



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES
INGENIERÍA AGRONÓMICA
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“EVALUACIÓN DE *Beauveria bassiana* PARA EL CONTROL DEL GORGOJO BARRENADOR DEL GRANO (*Pagiocerus frontalis*), EN GRANO ALMACENADO DE MAÍZ (*Zea mays L.*), BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, SALACHE – LATACUNGA – COTOPAXI - 2021.”

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingeniero Agrónomo

Autor:

Tituaña Peralta José Israel

Tutora:

Toapanta Gallegos Diana Elizabeth Ing. Mg.

LATACUNGA - ECUADOR

Marzo 2022

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

José Israel Tituaña Peralta, con cédula de ciudadanía **1723586747**, declaro ser autor del presente proyecto de investigación: **“EVALUACIÓN DE *Beauveria bassiana* PARA EL CONTROL DEL GORGOJO BARRENADOR DEL GRANO (*Pagiocerus frontalis*), EN GRANO ALMACENADO DE MAÍZ (*Zea mays L.*), BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, SALACHE – LATACUNGA – COTOPAXI - 2021”**, siendo la Ingeniera Mg. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos, Tutora del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 24 de marzo del 2022

José Israel Tituaña Peralta
Estudiante
CC: 1723586747

Ing. Mg. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos
Docente Tutora
CC: 1002749800

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **TITUAÑA PERALTA JOSÉ ISRAEL**, identificado con cédula de ciudadanía **1723586747** de estado civil soltero, a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ingeniero Ph.D. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - EL CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Ingeniería Agronómica, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **“EVALUACIÓN DE *Beauveria bassiana* PARA EL CONTROL DEL GORGOJO BARRENADOR DEL GRANO (*Pagiocerus frontalis*), EN GRANO ALMACENADO DE MAÍZ (*Zea mays L.*), BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, SALACHE – LATACUNGA – COTOPAXI - 2021”**, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Inicio de la carrera: Abril 2017 - Agosto 2017

Finalización de la carrera: Octubre 2021 – Marzo 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 7 de enero del 2022

Tutora: Ing. Mg. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos

Tema: **“EVALUACIÓN DE *Beauveria bassiana* PARA EL CONTROL DEL GORGOJO BARRENADOR DEL GRANO (*Pagiocerus frontalis*), EN GRANO ALMACENADO DE MAÍZ (*Zea mays L.*), BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, SALACHE – LATACUNGA – COTOPAXI - 2021”**

CLÁUSULA SEGUNDA. - LA CESIONARIA es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- 1.1. La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- 1.1. La publicación del trabajo de grado.
- 1.1. La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- 1.1. La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- 1.1. Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **EL CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **EL CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la

resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 24 días del mes de marzo del 2022.

José Israel Tituaña Peralta
EL CEDENTE

Ing. Ph.D. Cristian Tinajero Jiménez
LA CESIONARIA

AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutora del Proyecto de Investigación con el título:

“EVALUACIÓN DE *Beauveria bassiana* PARA EL CONTROL DEL GORGOJO BARRENADOR DEL GRANO (*Pagiocerus frontalis*), EN GRANO ALMACENADO DE MAÍZ (*Zea mays L.*), BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, SALACHE – LATACUNGA – COTOPAXI - 2021”, de Tituaña Peralta José Israel, de la carrera de Ingeniería Agronómica, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 24 de marzo del 2022

Ing. Mg. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos

DOCENTE TUTORA

CC: 1002749800

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, el postulante: Tituaña Peralta José Israel, con el título del Proyecto de Investigación: **“EVALUACIÓN DE *Beauveria bassiana* PARA EL CONTROL DEL GORGOJO BARRENADOR DEL GRANO (*Pagiocerus frontalis*), EN GRANO ALMACENADO DE MAÍZ (*Zea mays L.*), BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, SALACHE – LATACUNGA – COTOPAXI - 2021”**, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 28 de marzo del 2022

Lector 1 (Presidente)
Ing. PhD. Edwin Chancusig Espín
CC: 0501148837

Lector 2
Ing. Mg. David Carrera Molina
CC: 0502663180

Lector 3
Ing. Mg. Willman Chasi Vizuet
CC: 0502409725

AGRADECIMIENTO

A Dios por haber guiado mi caminado, brindarme salud e inteligencia para conllevar el día a día y permitirme seguir adelante.

A mi familia, por brindarme su apoyo incondicional, de manera especial a mis padres quienes con su ejemplo y virtudes me han motivo día a día a cumplir mis metas y sueños. De igual manera agradezco a mi hermana y a mi cuñado quienes con sus consejos me supieron encaminar en todo momento.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi y Facultad CAREN por brindarme una nueva oportunidad para continuar con mis estudios inculcándome la enseñanza y formación como futuro profesional.

A la Ing. Diana Toapanta, tutora de mi proyecto de titulación, quien con su paciencia, dedicación, esfuerzo y conocimiento me apoyo en todo momento para culminar con la tesis.

Al laboratorio de la Carrera de Agronomía, en especial a la Ing. Tannya Llanos y al Ing. Klever Quimbiulco, quienes con su aporte científica supieron coordinar la parte metodológica de la presente investigación.

A mis amigos, compañeros y en especial a mi enamorada por apoyarme en todo momento, por los gratos momentos que pasamos en la vida universitaria.

José Israel Tituaña Peralta

DEDICATORIA

A Dios, por estar siempre a mi lado guiándome y cuidándome.

A mis padres José Oswaldo Tituaña y Luz Peralta por sus innumerables horas de sacrificio, de esfuerzo y por darme la oportunidad de continuar mis estudios, por todo el apoyo incondicional y amor que me han brindado este trabajo de titulación se los dedicó a ustedes.

José

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “EVALUACIÓN DE *Beauveria bassiana* PARA EL CONTROL DEL GORGOJO BARRENADOR DEL GRANO (*Pagiocerus frontalis*), EN GRANO ALMACENADO DE MAÍZ (*Zea mays* L.), BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, SALACHE – LATACUNGA – COTOPAXI - 2021”

