de las plagas (Jacobson et al. 2001; Wraight et al. 2007; Gao et al. 2012; Wu et al. 2014, 2015; Lee et al. 2017). Es un organismo cosmopolita, haploide, mitospórico y saprofitico, que habita diversos ambientes tales como suelo, corteza y follaje de los árboles e incluso puede establecerse como endófito en una amplia variedad de plantas cultivadas actuando como promotor del crecimiento vegetal y confiriendo resistencia a plagas y enfermedades (Vega 2018). Trabajos recientes han demostrado que el establecimiento de *B. bassiana* como endófito en pimiento mejoró varios parámetros de crecimiento de la planta y ejerció un efecto controlador frente al insecto plaga *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) y a la enfermedad fúngica ocasionada por *Botrytis cinerea* Pers. (Helotiales: Sclerotiniaceae) (Jaber y Araj 2018; Allegrucci et al. 2020; Barra-Bucarei et al. 2020).

Actualmente se reconoce que *B. bassiana* forma un complejo de varias especies crípticas que se encuentran filogenéticamente posicionadas en la familia Cordycipitaceae dentro del orden Hypocreales (Rehner y Buckley 2005).

Morfológicamente, la especie se caracteriza por el desarrollo de células conidiógenas cortas y globosas que se disponen en densos grupos y que se extienden apicalmente en un raquis simpodial que da origen a los conidios hialinos. La agrupación de células conidiógenas junto con la elevada producción de conidios de la misma da al hongo un aspecto granulado cuando se desarrolla sobre el insecto hospedador (Humber 2012) (Fig. 5).

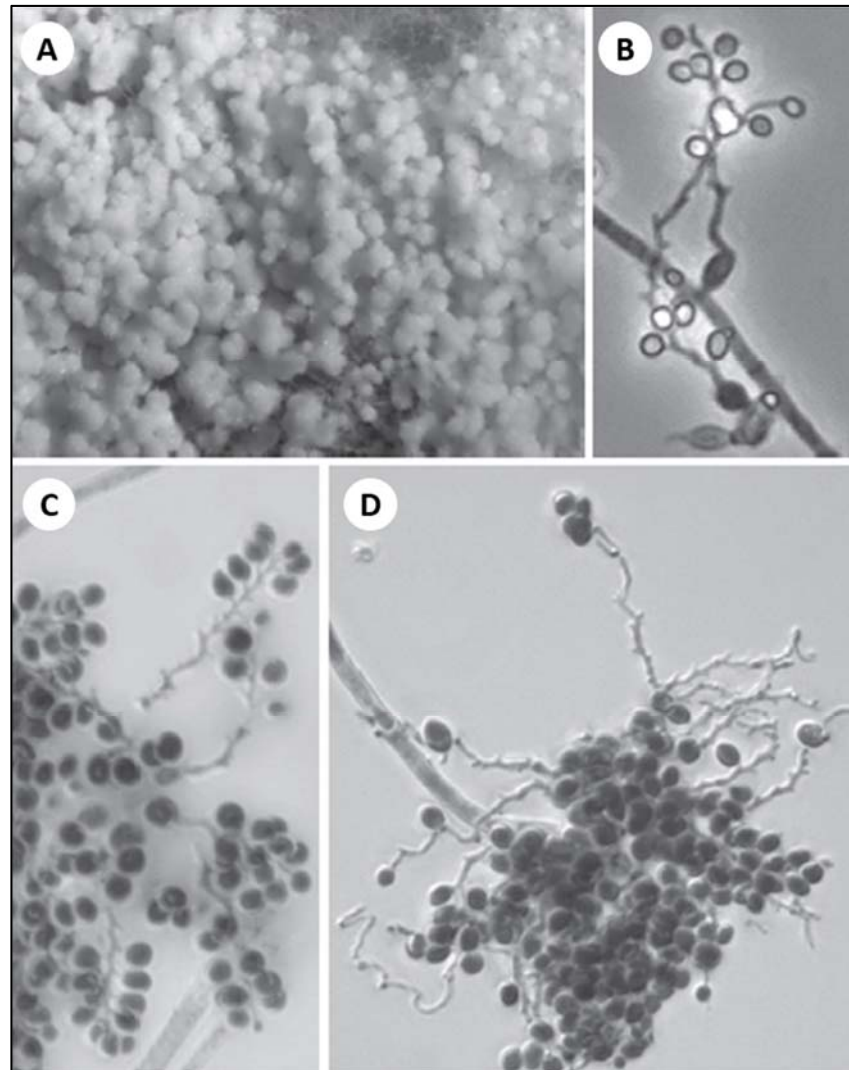


Figura 4. *Beauveria bassiana* (A) Agrupación de conidios formando las esferas típicas. (B-D) Células conidiógenas con bases hinchadas y raquis denticulados que se extienden apicalmente con un conidio formando sucesivamente en cada denticulo. Tomado de Humber (2012).

1.3.8. *Beauveria bassiana* en el control de *Frankliniella occidentalis*

La alta tasa de reproducción, comportamiento críptico, amplio rango de hospedadores, capacidad de transmitir virus fitopatógenos y resistencia a insecticidas químicos convierte a *F. occidentalis* en una plaga particularmente difícil de manejar (Reitz 2009). En tal sentido, si bien los plaguicidas químicos han sido considerados por largo tiempo como la opción más eficaz para el manejo de esta plaga, debido a los problemas de resistencia, disminución de la eficacia y residualidad, hoy en día los productores se ven obligados a explorar nuevas alternativas que complementen o reemplacen al control ejercido por los insecticidas sintéticos. En relación a esto, son

varios los trabajos que hasta la fecha se han centrado en evaluar la virulencia de *B. bassiana* frente a esta plaga, tanto en condiciones experimentales de laboratorio como en los cultivos a campo (Jacobson et al. 2001; Gouli et al. 2008, 2009; Bustillos Pardey et al. 2009; Mukawa et al. 2011; Villalobos Moya et al. 2011; Lee et al. 2017; Zhang et al. 2019; Zhang et al. 2021; Davari et al. 2021). En otros trabajos, los autores se han interesado en evaluar la compatibilidad de *B. bassiana* con algunos de los depredadores más utilizados alrededor del mundo para el control de trips, como *Orius sauteri* (Poppius) (Hemiptera: Anthocoridae) (Gao et al. 2012) y *Neoseiulus barkeri* (Hughes) (Acari: Phytoseiidae) (Wu et al. 2014; Wu et al. 2015), obteniendo resultados alentadores para implementar el uso conjunto de ambos controladores biológicos en un sistema de MIP. Por otro lado, autores como Ludwig y Oetting (2002) evaluaron el uso de atrayentes de insectos en combinación con *B. bassiana* con el objetivo de ver si los primeros potenciaban el accionar del segundo. Los resultados demostraron que *F. occidentalis* es un insecto activo que puede ponerse efectivamente en contacto con los conidios de *B. bassiana* sin la ayuda de los atrayentes.

1.4. El control cultural

Las prácticas culturales involucran los métodos de control físico y mecánico. Sus técnicas resultan ser las más antiguas de todas las aplicadas contra las plagas, con el objetivo de suprimirlas, alterar su comportamiento o modificar el ambiente para disminuir su actividad. Estos métodos tienen las ventajas de no poseer consecuencias ambientales negativas y de no dejar residuos en los productos agrícolas. Además, no están sujetos a aranceles de importación, regulaciones de cuarentena, legislaciones de seguridad alimentaria o actitudes negativas por parte de los consumidores, e incluso pueden mejorar la eficacia de los métodos de control biológico y de polinización. Entre los métodos físicos utilizados por los productores se puede mencionar la colocación de barreras, entre las cuales se destacan **mallas** para evitar el ingreso de las plagas a los invernaderos, **cercas** para evitar el movimiento horizontal de insectos voladores y **mantillos o coberturas** (*mulchings*) que pueden ser utilizados con múltiples propósitos, ya sea para conservar la humedad, inhibir el desarrollo de malas hierbas o prevenir o desviar la penetración de los insectos en el suelo y en las plantas (Díaz-Pérez 2010). Los mantillos o coberturas, se clasifican en **naturales** o **sintéticos**. Los materiales naturales incluyen paja, compost, musgo de turba, astillas de corteza, aserrín, etc. Mientras que los materiales

sintéticos incluyen plásticos de varios colores y aluminio (Weintraub y Berlingerl 2004). Actualmente, se están fabricando plásticos que tienen una alta absorción o alta reflexión para ciertas longitudes de onda de la luz. También hay combinación de mantillos de polietileno con tiras de aluminio. Estos materiales pueden estar bien sintonizados para calentar el suelo, eliminar las malezas o promover el crecimiento de las plantas, así como también reducir la posibilidad de que los insectos las ataquen (Bégin et al 2001).

En el CHP, las cubiertas plásticas de suelo son ampliamente utilizadas en el cultivo de solanáceas para mejorar el mantenimiento de la humedad y para evitar los encharcamientos. Como se mencionó previamente, estas pueden tener incidencia sobre las poblaciones de las plagas (reduciendo la inmigración de las mismas), especialmente el uso de cobertura plástica para el control de trips, como se registra en los trabajos publicados por Greenough et al. (1990), Brown y Brown (1992), Abou-Jawdah et al. (2000), Riley y Pappu (2000), Stavisky et al. (2002), Momol et al. (2004), Salas (2004) y Díaz-Pérez (2010).

Hipótesis

- En un cultivo de pimiento bajo cubierta es posible reducir la presencia de trips, y en consecuencia la incidencia del TSWV, mediante el control biológico ejercido por *Beauveria bassiana*.
- La utilización de cobertura plástica para el sellado del suelo en combinación con el uso de *B. bassiana*, incrementa la eficacia del control biológico.

Objetivo general

Proporcionar al productor hortícola una herramienta de control biológico que pueda ser aplicada dentro del manejo integrado del cultivo de pimiento, con el fin de disminuir los tratamientos químicos que se llevan a cabo actualmente.

Objetivos específicos

- Evaluar la eficacia de una cepa altamente virulenta de *B. bassiana* como controladora biológica de las poblaciones de trips en un cultivo de pimiento.
- Evaluar si la cobertura del suelo en combinación con el hongo entomopatógeno aumenta las posibilidades de control de la plaga y disminuye la incidencia de la peste negra.

Capítulo I

Materiales y Métodos

1. Trabajo de laboratorio

1.1. Identificación de las especies de trips presentes en el cultivo de pimiento

Los trips fueron recolectados a partir de un cultivo de pimiento de cinco meses de producción implantado dentro del mismo invernadero donde posteriormente se llevó a cabo el ensayo, el cual fue manejado de manera convencional. Los ejemplares adultos fueron recolectados con la utilización de pinceles, principalmente a partir de las flores y de los brotes jóvenes, colocados en recipientes plásticos, fijados en etanol 70% y transportados al laboratorio para su montaje e identificación. Las preparaciones fueron observadas bajo microscopio óptico para realizar la identificación morfológica utilizando las claves dicotómicas de Cluever y Smith (2017). Las características distintivas de las especies fueron documentadas fotográficamente.

1.2. Cría de *Frankliniella occidentalis* en laboratorio

La cría de *F. occidentalis*, objeto de estudio del presente trabajo, se llevó a cabo en el Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. Para poder llevarla adelante se realizó una pasantía de entrenamiento brindada por personal idóneo que trabaja bajo la dirección de la Dra. Nancy Greco en el Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE), UNLP-CONICET. En dicho centro de investigaciones, las crías artificiales de *F. occidentalis* se mantienen de forma ininterrumpida durante todo el año.

Los adultos destinados a iniciar la colonia fueron obtenidos a partir de flores de pimiento en producción. Las flores fueron cortadas, colocadas en recipientes plásticos y transportadas al laboratorio, donde se procedió a la recolección de los trips mediante el uso de aspiradores manuales (Fig. 6 a). Los insectos recolectados a partir de las flores fueron identificados, sexados y colocados en recipientes plásticos de 750 cm³ con tapas provistas de ventilación, a través de una perforación cubierta con papel de filtro, y acondicionados con chauchas azucaradas para su alimentación (Fig. 6 b). Los recipientes de cría fueron mantenidos dentro de una cámara de incubación bajo condiciones controladas de temperatura (25±1°C), humedad relativa (65±5%) y fotoperiodo (16:8 L:O) (Fig. 6 c). Los recipientes fueron revisados cada dos días, renovando el alimento y registrando las posturas y emersión de ninfas y adultos.



Figura 5. Cría de trips en laboratorio. (A) Recolección de trips a partir de flores frescas provenientes de un cultivo de campo. (B) Recipientes de cría. (C) Cámara de cría con condiciones de temperatura, humedad y fotoperiodo controladas.

1.3. Ensayos de patogenicidad

Se evaluó la patogenicidad y virulencia de dos cepas de *B. bassiana* (BbCEP147 y BbCEP189) frente a adultos de *F. occidentalis* provenientes de la cría artificial iniciada a partir de los adultos capturados en el campo. Las cepas fúngicas utilizadas forman parte del cepario de hongos entomopatógenos que se mantiene en las instalaciones del CIDEFI. La selección de ambas cepas se basó en los resultados obtenidos por Toledo et al. (2007), quienes las identificaron dentro de las más virulentas contra hemípteros de las familias Delphacidae y Cicadellidae. Los ensayos se llevaron a cabo adaptando la metodología descrita en Toledo et al. (2007) y tuvieron como objetivo seleccionar la cepa más virulenta frente a las poblaciones de *F. occidentalis* presentes en el sitio de estudio para utilizarla en los ensayos posteriores a campo. Los insectos fueron inoculados dentro de los recipientes donde se mantuvieron durante todo el ensayo, con una suspensión de 1×10^8 con/ml en Tween 20 (0,01 % v/v) (Biopack®, Buenos Aires, Argentina) realizada a partir de cultivos crecidos en agar extracto de malta 2% (AEM2%) a 26 °C durante 10 días en oscuridad. Se realizaron tres réplicas de 30 insectos adultos cada una y un control por cepa fúngica. Cada réplica fue inoculada con 300 µl de la suspensión de conidios, mientras que los controles solo fueron inoculados con 300 µl de Tween 20 (0,01% v/v). La aspersión se realizó a través de un aerógrafo profesional (modelo 180 con una boquilla de 0,25–0,3 mm de diámetro y una copa de 9 ml de capacidad). Insectos tratados y controles fueron mantenidos por 7 días en incubadora bajo condiciones controladas de temperatura y fotoperiodo (25 ± 1 °C y 16:8 h L:O) (Fig. 7). Los tratamientos fueron revisados cada 24 horas registrando la mortalidad diaria. Los insectos muertos fueron removidos, esterilizados superficialmente por baños sucesivos en etanol 70%, agua

destilada estéril, hipoclorito de sodio 0,5%, agua destilada estéril, colocados en placas de Petri con papel de filtro humedecido con agua destilada estéril e incubados a 25 °C por 3 a 5 días. Solo los insectos que desarrollaron micelio externamente fueron considerados muertos por infección fúngica. Los ensayos fueron repetidos dos veces en el tiempo. A los 7 días de incubación, se registró la mortalidad porcentual acumulada y se calculó el tiempo medio de supervivencia (TMS). Luego de comprobar los supuestos de normalidad y homogeneidad de la varianza, las diferencias entre los porcentajes de mortalidad ocasionados por ambas cepas fúngicas fueron analizadas estadísticamente a través de un ANOVA seguido por el test de Tukey para las comparaciones por pares ($\alpha = 0,05$). La supervivencia fue estimada a través del método de Kaplan-Meier y las curvas para ambas cepas fúngicas fueron comparadas por la prueba de chi-cuadrado de rango logarítmico ($P \leq 0.05$). Los análisis fueron realizados con el software estadístico InfoStat versión 2020 (Di Rienzo et al. 2020).