AUTOR: Tituaña Peralta José Israel

RESUMEN

La investigación evaluó *Beauveria bassiana* para el control del gorgojo barrenador del grano (*Pagiocerus frontalis*) en granos almacenados de maíz, bajo condiciones controladas. Planteando una alternativa de control de este insecto plaga que afecta a las semillas de maíz, para lo cual, los agricultores han optado únicamente por el uso de insecticidas gasificantes a base de Fosforo de Aluminio; el cual deja residuos de fosfina que afecta la salud humana. La investigación constó de tres fases, en la primera fase se obtuvo cepas de *Beauveria bassiana*, en la segunda fase se obtuvo la solución madre para su dosificación y en la tercera fase se aplicó las dosis de *Beauveria bassiana* en los bioensayos empleando un diseño de bloques completos al azar (DBCA) con un arreglo factorial de AxBxC+1 (testigo), con tres repeticiones, donde el factor A corresponde a (*Beauveria* nativa y comercial), el factor B corresponde a las dosis (2, 2,5 y 3 cc) y el factor C corresponde a la forma de aplicación (Preventivo y Curativo). Las variables en estudio fueron porcentaje de mortalidad, porcentaje de granos dañados y porcentaje de pérdida de peso de granos. Estas variables primero se normalizaron y después analizaron en el programa InfoStat y tras obtener en el ADEVA resultados estadísticamente significativos, se aplicó la prueba de Tukey al 5% para la obtención de los diferentes rangos de significancia. Se determinó que, para la mortalidad el (T3) que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 3 (alta) y forma de aplicación preventiva registró 100% de mortalidad en comparación con el testigo (T13) que no registró insectos muertos. Con respecto a los granos dañados se determinó que el mejor tratamiento es el (T3) que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 3 (alta) y forma de aplicación preventiva que registró el 26% de granos dañados siendo el porcentaje más bajo en comparación al testigo (T13) que registró un 80% de granos dañados. La última variable que corresponde a la pérdida de peso de granos se determinó que el mejor tratamiento es el (T3) que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 3 (alta) y forma de aplicación preventiva que registró el 29,9 % de pérdida de peso siendo el porcentaje más bajo para esta variable; en comparación al testigo (T13) que presentó el porcentaje más alto en pérdida de peso llegando alcanzar un 85,2%.

Palabras claves: *Pagiocerus frontalis*, *Beauveria bassiana*, dosis, maíz, mortalidad.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES

THEME: “*Beauveria bassiana* EVALUATION FOR GRAIN BARRING GORGE CONTROL (*Pagiocerus frontalis*), AT STORAGED (*Zea mays L.*) GRAIN CORN, UNDER CONTROLLED CONDITIONS, SALACHE - LATACUNGA - COTOPAXI - 2021”

AUTHOR: Tituaña Peralta José Israel

ABSTRACT

Present research evaluated *Beauveria bassiana* grain borer weevil control (*Pagiocerus frontalis*) at stored corn grains, under controlled conditions. It proposes an alternative to insect pest control that affects corn seeds, which farmers have opted only for use of gassing insecticides based on aluminum phosphide, which leaves phosphine residues that affect human health. The research consisted three phases, at first phase *Beauveria bassiana* strains were obtained, at second phase stock solution was obtained for its dosage and at third phase doses of *Beauveria bassiana* were applied on bioassays using a randomized complete block design (DBCA) with a factorial arrangement of AxBxC+1 (control), with three replications, where factor A corresponds to (native and commercial *Beauveria*), factor B corresponds to doses (2, 2.5 and 3 cc) and factor C corresponds to application form (Preventive and Curative). Under study variables were; mortality percentage, damaged grains and grain weight loss percentage. These variables were first normalized and then analyzed at InfoStat program and after obtaining statistically significant results on ADEVA, 5% Tukey test was applied to obtain different ranges of significance. It was determined that, for mortality (T3), corresponds to the application of native *Beauveria* with dose 3 (high) and preventive method application, recorded 100% mortality compared to the control (T13), which did not record any dead insects. With respect to damaged grains, it was determined that the best treatment is (T3), which corresponds to native *Beauveria* application with dose 3 (high) and preventive application form, which registered 26% damaged grains, being the lowest percentage compared to (T13) control, which registered 80% damaged grains. The last variable corresponding to grain weight loss was determined to be the best treatment (T3), which corresponds to native *Beauveria* application with dose 3 (high) and preventive application, which registered 29.9% weight loss, being the lowest percentage for this variable, compared to (T13) control, which presented the highest percentage of weight loss, reaching 85.2%.

Key words: *Pagiocerus frontalis*, *Beauveria bassiana*, dose, corn, mortality.

INDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vi
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vii
AGRADECIMIENTO.....	viii
DEDICATORIA	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT	xi
1. INFORMACIÓN GENERAL	1
2. DESCRPCIÓN DEL PROYECTO.....	2
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	3
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	3
4.1. Beneficiarios Directos	3
4.2. Beneficiarios Indirectos	4
5. PROBLEMÁTICA.....	4
6. OBJETIVOS	5
6.1. Objetivo General	5
6.2. Objetivos Específicos	5
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.....	6
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	9
8.1. El Maíz	9
8.1.1. Generalidades del maíz	9
8.1.2. Origen del maíz.....	9
8.1.3. Importancia del maíz en el mundo	9
8.1.4. Importancia del maíz en el Ecuador	10
8.1.5. Clasificación taxonómica del maíz.....	10
8.1.6. Descripción Morfológica	10

8.1.7.	Descripción Botánica	11
8.1.7.1.	Raíz	11
8.1.7.2.	Tallo	11
8.1.7.3.	Hojas.....	11
8.1.7.4.	Inflorescencia	11
8.1.7.5.	Grano	11
8.2.	Cosecha del maíz.....	12
8.3.	Poscosecha del maíz	12
8.3.1.	Doblado.....	12
8.3.2.	Recolección	13
8.3.3.	Secado.....	13
8.3.4.	Selección y clasificación	13
8.3.5.	Limpieza.....	13
8.3.6.	Desgranado.....	13
8.3.7.	Almacenamiento	14
8.3.8.	Principales plagas en maíz almacenado	14
8.3.8.1.	Gorgojo del maíz (<i>Sitophilus zeamays</i>).....	15
8.3.8.2.	Barrenador grande del grano (<i>Prostephanus truncatus</i>).....	15
8.3.8.3.	Palomilla de los granos (<i>Sitotraga cerelella</i>).....	15
8.3.8.4.	Escarabajo castaño (<i>Tribolium castaneum</i>).....	15
8.3.8.5.	Barrenillo de los granos (<i>Rhyzoperta dominica</i>).....	16
8.4.	Gorgojo barrenador del grano (<i>Pagiocerus frontalis</i>)	16
8.4.1.	Generalidades	16
8.4.2.	Origen y distribución.....	16
8.4.3.	Clasificación taxonómica del gorgojo barrenador del grano	17
8.4.4.	Descripción morfológica	18
8.4.5.	Ciclo biológico	18
8.4.6.	Estadios de desarrollo de <i>Pagiocerus frontalis</i>	18
8.4.6.1.	Huevo	18
8.4.6.2.	Larva.....	18
8.4.6.3.	Pupa.....	18
8.4.6.4.	Adulto	18
8.4.7.	Comportamiento y ataque característico de <i>Pagiocerus frontalis</i>	19
8.4.8.	Métodos de control.....	19

8.4.8.1.	Control Cultural.....	20
8.4.8.2.	Control Físico.....	20
8.4.8.3.	Control Químico.....	20
8.4.8.4.	Control Biológico	21
8.5.	Hongo Entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i>	22
8.5.1.	<i>Beauveria bassiana</i>	22
8.5.2.	Distribución geográfica	22
8.5.3.	Generalidades de <i>Beauveria bassiana</i>	22
8.5.4.	Clasificación taxonómica de <i>Beauveria bassiana</i>	23
8.5.5.	Caracterización morfológica de <i>Beauveria bassiana</i>	23
8.5.5.1.	Características macroscópicas	23
8.5.5.2.	Características microscópicas.....	23
8.5.6.	Condiciones de crecimiento de <i>Beauveria bassiana</i>	24
8.5.7.	Mecanismo de acción de <i>Beauveria bassiana</i>	24
9.	HIPÓTESIS.....	25
10.	METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	25
10.1.	Localización del ensayo	25
10.1.1.	Croquis.....	25
10.2.	Tipo de Investigación.....	26
10.2.1.	Experimental.....	26
10.3.	Métodos de Investigación.....	26
10.3.1.	Observación Científica.....	26
10.3.2.	Cuantitativo	26
10.3.3.	Inductivo	26
10.4.	Técnicas de Investigación.....	26
10.4.1.	Observación directa.....	26
10.4.2.	Fichaje.....	26
10.5.	Materiales y Equipos.....	26
10.5.1.	Materiales de laboratorio:	26
10.5.2.	Materiales para el ensayo:	27
10.5.3.	Equipos de laboratorio:	27
10.6.	Diseño Experimental.....	27
10.7.	Unidad Experimental	28
10.8.	Factores en estudio.....	28

10.9.	Tratamientos en estudio.....	28
10.10.	ADEVA.....	30
10.11.	VARIABLES EN ESTUDIO	30
10.12.	Manejo del Experimento	31
10.12.1.	Fase de captura, aislamiento, re-aislamiento y multiplicación de <i>Beauveria bassiana</i>	31
10.12.1.1.	Método de captura:.....	31
10.12.1.2.	Método de aislamiento:.....	32
10.12.1.3.	Método de re-aislamiento:	33
10.12.1.4.	Método de multiplicación:	34
10.12.2.	Fase de conteo y elaboración de la solución madre	35
10.12.2.1.	Solución madre	35
10.12.2.2.	Conteo de esporas.....	35
10.12.3.	Fase de aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> en la plaga a evaluarse	36
10.12.3.1.	Colecta y mantenimiento del insecto plaga:	36
10.12.3.2.	Inoculación:	37
10.12.3.3.	Aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> :	37
10.13.	Datos a Evaluar.....	38
10.13.1.	Porcentaje de insectos muertos:	38
10.13.2.	Porcentaje de granos dañados:	38
10.13.3.	Porcentaje de pérdida de peso de granos:	38
10.14.	Análisis estadístico.....	39
11.1.	Análisis de mortalidad para <i>Pagiocerus frontalis</i>	40
11.2.	Análisis de granos dañados de maíz.....	48
11.3.	Análisis de pérdida de peso en granos de maíz	56
12.	IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES, ECONÓMICOS)	65
12.1.	Impactos Técnicos	65
12.2.	Impactos Sociales	65
12.3.	Impactos Ambientales	65
12.4.	Impactos Económicos	65
13.	PRESUPUESTO	66
14.	CONCLUSIONES.....	68
15.	RECOMENDACIONES.....	68

16. BIBLIOGRAFÍA.....	69
17. ANEXOS.....	75

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos	6
Tabla 2. Clasificación taxonómica del maíz.....	10
Tabla 3. Clasificación taxonómica de <i>Pagiocerus frontalis</i>	17
Tabla 4. Clasificación taxonómica de <i>Beauveria bassiana</i>	23
Tabla 5. Condiciones de desarrollo para <i>Beauveria bassiana</i>	24
Tabla 6. Tratamientos en estudios acorde al diseño experimental planteado.....	28
Tabla 7. Esquema del ADEVA	30
Tabla 8. Variables a evaluar.....	30
Tabla 9. ADEVA de mortalidad de <i>Pagiocerus frontalis</i> con los tres factores en estudio, sus interacciones y el testigo.....	40
Tabla 10. Prueba de Tukey al 5% para el Factor A (<i>Beauveria bassiana</i>)	41
Tabla 11. Prueba de Tukey al 5% para el Factor B (Dosis).....	42
Tabla 12. Prueba de Tukey al 5% para el Factor C (Forma de aplicación).....	43
Tabla 13. Prueba de Tukey al 5% para los Tratamientos	44
Tabla 14. ADEVA para los granos dañados de maíz con los tres factores en estudio, sus interacciones y el testigo.....	48
Tabla 15. Prueba de Tukey al 5% para el Factor A (<i>Beauveria bassiana</i>)	49
Tabla 16. Prueba de Tukey al 5% para el Factor B (Dosis).....	50
Tabla 17. Prueba de Tukey al 5% para el Factor C (Forma de aplicación).....	51
Tabla 18. Prueba de Tukey al 5% para los Tratamientos	52
Tabla 19. ADEVA para la pérdida de peso en granos de maíz con los tres factores en estudio, sus interacciones y el testigo.....	56
Tabla 20. Prueba de Tukey al 5% para el Factor A (<i>Beauveria bassiana</i>)	57

Tabla 21. Prueba de Tukey al 5% para el Factor B (Dosis).....	58
Tabla 22. Prueba de Tukey al 5% para el Factor C (Forma de aplicación).....	59
Tabla 23. Prueba de Tukey al 5% para la interacción del Factor A*B	60
Tabla 24. Prueba de Tukey al 5% para la interacción del Factor A*C	61
Tabla 25. Prueba de Tukey al 5% para la interacción del Factor A*B*C.....	61
Tabla 26. Prueba de Tukey al 5% para los Tratamientos	62
Tabla 27. Presupuesto general.....	66

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Distribución de <i>Pagiocerus frontalis</i>	17
Gráfico 2. Grano de maíz atacado por <i>Pagiocerus frontalis</i>	19
Gráfico 3. Croquis de ubicación del proyecto	25
Gráfico 4. Interacción de factores para la variable de mortalidad de <i>Pagiocerus frontalis</i>	41
Gráfico 5. Prueba de Tukey al 5% para el Factor A (<i>Beauveria bassiana</i>)	42
Gráfico 6. Prueba de Tukey al 5% para el Factor B (Dosis).....	43
Gráfico 7. Prueba de Tukey al 5% para el Factor C (Forma de aplicación).....	44
Gráfico 8. Medias de mortalidad para los Tratamientos.....	45
Gráfico 9. Porcentaje de mortalidad de <i>Pagiocerus frontalis</i> en cuatro semanas.....	46
Gráfico 10. Porcentaje total de mortalidad de <i>Pagiocerus frontalis</i>	47
Gráfico 11. Interacción de factores para la variable de granos dañados de maíz	49
Gráfico 12. Prueba de Tukey al 5% para el Factor A (<i>Beauveria</i>).....	50
Gráfico 13. Prueba de Tukey al 5% para el Factor B (Dosis).....	51
Gráfico 14. Prueba de Tukey al 5% para el Factor C (Forma de aplicación).....	52
Gráfico 15. Medias de granos dañados para los Tratamientos.....	53
Gráfico 16. Porcentaje de granos dañados en cuatro semanas	54
Gráfico 17. Porcentaje total de granos dañados.....	55
Gráfico 18. Interacción de factores para la variable de pérdida de peso.....	57

Gráfico 19. Prueba de Tukey al 5% para el Factor A (<i>Beauveria</i>).....	58
Gráfico 20. Prueba de Tukey al 5% para el Factor B (Dosis).....	59
Gráfico 21. Prueba de Tukey al 5% para el Factor C (Forma de aplicación).....	60
Gráfico 22. Medias de pérdida de peso para los Tratamientos	63
Gráfico 23. Porcentaje total de pérdida de peso en granos de maíz	64