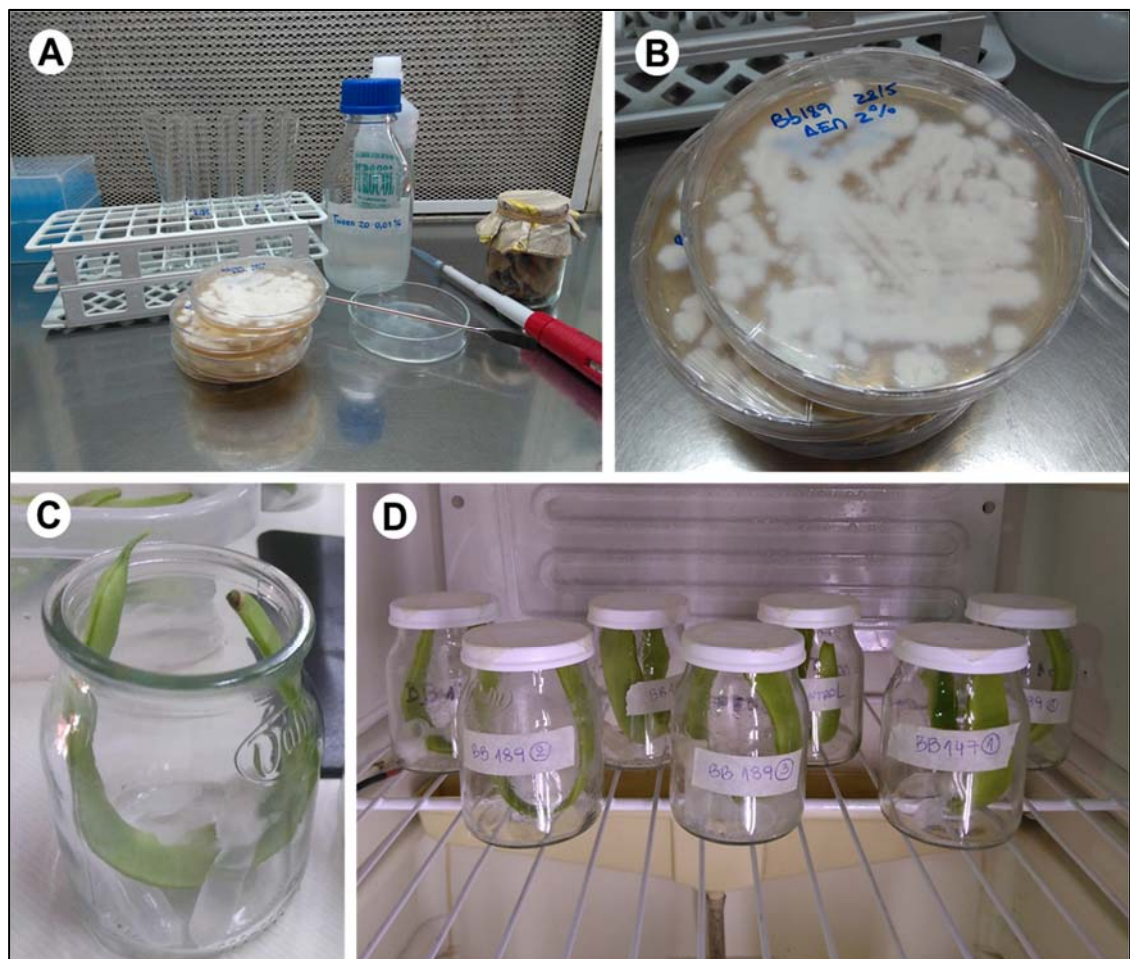


Figura 6. Ensayo de patogenicidad. (A) Materiales utilizados para preparar la suspensión de conidios. (B) *B. bassiana* en AEM2%. (C) Recipiente acondicionado para la inoculación y mantenimiento de 30 adultos de *F. occidentalis*. (D) Mantenimiento de insectos tratados y con troles bajo condiciones controladas de temperatura y fotoperiodo.

2. Trabajo de campo

2.1. Ensayo en invernadero

2.1.1. Ubicación del establecimiento

El ensayo se realizó en el establecimiento “El Recuerdo” ($34^{\circ}51'56,88''$ S - $58^{\circ}16'58,45''$ O), en el Partido de Florencio Varela, Provincia de Buenos Aires (Fig. 8), el cual tiene una superficie de 20 ha, de las cuales 6,3 ha están cubiertas por invernaderos. El establecimiento desarrolla una producción hortícola convencional desde hace más de 50 años.

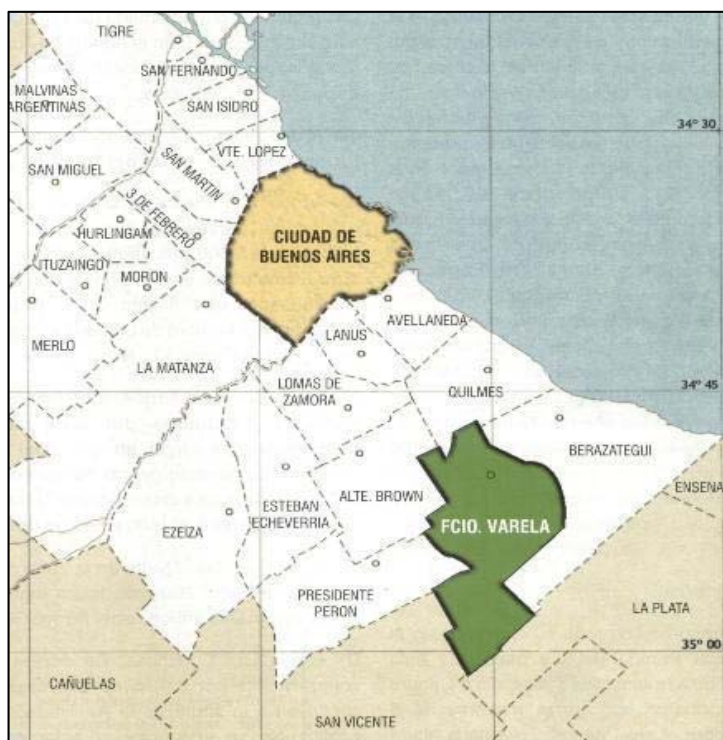


Figura 7. Mapa de la Localidad de Florencio Varela y los partidos aledaños.
Fuente: www.varelaenred.com.ar

2.1.2. Preparación del invernadero para el ensayo y manejo del cultivo

El invernadero donde se realizó el ensayo fue del tipo capilla modificado de cuatro módulos, con estructura de madera y cobertura plástica de 20 m de ancho, 50 m de largo y 3,7 m de alto, con ventilación cenital. El mismo estuvo cubierto en todo su perímetro por una malla anti-áfidos, técnica habitual en las producciones de la zona utilizada como barrera física.

El suelo se preparó con dos pasadas de cincel, una de rotobactor y con el agregado de yeso agrícola y abono de caballo, antes de ser totalmente desinfectado con Metam Sodio (Dosis $100 \text{ cm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$). El sistema de riego estuvo conformado por dos mangueras de goteo autocompensadas, con goteros cada 0,10 m. Cada lomo de plantación, se cubrió con un *mulching* plástico de nylon de color negro de 50 micrones de espesor.

Dentro del invernadero se limitó una zona de ensayo dividiendo a cada lomo en seis partes dejando los extremos Este y Oeste libres como bordura. Cada una de las cuatro réplicas correspondientes a cada uno de los cuatro tratamientos aplicados al cultivo consistieron en dos lomos consecutivos del mismo largo y limitados por cinta de peligro, marcas de aerosol en el nylon negro y rótulos en los palos superiores. Para los tratamientos que incluyeron cobertura de suelo, se cubrieron los entre lomos o entresurcos con un nylon blanco de 150 micrones de espesor. La selección del color de la cobertura plástica se basó en los resultados presentados en Díaz-Pérez (2010), donde el menor número de trips por flor se registró en los tratamientos con cobertura blanca en comparación con los cubiertos con nylon negro o plateado, teniendo en cuenta que los mantillos de distinto color reflejan de manera diferencial la luz, lo cual incide en el comportamiento de la plaga (Greenough et al. 1990).

El resto de los entresurcos sin cobertura se mantuvo libre de malezas por medio de carpidas manuales. Una vez preparado el suelo se realizó el trasplante de los plantines de pimiento (variedad Almuden, Syngenta) el día 30 de octubre del año 2019. Los mismos fueron trasplantados en estado de cuatro hojas verdaderas, con una densidad de plantación de 1,33 plantas por m^2 , contando con 1.333 plantas en el total del invernadero, en perforaciones equidistantes realizadas en el *mulching* negro (Fig. 9). El método de tutorado que se utilizó fue con cintas plásticas y se condujo a 3 guías en zigzag realizando las labores de desbrote y deshoje que fueron necesarias.



Figura 8. Instalación del ensayo. (A) Colocación del plástico blanco en los entresurcos. (B) Identificación de los sectores correspondientes a los distintos tratamientos a aplicar. (C) Trasplante de plantines de pimiento en estado de cuatro hojas verdaderas.

2.1.3. Diseño experimental y tratamientos aplicados al cultivo

El diseño experimental constó de cuatro tratamientos con cuatro repeticiones cada uno. Cada una de las 16 unidades experimentales de 13,5 m² estuvo conformada por un total de 66 plantas y fue distribuida al azar (Fig. 10). Las plantas no recibieron ningún tratamiento previo para prevenir plagas ni enfermedades y no fueron circunscriptas con ningún tipo de aislante.

Los tratamientos evaluados fueron los siguientes:

Testigo (T): Las plantas se rociaron solo con Tween 20 (0,01% v/v).

Testigo con entresurcos cubiertos (TC): Las plantas se rociaron con Tween 20 (0,01% v/v) y se cubrieron los entresurcos con cobertura plástica blanca

Aplicación de *B. bassiana* (B): Las plantas se rociaron con una suspensión de 1×10^8 conidios/ml de *B. bassiana* CEP147 en Tween 20 (0,01% v/v).

Aplicación de *B. bassiana* con entresurcos cubiertos (BC): Las plantas se rociaron con una suspensión de 1×10^8 conidios/ml de *B. bassiana* CEP147 en Tween 20 (0,01% v/v) en combinación con la práctica de cobertura de entresurcos.

BC	TC	B	T
B	T	TC	B
BC	B	TC	BC
TC	T	BC	T

Figura 9. Distribución al azar de cada una de las cuatro repeticiones correspondientes a cada uno de los cuatro tratamientos aplicados al cultivo de pimiento bajo cubierta. T: testigo, TC: testigo con cobertura de entresurcos. B: *B. bassiana*. BC: *B. bassiana* con cobertura de entresurcos.

2.1.4. Monitoreo de plagas, enfermedades y enemigos naturales

Desde el momento de la plantación se realizaron monitoreos semanales con la finalidad de evaluar la densidad de la plaga, el número de plantas con sintomatología asociada a TSWV y la presencia de enemigos naturales según la metodología recomendada por Polack y Mitidieri (2005). El mismo se centró en la observación semanal de tres plantas de cada una de las cuatro repeticiones correspondientes a cada uno de los cuatro tratamientos (Fig. 11 A). Las plantas destinadas al muestreo fueron siempre las tres centrales, procurando que las plantas circundantes constituyeran una barrera que minimizara el desplazamiento de los trips entre los distintos tratamientos. En estado de prefloración se muestreó la planta entera (Fig. 11 B), mientras que desde el período de anthesis se incorporó el muestreo de tres flores abiertas por planta donde se registró el número de trips en estado de ninfa y adulto (Fig. 11 C), y cuatro hojas del estrato medio de la planta donde se registró en forma cuali y cuantitativa la presencia de enemigos naturales (Fig. 11 D). Con respecto al monitoreo de enfermedades se realizó la observación de todas las plantas del ensayo para detectar síntomas de virosis (Fig. 11 E).

Luego de la primera aplicación de *B. bassiana* (20/11/2019), se incorporó al monitoreo la observación y recolección de trips muertos sobre las mismas plantas monitoreadas, los cuales fueron colocados en tubos Eppendorf, previamente esterilizados, y transportados al laboratorio para ser depositados en cámaras húmedas a fin de verificar su muerte por infección fúngica.

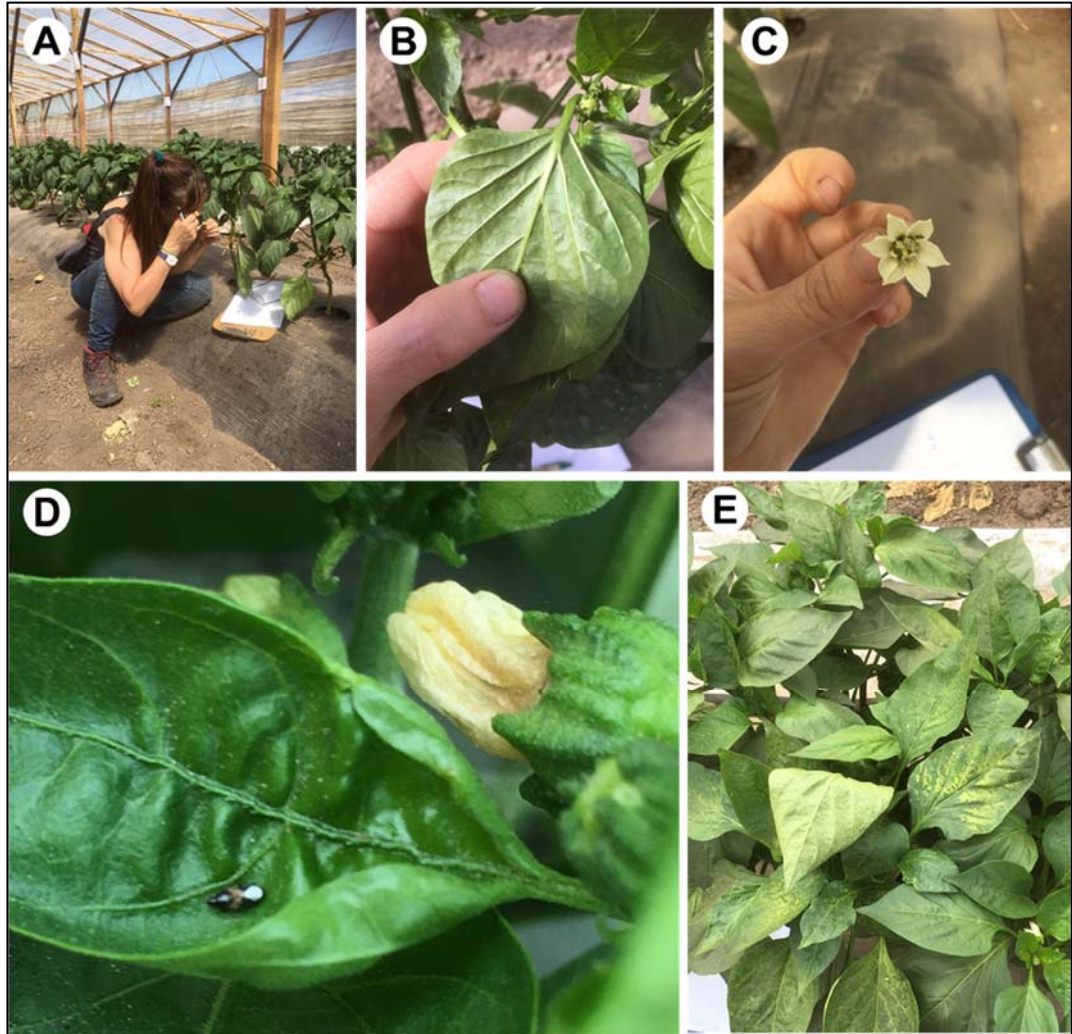


Figura 10. Monitoreo y evaluaciones. (A) Monitoreo sobre tres plantas de cada replica (B) Monitoreo de planta entera en prefloración (C) Monitores de tres flores abiertas por planta en anthesis (D) Monitoreo de enemigos naturales (E) Monitoreo de la totalidad de las plantas del ensayo para detectar visualmente síntomas de virosis.

2.2. El inóculo

2.2.1. Preparación del inóculo

Los conidios de *B. bassiana* CEP147 se cosecharon a partir de cultivos crecidos en Sabouraud dextrosa agar enriquecido con 1% de extracto de levadura (SDAY1%) y mantenidos en oscuridad durante 15 días a 26 ± 1 °C. Los mismos se suspendieron en Tween 20 (0,01% v/v), y a partir de la suspensión lograda se realizaron diluciones seriadas (1/10) para llevar a cabo la cuantificación utilizando un hemocitómetro (cámara de Neubauer) (Fig. 12). Luego del recuento, la concentración del inóculo fue ajustada a

1×10^8 con/ml y su viabilidad fue calculada a través de la metodología descrita en Inglis et al. (2012).