ANEXOS

Anexo 1. Hoja de vida de la docente tutora	75
Anexo 2. Aval de traducción	78
Anexo 3. Ficha técnica del producto Beauvetic	79
Anexo 4. Resultado del análisis taxonómico	80
Anexo 5. Insectos colectados en el sector del Congoma Bajo.....	82
Anexo 6. Aislamiento del hongo <i>Beauveria bassiana</i> en el laboratorio	82
Anexo 7. Identificación de <i>B. bassiana</i> mediante características morfológicas	83
Anexo 8. Re-aislamiento del hongo <i>Beauveria bassiana</i> (elaboración de cultivos monospóricos)	83
Anexo 9. Multiplicación del hongo entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i>	84
Anexo 10. Elaboración de la solución madre a base de <i>Beauveria bassiana</i>	85
Anexo 11. Conteo de conidias para la determinación de la concentración 10^8	85
Anexo 12. Colecta y mantenimiento del gorgojo barrenador del grano (<i>Pagiocerus frontalis</i>)	86
Anexo 13. Implementación del diseño experimental.....	86
Anexo 14. Unidad experimental	87
Anexo 15. Fumigación de <i>Beauveria bassiana</i> en las unidades experimentales	87
Anexo 16. Registro de la mortalidad de <i>Pagiocerus frontalis</i> y granos infestados.....	88
Anexo 17. Mortalidad de insectos adultos de <i>Pagiocerus frontalis</i>	88
Anexo 18. Insectos muertos por efecto de <i>Beauveria bassiana</i>	89

Anexo 19. Protocolo de laboratorio para el manejo del hongo entomopatógeno.....	90
--	----

CAPÍTULO I

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título:

“Evaluación de *Beauveria bassiana* para el control del gorgojo barrenador del grano (*Pagiocerus frontalis*), en grano almacenado de maíz (*Zea mays L.*), bajo condiciones controladas, Salache – Latacunga – Cotopaxi - 2021”

Fecha de inicio:

Noviembre del 2021

Fecha de finalización:

Marzo del 2022

Lugar de ejecución:

Campus Experimental Salache, barrio Eloy Alfaro, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi.

Unidad Académica que auspicia:

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia:

Carrera de Ingeniería Agronómica

Proyecto de Investigación vinculado:

Producción de bioinsumos y biocontroladores como alternativa para la producción agrícola de alimentos sanos, saludables y sin contaminantes.

Equipo de Trabajo

Tutora: Ing. Mg. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos

Autor: José Israel Tituaña Peralta

Lector A: Ing. PhD. Edwin Chancusig Espín

Lector B: Ing. Mg. David Carrera Molina

Lector C: Ing. Mg. Willman Chasi Vizúete

Área de Conocimiento.

Agricultura, Silvicultura y Pesca.

Línea de investigación:

Análisis, conservación y aprovechamiento de la agro biodiversidad local.

La biodiversidad forma parte intangible del patrimonio nacional: en la agricultura, en la medicina, en actividades pecuarias, incluso en ritos, costumbres y tradiciones culturales. Esta línea está enfocada en la generación de conocimiento para un mejor aprovechamiento de la biodiversidad local, basado en la caracterización agronómica, morfológica, genómica, física, bioquímica y usos ancestrales de los recursos naturales locales. Esta información será fundamental para establecer planes de manejo, de producción y de conservación del patrimonio natural

Sub líneas de investigación de la Carrera:

Caracterización de la biodiversidad

Línea de vinculación

Gestión de recursos naturales, biodiversidad, biotecnología y gestión para el desarrollo humano y social.

2. DESCRPCIÓN DEL PROYECTO

El principal problema que presentan los agricultores al momento de conservar los granos de maíz cosechados es el ataque de insectos plagas en almacenamiento siendo *Pagiocerus frontalis* una plaga que al no ser controlada acaba con toda la producción de grano almacenado. Para solventar este problema los agricultores han recurrido al uso intensivo de insecticidas gasificantes a base de Fosfuro de Aluminio. Al ver esta realidad en la presente investigación se ha planteado si el uso del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* controla a *Pagiocerus frontalis* dotándole al mismo de un ambiente artificial con condiciones óptimas para su desarrollo. La investigación contemplará tres fases que son:

1.- Fase de laboratorio: aquí se realizó la captura, aislamiento, re-aislamiento y multiplicación de *Beauveria bassiana*.

2.- Fase de conteo: en esta fase se realizó un conteo semanal y la elaboración de la solución madre a base de *Beauveria bassiana*.

3.- Fase aplicación: Se aplicó dosis obtenidas de la solución madre sobre el grano de maíz para posteriormente la evaluación de la mortalidad de *Pagiocerus frontalis*.

La temática planteada espera determinar una dosis y forma de aplicación para el control del gorgojo barrenador del grano y así dotar al agricultor una alternativa de control más sana y sin exponer su salud.

3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

La investigación está enfocada en proveer a los productores de maíz una alternativa de control para *Pagiocerus frontalis*, insecto plaga de almacén en granos de maíz, mismo que al no ser controlado y en poblaciones altas acaba con todos los granos almacenados. Por tal motivo se ha planteado el uso del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* como fuente de control biológico. Este hongo ha demostrado ser un excelente controlador de individuos del orden Coleóptera.

Este proyecto aportará al agricultor un método de control que sea capaz de combatir y erradicar a este insecto plaga beneficiándose directamente debido a que se preservará por mayor tiempo el grano almacenado conservando sus cualidades y su valor económico, evitando así, pérdidas cuantiosas debido al ataque de insectos plagas de almacenamiento.

Además, al utilizar el hongo entomopatógeno *Beuaveria bassiana*, se contribuye a la preservación del medio ambiente, debido a que el productor de maíz utiliza un insecticida gasificante para el control de *Pagiocerus frontalis*, este producto libera fosfina y otros productos inertes que son muy volátiles contaminando el ambiente y poniendo en riesgo a animales y seres humanos.

4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

4.1. Beneficiarios Directos

Los beneficiarios directos son los productores de maíz de la provincia de Cotopaxi, debido a que el proyecto se encuentra ubicado en esta provincia, además otros beneficiarios directos serían los productores de maíz a nivel nacional.

4.2. Beneficiarios Indirectos

Los beneficiarios indirectos son: la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Cotopaxi, el estudiantado de la Carrera de Agronomía y cuerpo docente de la misma carrera.

5. PROBLEMÁTICA

El maíz, es un alimento indispensable para la humanidad y es considerado uno de los granos más importantes y ancestrales que conoce el ser humano ya que con el mismo se pueden hacer una gran cantidad de preparaciones, además de ser utilizado como fuente de alimento para el ganado o para la elaboración de productos industriales. La encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria realizada por el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), menciona que para el año 2020 el maíz duro seco fueron 365.725 ha sembradas con un total de 1.3 millones de Toneladas métricas producidas, la misma encuesta menciona que el maíz suave seco fueron 58.513 ha sembradas con un total de 88,5 Toneladas métricas producidas. La producción de este cereal es sin duda indispensable, pero entre el 5 y 10 % del rendimiento se pierde por el ataque de plagas durante su almacenamiento, siendo el gorgojo barrenador el grano (*Pagiocerus frontalis*) una de las principales plagas que ataca la semilla de maíz. El insecto adulto perfora la parte central del grano específicamente el endospermo y se alimenta de la parte interna de la semilla; el ataque característico del adulto de *Pagiocerus frontalis* es un rastro harinoso que dejan esta plaga después de haber perforado los granos de maíz.

Para su control los agricultores realizan aplicaciones de insecticidas a base de Fosfuro de Aluminio cuyo ingrediente activo es fosfamina bajo el nombre comercial de Gastoxin y Phostoxin. (Cevallos, 2020)

El uso de insecticidas gasificantes es altamente tóxico para las plagas presentes en el almacenamiento de granos de maíz. Este gasificante al ponerse en contacto con el ambiente libera fosfina, amonio y dióxido de carbono los cuales son tóxicos para la salud humana y al ingresa al cuerpo humano la humedad gástrica acelera la liberación de este. No se registra una cantidad específica que determina la letalidad del fosfuro de aluminio encontrándose en rangos que van desde los 50 a 500 mg. llegando a causar la muerte en las personas. Los productos con ingrediente activo a base de Fosfuro de Aluminio se clasifican en la categoría IA de toxicidad ingresando al cuerpo humano por inhalación o ingesta. (Nath et al., 2011)

Pagiocerus frontalis, se encuentra distribuido principalmente en las zonas maiceras del callejón interandino (Azuay, Bolívar, Cañar, Cotopaxi, Chimborazo, Imbabura y Pichincha), afectando la integridad y calidad de los granos, además de ocasionar pérdidas totales de la producción en presencia de altas poblaciones de este insecto. En un periodo de 2 meses este gorgojo adulto puede afectar el 5 % de los granos almacenados, durante los siguientes 4 meses puede llegar a afectar al 50 % de granos almacenados, hasta alcanzar una pérdida total de granos almacenados en el transcurso de seis meses. (Gallegos & Vásquez, 1994)

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo General

Evaluar *Beauveria bassiana* para el control del gorgojo barrenador del grano (*Pagiocerus frontalis*), en grano almacenado de maíz (*Zea mays L.*), bajo condiciones controladas, Salache - Latacunga - Cotopaxi - 2021

6.2. Objetivos Específicos

- Obtener una cepa de *Beauveria bassiana* para el control de *Pagiocerus frontalis*.
- Determinar el índice de mortalidad de *Pagiocerus frontalis* mediante aplicaciones de *Beauveria bassiana* nativa y comercial de forma preventiva y curativa en granos maíz almacenado.
- Determinar el porcentaje de pérdida de peso en granos atacados por *Pagiocerus frontalis*.

7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

Tabla 1. Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos

OBJETIVO	ACTIVIDAD	RESULTADO	MEDIO DE VERIFICACION
1.- Obtener una cepa de <i>Beauveria bassiana</i> para el control de <i>Pagiocerus frontalis</i> .	<ul style="list-style-type: none"> Salida de campo para la obtención de muestras. 	Lugar con incidencia del hongo entomopatógeno <i>Beauveria</i>	Fotografías. Muestras.
	<ul style="list-style-type: none"> Recolección de insectos posiblemente infectados con hongos entomopatógenos. 	Insectos infestados con <i>Beauveria</i>	Fotografías. Protocolo de colecta.
	<ul style="list-style-type: none"> Aislamiento del hongo en el laboratorio de Agronomía. 	Obtener un aislado de <i>Beauveria</i> que se encuentre libre de contaminación.	Protocolo de aislamiento. Aislado de <i>Beauveria</i> .
	<ul style="list-style-type: none"> Identificación del hongo mediante sus características morfológicas. 	Características microscópicas y macroscópicas de <i>Beauveria</i> .	Fotografías.
	<ul style="list-style-type: none"> Elaboración de cultivos monospóricos a partir de los aislados de <i>Beauveria</i>. 	Aislamientos monospóricos que garanticen la autenticidad y	Fotografías. Cepas puras de <i>Beauveria</i> .

		pureza de los mismos.	
	<ul style="list-style-type: none"> Análisis taxonómico de <i>Beauveria</i>. 	Documento de respaldo que justifique el género y especie del hongo aislado.	Resultado de laboratorio.
	<ul style="list-style-type: none"> Multiplicación del hongo entomopatógeno a partir de aislados de <i>Beauveria</i>. 	Obtener subcultivos del hongo entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i>	Protocolo de multiplicación.
2.- Determinar el índice de mortalidad de <i>Pagiocerus frontalis</i> mediante aplicaciones de <i>Beauveria bassiana</i> nativa y comercial de forma preventiva y curativa en granos maíz almacenado.	<ul style="list-style-type: none"> Implementación de bioensayos a diferentes dosis en el laboratorio de Agronomía. 	Unidades experimentales para el registro de datos.	Fotografías.
	<ul style="list-style-type: none"> Conteo de las UFC (Unidades Formadoras de Colonias) de la <i>Beauveria bassiana</i> multiplicada en el laboratorio de Agronomía. 	Obtener la misma concentración de esporas que el producto comercial para su elaboración como solución madre.	Fotografías. Concentración de esporas.
	<ul style="list-style-type: none"> Verificación del estado del producto comercial (si se encuentra activo y número de UFC). 	Cantidad de esporas contenidas en la solución madre del	Fotografías. Contenido de 10^8 de esporas.

		producto comercial.	
	<ul style="list-style-type: none"> Registro de datos después de la aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> 	Datos que permitan realizar la discusión e interpretación para los resultados.	Libreta de datos.
	<ul style="list-style-type: none"> Conteo de la mortalidad del gorgojo barrenador del grano (<i>Pagiocerus frontalis</i>). 	Determinar la dosis de <i>Beauveria bassiana</i> que controle al gorgojo.	Tabla del porcentaje de mortalidad de <i>Pagiocerus frontalis</i> .
3.- Determinar el porcentaje de pérdida de peso en granos atacados por <i>Pagiocerus frontalis</i> .	<ul style="list-style-type: none"> Pesaje de los granos dañados de maíz por ataque de <i>Pagiocerus frontalis</i>. 	Porcentaje de peso perdido en granos dañados de maíz.	Tabla del porcentaje de granos dañados por ataque de <i>Pagiocerus frontalis</i> .

Fuente: (Tituaña, 2021)

CAPÍTULO II

8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

8.1. El Maíz

8.1.1. Generalidades del maíz

El maíz (*Zea mays L.*) es una planta herbácea que pertenece a la familia Poaceae y es considerado uno de los tres cereales más consumidos a nivel mundial junto con el trigo y el arroz. Es una especie monocotiledónea de ciclo vegetativo anual y largo. El desarrollo de esta planta comprende períodos de 80 a 200 días, desde la siembra hasta la cosecha, dependiendo de la variedad utilizada. (Grande & Orozco, 2013)

8.1.2. Origen del maíz

El origen exacto del maíz actual (*Zea mays L.*) es algo que no se ha determinado plenamente.