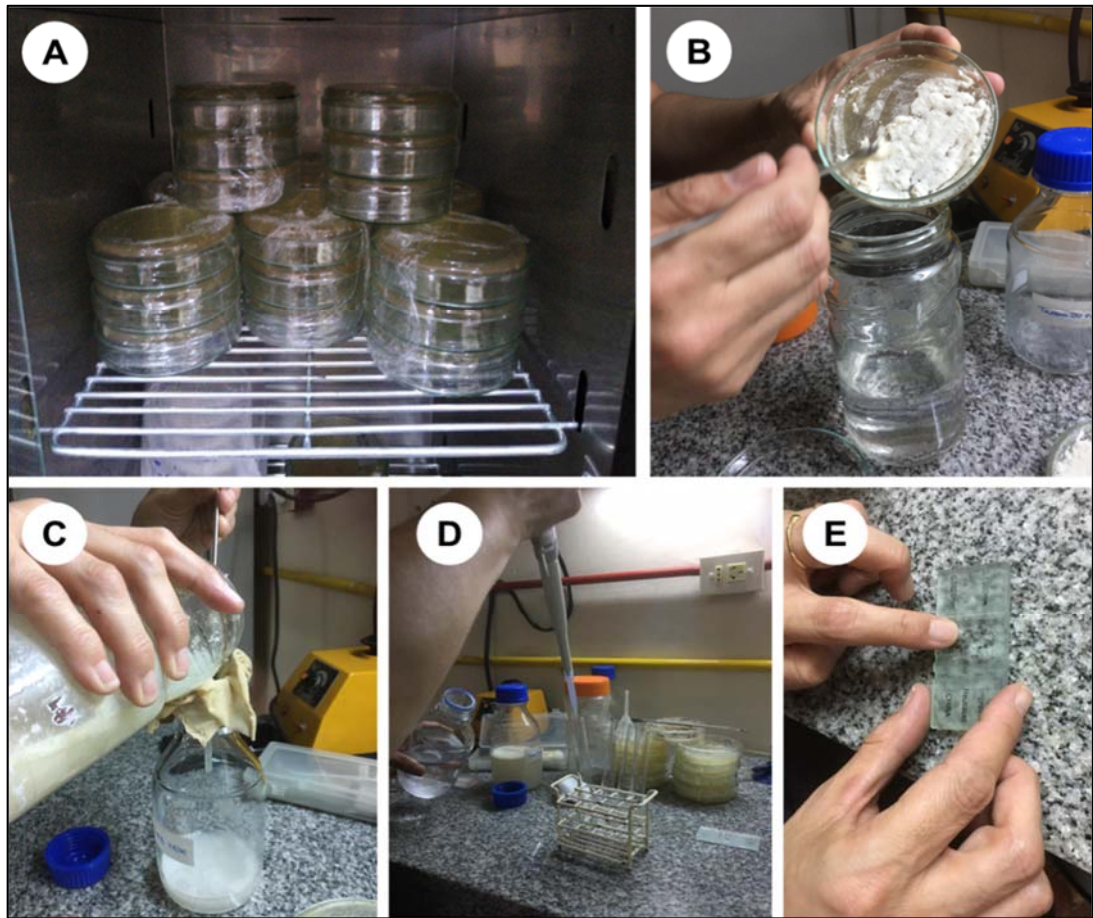


Figura 11. Preparación del inóculo: (A) Desarrollo de la cepa fúngica (B) Raspado de micelio esporulado con la utilización de una espátula metálica (C) Filtrado de la suspensión de esporas para eliminar restos de micelio. (D) Realización de diluciones seriadas 1/10. (E) Colocación de la suspensión en cámara de Neubauer para la cuantificación de conidios.

2.2.2. Aplicación del inóculo

La primera aplicación se realizó el 20/11/2019 cuando se detectó más de un trips por planta, según recomendación del Protocolo de Producción Integrada de Pimiento (Polack y Mitidieri 2005). Las cuatro aplicaciones restantes, con el objetivo de lograr el establecimiento del hongo en la población de trips, se realizaron con un intervalo de aproximadamente una semana en las fechas 9/12/2019, 13/12/2019, 20/12/2019 y 27/12/2019. La aplicación del micoinsecticida fue realizada dentro de las dos horas de ser preparado, entre las 18:00 y 19:00 horas para evitar la incidencia de la radiación solar y coincidir con un aumento de la humedad (Jacobson et al. 2001, Bustillos Pardey 2009).

Las aspersiones se realizaron con la utilización de un pulverizador manual a presión de 1,5 l (Stihl Sg11) generando una cobertura total de la planta a razón de 200 l/ha (Fig. 13).



Figura 12. Aplicación: (A) Aplicación con pulverizador a presión. (B) Planta de pimiento luego de la aplicación.

2.3. Variables evaluadas

1. **Evolución de la población de trips:** Número promedio de adultos y ninfas de trips por flor y por tratamiento durante todo el ensayo.
2. **Eficacia del control de *B. bassiana* sobre la población de trips:** Número promedio de adultos y ninfas de trips por planta/flor y por tratamiento a partir de los cinco días posteriores a la primera aplicación de *B. bassiana* y hasta la finalización del ensayo.
3. **Trips muertos por *B. bassiana*:** Cantidad de trips muertos por tratamiento post aplicación con presencia de micelio (recolectados una semana después de cada aplicación y verificados luego de tres días de incubación en cámara húmeda).
4. **Presencia de enemigos naturales:** Identificación y registro del número promedio de enemigos naturales por planta y por tratamiento durante todo el ensayo.

5. **Incidencia de enfermedades:** Registro de cantidad de plantas con síntomas de peste negra sobre el total de plantas por tratamiento durante todo el ensayo.
6. **Rendimiento, tamaño y calidad de frutos:** Cantidad, tamaño (largo, ancho) y peso de los frutos cosechados con color rojo de tres plantas por tratamiento, desde el 7/2/2020 al 3/4/2020, y clasificación ante la presencia o ausencia de anomalías provocadas ya sea por virosis (TSWV) como por Podredumbre apical o *Blossom end rot* (deficiencia en la absorción y transporte de calcio desde las raíces) (Fig. 14).
7. **Medición de temperatura y humedad:** Datos de temperatura y humedad relativa fueron registrados cada media hora, a través de un sensor de tipo *datalogger* (FlareSense) colocado dentro del invernadero.

Con todos los datos recolectados se confeccionaron planillas para su posterior análisis (Anexo).



Figura 13. Rendimiento, tamaño y calidad de frutos: (A) Cosecha. (B) Clasificación de los frutos.

2.4. Análisis estadístico de los datos obtenidos

En primer lugar y como objetivo principal del trabajo de tesis se evaluó el efecto biocontrolador del hongo entomopatógeno *B. bassiana* sobre la plaga. Para tal fin, la cantidad de trips (adultos y ninfas) registrada en los distintos tratamientos durante las distintas fechas de muestreo se analizó mediante los Modelos Lineales Generalizados (MLG), utilizando la prueba de Diferencias Mínimas Significativas de Fisher (LSD) para

las comparaciones por pares ($\alpha = 0.05$). Adultos y ninfas fueron analizados por separado. Las fechas de muestreo fueron incorporadas al análisis como covariable. Para tal fin cada fecha de muestreo fue considerada como día de muestreo luego del primer muestreo realizado. Así el primer muestreo (25/11/2019) fue considerado día 1, el siguiente día 14, el siguiente día 18 y así sucesivamente hasta el día 122, el cual se correspondió con la última fecha de muestreo y con la finalización del ensayo (27/3/2020). El análisis se llevó a cabo utilizando la función `lme4` del paquete `nlme` del Software Estadístico R, a través de una interfaz implementada por el Software InfoStat (Di Rienzo et al. 2020).

Por otro lado, la aparición del depredador generalista *Euseius fructicolus* (Gonzalez y Schuster) (Acari: Phytoseiidae), hizo que este fuera tenido en cuenta como posible agente de control de la plaga y fuera sometido también al análisis mediante los MLG y la prueba LSD a posteriori ($\alpha = 0.05$) para registrar diferencias entre los tratamientos aplicados. Con los datos obtenidos semanalmente desde el primer muestreo, realizado cinco días después de la primera aplicación de *B. bassiana* y hasta 13 semanas después de la última aplicación, se analizó la existencia de una posible asociación entre la plaga y el potencial depredador a través del método de correlación de Pearson. Teniendo en cuenta los datos de temperatura y humedad relativa registrados durante todo el período de muestreo, también se realizó un análisis de correlación de estas variables con la cantidad de trips cuantificada en cada fecha de muestreo. El test de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0,05$) fue utilizado para analizar las diferencias entre la cantidad, tamaño y peso de los frutos cosechados desde el 7/2/2020 al 3/4/2020 en los distintos tratamientos, mientras que el método descripto por Conover (1999) fue utilizado para la separación de las medianas. Debido a la baja incidencia de peste negra en las plantas, los resultados no fueron sometidos a análisis estadísticos, sino que se presentaron en porcentaje por tratamiento. Por otro lado, la presencia/ausencia de anomalías en los frutos provocadas por virosis o por deficiencia en la absorción y transporte de calcio desde las raíces se analizó a través de tablas de contingencia utilizando como estadístico de prueba el cociente de máxima verosimilitud (G^2), bajo la hipótesis de nulidad: “Existe independencia entre la presencia/ausencia de anomalías y los tratamientos”. Todos los análisis fueron realizados utilizando el software InfoStat versión 2020 (Di Rienzo et al. 2020)

Capítulo II

Resultados

1. Resultados. Trabajo de laboratorio

1.1. Identificación de las especies de trips presentes en el cultivo de pimiento.

La totalidad de los especímenes recolectados en el cultivo de pimiento ($n = 50$) mantenido bajo cubierta fue identificada como *Frankliniella occidentalis*. Las características distintivas de la especie tenidas en cuenta para su identificación se muestran en la Figura 15.

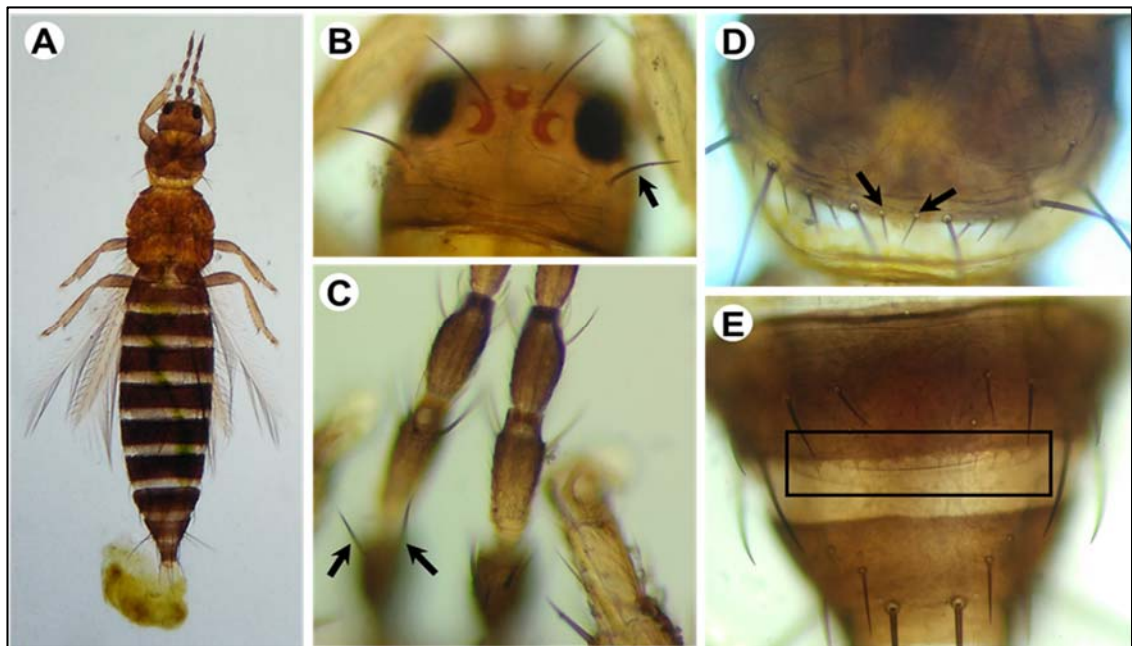


Figura 14. Caracteres morfológicos diagnósticos de la especie *Frankliniella occidentalis*. (A) Ejemplar adulto de *F. occidentalis*. (B) La seta post-ocular mayor es más de la mitad de la longitud de la seta ocelar, y generalmente se extiende claramente hacia el exterior de la cabeza. (C) Las setas sensoriales en los antenitos del flagelo son bifurcadas. (D) Presencia de dos pequeñas setas entre las setas postero-marginales del pronoto. (E) El peine postero-marginal de microtriquias del tergito VIII es completo medialmente y las microtriquias son largas e irregulares, con sus bases ampliamente triangulares.

1.2. Ensayos de patogenicidad

La viabilidad registrada para la cepa BbCEP147 fue de 98,3%, mientras que para la cepa BbCEP189 fue de 99%. La diferencia entre los porcentajes de mortalidad acumulada de *F. occidentalis* ocasionada por ambas cepas fúngicas fue estadísticamente significativa ($F = 8,65$; $g.l.= 1$; $P = 0,0148$). La cepa BbCEP147 registró una mayor mortalidad (81,48 %) respecto a la cepa BbCEP189 (54,57 %). Asimismo, las curvas de

supervivencia estimadas por el método de Kaplan-Meier, difirieron significativamente entre ambas cepas fúngicas ($\chi^2 = 17,5$; $P = 0,000029$). Los valores de TMS registrados para la cepa BbCEP147 ($4,3 \pm 0,18$ días) fueron menores a los registrados para la cepa BbCEP189 ($5,6 \pm 0,17$ días) (Fig. 16).

Teniendo en cuenta estos resultados, la cepa BbCEP147 fue seleccionada para realizar los ensayos a campo en cultivos de pimiento bajo cubierta.

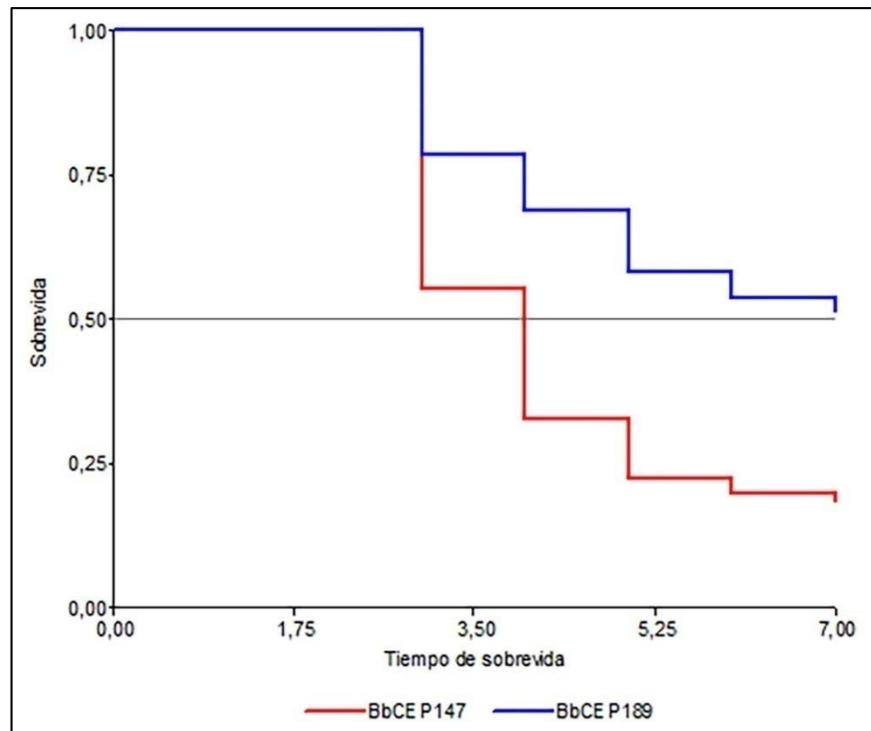


Figura 15. Curvas de supervivencia de *Frankliniella occidentalis* luego de la inoculación con dos cepas de *Beauveria bassiana* (BbCEP147 y BbCEP189). El tiempo de supervivencia está expresado en días.

2. Resultados. Trabajo de campo

2.1. Densidad de la población de trips durante todo el monitoreo y luego de la aplicación de *B. bassiana*.

Los monitoreos realizados desde la plantación hasta el 15/11/2019, resultaron en una presencia de trips que no superaba la cantidad de un trips por planta (en prefloración) o un trips por flor (en antesis), nivel de tolerancia para la intervención con algún método de control, recomendado por Polack y Mitidieri (2005).

El monitoreo del 18/11/2019 fue el primero que arrojó resultados promedio de un trips por flor, lo que condujo a la decisión de efectuar la primera aplicación de *B. bassiana*.

El análisis de los resultados obtenidos luego de la aplicación del micoinsecticida arrojó diferencias significativas en cuanto a la cantidad de trips, tanto ninfas ($F = 25,97$, g.l. = 3, $P < 0,0001$) como adultos ($F = 7,12$, g.l. = 3, $P = 0,0001$), entre los distintos tratamientos en el período comprendido entre el 25/11/2019 y el 27/3/2020. Todos los tratamientos se diferenciaron del testigo (T), registrándose la menor cantidad de ninfas en el tratamiento B. En el caso de los adultos, solo el tratamiento BC se diferenció del resto, registrándose en el mismo la menor población de trips a lo largo del ensayo (Tabla 1).

Al analizar la cantidad de trips presentes en las distintas fechas de muestreo también se observaron diferencias significativas, tanto para ninfas ($F = 257,32$, g.l. = 1, $P < 0,0001$), como para adultos ($F = 8,55$, g.l. = 1, $P = 0,0038$). En este sentido, entre la cuarta y sexta semana posteriores a la última aplicación se observó una mayor reducción de la población de trips totales (ninfas + adultos) tanto en el tratamiento B como BC respecto a T y TC. Cuatro semanas después de la última aplicación (24/1/2020) la cantidad de trips en el tratamiento B se redujo 43% respecto a T y 23,03% respecto a TC, mientras que en el tratamiento BC la reducción fue de 66% respecto de T y de 53,95% respecto de TC. Cinco semanas después de la última aplicación (31/1/2020) el tratamiento B mostró una reducción en la cantidad de trips de 8,74% respecto de T y de 11,74% respecto de TC, mientras que la reducción en BC fue de 23,70% respecto de T y de 26,29% respecto de TC. Finalmente, en la sexta semana post-aplicación del micoinsecticida (7/2/2020) la reducción de la población de trips en B fue de 30% respecto a T y de 29,11% respecto de TC, mientras que en BC fue de 27% respecto tanto de T como de TC. Estos resultados muestran que la mayor reducción de la plaga por efecto de *B. bassiana* se produjo cuatro semanas después en el tratamiento BC.

Como complemento a estas observaciones, en la Tabla 2 se presentan discriminados los promedios tanto de trips adultos como de ninfas para los distintos tratamientos en las distintas fechas de muestreo. Asimismo, en la Figura 17 se puede observar que si bien la población de trips fue incrementándose desde el 25/11/2019 hasta llegar a su pico máximo el 27/12/2019, momento en que se realizó la última aplicación de *B. bassiana*, a partir de entonces comenzó a estabilizarse, manteniéndose por debajo de los máximos niveles alcanzados hasta el 27/3/20, fecha en que se realizó el último muestreo. Los datos crudos de los muestreos se encuentran disponibles en el Anexo.

Tabla 1. Número de trips promedio cada tres flores muestreadas en cada tratamiento durante el período comprendido entre el 25/11/2019 y el 27/3/2020.

Tratamiento	# Trips ninfas	# Trips adultos
T	21,83 ± 0,56 a	16,29 ± 0,49 a
TC	17,24 ± 0,5 bc	17,04 ± 0,5 a
B	15,71 ± 0,48 c	16,31 ± 0,49 a
BC	17,85 ± 0,51 b	14,06 ± 0,45 b

Los valores se encuentran expresados en media ± ES.

Tabla 2. Número de trips promedio de tres flores por planta muestreadas en las distintas fechas de muestreo discriminando los tratamientos aplicados al cultivo de pimiento.

Fecha de muestreo	Tratamiento	Trips adultos	Trips ninfas
25/11/2019	T	3 ± 2,7	0,75 ± 0,9
	TC	2 ± 1,4	0 ± 0
	B	1,5 ± 1,3	0 ± 0
	BC	2,5 ± 2,1	1 ± 1,4
9/12/2019	T	9,5 ± 6,6	7,5 ± 6,6
	TC	5,3 ± 1,7	23,3 ± 8,3
	B	4 ± 0,8	11 ± 6,3
	BC	8,5 ± 2,5	8,3 ± 3,8
13/12/2019	T	15 ± 4,7	36 ± 24,7
	TC	10 ± 7,3	14,3 ± 14,2
	B	7 ± 3,6	17,8 ± 21,7
	BC	15 ± 6,5	29,3 ± 17,1
20/12/2019	T	19,3 ± 3,9	14,5 ± 16,8
	TC	22,5 ± 13,5	15,5 ± 15
	B	15,8 ± 8,7	12,8 ± 17,6
	BC	14,8 ± 2,6	11,3 ± 8,9
27/12/2019	T	18,8 ± 5,7	64,8 ± 36,2
	TC	35,3 ± 26,8	72,5 ± 34,2 a
	B	15 ± 6,7	45,8 ± 24,5
	BC	16 ± 11,2	64,5 ± 22,4
4/1/2020	T	17 ± 11,6	41 ± 25,2
	TC	14,3 ± 12,7	10,8 ± 4,3
	B	16,5 ± 3,7	35,8 ± 25
	BC	10,8 ± 2,9	30 ± 16,3
10/1/2020	T	19,8 ± 5,5	14,8 ± 12,3
	TC	33 ± 20,1	11,3 ± 7,1
	B	32,5 ± 10,7	14,8 ± 6,1
	BC	28 ± 14,4	21,3 ± 19,3
17/1/2020	T	32,25 ± 10,18	29,25 ± 18,29
	TC	22,25 ± 3,86	23,25 ± 10,53
	B	31,5 ± 13,33	25,5 ± 21,49
	BC	20,25 ± 5,38	22,25 ± 4,92
24/1/2020	T	16,25 ± 5,32	34,5 ± 27,16
	TC	14 ± 2,16	24 ± 20,82

	B	13 ± 5,59	16,25 ± 9,74
	BC	10,25 ± 3,3	7,25 ± 2,75
31/1/2020	T	26,25 ± 12,34	25,25 ± 16,5
	TC	31,75 ± 18,55	21,5 ± 20,22
	B	26,25 ± 16,5	20,75 ± 15,65
	BC	14,5 ± 14,25	24,75 ± 22,47
7/2/2020	T	36 ± 4,69	24 ± 10,98
	TC	27,75 ± 14,61	31,5 ± 21,5
	B	23,25 ± 14,29	18,75 ± 15,56
	BC	23,5 ± 24,12	19,75 ± 13,67
14/2/2020	T	22 ± 8,79	47 ± 58
	TC	38 ± 25,53	25,5 ± 11,12
	B	35 ± 29,59	18 ± 12,4
	BC	31,25 ± 29,53	27,75 ± 19,28
24/2/2020	T	9 ± 3,56	5,75 ± 3,77
	TC	8,5 ± 2,38	6 ± 10,03
	B	11,75 ± 7,68	9,5 ± 8,85
	BC	14 ± 13,29	9,5 ± 5,45
6/3/2020	T	11,25 ± 7,5	11,5 ± 6,03
	TC	12,75 ± 8,62	10,75 ± 6,24
	B	21,5 ± 3,42	12,75 ± 6,18
	BC	11,25 ± 8,77	13,75 ± 9,95
13/3/2020	T	18 ± 6,06	17,25 ± 1,5
	TC	10,75 ± 2,63	9,75 ± 5,74
	B	20,75 ± 16,89	11,5 ± 3,42
	BC	14,25 ± 7,97	14 ± 3,92
20/3/2020	T	2 ± 2,16	7 ± 7,53
	TC	1 ± 0,82	1,25 ± 3
	B	1 ± 1,41	2,5 ± 0,96
	BC	2,5 ± 3,69	6,25 ± 6,55
27/3/2020	T	2 ± 3,37	0,25 ± 0,5
	TC	1 ± 1,15	0 ± 0
	B	1,25 ± 1,89	1 ± 1,15
	BC	2 ± 2,71	0,75 ± 0,5

Los valores se encuentran expresados en media ± DS.

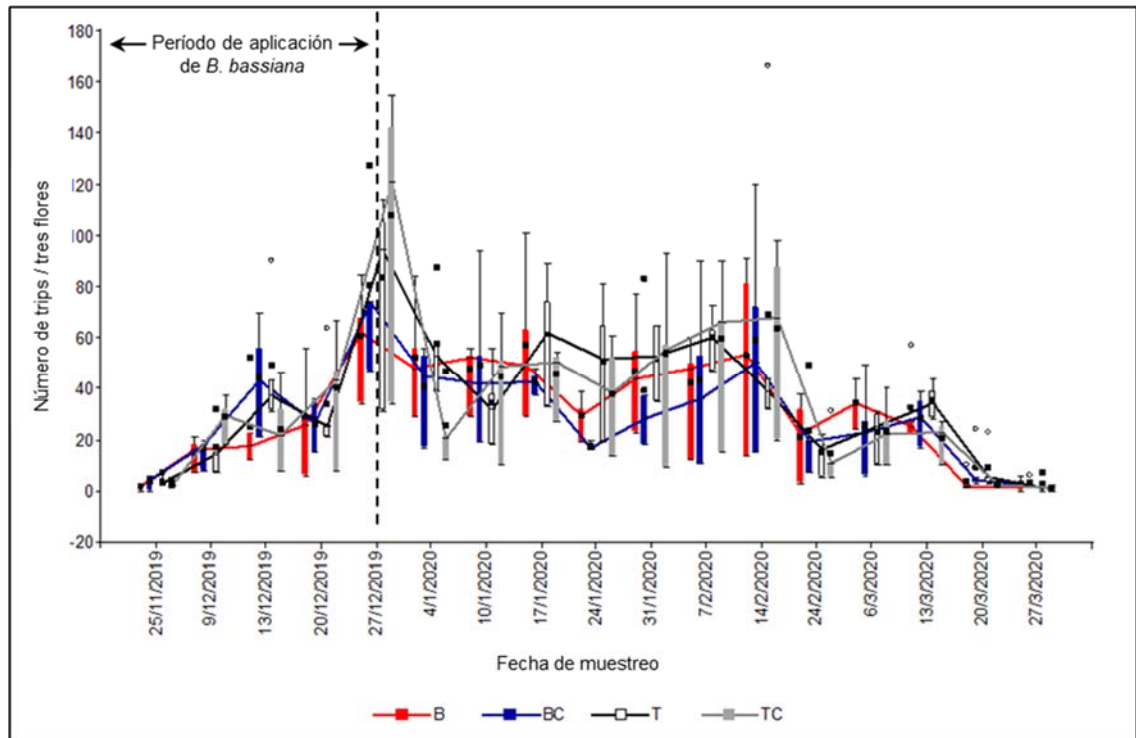


Figura 16. Gráfico de cajas y bigotes mostrando la media \pm ES del número de trips (ninfas + adultos) cada tres flores por planta en cada tratamiento a lo largo de todas las fechas de muestreo.

2.2. Trips muertos por *B. bassiana*.

De los ejemplares adultos recolectados muertos a partir de las plantas tratadas con *B. bassiana* el 33,3% correspondiente al tratamiento B y el 25% correspondiente al tratamiento BC desarrollaron micelio fúngico externamente cuando fueron colocados en cámaras húmedas e incubados en el laboratorio (Fig. 18). Solo se registró la presencia de un ejemplar muerto en el testigo sin cobertura (T) que no desarrolló micelio externamente.

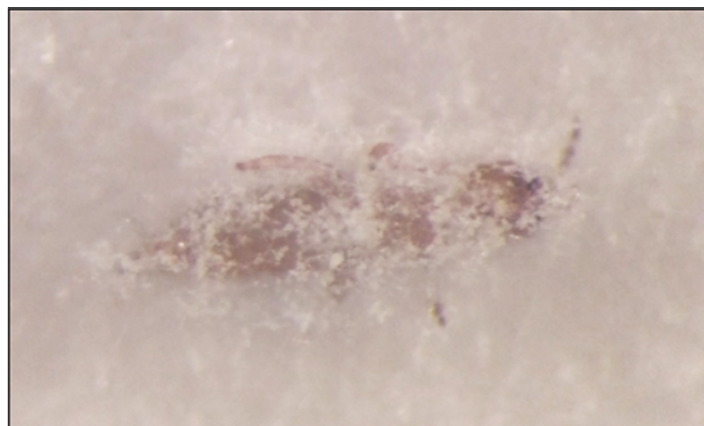


Figura 18. Adulto de *F. occidentalis* mostrando el desarrollo externo de micelio de *B. bassiana* CEP147.

2.3. Enemigos naturales

Con respecto a los enemigos naturales encontrados se registró la presencia de insectos depredadores como *Eriopis connexa* (n = 11), *Cycloneda sanguinea* (n = 5) y *Orius insidiosus* (n = 12). Como ácaro depredador se encontró y cuantificó semanalmente por su presencia y abundancia durante casi todo el ensayo a *Euseius fructicolus* (Gonzalez & Schuster) (Acari: Phytoseiidae), especie identificada por la Dra. Claudia Cédola (CEPAVE-CONICET-UNLP).

En cuanto a la población del potencial depredador, el análisis estadístico reveló diferencias significativas entre los tratamientos ($F = 67,33$, g.l. = 3, $P < 0,0001$) y entre las fechas de muestreo ($F = 3274,71$, g.l. = 1, $P < 0,0001$), registrándose la mayor cantidad de *E. fructicolus* en el testigo (T) ($12,53 \pm 0,4$) y la menor cantidad en el testigo con cobertura de entresurcos (TC) ($6,83 \pm 0,27$). Los tratamientos B ($9,3 \pm 0,33$) y BC ($9,46 \pm 0,33$) registraron valores intermedios entre estos extremos y no presentaron diferencias significativas entre sí. En cuanto a la asociación entre la plaga y el potencial depredador, existió una correlación negativa estadísticamente significativa ($r = -0,27$, $P = 0,00004$). En la Figura 19 se muestra el comportamiento tanto de la plaga como del depredador a lo largo de todas las fechas de muestreo sin discriminar los tratamientos. En el gráfico puede observarse que la población del depredador fue incrementándose, independientemente de los tratamientos, a partir del 30/12/2019, y superando a la de la plaga entre el 18/2/2020 y el 28/2/2020 para alcanzar sus niveles máximos hacia el 9/3/2020.

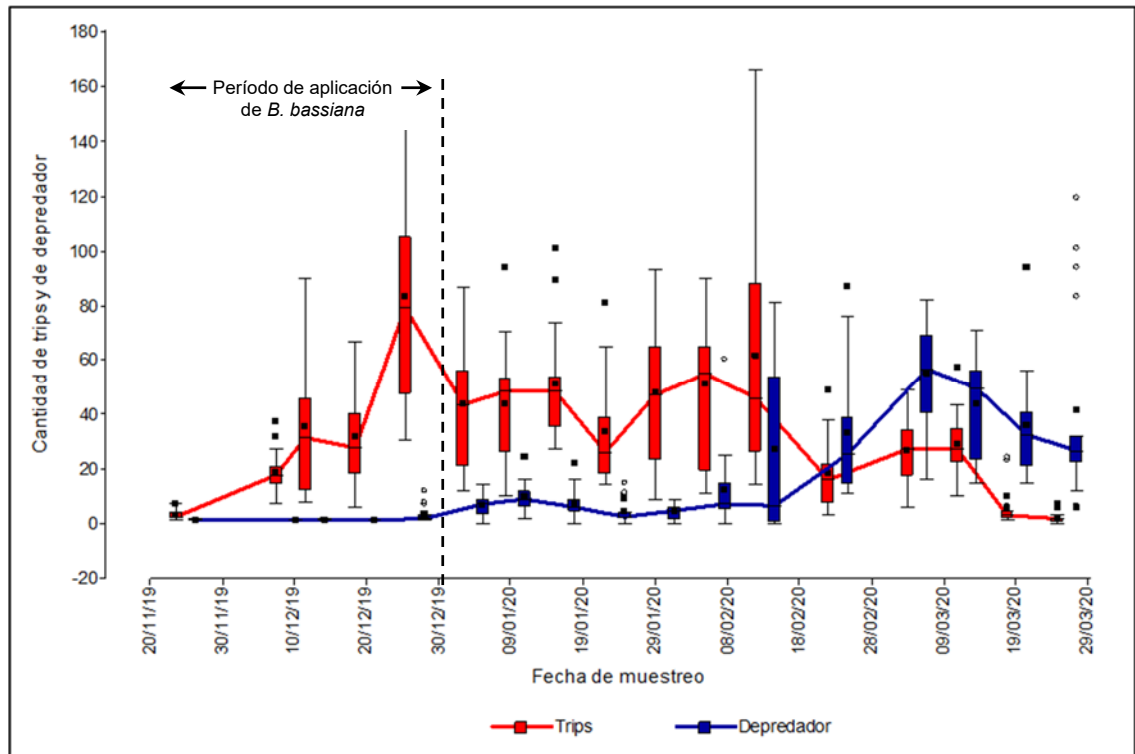


Figura 19. Gráfico de cajas y bigotes mostrando la media \pm ES de la cantidad de trips y del depredador *Euseius fructicolus* a lo largo de todas las fechas de muestreo, sin discriminar entre tratamientos. Cantidad total de trips por fecha de muestreo dividido 16 (4 réplicas x 4 tratamientos: 4T, 4TC, 4B, 4BC).

2.4. Incidencia de peste negra

La incidencia de peste negra durante la duración de todo el ensayo fue muy baja. Solo el 2,1% de las plantas muestreadas presentó síntomas de virosis atribuidos a esta patología. De las 22 plantas enfermas, de un total de 1.056 plantas muestreadas, 4 correspondieron al testigo (T), 14 al testigo con cobertura de entresurcos (TC), 3 al tratamiento con *B. bassiana* (B) y 1 al tratamiento con *B. bassiana* y cobertura de entresurcos (BC). Los datos crudos se presentan en el Anexo.

2.5. Registros de temperatura y humedad

La cantidad de trips registrados a lo largo de todas las fechas de muestreo no mostró correlación con los valores medidos de temperatura ($r = 0,32$, $P = 0,162$) ni de humedad ($r = 0,15$, $P = 0,505$) (Fig. 20).