Ramírez, (2009) menciona que, existen dos corrientes distintas con respecto a su origen. La primera, sitúa su origen en una evolución del Teocintle (*Zea mays L. ssp. mexicana*) y el género *Tripsacum* (*Zea mexicana Schrader Kuntze*), posiblemente el más cercano al maíz.

En cuanto a la segunda tendencia se menciona que se desarrolló a partir de un maíz silvestre hoy desaparecido. (Kato et al., 2009)

Guacho, (2014) menciona que, en el Ecuador el cultivo de maíz se empezó a desarrollar hace 6500 años, y a través de investigaciones realizadas a partir de fitolitos en muestras de tierra, indican que en la Provincia de Santa Elena, los antiguos habitantes de la cultura “Las Vegas” empezaron a cultivar este cereal en esta zona.

8.1.3. Importancia del maíz en el mundo

El maíz es uno de los principales productos dentro del consumo a nivel mundial, la importancia de esta gramínea, se le atribuye por los diversos usos que tienen las diferentes partes de la planta. Las mismas que son utilizadas como alimento para el ser humano y también como alimento para animales. En cambio, en la industria el maíz se utiliza para la producción de harinas, cereales, aceites, preparación de whisky y además su follaje es utilizado como forraje para alimento del ganado. (López & Gil, 2011)

8.1.4. Importancia del maíz en el Ecuador

Suquilanda, (2012) menciona que, el maíz es un producto agrícola de gran importancia en la economía nacional, debido a su elevada incidencia social, ya que casi las tres cuartas partes de la producción total proviene de unidades familiares campesinas.

El maíz duro-seco es utilizado principalmente en la industria cuyo producto es destinado para la producción avícola y la elaboración de alimentos balanceados, lo que ha hecho que se expanda mayormente, tanto en superficie cultivada como en rendimiento y producción. Por el contrario, el maíz suave es destinado únicamente para el consumo familiar, la superficie cultiva es menor en comparación con el maíz duro; por lo tanto, el rendimiento y producción disminuyen. Los granos que son cultivados en la serranía ecuatoriana se destinan principalmente al consumo familiar, la mayoría de pequeños productores se dedican a sembrar estos productos. (Suquilanda, 2012)

8.1.5. Clasificación taxonómica del maíz

A continuación, se describe la clasificación taxonómica del maíz:

Tabla 2. Clasificación taxonómica del maíz

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Cyperales
Familia	Poaceae
Género	<i>Zea</i>
Especie	<i>mays</i>

Fuente: (Mera & Montaña, 2015)

8.1.6. Descripción Morfológica

El maíz es una planta de buen porte, posee un sistema radicular fibroso y un tallo con abundante follaje, en condiciones favorables puede tener hasta 30 hojas. Regularmente se forman una o dos yemas laterales en la axila de las hojas de la mitad superior de la planta, las mismas que desarrollan la inflorescencia femenina y esta a su vez dará origen a las

mazorcas, por otra parte, en el extremo superior de la planta se forma la inflorescencia masculina, también denominada panoja. (Paliwal, 2001)

8.1.7. Descripción Botánica

8.1.7.1. Raíz

Valarezo, (2017) menciona que, la raíz posee un aspecto robusto y son fasciculadas, cuyo objetivo es aportar alimento y, además servir como un buen anclaje que permite mantenerse la planta en pie, esto se debe a que, en el transcurso de la vida de la planta, se generan a la altura del segundo o tercer nudo por encima del suelo algunas raíces adventicias.

8.1.7.2. Tallo

Valarezo, (2017) menciona que, el tallo es de forma erecta, con una elevada longitud que puede alcanzar los 4 metros de altura, es robusto y no presenta ramificaciones. Está formado por entrenudos los cuales están separados por nudos más o menos distantes. Además, por su aspecto recuerda al de una caña que esta rellena con una médula esponjosa.

8.1.7.3. Hojas

Según Toledo, (2017) indica que, las hojas del maíz son largas y grandes, lanceoladas, alternas, venosas y ásperas en los bordes. Se abrazan al tallo originándose de los nudos del mismo y en parte posterior (haz) presenta vellosidades. Cuenta con unos extremos muy afilados y cortantes.

8.1.7.4. Inflorescencia

Es una planta monoica pues presenta dos tipos de inflorescencia que son masculina y femenina, se encuentran divididas dentro de la misma planta. Con respecto a la inflorescencia masculina posee una panícula (denominada espigón o penacho) cuya coloración es amarilla y contiene entre 20 a 25 millones de granos de polen. Con respecto, la inflorescencia femenina está formada por una menor cantidad de granos de polen, alrededor de 800 a 1 000 granos, y formándose los espádices los cuales se encuentran de forma lateral. (Toledo, 2017)

8.1.7.5. Grano

Según Guacho, (2014) menciona que, el grano está formado por una cubierta denominada pericarpio, de consistencia dura. La capa de aleurona contiene proteínas, la misma que se encarga de dar coloración al grano (morado, amarillo o blanco). El endospermo se ubica en

la parte interna del grano con el 85 – 90 % del peso del grano, finalmente el embrión está constituido por la radícula y la plúmula.

8.2. Cosecha del maíz

La cosecha comienza tan pronto como los granos de maíz alcancen su madurez fisiológica, esta se reconoce por la aparición de una capa negra ubicada en el punto de inserción de la semilla en la mazorca, siendo este el momento en que la calidad del grano está en su punto máximo. Sin embargo, el cultivo raramente es cosechado al alcanzar la madurez fisiológica debido a que los granos presentan un contenido elevado de humedad que oscila entre los (30-35%), siendo lo óptimo un rango de humedad del 10 -12% para su buen almacenamiento. (Paliwal, 2001)

Según Paliwal, (2001) indica que, cuanto más tiempo se demore la cosecha más humedad perderán los granos. Sin embargo, cuanto más tiempo se mantenga el maíz en el campo, existe mayor posibilidad de ser susceptible al ataque de insectos plagas de granos almacenados, daños ocasionados por pájaros, pudrición de las mazorcas y posiblemente vuelcos generados por la pudrición del tallo.