La temperatura media y humedad relativa promedio registradas durante el día de la primera aplicación de *B. bassiana* fueron de 28,6 °C y 50%, durante la segunda aplicación de 26,8 °C y 50%, durante la tercera de 19,5 °C y 38%, durante la cuarta de

21,7 °C y 72% y finalmente, durante la última aplicación fueron de 17,7 °C y 83%. En promedio, durante el período de aplicación se registraron temperaturas y humedades relativas de 22,8 °C y 68,8%. La totalidad de los datos registrados se muestra en el Anexo.

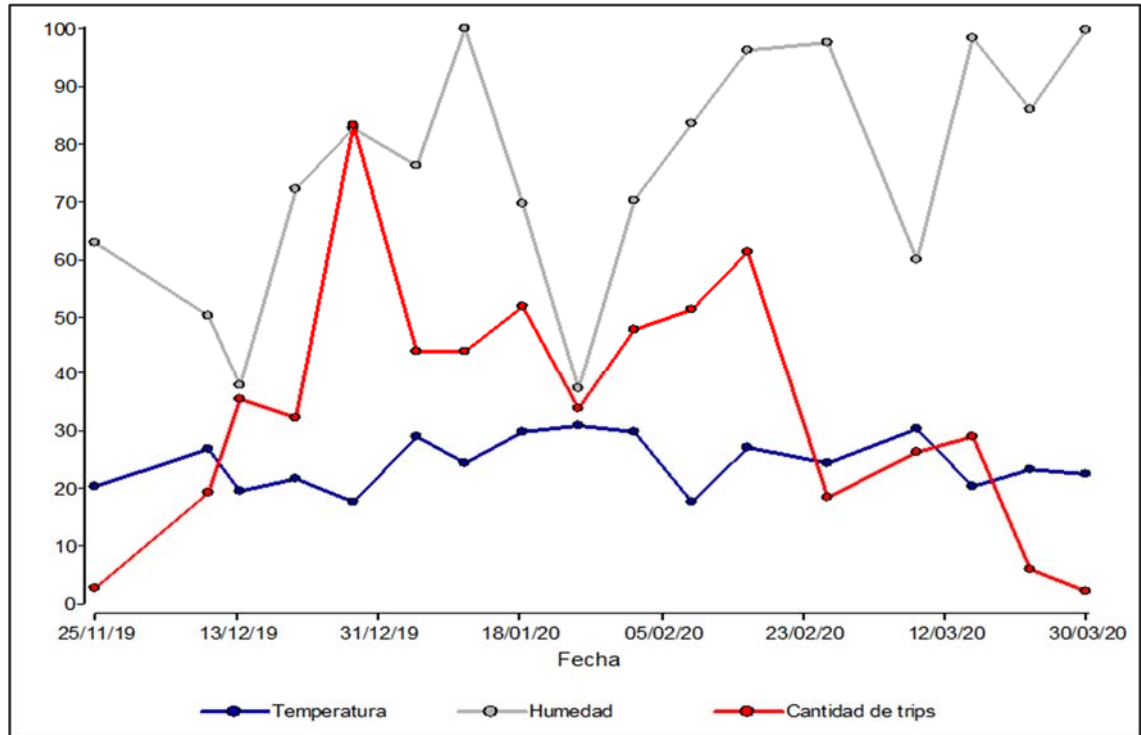


Figura 20. Gráfico de dispersión de puntos mostrando la cantidad promedio de trips por planta cada tres flores por fecha de muestreo junto a los valores promedio de temperatura (°C) y humedad relativa (%).

2.6. Rendimiento, tamaño y calidad de frutos

No se registraron diferencias significativas con respecto a la cantidad de frutos cosechados entre los distintos tratamientos ($H = 4,28$, g.l. = 3, $P = 0,23$), como así tampoco en lo que respecta al ancho de los mismos ($H = 4,8$, g.l. = 3, $P = 0,19$). Sin embargo, se observaron diferencias estadísticamente significativas en lo relativo al largo ($H = 9,57$, g.l. = 3, $P = 0,02$) y al peso ($H = 9,81$, g.l. = 3, $P = 0,02$). Los frutos más largos y más pesados, en comparación con ambos testigos (T y TC), se obtuvieron en el tratamiento BC (Tabla 3).

Tabla 3. Cantidad, tamaño y peso de frutos cosechados en los distintos tratamientos aplicados al cultivo de pimiento bajo cubierta.

Tratamiento	Cantidad de frutos	Largo (cm)	Ancho (cm)	Peso (g)
T	19 ± 13,83 a	11,5 ± 1,49 ab	8,2 ± 1,03 a	211 ± 51,98 a
TC	16 ± 6,3 a	11,2 ± 1,3 a	8 ± 0,88 a	210,5 ± 47,2 a
B	18 ± 6,75 a	11,7 ± 1,38 bc	8 ± 0,94 a	219 ± 89,8 ab
BC	15 ± 1,82 a	11,8 ± 1,51 c	8,5 ± 0,82 a	222 ± 60,1 b

Los valores se encuentran expresados en media ± ES. Letras diferentes en la misma columna denotan diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al análisis de Kruskal–Wallis seguido por la comparación de medianas de acuerdo a Conover (1999) ($p < 0,05$).

En cuanto a las anomalías registradas, los resultados mostraron que no existieron diferencias significativas con respecto a la presencia de podredumbre apical de los frutos cosechados en los distintos tratamientos ($G^2 = 4,76$, g.l. = 3, $P = 0,19$). Sin embargo, se observaron diferencias significativas en lo referente a la presencia de peste negra ($G^2 = 17,66$, g.l. = 3, $P = 0,0005$), siendo los frutos menos afectados los cosechados en el tratamiento BC y los más afectados los correspondientes al tratamiento TC (Tabla 4).

Tabla 4. Porcentaje de frutos afectados con peste negra y podredumbre apical en los distintos tratamientos aplicados al cultivo de pimiento bajo cubierta.

Tratamiento	Peste negra	Podredumbre apical
T	16,66%	16,03%
TC	37,04%	24,24%
B	16,44%	11,59%
BC	10,94%	12,31%

Capítulo III

Discusión

1. Discusión

El pimiento dulce es uno de los cultivos bajo cubierta más importantes de la Argentina (Molina 2017), sin embargo, su producción se ve gravemente afectada por enfermedades como la “peste negra”, la cual ha generado pérdidas de hasta el 100% en el CHP (Dal Bó et al. 1995; Ferrand et al. 2010). El principal vector del virus que ocasiona esta patología es *F. occidentalis* (De Santis 1995; Carrizo 1998), especie que, debido a su distribución cosmopolita, amplio rango de hospedadores y eficiencia en la transmisión de la mayoría de los tospovirus se posiciona como una de las plagas más importantes y difíciles de controlar en cultivos bajo cubierta (Riley et al. 2011). Ante esta situación, y considerando que el control químico, más allá de los perjuicios ambientales que genera, no resulta efectivo, el presente trabajo se basó en probar alternativas dentro del MIP, combinando prácticas culturales como la cobertura de suelos, con el hongo entomopatógeno *B. bassiana* como agente de control biológico.

1.1. Trabajo de laboratorio

Nuestros resultados sobre la identificación taxonómica, en base a caracteres morfológicos, de los trips recolectados en el campo coinciden con los datos a conocer por la bibliografía consultada, donde en los invernáculos de la región y principalmente en los cultivos de pimiento, la especie dominante y de mayor importancia económica es *F. occidentalis* (Saini et al. 2000; Carrizo y Benítez 2002), reportada como uno de los principales vectores de fitopatógenos en la Argentina (De Borbón et al. 2006).

En cuanto a la evaluación del poder biocontrolador de *B. bassiana* sobre *F. occidentalis*, los ensayos de laboratorio nos permitieron seleccionar a la cepa *B. bassiana* CEP147 como la más virulenta frente a la plaga. La selección se hizo teniendo en cuenta que para lograr una buena eficacia y asegurar la estabilidad y permanencia de la cepa fúngica en el campo es necesario que la misma registre viabilidades y mortalidades superiores al 90% y 80%, respectivamente (González et al. 1993; Vélez et al. 1997; Marín et al. 2000). En este sentido, nuestros resultados coinciden con los registrados por Toledo et al. (2007) quienes seleccionaron a la misma cepa como la más efectiva frente a Delphacidae y Cicadellidae (Hemiptera: Auchenorrhyncha) plagas de maíz, aunque en el

presente trabajo se demostró que esta cepa fue más efectiva contra *F. occidentalis* que contra los hemípteros previamente evaluados. Asimismo, los valores de mortalidad porcentual acumulada (81,48%) y de TMS de la plaga (4,3 días) fueron similares a los observados por Wu et al. (2014), quienes registraron mortalidades máximas de 96% y TMS mínimos de 4 días luego de evaluar 28 aislados de *B. bassiana* frente a *F. occidentalis* en condiciones de laboratorio.

1.2. Trabajo de campo

Los resultados obtenidos en cuanto a las densidades poblacionales de trips, concuerdan con los observados por Carrizo (1998) en cultivos de pimiento en el CHP. Dicha autora informó que la mayor abundancia de trips ocurrió entre fines de noviembre y febrero, debido probablemente a la sincronización de la plaga con la floración del cultivo, favorecida por las condiciones térmicas en estos meses del año, óptimas para su desarrollo. La presencia de un umbral de intervención (más de un trips por flor) en el monitoreo de los trips coincidió con la apertura floral lo que deja de manifiesto, junto con la identificación morfológica, la alta preferencia de *F. occidentalis* por este órgano de la planta (Belda et al. 1991).

En lo que respecta a la evolución de la población de trips a partir de la aplicación del micoinsecticida y hasta la finalización del ensayo, pudimos observar diferencias significativas tanto entre los tratamientos como entre las fechas de muestreo. En este sentido, entre la cuarta y sexta semana posteriores a la última aplicación se observó la mayor reducción de la población de la plaga tanto en el tratamiento B como en el BC respecto a los testigos T y TC. Cuatro semanas después de la última aplicación, la cantidad de trips en el tratamiento B se redujo 43% respecto a T y 23,03% respecto a TC, mientras que en el tratamiento BC la reducción fue de 66% respecto de T y de 53,95% respecto de TC. Cinco semanas después de la última aplicación el tratamiento B mostró una reducción en la cantidad de trips de 8,74% respecto de T y de 11,74% respecto de TC, mientras que la reducción en BC fue de 23,70% respecto de T y de 26,29% respecto de TC. Finalmente, en la sexta semana post-aplicación del micoinsecticida, la reducción de la población de trips en B fue de 30% respecto de T y de 29,11% respecto de TC, mientras que en BC fue de 27% respecto de T y de TC. Al comparar nuestros resultados con los registrados por Mendoza Ulloa y Toledo Marquez (2019), quienes realizaron tres aplicaciones de *B.*

bassiana con intervalos de siete días para el control de *F. occidentalis* en cultivos de pepino (*Cucumis sativus* L.), coincidimos en registrar los mayores porcentajes de reducción de la plaga luego de la última aplicación del micoinsecticida. Estos autores registraron la mayor reducción de la población de trips (66%) una semana después de la última aplicación, mientras que nosotros obtuvimos una reducción similar (43% - 66%) al comparar los tratamientos B y BC, respectivamente con el testigo T cuatro semanas después de la última aplicación. Los resultados demuestran la necesidad de realizar más de una aplicación con intervalos semanales para lograr el establecimiento del entomopatógeno en el cultivo. En nuestro estudio, el efecto más tardío en el control pudo estar ligado a factores extrínsecos como la temperatura, la humedad, la arquitectura de la planta o intrínsecos como los referentes a la virulencia de la cepa y a la capacidad de dispersión dentro de la población de la plaga. Otro aspecto a tener en cuenta respecto a los tiempos de acción del entomopatógeno es la densidad de la plaga en el momento de la aplicación. En este sentido, nuestros resultados coinciden con los registrados por Ludwig et al. (2002), quienes establecieron que cuando las poblaciones de trips eran elevadas, la aplicación de *B. bassiana* resultó en una mayor reducción de la plaga que cuando las densidades de la misma eran más bajas. En nuestro ensayo la primera aplicación del entomopatógeno se realizó con una densidad de la plaga de aproximadamente un trips/flor, no registrándose ningún efecto por parte del hongo hasta después de la última aplicación, momento en el cual la densidad de la plaga alcanzó sus niveles máximos, con un promedio de 36 trips/flor.

Dentro de los enemigos naturales observados durante la totalidad del ensayo, *E. fructicolus* fue el más abundante y constante en el tiempo, lo que coincide con los datos publicados por Cédola (2020) que mencionan que, en los cultivos del Gran La Plata, los Phytoseiidae son un componente importante dentro del ensamble de enemigos naturales de plagas hortícolas, señalando a esta especie dentro de las más frecuentes en estos cultivos. El género *Euseius* reúne a los depredadores generalistas más diversos, contando con alrededor de 212 especies descriptas (Demite et al. 2012). Varios estudios han mencionado su potencial para controlar ciertas especies de ácaros plaga (Moraes y Lima 1983; Smith y Papacek 1991; Reis y Alves, 1997; Nomikou et al. 2001; Melo et al. 2009; Toledo et al. 2013; Döker et al. 2014), e inclusive una especie perteneciente a este género, *E. gallicus* Kreiter y Tixier, se ha utilizado comercialmente para el control de mosca blanca y trips (Biobest 2014) y ha demostrado preferencia por la depredación de huevos

de *F. occidentalis* cuando fueron ofrecidos junto a larvas de la misma especie bajo condiciones experimentales de laboratorio (Vangansbeke et al. 2017). En el presente trabajo no podemos más que sugerir un potencial efecto biocontrolador de la plaga por parte de este depredador, ya que para verificar esta relación deberíamos llevar a cabo estudios de preferencia alimentaria y evaluar la tasa de depredación bajo distintas circunstancias, lo cual escapa a los objetivos de esta tesis. Sin embargo, podemos mencionar que las mayores densidades se registraron en los momentos en que el cultivo se encontraba en floración, lo que coincide con las observaciones de McMurtry et al. (2013) quienes consideraron al polen como parte importante de la dieta de este ácaro generalista. Asimismo, nuestras observaciones preliminares a campo abren la posibilidad de estudiar el efecto combinado del entomopatógeno con el depredador para la reducción de la población de trips, como fuera ya estudiado por Jacobson et al. (2001). Estos autores propusieron un manejo integrado de *F. occidentalis* aplicando *B. bassiana* como segunda línea de defensa luego del control ejercido por el ácaro depredador *Neoseiulus (Amblyseius) cucumeris* (Oudemans). En su trabajo aconsejaron un primer control por parte del ácaro y cuando la cantidad de presas sobrepase su capacidad de consumo, se aplique *B. bassiana* como complemento. En nuestro ensayo parecería que el control fue ejercido a la inversa, ya que posiblemente el uso inicial de *B. bassiana* en reemplazo de los insecticidas químicos habría permitido el desarrollo del depredador que pudo haber contribuido a mantener una densidad poblacional relativamente baja de la plaga más allá de la última aplicación de *B. bassiana* y hasta la finalización del ensayo. Aunque como mencionamos previamente, estos supuestos solo se plantean a modo de hipótesis que necesitan futuros estudios para ser comprobadas.

Por otro lado, en lo referente a la incidencia de peste negra registrada durante la duración de todo el ensayo, la misma fue muy baja ya que solo el 2,1% de las plantas muestreadas presentó síntomas atribuidos a esta patología. Nuestros resultados no coinciden con los reportados por Ferrand et al. (2015), quienes registraron pérdidas del 100% ocasionadas por esta enfermedad en cultivos de pimiento en el CHP. Ante la diferencia en la incidencia, no podemos establecer cuáles fueron sus causas, pero si podemos mencionar que más allá de que la peste negra se haya registrado en muy poca cantidad de plantas, las menos afectadas fueron las correspondientes al tratamiento BC. La menor incidencia de la enfermedad en este tratamiento podría atribuirse a la reducción en la población de trips por el efecto potenciado entre *B. bassiana* y la cobertura de

entresurcos. En este sentido, los resultados obtenidos por Greenough et al. (1990) y Stavisky et al. (2002), coinciden en establecer una reducción en la incidencia de peste negra en asociación con una reducción en la población de trips cuando se utiliza cobertura de entresurcos.

Nuestros resultados evidencian también un efecto positivo del uso conjunto de *B. bassiana* con cobertura de entresurcos en lo referente a la producción, ya que en este tratamiento se obtuvieron los frutos más largos y más pesados, coincidiendo con la bibliografía consultada donde se vio que las coberturas de plástico alteran el microclima del cultivo cambiando el balance energético del suelo (Liakatas et al. 1986; Tarara 2000) y resultando en cambios en la temperatura que pueden afectar positivamente al crecimiento y al rendimiento de la planta (Cooper 1973; Díaz-Pérez y Batal 2002; Ibarra-Jiménez et al. 2006; Lamont 2005, Díaz-Pérez 2010). Asimismo, el hecho de obtener los frutos más largos y más pesados en los tratamientos con aplicación de *B. bassiana* pone de manifiesto la posibilidad del establecimiento de la cepa *B. bassiana* CEP147 como endófito promotor del crecimiento vegetal, como fuera registrado recientemente por Allegrucci et al. (2020) al aplicar esta especie fúngica por aspersion foliar en cultivos de pimiento y por Barra-Bucarei et al. (2020) en cultivos de tomate. Al igual que lo mencionado previamente en cuanto al potencial efecto del ácaro depredador, para poder adjudicar el mayor tamaño de los frutos a un posible efecto promotor del crecimiento por parte de *B. bassiana* se necesitan estudios que escapen a los objetivos de este trabajo de tesis.

Finalmente, en relación a los registros de temperatura y humedad relativa, y considerando que según la bibliografía las temperaturas óptimas y la humedad relativa para la germinación de los conidios, el crecimiento de micelio y la esporulación de *B. bassiana* se encuentran entre 25 °C y 32 °C y por encima del 92% de HR (Walstad et al. 1970; Fargues et al. 1992), nuestros resultados demuestran que *B. bassiana* CEP147 ha podido ejercer un control significativo de la plaga bajo condiciones más bajas de temperatura (22,8 °C) y humedad (68,8%), evidenciando que no todas las cepas poseen los mismos requerimientos y planteando la necesidad de realizar ensayos previos de laboratorio para la selección de cepas capaces de desarrollarse bajo condiciones que no resultan ser las óptimas.

Capítulo IV

Conclusiones generales y perspectivas futuras

Conclusiones

- Nuestros resultados demuestran que es posible reducir la población de trips y en consecuencia la incidencia de peste negra mediante el control biológico ejercido por el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*.
- Asimismo, se demuestra que la utilización de una práctica cultural como la cobertura plástica de entresurcos en combinación con el entomopatógeno incrementa el control de la plaga y permite la obtención de frutos de mejor calidad.
- De esta manera, se puede finalmente concluir que es posible llevar adelante un cultivo de pimiento sin la aplicación de pesticidas químicos, evitando así la presencia de residuos tóxicos en los alimentos y preservando la salud humana, del ambiente y la biodiversidad en los agroecosistemas.

Perspectivas futuras

Del presente trabajo se desprenden distintas líneas para proseguir con la investigación del efecto biocontrolador de *B. bassiana* frente a trips plagas del cultivo de pimiento bajo cubierta. Entre ellas podemos mencionar:

- Estudio del establecimiento de *B. bassiana* CEP147 como endófito en pimiento y su efecto en la promoción del crecimiento vegetal.
- Estudios de depredación de *E. fructicolus*, bajo distintas condiciones en ensayos de laboratorio y de invernadero.
- Estudios de compatibilidad del depredador y el entomopatógeno bajo condiciones de laboratorio y de invernadero.
- Screening de un mayor número de cepas fúngicas con la finalidad de seleccionar una aún más virulenta frente a trips.

- Evaluación de distintas formulaciones de la cepa fúngica para garantizar una mayor dispersión y persistencia en el ambiente.

Bibliografía

- Abou-Jawdah, Y., Sobh, H., El-Zammar, S., Fayyad, A. and Lecoq, H. 2000.** Incidence and management of virus diseases of cucurbits in Lebanon. *Crop Protection*, 19: 217-224.
- Allegrucci, N., Velazquez, M.S., Russo, M.L., Vianna, M.F., Abarca, C. and Scorsetti, A.C. 2020.** Establishment of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* as an endophyte in *Capsicum annuum* and its effects on the aphid pest *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Revista de Biología Tropical*, 68: 1084-1094.
- Allen, C. M. 2009.** Thermal biology and behaviour of two predatory Phytoseiid mites: *Amblyseius swirskii* (Athias-Henriot) (Acari: Phytoseiidae) and *Phytoseiulus longipes* (Evans) (Acari: Phytoseiidae). Thesis, University of Birmingham.
- Alves, S.B. 1998.** Controle Microbiano de Insetos. FEALQ, Piracicaba, Brazil.
- Balcaza, L.F. 2006.** Manejo del cultivo de pimiento. *Boletín Hortícola*. Año 11, 33: 18-20.
- Barra-Bucarei, L., Iglesias, A.F., González, M.G., Silva Aguayo, G., Carrasco-Fernández, J., Castro, J.F. and Ortiz Campos, J. 2020.** Antifungal activity of *Beauveria bassiana* endophyte against *Botrytis cinerea* in two Solanaceae crops. *Microorganisms*, 8: 65.
- Bégin, S., Dubé, S.L., Calandriello, J. 2001.** Mulching and plasticulture. Pp 215-223 in Vincent, C., Panneton, B. and Fleurat-Lessard, F. (eds.). *Physical control methods in plant protection*. Springer, Berlin Heidelberg, New York, USA.
- Belda, J., Cabello, T., Ortiz, J. y Pascual, F. 1991.** Distribución de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thys.; Thripidae) en cultivo de pimiento bajo plástico en el sureste de España. *Boletín de Sanidad. Vegetal-Plagas*, 18: 237-252.
- Bergant, K. and Trdan, S. 2006.** How reliable are thermal constants for insect development when estimated from laboratory experiment? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 120: 251-256.
- Biobest 2014.** TechnicalSheetDyna-mite® G-system. Available from: http://www.biobestgroup.com/public/uploads/linkedfile/f537a1a4b437b78.53062353_TECHNICAL%20SHEET%20DYNA-MITE%20G-SYSTEM%20%28EN-240414%29.pdf
- Boucias, D.G. and Pendland, J.C. 1983.** Host recognition and specificity of entomopathogenic fungi. Contribution to the Symposium on "Infection processes of fungi", Bellagio, Italy.
- Brown, S.L. and Brown, J. E. 1992.** Effect of plastic mulch colour and insecticides on thrips populations and damage to tomato. *Horticultural Technology*, 2: 208-211.

- Bustillo Pardey, A.E. 2009.** Evaluación de insecticidas químicos y biológicos para controlar *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) en cultivos de espárragos. *Revista Colombiana de Entomología*, 35: 12-17.
- Cáceres, S., Miño, V.S. y Aguirre, A. 2011.** GuíaPráctica para la identificación y elManejo de las Plagasen Pimiento. INTA Bella Vista, Buenos Aires, Argentina.
- Carrizo, P.I. 1998.** Eficiencia de capturas con trampas de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) en el cultivo de pimiento en invernáculo y en malezas en el Gran La Plata. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 103:1-10.
- Carrizo, P. y Klasman, R. 2001.** Infestación por *Frankliniella occidentalis* a través del proceso de apertura floral, en dos variedades de clavel para corte *Dianthus cariophyllus*. *Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas*, 27: 185-191.
- Carrizo, P. y Benitez, D. 2002.** *Frankliniella occidentalis*. Captura con trampas adhesivas amarillas. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo*, 35: 87-91.
- Carrizo, P.I. and Amela García, M.T. 2017.** Spontaneous vegetation in the horticultural belt of the region of La Plata containing Thripidae (Thysanoptera), vectors of Tospovirus. *RIA, Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 43: 78-91.
- Cédola, C y Polack, A. 2011.** Primer registro de *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae) en Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 70: 375-378.
- Cédola, C. 2020.** Ácaros de importancia hortícola. Pp. 485-510 en Polack, L.A., Lecuona, R.E. y López, S.N. (compiladores). *Control biológico de plagas en horticultura. Experiencias argentinas de las últimas tres décadas.* Ediciones INTA, Buenos Aires, Argentina.
- CHFBA (Censo Hortiflorícola de la Provincia de Buenos Aires) 2005.** Gobierno de la Provincia de Buenos Aires. Ministerio de Economía, Dirección Provincial de Estadística. Ministerio de Asuntos Agrarios, Dirección Provincial de Economía Rural.
- Cloyd, R.A. 2009.** Western Flower Thrips (*Frankliniella occidentalis*) management on ornamental crops grown in greenhouse: have we reached an impasse? *Pest Technology*, 3: 1-9.
- Cluever, J.D. and Smith, H.A. 2017.** A Photo-Based Key of Thrips (Thysanoptera) Associated with Horticultural Crops in Florida. *Florida Entomologist*, 100: 454-467.
- Conover, W.J. 1999.** *Practical Nonparametric Statistical.* (3rd ed.) John Wiley & Sons Inc., New York, USA, 608 pp.

- Cooper, A.J. 1973.** Root temperature and plant growth—A review. Research Review No. 4, Commonwealth Bureau of Horticulture and Plantation Crops, Commonwealth Agricultural Bureau, Farnham Royal, England, UK, p. 73.
- Dal Bó, E., Ronco, L., Alippi, A. and Fernández, R. 1995.** TSWV on *Chrysanthemum* in Argentina. *Plant Disease*, 79: 538.
- Dal Bó, E. 2011.** Detección de virus transmitidos por trips: el caso particular de Argentina. *Métodos en Ecología y Sistemática*, 6: 27-32.
- Davari, A., Parker, B.L., Sullivan, C.F., Ghalehbolabbehbahani, A. and Skinner, M. 2021.** Biological control of Western flowerthrips, *Frankliniella occidentalis* using a self-sustaining granular fungaltreatment. *Bulletin of Entomological Research*, 111: 688-693.
- DeBach, P. 1964.** The scope of biological control. Pp 3-20 in: De Bach, P (ed). *Biological control of insect pests and weeds*. Chapman and Hall, London, UK.
- De Borbón, C.M., Gracia, O. and Piccolo, R. 2006.** Relationships between tospovirus incidence and thrips populations on tomato in Mendoza, Argentina. *Journal of Phytopathology*, 15: 93-99.
- De Santis, L. 1995.** La presencia en la República Argentina del trips californiano de las flores. *Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria. Comunicación Académica número 49*: 1-18.
- del Pino 2020.** Guía didáctica: cultivo y manejo del pimiento (*Capsicum annuum* L.) curso de horticultura y floricultura. UNLP.
- Demite, P.R., Moraes, G.J., McMurtry, J.A., Denmark, A.H. and Castilho, R.C. 2012.** Phytoseiidae Database. www.lea.esalq.usp.br/Phytoseiidae.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M. y Robledo, C.W. 2020.** InfoStat. 2020. FCA, Grupo InfoStat, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Díaz-Pérez, J.C. and Batal, K.D. 2002.** Colored plastic film mulches affect tomato growth and yield via changes in root-zone temperatura. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127:127-135.
- Díaz-Pérez, J.C. 2010.** Bell pepper (*Capsicum annum* L.) grown on plastic film mulches: Effects on crop microenvironment, physiological attributes, and fruit yield. *Horticultural Science*, 45:1196-1204.
- Döker, I., Witters, J., Pijnakker, J., Kazak, C., Tixier, M.-S. and Kreiter, S. 2014.** *Euseius gallicus* Kreiter and Tixier (Acari: Phytoseiidae) is present in four more countries in Europe: Belgium, Germany, the Netherlands and Turkey. *Acarologia*, 54:245-248.

- Enkerli, J., Widmer, F. and Keller, F. 2004.** Long-term persistence of *Beauveria brongniartii* strains applied as biocontrol agents against European cockchafer larvae in Switzerland. *Biological Control*, 29: 115-123.
- FAO 2022.** Manejo integrado de plagas y plaguicidas. **(on line)** <https://www.fao.org/pest-and-pesticide-management/ipm/integrated-pest-management/es/Ultimo> acceso: Junio 2022.
- Fargues, J., Maniania, N.K., Delmas, J.C. and Smits, N. 1992.** Influence de la temperature sur la croissance *in vitro* d'Hyphomycetes entomopathogenes. *Agronomie*, 12: 557-564.
- Faria, M. and Wraight, S.A. 2007.** Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control*, 43: 237-256.
- Fernández Lozano, J. 2018.** Regiones Productoras. Pp. 23-38 en Chiesa, A. y Frezza, D. (eds). *Hortalizas. Ecofisiología, tecnología de producción y poscosecha. Hemisferio Sur*, Buenos Aires, Argentina.
- Ferrand, L. Urrutia, M.I.E. y Dal Bó, E. 2010.** Tospovirus en pimiento: estudios de incidencia y distribución. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. 57pp.
- Ferrand, L., García, M.L., Resende, R.O., Balatti, P.A. and Dal Bó, E. 2015.** First report of a resistance-breaking isolate of Tomato spotted wilt virus infecting sweet pepper harboring the Tsw gene in Argentina. *Plant Disease*, 99: 1869.
- Funderburk, J., Stavisky, J. and Olson, S. 2000.** Predation of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) in field peppers by *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae). *Environmental Entomology*, 29: 376-382.
- Funderburk, J. 2009.** Management of the western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) in fruiting vegetables. *Florida Entomologist*, 92: 1-6.
- Gao, Y., Reitz, S.R., Wang, J., Tamez-Guerra, P., Wang, E., Xu, X. and Lei, Z. 2012.** Potential use of the fungus *Beauveria bassiana* against the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* without reducing the effectiveness of its natural predator *Orius sauteri* (Hemiptera: Anthocoridae). *Biocontrol Science and Technology*, 22: 803-812.
- García, M. y Mierez, L. 2006.** Particularidades del sistema de comercialización de lechuga en el Cinturón Hortícola Platense. *Boletín Hortícola de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP) - UEEA INTA Gran Buenos Aires y Ministerio de Asuntos Agrarios (Prov. de Buenos Aires)*. Año 11, 32: 14-19.
- Gaum, W.G., Giliomee, J.H. and Pringle, K.L. 1994.** Life history and life tables of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) on English cucumbers. *Bulletin of Entomological Research*, 84: 219-224.

- Goettel, M.S., St Leger, R.J., Bhairi, S., Jung, M.K., Oakley, B.R., Roberts, D.W. and Staples, R.M. 1990.** Pathogenicity and growth of *Metarhizium anisopliae* stably transformed to benomyl resistance. *Current Genetics*, 17: 129-132.
- Goettel, M.S. and Hajek, A.E. 2001.** Evaluation of non target effects of pathogens used for management of arthropods Pp. 81-97 in: Wajnberg, E., Scott, J.K. and Quimby, P.C. (eds.). *Evaluating Indirect Ecological Effects of Biological Control*. CABBI Press, Wallingford, UK.
- Goldbach, R. and Peters, D. 1994.** Possible causes of the emergence of tospovirus diseases. *Sem Virol*, 5:113-120.
- González, M.T., Posada, F.J. y Bustillo, A.E. 1993.** Desarrollo de un bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*. *Cenicafé (Colombia)*, 44: 93-102.
- González, R.H. 1999.** El trips de California y otros tisanópteros de importancia hortofrutícola en Chile. Universidad de Chile- BASF, Santiago, Chile.
- Gouli, S., Gouli, V., Skinner, M., Parker, B., Marcelino, J. and Shternshis, M. 2008.** Mortality of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, under influence of single and mixed fungal inoculations. *Journal of Agricultural Technology*, 4: 37-47.
- Gouli, V.V., Gouli, S.Y., Skinner, M. and Shternshis, M.V. 2009.** Effect of the entomopathogenic fungi on mortality and injury level of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 42: 118-123.
- Granval, N. y Gracia, O. 1999.** El género *Tospovirus* y su importancia en la horticultura. *Avan. Hortic.*, 4: 1-22.
- Greenough, D.R., Black, L.L. and Bond, W.P. 1990.** Aluminum-surfaced mulch: An approach to the control of tomato spotted wilt virus in Solanaceous crops. *Plant Disease*, 74: 805-808.
- Grimaldi, D. and Engel, M.S. 2005.** *Evolution of the Insects*. (1st ed.) Cambridge University Press, New York, USA, 755pp.
- Hajek, A.E. 1997.** Ecology of terrestrial fungal entomopathogens. Pp. 193-249 in Jones J.G. (eds). *Advances in microbial ecology*. Springer, Boston, MM.
- Humber, R.A. 2012.** Identification of entomopathogenic fungi. Pp. 151-187 in Lacey, L.A. (ed). *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. Academic Press, USA.
- Hunziker, A.T. 1979.** South American Solanaceae: A Synoptic survey. Pp. 49-85 in Hawkes, J.G.; Lester, R.N. and Skelding, A.D.(eds). *The biology and taxonomy of the Solanaceae*. Academic press, London, UK.