8.3. Poscosecha del maíz

La práctica de poscosecha para el grano de maíz es muy importante debido a que permite mantener una buena calidad e integridad de los granos, es destinado para el consumo familiar y comercialización. Las pérdidas producidas en los granos almacenados de maíz se deben principalmente al ataque de diferentes plagas como: insectos, hongos y roedores. También, existen factores externos que causan pérdidas en los granos de maíz en la etapa de poscosecha, como lo son: el exceso de humedad, las impurezas y altas temperaturas, los cuales, por desconocimiento, no se manejan adecuadamente. (Deras, 2012)

A continuación, se describen las operaciones a realizarse para el manejo en poscosecha de maíz:

8.3.1. Doblado

Se realiza una vez la mazorca alcance su madurez fisiológica, transcurrido 30 días después se ejecuta la cosecha. Al realizar esta práctica se contribuye a la disminución de la pudrición de la mazorca y así permitiendo al productor recolectar el maíz con el grano más seco evitando pérdidas. (Loor, 2019)

8.3.2. Recolección

Esta actividad se la realiza de forma manual y por medio del uso de máquinas evitando causar daños a las mazorcas, por lo general el maíz que es recolectado de campo tiene una humedad que oscila entre el 30 – 35 %. (Loor, 2019)

8.3.3. Secado

El secado de los granos se lo realiza de forma artificial y de forma natural. Con respecto al secado natural, se lo realiza utilizando tendales cuando las condiciones climáticas sean óptimas, con temperaturas mayores a los 20 °C y una humedad relativa menor a los 60%. En el caso del secado artificial se lo realiza por medio de secadoras de caballetes, distribuyendo el grano en capas de menor espesor, permitiendo un intercambio entre aire y grano. (Morochó, 2016)

8.3.4. Selección y clasificación

Este proceso se lo realiza seleccionando las mejores mazorcas, considerando la calidad, tamaño y uniformidad, eliminando aquellas mazorcas que se encuentren afectadas por el ataque de insectos o pájaros, se encuentren enfermas o con deformaciones, esta actividad ayuda a descartar las mazorcas que no son aptas para la comercialización. (Loor, 2019)

8.3.5. Limpieza

Según Hernández & Puentes, (2012) indican que, esta actividad consiste en descartar o desechar todo tipo de material diferente a los granos ya sea material vegetal o escombros, que generalmente se mezclan durante la cosecha como son ramas, hojas, piedrecillas, entre otros. Esta labor se la realiza debido a que los materiales antes mencionados afectan negativamente a la conservación de los granos acelerando de manera directa su deterioro, debido a que ocasiona un aumento en la temperatura y humedad de los granos haciéndolos más susceptibles al ataque de insectos, hongos y bacterias.

8.3.6. Desgranado

Loor, (2019) menciona que, existen dos formas de realizar el desgrane en el maíz, la primera forma consiste en realizar un desgrane de manera manual y la segunda por medio de desgranadoras mecánicas evitando utilizar revoluciones muy altas que pueden contribuir a una rotura completa del grano de maíz.

Al llevar a cabo esta actividad, se recomienda desgranar únicamente la parte central de la mazorca para la obtención de semillas, además con esta actividad se llega a descartar los granos pequeños que se han formado a los extremos de la mazorca. Al momento que se efectuó el desgrane se desecha todos los granos dañados y podridos. (Yáñez et al., 2013)

8.3.7. Almacenamiento

En la etapa de almacenamiento pueden darse pérdidas en el maíz ocasionadas por insectos, hongos, pájaros y roedores. En el caso de los insectos el ataque se da a través del centro del grano debido a su alto contenido de aceites, vitaminas y minerales. (Loor, 2019)

Yáñez et al., (2013) mencionan que, los granos de maíz deben estar limpios, sin presencia de impurezas, ni granos partidos, antes de que ingresen al silo deben cumplir con las siguientes características (ser sanos, libre de insectos), para que no alteren el contenido de humedad y produzcan la proliferación de hongos.

8.3.8. Principales plagas en maíz almacenado

El almacenamiento de granos de maíz, es el período dónde se producen las mayores pérdidas por problemas con las condiciones de conservación. Se estima que el 25% de los cereales almacenados destinados a la alimentación se pierde por el ataque de plagas, la incorrecta manipulación y deterioro. (Morales, 2019)

Según Lara et al., (2007) mencionan que, los insectos plagas varían dependiendo de la región, la estación o época del año y el periodo del almacenamiento. Los insectos plagas de granos almacenados se los clasifica en dos grupos: plagas primarias y plagas secundarias.

Las plagas primarias están conformadas por insectos que atacan el grano sano, sin ningún daño previo, siendo las más importantes durante el almacenamiento por el daño que ocasionan pudiendo sobrevivir en residuos de los granos; su fuente de alimento es limitada llegando a morir cuando esta escasea y en altos niveles de poblaciones de estos insectos llegan a morir por la falta de alimento. (Lara et al., 2007)

Dentro del grupo de plagas primarias se ubica a *Pagiocerus frontalis*, además se destacan los siguientes insectos plagas:

8.3.8.1. Gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamays*)

Es un pequeño gorgojo de color negro o marrón, en su etapa adulta puede medir entre 3,3 y 5 mm de largo. Esta plaga se lo reconoce por presentar un “pico” la cual le atribuye también el nombre de picudo del maíz, con el cual se alimenta perforando los granos. La infestación puede darse en el campo y, cuando llega el maíz se reproducen rápidamente. (Lara et al., 2007)

8.3.8.2. Barrenador grande del grano (*Prostephanus truncatus*)

El insecto en etapa adulta posee una forma cilíndrica y alargada, con una terminación en cuadro, sus dimensiones son de 3 a 4 mm de largo; presenta una tonalidad de color que va de café rojizo a café oscuro. La característica distintiva de este insecto es que el protórax cubre la cabeza del mismo asemejando una capucha. Cuando el grano es atacado por este insecto se observa una gran cantidad de polvillo semejante a la harina producto de la perforación de los granos al alimentarse. (Bourne et al., 2014)

8.3.8.3. Palomilla de los granos (*Sitotraga cerellela*)

Es una diminuta palomilla de coloración amarillo a grisáceo, mide entre 6 a 9 mm de longitud. Las larvas son las únicas que se alimentan de los granos hasta convertirse en pupas y posteriormente en adultos los mismos no cuentan con un aparato bucal que les permita alimentarse; por tal motivo, viven hasta 4 días. En presencia de climas cálidos esta plaga se reproduce rápidamente; iniciando su infestación en el campo y continuando en el almacenamiento. (Lara et al., 2007)

Lara et al., (2007) mencionan que, las plagas secundarias se alimentan únicamente de los granos que han sido dañados por el grupo de plagas primarias, es decir que no atacan los granos sanos.

Entre el grupo de plagas secundarias se encuentran:

8.3.8.4. Escarabajo castaño (*Tribolium castaneum*)

El adulto es delgado y mide de 3 a 4 mm de longitud, poseen una coloración que va de rojizo a marrón. Este insecto ataca productos como: granos, harinas y otros materiales almidonosos. Se alimentan únicamente de granos quebrados que han sido atacados por las plagas primarias de almacén. (Morales, 2019)

8.3.8.5. Barrenillo de los granos (*Rhyzoperta dominica*)

En estado adulto llega a medir entre 2 a 3 mm de longitud, su coloración puede variar de pardo rojizo a negruzco. Posee un cuerpo cilíndrico y alargado pero su cabeza y protórax son de aspecto curvo. El daño que producen en los granos es visible a través de las perforaciones irregulares que provocan y la formación de polvillo producto del ataque de este insecto. (Lara et al., 2007)

8.4. Gorgojo barrenador del grano (*Pagiocerus frontalis*)

8.4.1. Generalidades

La familia Curculionidae es numerosa, con un aproximado de 40.000 especies registradas en la que se incluye los gorgojos o picudos. Las diversas especies que pertenecen a esta familia son encontradas en diferentes hábitats, como barrenadores o minadores de plantas, tallos, raíces, semillas, granos cosechados, etc. (Castro & Mejía, 2011)

Según Castro & Mejía, (2011) indican que, un aproximado de 30 especies perteneciente a la familia Curculionidae son hospederos directos en granos y productos almacenados y solo tres especies son consideradas como plagas principales por su gran capacidad destructiva tanto en el estado larval como en el estado adulto.