- Ibarra-Jiménez, L., Quezada-Martin, R., Cedeno-Rubalcava, B., Rio, A.J.D. and de la Rosa-Ibarra, M. 2006.** Watermelon response to plastic mulch and row covers. *European Journal of Horticultural Science*, 71:262-266.
- Inglis G.D., Enkerli J., Goettel M.S. 2012.** Laboratory techniques used for entomopathogenic fungi: Hypocreales. Pp.189-253 in: Lacey, L.A. (ed). *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. Academic Press, London, UK.
- Jaber, L.R. and Araj, S.E. 2018.** Interactions among endophytic fungal entomopathogens (Ascomycota: Hypocreales), the green peach aphid *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae), and the aphid endoparasitoid *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, 116: 53-61.
- Jacobson, R.J., Chandler, D., Fenlon, J. and Russell, K.M. 2001.** Compatibility of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin with *Amblyseius cucumeris* Oudemans (Acarina: Phytoseiidae) to control *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) on cucumber plants. *Biocontrol Science and Technology*, 11: 391-400.
- Kean, J., Wratten, S., Tylianakis, J. and Barlow, N. 2003.** The population consequences of natural enemy enhancement, and implications for conservation biological control. *Ecology Letters*, 6: 604-612.
- Kendrick, B. 2000.** *The Fifth Kingdom*. (3rd ed.) Focus Publishing, Newburyport, USA, 386 pp.
- Lacasa, A. 1990.** Datos de taxonomía, biología y comportamiento de *Frankliniella occidentalis*. *Phytoma España*, 4:9-15.
- Lamont, W.J. 2005.** Plastics: Modifying the microclimate for the production of vegetable crops. *Horticultural Technology*, 15:477-481.
- Landis, D.A., Menalled, F.D., Costamagna, A.C. and Wilkinson, T.K. 2005.** Manipulating plant resources to enhance beneficial arthropods in agriculture landscapes. *Weed Science*, 53: 902-908.
- Lee, S.J., Kim, S., Kim, J.C., Lee, M.R., Hossain, M.S., Shin, T.S., Kim, T.H. and Kim, J.S. 2017.** Entomopathogenic *Beauveria bassiana* granules to control soil-dwelling stage of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *BioControl*, 62: 639-648.
- Lefebvre, M., Reguilón, C. and Kirschbaum, D. 2013.** Evaluación del efecto de liberación de *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae), como agente de control biológico de trips en el cultivo de frutilla. *RIA*, 39: 273-280.
- Liakatas, A., Clark, J.A. and Monteith, J.L. 1986.** Measurements of the heat balance under plastic mulches. Part I. Radiation balance and soil heat flux. *Agricultural and Forest Meteorology*, 36: 227-239.

- Loomans, A.J.M. and Van Lenteren, J. 1995.** A review on thrips parasitoids. In Biological control of thrips pest. Wageningen Agricultural University Papers, 95: 192-195.
- Ludwig, S.W. and Oetting, R.D. 2002.** Efficacy of *Beauveria bassiana* plus insect attractants for enhanced control of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). Florida Entomologist, 85: 270-272.
- Marín, P., Posada, F.J., González, M.T. and Bustillo, A.E. 2000.** Calidad biológica de formulaciones de *Beauveria bassiana* usadas en el control de la broca del café. Revista Colombiana de Entomología, 26: 17-23.
- Mc Donald, J.R., Bale, J.S. and Walters, K.F.A. 1998.** Effect of temperature on development of the Western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). European Journal of Entomology, 95: 301-306.
- McMurtry, J., De Moraes, G. and Sourassou, N.F. 2013.** Revision of the life styles of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) and implications for biological strategies. Systematic and Applied Acarology, 18: 297-320.
- Melo, J.W.S., Domingos, C.A., Gondim, M.G.C. and Moraes, G.J. 2009.** Can *Euseius alatus* DeLeon (Acari: Phytoseiidae) prey on *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae) in coconut palm? Neotropical Entomology, 38: 139-143.
- Mendoza Ulloa, J.G. y Toledo Marquez, J.J. 2019.** El uso de agentes biológicos para el control de *Frankliniella occidentalis* (Pergante) en el cultivo de pepino (*Cucumis sativus* L.) Proyecto especial de graduación. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras.
- Miranda, M. A. 2018.** Superficie de cultivo bajo cubierta en el Gran La Plata: análisis espacial con sistemas de información geográfica-SIG. Pp. 75 en Tittonell, P. y Giobellina, B. (Comp). PERIURBANO hacia el consenso: ciudad, ambiente y producción de alimentos: propuestas para ordenar el territorio. Ediciones INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Molina, N. 2017.** Análisis económico del pimiento bajo invernadero en Corrientes, para la campaña 2018. Ediciones INTA. Publicación Técnica N° 62.
- Momol, M.T., Olson, S.M., Funderburk, J.E., Stavisky, J. and Marois, J.J. 2004.** Integrated management of tomato spotted wilt on field-grown tomatoes. Plant Disease, 88: 882-890.
- Moraes, G.J. and Lima, H.C. 1983.** Biology of *Euseius concordis* (Chant) (Acarina: Phytoseiidae) a predator of the tomato russet mite. Acarologia, 24: 251-255.
- Moritz, G., Kumm, S. and Mound, L. 2004.** Tospovirus transmission depends on thrips ontogeny. Virus Research, 100: 143-149.
- Mound, L. 2013.** Homologies and host-plant specificity: recurrent problems in the study of thrips. Florida Entomologist, 96: 318-322.

- Mukawa, S., Tooyama, H. and Ikegami, T. 2011.** Influence of humidity on the infection of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae), by *Beauveria bassiana*. *Applied Entomology and Zoology*, 46:255-264.
- Nomikou, M., Janssen, A., Schraag, R. and Sabelis, N.W. 2001.** Phytoseiid predators as potential biological control agents for *Bemisia tabaci*. *Experimental and Applied Acarology*, 25:271-291.
- Nuez, F., Gil Ortega, R. and Costa, J. 1996.** El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Ed. Mundi-Prensa. España.
- Parrella, G., Gognalons, P., Gebre-Selassie, K., Vovlas, C. and Marchoux, G. 2003.** An update of the host range of Tomato spotted wilt virus. *Journal of Plant Pathology*, 85:227-264.
- Peruzi, G., Silvestre, C. e Iezzi, A. 2012.** Manual de monitoreo de plagas en Pimiento. Brometan.
- Pilatti, R.A. y Favaro, J.C. 1995.** Cultivo de pimiento. Pp. 34-48 en Cultivo bajo invernaderos: tomate, pimiento, frutilla, apio. Centro de publicaciones de la Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.
- Pineda, C. 2022.** Boletín de gestión hortícola N°5. Estación Experimental Ing. Agr. Julio Hirschhorn. Curso de administración agraria. INTA AER La Plata. Proyecto intensificación sostenible de los sistemas de producción bajo cubierta. Programa de cambio rural.
- Polack, L. y Mitidieri, M. 2005.** Guía de monitoreo y reconocimiento de plagas. Enfermedades y enemigos naturales de tomate y pimiento. EEA San Pedro, INTA. (on line) http://www.inta.gov.ar/sanpedro/info/doc/2005/mm_0506.htm
- Polack, L.A. 2008.** Interacciones tritróficas involucradas en el control de plagas. Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Naturales y Museo.
- Polack, L.A. y Mitidieri, M. 2012.** Guía Práctica de Monitoreo y Reconocimiento de plagas, enfermedades y enemigos naturales del tomate y pimiento. San Pedro: Ediciones INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Polack, L.A., Pereyra, P. y Sarandon, S. 2020.** Control biológico, marco conceptual y contexto productivo. Pp:14-30 en Control biológico de plagas en la horticultura. Experiencias Argentinas de las últimas tres décadas. Ediciones INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Prieto M., Peñalosa J., Sarro M.J., Zornoza P. y Gárate A. 2003.** Growth and nutrient uptake in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) as affected by the growing season. Pp: 362-365 in Proc. Int. Fert. Soc. Dahlia Greidinger Symposium "Nutrient, Substrate and Water Management in Protected Cropping Systems".

- Quiroz, C., Larraín, P. and Sepúlveda, P. 2001.** Seasonal abundance of insect vectors of viruses in two green pepper (*Capsicum annum* L.) ecosystems of the Coquimbo Region, Chile. *Agricultura técnica* (Chile), 65: 3-19.
- Rehner, S.A. and Buckley, E. 2005.** A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1-a sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia*, 97: 84-98.
- Reis, P.R. y Alves, E.B. 1997.** Biología do ácaro predador *Euseius alatus* DeLeon (Acari: Phytoseiidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 26: 359-363.
- Reitz, S.R. 2009.** Biology and ecology of the western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) the making of a pest. *Florida Entomologist*, 92: 7-13.
- Riley, D.G. and Pappu, H.R. 2000.** Evaluation of tactics for management of thrips-vectored tomato spotted wilt virus in tomato. *Plant Disease*, 84:847-852.
- Riley, D.G., Joseph, S.V., Srinivasan, R. and Diffie, S. 2011.** Thrips vectors of Tospoviruses *Journal of Integrated Pest Management*, 1: 1-10.
- Saini, E. y Alvarado, L. 2000.** Insectos y ácaros perjudiciales al cultivo de tomate y sus enemigos naturales, Publicación del Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola N°1, INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina.
- Salas, J. 2004.** Evaluación de prácticas culturales para el control de *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) en pimentón. *Entomotropica*, 19: 39-46.
- Samuels, R.I., Paula, A.R., Carolino, A.T., Gomes, S.A., Morais, C.O.P., Cypriano, M.B.C., Silva, L.E.I., Ribeiro, A., Santos, J.W.A.B. and Silva, C.P. 2016.** Entomopathogenic organisms: conceptual advances and real-world applications for mosquito biological control. *Open Access Insect Physiology*, 6: 25-31.
- Smith, D. and Papacek, D.F. 1991.** Studies of the predatory mite *Amblyseius victoriensis* (Acarina: Phytoseiidae) in citrus orchards in south-east Queensland: control of *Tegolophus australis* and *Phyllocoptruta oleivora* (Acarina: Eriophyidae), effectofpesticides, alternative host plants and augmentativerelase. *Experimental and AppliedAcarology*, 12: 195-217.
- Stavisky, J., Funderburk, J., Brodbeck, B.Y., Olson, S.M. and Andersen, P.C. 2002.** Population dynamics of *Frankliniella* spp. and tomato spotted wilt incidence as influenced by cultural management tactics in tomato. *Journal of Economic Entomology*, 95:1216-1221.
- Tarara, J.M. 2000.** Microclimate modification with plastic mulch. *HortScience*, 35:169-180.
- Toledo, A.V., de Remes Lenicov, A.M.M. and López Lastra, C.C. 2007.** Pathogenicity of fungal isolates (Ascomycota: Hypocreales) against *Peregrinus maidis*, *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae) and *Dalbulus maidis*

(Hemiptera: Cicadellidae), vectors of corn diseases. *Mycopathologia*, 163: 225-232.

- Toledo, M.A., Reis, P.R., Silveira, E.C., Marafeli, P.P. and Souza-Pimentel, G.C. 2013.** Predatory potential of *Euseius alatus* (Phytoseiidae) on different life stages of *Oligonychus ilicis* (Tetranychidae) on coffee leaves under laboratory conditions. *Neotropical Entomology*, 42:185-90.
- Tomlinson, J.A. 1987.** Epidemiology and control of virus diseases of vegetables. *Annals of Applied Biology*, 110: 661-681.
- Van den Bosch, R. 1971.** Biological control of insects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 2: 45-66.
- Van Driesche, R.G., Hoddle, M.S. y Center, T.D. 2007.** Control de plagas y malezas por enemigos naturales. USDA, US Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team. FHTET-2007-02.
- Van Emden, H.F. 2003.** Conservation biological control: from theory to practice. Pp. 199-208 in VanDriesche, R (ed.) *Proceedings of the International Symposium on Biological Control of Arthropods*, Honolulu, Hawaii.
- Van Rijn, P.C.J., Mollema, C. and Steenhuis-Broers, G.M. 1995.** Comparative life history studies of *Frankliniella occidentalis* and *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) on cucumber. *Bulletin of Entomological Research*, 85:285-297.
- Vangansbeke, D., Pijnakker, J, Arijs, Y. and Wäckers, F. 2017.** Thrips egg predation by phytoseiids: an overlooked pest control mechanism. Conference: *Proceedings of the Working Group Meeting at Niagara Falls (Canada)*, 4-8. June, 2017. Volume: 124.
- Vega, F.E. 2008.** Insect pathology and fungal endophytes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98: 277-279.
- Vélez, P., Posada, F., Marin, P., Gonzalez, M., Osorio, E. y Bustillo, A. 1997.** Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Chinchina, Caldas. Colombia: Cenicafé- Federación Nac. De cafeteros de Colombia.
- Vestergaard, S., Cherry, A., Keller, S. and Goettel, M. 2003.** Hyphomycete fungi as microbial control agents. Pp. 35-62 in Hokkanen, H.M.T. and Hajek, A.E. (eds.). *Environmental Impacts of Microbial Insecticides*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherland.
- Viglianichino, L. 2020.** Biocontrol: liberación de ácaros e insectos benéficos. Grupo Ad Hoc Frutihortícola, EEA INTA Balcarce. (on line): https://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/bitstream/handle/20.500.12123/10081/INTA_CRBsAsSur_EEABalcarce_Viglianichino_L_Biocontrol_liberaci%3%b3n_%c3%a1caros_insectos.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Vilmorín Díaz, F. 1977.** El cultivo de pimiento dulce (tipo Bell). Editorial Diana, México.
- Villalobos Moya, K., Vargas Martínez, A. y González Herrera, A. 2011.** Evaluación de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en condiciones de campo para el combate de trips en el cultivo de aguacate (*Persea americana* Mill) en San Pablo de León Cortés, Costa Rica. *Métodos en Ecología y Sistemática*, 6: 62-70.
- Walstad, J., Anderson, R. and Stambaugh, W. 1970.** Effects of environmental conditions on two species of muscardine fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 16: 221-226.
- Weintraub, P.G. and Berlinger, M.J. 2004.** Physical control in greenhouses and field crops. Pp. 301-318 in Horowitz, A.R. and Ishaaya, I. (eds.). *Novel Approaches to Insect Pest Management*. Springer, Heidelberg, Germany.
- Wraight, S.P., Inglis, D.G. and Goettel, M.S. 2007.** Fungi. Pp. 223-248 in Lacey, L.A. and Kaya, H.K. (eds.). *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. Application and Evaluation of Pathogens for Control of Insects and other Invertebrate Pests*. Spreinger, Dordrecht, The Netherlands.
- Wu, S., Gao, Y., Zhang, Y., Wang, E., Xu, X. and Lei, Z. 2014.** An entomopathogenic strain of *Beauveria bassiana* against *Frankliniella occidentalis* with no detrimental effect on the predatory mite *Neoseiulus barkeri*: Evidence from laboratory bioassay and scanning electron microscopic observation. *PLoS ONE* 9: e84732.
- Wu, S., Gao, Y., Xu, X., Goettel, M.S. and Zhong-ren, L. 2015.** Compatibility of *Beauveria bassiana* with *Neoseiulus barkeri* for control of *Frankliniella occidentalis*. *Journal of Integrative Agriculture*, 14: 98-105.
- Zelger, R. 1996.** The population dynamics of the cockchafer in South Tyrol since 1980 and measures applied for control. *IOBC/WPRS Bulletin*, 19: 109-113.
- Zhang, X., Lei, Z., Reitz, S.R., Wu, S. and Gao, Y. 2019.** Laboratory and greenhouse evaluation of a granular formulation of *Beauveria bassiana* for control of Western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Insects*, 10: 58.
- Zhang, Z., Zheng, C., Keyhani, N.O., Gao Y. and Wang, J. 2021.** Infection of the Western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, by the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Agronomy* 11: 1910.

Anexo

Registro de trips, *Euseius fructicolus* y peste negra desde una semana después de la primera aplicación hasta la finalización del ensayo.

Fecha de muestreo	Trat	Réplica	Trips adultos	Trips ninfas	Totaltrips	<i>Euseius fructicolus</i>	Peste negra
25/11/2019	T	1	2	0	2	0	0
25/11/2019	T	2	7	0	7	1	0
25/11/2019	T	3	2	2	4	0	0
25/11/2019	T	4	1	1	2	0	0
25/11/2019	TC	1	2	0	2	2	0
25/11/2019	TC	2	4	0	4	0	0
25/11/2019	TC	3	1	0	1	0	0
25/11/2019	TC	4	1	0	1	0	0
25/11/2019	B	1	3	0	3	0	0
25/11/2019	B	2	1	0	1	0	0
25/11/2019	B	3	0	0	0	0	0
25/11/2019	B	4	2	0	2	0	0
25/11/2019	BC	1	2	1	3	0	0
25/11/2019	BC	2	3	3	6	0	0
25/11/2019	BC	3	5	0	5	0	0
25/11/2019	BC	4	0	0	0	0	0
9/12/2019	T	1	13	1	14	1	0
9/12/2019	T	2	17	15	32	1	0
9/12/2019	T	3	4	3	7	0	0
9/12/2019	T	4	4	11	15	1	0
9/12/2019	TC	1	3	24	27	0	0
9/12/2019	TC	2	7	25	32	0	0
9/12/2019	TC	3	6	12	18	0	0
9/12/2019	TC	4	5	32	37	0	0
9/12/2019	B	1	5	9	14	1	0
9/12/2019	B	2	3	15	18	1	0
9/12/2019	B	3	4	3	7	0	0
9/12/2019	B	4	4	17	21	0	0
9/12/2019	BC	1	9	9	18	0	0
9/12/2019	BC	2	8	12	20	0	0
9/12/2019	BC	3	9	9	18	0	0
9/12/2019	BC	4	5	3	8	0	0
13/12/2019	T	1	10	21	31	0	0
13/12/2019	T	2	18	72	90	0	0
13/12/2019	T	3	11	32	43	1	0
13/12/2019	T	4	13	19	32	0	0
13/12/2019	TC	1	20	12	32	0	0
13/12/2019	TC	2	11	35	46	2	0

13/12/2019	TC	3	5	6	11	0	0
13/12/2019	TC	4	4	4	8	0	0
13/12/2019	B	1	4	48	52	1	0
13/12/2019	B	2	4	19	23	1	0
13/12/2019	B	3	9	3	12	2	0
13/12/2019	B	4	11	1	12	1	0
13/12/2019	BC	1	19	51	70	0	0
13/12/2019	BC	2	22	34	56	1	0
13/12/2019	BC	3	10	20	30	0	0
13/12/2019	BC	4	9	12	21	0	0
20/12/2019	T	1	25	39	64	0	0
20/12/2019	T	2	19	7	26	1	0
20/12/2019	T	3	14	10	24	0	0
20/12/2019	T	4	21	0	21	1	0
20/12/2019	TC	1	39	28	67	0	0
20/12/2019	TC	2	18	29	47	1	0
20/12/2019	TC	3	7	1	8	0	0
20/12/2019	TC	4	36	4	40	0	0
20/12/2019	B	1	17	39	56	0	0
20/12/2019	B	2	25	4	29	0	0
20/12/2019	B	3	17	6	23	1	0
20/12/2019	B	4	4	2	6	0	0
20/12/2019	BC	1	16	20	36	0	0
20/12/2019	BC	2	17	18	35	0	0
20/12/2019	BC	3	15	3	18	0	0
20/12/2019	BC	4	11	4	15	0	0
27/12/2019	T	1	27	57	84	2	0
27/12/2019	T	2	14	17	31	8	0
27/12/2019	T	3	17	88	105	2	0
27/12/2019	T	4	17	97	114	7	0
27/12/2019	TC	1	67	75	142	2	0
27/12/2019	TC	2	47	108	155	12	0
27/12/2019	TC	3	8	26	34	1	0
27/12/2019	TC	4	19	81	100	2	0
27/12/2019	B	1	24	32	56	0	0
27/12/2019	B	2	13	72	85	2	0
27/12/2019	B	3	8	60	68	3	0
27/12/2019	B	4	15	19	34	3	0
27/12/2019	BC	1	32	95	127	1	0
27/12/2019	BC	2	12	62	74	2	0
27/12/2019	BC	3	6	41	47	3	0
27/12/2019	BC	4	14	60	74	2	0
4/1/2020	T	1	15	72	87	9	0
4/1/2020	T	2	9	49	58	14	0

4/1/2020	T	3	10	29	39	7	0
4/1/2020	T	4	34	14	48	2	0
4/1/2020	TC	1	11	10	21	3	1
4/1/2020	TC	2	6	14	20	9	0
4/1/2020	TC	3	33	14	47	8	0
4/1/2020	TC	4	7	5	12	0	0
4/1/2020	B	1	16	68	84	9	0
4/1/2020	B	2	17	39	56	2	0
4/1/2020	B	3	21	8	29	4	0
4/1/2020	B	4	12	28	40	9	0
4/1/2020	BC	1	12	41	53	12	0
4/1/2020	BC	2	7	30	37	7	0
4/1/2020	BC	3	14	42	56	4	0
4/1/2020	BC	4	10	7	17	3	0
10/1/2020	T	1	15	11	26	15	0
10/1/2020	T	2	25	13	38	11	0
10/1/2020	T	3	15	3	18	16	0
10/1/2020	T	4	24	32	56	9	0
10/1/2020	TC	1	58	12	70	6	0
10/1/2020	TC	2	30	16	46	12	0
10/1/2020	TC	3	35	16	51	7	0
10/1/2020	TC	4	9	1	10	2	0
10/1/2020	B	1	44	9	53	6	0
10/1/2020	B	2	37	19	56	9	0
10/1/2020	B	3	30	21	51	12	0
10/1/2020	B	4	19	10	29	4	0
10/1/2020	BC	1	28	25	53	24	0
10/1/2020	BC	2	12	7	19	6	0
10/1/2020	BC	3	47	47	94	16	0
10/1/2020	BC	4	25	6	31	7	0
17/1/2020	T	1	17	16	33	22	0
17/1/2020	T	2	37	52	89	11	0
17/1/2020	T	3	38	36	74	6	1
17/1/2020	T	4	37	13	50	5	0
17/1/2020	TC	1	20	34	54	4	0
17/1/2020	TC	2	26	23	49	4	0
17/1/2020	TC	3	25	27	52	4	0
17/1/2020	TC	4	18	9	27	0	0
17/1/2020	B	1	19	10	29	11	0
17/1/2020	B	2	42	21	63	7	0
17/1/2020	B	3	44	57	101	6	0
17/1/2020	B	4	21	14	35	1	0
17/1/2020	BC	1	21	27	48	16	0
17/1/2020	BC	2	19	18	37	7	0

17/1/2020	BC	3	27	18	45	9	0
17/1/2020	BC	4	14	26	40	0	0
24/1/2020	T	1	12	7	19	15	0
24/1/2020	T	2	18	20	38	11	0
24/1/2020	T	3	23	42	65	10	1
24/1/2020	T	4	12	69	81	0	0
24/1/2020	TC	1	17	35	52	4	6
24/1/2020	TC	2	12	13	25	2	1
24/1/2020	TC	3	14	47	61	1	0
24/1/2020	TC	4	13	1	14	2	0
24/1/2020	B	1	21	6	27	9	0
24/1/2020	B	2	8	11	19	3	0
24/1/2020	B	3	12	20	32	4	0
24/1/2020	B	4	11	28	39	0	0
24/1/2020	BC	1	14	4	18	3	0
24/1/2020	BC	2	10	6	16	2	0
24/1/2020	BC	3	6	10	16	2	0
24/1/2020	BC	4	11	9	20	2	0
31/1/2020	T	1	18	47	65	9	0
31/1/2020	T	2	16	25	41	4	1
31/1/2020	T	3	28	7	35	6	0
31/1/2020	T	4	43	22	65	7	0
31/1/2020	TC	1	42	51	93	0	3
31/1/2020	TC	2	42	15	57	1	1
31/1/2020	TC	3	39	15	54	8	1
31/1/2020	TC	4	4	5	9	1	0
31/1/2020	B	1	35	42	77	5	0
31/1/2020	B	2	45	10	55	0	0
31/1/2020	B	3	15	8	23	2	2
31/1/2020	B	4	10	23	33	4	0
31/1/2020	BC	1	18	0	18	6	0
31/1/2020	BC	2	33	50	83	5	0
31/1/2020	BC	3	1	36	37	5	0
31/1/2020	BC	4	6	13	19	0	1
7/2/2020	T	1	38	35	73	3	0
7/2/2020	T	2	38	9	47	60	0
7/2/2020	T	3	29	28	57	8	1
7/2/2020	T	4	39	24	63	5	0
7/2/2020	TC	1	32	58	90	6	2
7/2/2020	TC	2	28	37	65	6	0
7/2/2020	TC	3	43	24	67	5	0
7/2/2020	TC	4	8	7	15	22	0
7/2/2020	B	1	37	9	46	15	0
7/2/2020	B	2	13	37	50	10	0
7/2/2020	B	3	34	26	60	6	0

7/2/2020	B	4	9	3	12	25	0
7/2/2020	BC	1	58	32	90	4	0
7/2/2020	BC	2	22	31	53	0	0
7/2/2020	BC	3	5	6	11	10	0
7/2/2020	BC	4	9	10	19	18	0
14/2/2020	T	1	32	134	166	10	0
14/2/2020	T	2	18	16	34	34	0
14/2/2020	T	3	26	18	44	47	0
14/2/2020	T	4	12	20	32	81	0
14/2/2020	TC	1	55	33	88	57	0
14/2/2020	TC	2	31	17	48	1	0
14/2/2020	TC	3	61	37	98	0	0
14/2/2020	TC	4	5	15	20	54	0
14/2/2020	B	1	9	17	26	0	0
14/2/2020	B	2	49	32	81	0	1
14/2/2020	B	3	70	21	91	0	0
14/2/2020	B	4	12	2	14	3	0
14/2/2020	BC	1	31	41	72	70	0
14/2/2020	BC	2	73	47	120	2	0
14/2/2020	BC	3	8	7	15	3	0
14/2/2020	BC	4	13	16	29	74	0
24/2/2020	T	1	9	7	16	33	0
24/2/2020	T	2	12	10	22	39	0
24/2/2020	T	3	11	5	16	22	0
24/2/2020	T	4	4	1	5	30	0
24/2/2020	TC	1	10	21	31	42	0
24/2/2020	TC	2	9	2	11	29	0
24/2/2020	TC	3	5	0	5	14	0
24/2/2020	TC	4	10	1	11	20	0
24/2/2020	B	1	16	16	32	76	0
24/2/2020	B	2	20	18	38	59	0
24/2/2020	B	3	8	4	12	22	0
24/2/2020	B	4	3	0	3	14	0
24/2/2020	BC	1	32	17	49	87	0
24/2/2020	BC	2	15	5	20	18	0
24/2/2020	BC	3	1	6	7	11	0
24/2/2020	BC	4	8	10	18	14	0
6/3/2020	T	1	3	17	20	40	0
6/3/2020	T	2	19	12	31	71	0
6/3/2020	T	3	16	14	30	56	0
6/3/2020	T	4	7	3	10	77	0
6/3/2020	TC	1	20	20	40	16	0
6/3/2020	TC	2	8	9	17	54	0
6/3/2020	TC	3	3	7	10	36	0
6/3/2020	TC	4	20	7	27	69	0

6/3/2020	B	1	22	13	35	82	0
6/3/2020	B	2	20	4	24	46	0
6/3/2020	B	3	26	18	44	68	0
6/3/2020	B	4	18	16	34	70	0
6/3/2020	BC	1	9	18	27	65	0
6/3/2020	BC	2	24	25	49	57	0
6/3/2020	BC	3	4	2	6	18	0
6/3/2020	BC	4	8	10	18	56	0
13/3/2020	T	1	21	18	39	71	0
13/3/2020	T	2	25	19	44	51	0
13/3/2020	T	3	12	16	28	57	0
13/3/2020	T	4	14	16	30	39	0
13/3/2020	TC	1	7	3	10	15	0
13/3/2020	TC	2	13	7	20	24	0
13/3/2020	TC	3	11	14	25	50	0
13/3/2020	TC	4	12	15	27	17	0
13/3/2020	B	1	45	12	57	67	0
13/3/2020	B	2	19	8	27	56	0
13/3/2020	B	3	12	10	22	53	0
13/3/2020	B	4	7	16	23	23	0
13/3/2020	BC	1	13	9	22	63	0
13/3/2020	BC	2	23	16	39	46	0
13/3/2020	BC	3	17	18	35	22	0
13/3/2020	BC	4	4	13	17	49	0
20/3/2020	T	1	5	18	23	94	0
20/3/2020	T	2	0	5	5	33	0
20/3/2020	T	3	1	4	5	44	0
20/3/2020	T	4	2	1	3	41	0
20/3/2020	TC	1	0	2	2	17	0
20/3/2020	TC	2	2	1	3	37	0
20/3/2020	TC	3	1	2	3	28	0
20/3/2020	TC	4	1	0	1	15	0
20/3/2020	B	1	3	7	10	27	0
20/3/2020	B	2	0	1	1	41	0
20/3/2020	B	3	0	1	1	44	0
20/3/2020	B	4	1	1	2	21	0
20/3/2020	BC	1	8	16	24	56	0
20/3/2020	BC	2	1	4	5	30	0
20/3/2020	BC	3	1	2	3	32	0
20/3/2020	BC	4	0	3	3	18	0
27/3/2020	T	1	7	0	7	101	0
27/3/2020	T	2	0	0	0	94	0
27/3/2020	T	3	0	0	0	22	0
27/3/2020	T	4	1	1	2	26	0
27/3/2020	TC	1	0	0	0	25	0

27/3/2020	TC	2	0	0	0	23	0
27/3/2020	TC	3	2	0	2	6	0
27/3/2020	TC	4	2	0	2	32	0
27/3/2020	B	1	4	2	6	83	0
27/3/2020	B	2	0	0	0	23	0
27/3/2020	B	3	0	0	0	27	0
27/3/2020	B	4	1	2	3	32	0
27/3/2020	BC	1	1	1	2	119	0
27/3/2020	BC	2	6	0	6	12	0
27/3/2020	BC	3	1	1	2	6	0
27/3/2020	BC	4	0	1	1	30	0

Datos promedio de temperatura y humedad relativa (HR) registrados durante la duración del ensayo a campo.

Fecha	Temperatura (°C)	HR (%)	Fecha	Temperatura (°C)	HR (%)
20/11/2019	28,6	50	24/1/2020	30,1	37
21/11/2019	27,2	59	25/1/2020	24,7	67
22/11/2019	22,1	63	26/1/2020	29,7	62
23/11/2019	18,1	58	27/1/2020	28,1	75
24/11/2019	20,7	58	28/1/2020	22,1	92
25/11/2019	20,4	63	29/1/2020	30,8	61
26/11/2019	23	52	30/1/2020	24,3	83
27/11/2019	21,5	49	31/1/2020	29,7	70
28/11/2019	23,5	48	1/2/2020	29	70
29/11/2019	24,8	53	2/2/2020	21,1	85
30/11/2019	22,1	44	3/2/2020	30,3	57
1/12/2019	19,8	46	4/2/2020	23,3	100
2/12/2019	20,4	48	5/2/2020	28,2	97
3/12/2019	21,1	59	6/2/2020	25,8	95
4/12/2019	19,8	58	7/2/2020	17,7	88
5/12/2019	18,9	59	8/2/2020	27,6	54
6/12/2019	23,9	50	9/2/2020	19,2	89
7/12/2019	20,1	49	10/2/2020	25,4	69
8/12/2019	24,3	49	11/2/2020	27,1	72
9/12/2019	26,8	50	12/2/2020	24	88
10/12/2019	29,4	40	13/2/2020	33,4	64
11/12/2019	27,7	51	14/2/2020	27,2	96
12/12/2019	23,2	40	15/2/2020	32,4	75
13/12/2019	19,5	38	16/2/2020	26,3	100
14/12/2019	24,5	44	17/2/2020	23,6	100
15/12/2019	20,9	71	18/2/2020	31,8	84
16/12/2019	27,7	53	19/2/2020	24,4	98

17/12/2019	23,2	54	20/2/2020	29,7	78
18/12/2019	26,5	54	21/2/2020	29,1	77
19/12/2019	27,6	46	22/2/2020	27,2	83
20/12/2019	21,7	72	23/2/2020	34,6	72
21/12/2019	19,6	54	24/2/2020	24,4	98
22/12/2019	19,2	57	25/2/2020	31,1	65
23/12/2019	23,3	50	26/2/2020	22	75
24/12/2019	27,4	47	27/2/2020	19,3	85
25/12/2019	20,1	64	28/2/2020	28,1	65
26/12/2019	27,8	57	29/2/2020	23,3	98
27/12/2019	17,7	83	1/3/2020	20,1	99
28/12/2019	27,1	51	2/3/2020	19,9	77
29/12/2019	19,5	83	3/3/2020	19,3	81
30/12/2019	30,2	45	4/3/2020	28,6	52
31/12/2019	27,4	63	5/3/2020	20	90
1/1/2020	26,9	62	6/3/2020	30	60
2/1/2020	20,1	83	7/3/2020	27,3	82
3/1/2020	18,5	97	8/3/2020	27,9	75
4/1/2020	28,9	76	9/3/2020	33,3	66
5/1/2020	28,7	86	10/3/2020	25,2	99
6/1/2020	28,2	92	11/3/2020	33,5	77
7/1/2020	29,7	95	12/3/2020	26,6	94
8/1/2020	25,8	97	13/3/2020	20,3	99
9/1/2020	33,6	73	14/3/2020	30,5	73
10/1/2020	24,5	100	15/3/2020	28,2	90
11/1/2020	23,5	100	16/3/2020	27,5	92
12/1/2020	26,3	100	17/3/2020	27,1	100
13/1/2020	21,2	100	18/3/2020	21,6	100
14/1/2020	25	92	19/3/2020	26,8	87
15/1/2020	24	89	20/3/2020	23,3	86
16/1/2020	23,7	87	21/3/2020	23	84
17/1/2020	29,8	70	22/3/2020	22,2	63
18/1/2020	22,5	97	23/3/2020	14,4	97
19/1/2020	30,9	55	24/3/2020	21,1	67
20/1/2020	26,2	81	25/3/2020	17,2	90
21/1/2020	26,4	77	26/3/2020	24,6	83
22/1/2020	28	63	27/3/2020	22,4	100
23/1/2020	19	86			