8.4.2. Origen y distribución

El gorgojo barrenador del grano (*Pagiocerus frontalis*), está distribuido desde el Sur de Estados Unidos, América Central, el Caribe y en tierras altas de países Sudamericanos (Ecuador, Perú, Colombia y Chile), en estas regiones este gorgojo es considerado como una de las principales plagas que atacan los granos de maíz almacenado. (Castro & Mejía, 2011)

En Ecuador a *Pagiocerus frontalis* se lo denomina también redondilla o gorgojo volador, se lo registra en toda la región interandina con altitudes entre 1500 y 2600 m s. n. m., y temperaturas promedio de 14 a 18,5°C. (Wendt & Schulz, 1990)

Gráfico 1. Distribución de *Pagiocerus frontalis*



Fuente: (Castro & Mejía, 2011)

8.4.3. Clasificación taxonómica del gorgojo barrenador del grano

A continuación, se describe la clasificación taxonómica del gorgojo barrenador del grano:

Tabla 3. Clasificación taxonómica de *Pagiocerus frontalis*

Reino	Animalia
Clase	Insecta
Orden	Coleóptera
Suborden	Polyphaga
Superfamilia	Curculionoidea
Familia	Curculionidae
Subfamilia	Scolytinae
Tribu	Hylesinin
Subtribu	Borthrosternina
Género	<i>Pagiocerus</i>
Especie	<i>frontalis</i>

Fuente: (Marvaldi & Lanteri, 2005)

8.4.4. Descripción morfológica

Willie, (2008) describe a *Pagiocerus frontalis*, como un pequeño gorgojo, de color marrón oscuro; en estado adulto puede medir una longitud de 2.5 mm y 1.5 mm de ancho; su cabeza está conformado por una trompa corta y posee una escaza vellosidad en el área dorsal.

8.4.5. Ciclo biológico

El ciclo de vida de huevo a adulto tiene una duración mínima de 25 días con una temperatura de 23 °C y una humedad relativa que oscila entre los rangos del 60 al 90%, después de un período de preoviposición de 2 y 2.3 días. En granos de maíz suave se ha registrado un período de supervivencia de 223 días en individuos adultos. (Wendt & Schulz, 1990)

8.4.6. Estadios de desarrollo de *Pagiocerus frontalis*

Según Gómez & Aguilera, (1982), indica que *Pagiocerus frontalis*, pasa por cuatro estadios. A continuación, se describe cada uno de los estadios:

8.4.6.1. Huevo

Es de forma ovoide, con un corion flexible, es pegajoso y transparente; la parte superior es lisa con una coloración blanquecina; tiene un tamaño que oscila entre los 0.10 a 0.52 mm de largo y un ancho de 0.05 a 0.39 mm.

8.4.6.2. Larva

Es de tipo escarabeiforme de coloración blanca a excepción de la cabeza que presenta un color amarillento, los segmentos torácicos que poseen son más desarrollados que los abdominales, carece de patas torácicas, sus dimensiones son: 1.65 a 0.49 mm de largo por 0.81 a 0.31 mm de ancho.

8.4.6.3. Pupa

Llega a medir entre 0.9 a 2.30 mm de largo y 0.32 a 1.06 mm de ancho, son blanquecinas y a medida que se va desarrollando se va oscureciendo los ojos, las mandíbulas y las patas.

8.4.6.4. Adulto

En estado adulto este gorgojo llega a medir 2,5 mm de largo y 1,5 mm de ancho; presenta una coloración marrón, con una trompa corta, al lado posterior tiene escaza vellosidad.

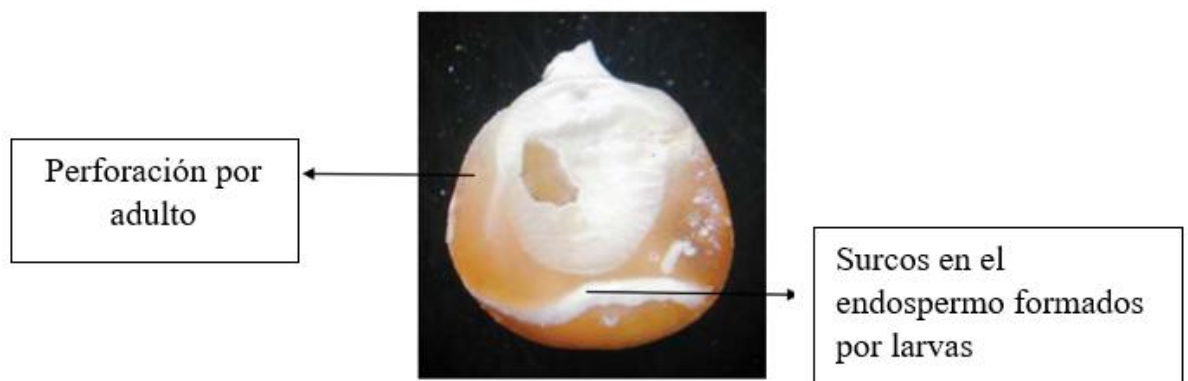
8.4.7. Comportamiento y ataque característico de *Pagiocerus frontalis*

Según Willie, (2008) indica que, los insectos en estado adulto raspan la epidermis de la semilla, de preferencia perforan la parte apical (centro) del grano; una vez dentro del grano tanto el macho como la hembra excretan en el interior de los agujeros. A lo largo de su vida los adultos pasan en el interior del grano; sin embargo, cuando la población se incrementa de dos a más adultos/grano, llegan a migrar a otros granos.

Castro & Mejía, (2011) indican que, el ataque característico de este gorgojo es la gran cantidad de polvillo que se asemeja a la harina que los adultos dejan después de perforar y alimentarse de los granos. En presencia de grandes infestaciones los adultos llegan a dañar estructuras de madera o contenedores de plástico.

En su vida reproductiva las hembras llegan a producir aproximadamente 250 huevos que son depósitos en el interior del grano y cubiertos con un mucílago transparente. Al igual que el adulto las larvas de *Pagiocerus frontalis* se alimentan del endospermo del grano hasta transformarse en pupa. (Castro & Mejía, 2011)

Gráfico 2. Grano de maíz atacado por *Pagiocerus frontalis*



Fuente: (Castro & Mejía, 2011)

8.4.8. Métodos de control

Existen varios métodos que permiten controlar las plagas en granos almacenados, a continuación, se mencionan los siguientes:

8.4.8.1. Control Cultural

García, (2009) menciona algunos métodos tradicionales para el control del gorgojo:

- Exponer periódicamente los granos al sol.
- Aplicar ceniza, arena y aceites sobre los granos.
- Realizar cosechas tempranas disminuye el tiempo de exposición al ataque de gorgojos.
- Limpiar previamente el lugar donde se almacenará los granos de maíz evitando la presencia de gorgojos.
- Evitar usar sacos viejos y rotos.

8.4.8.2. Control Físico

Álvarez, (2020) explica que, el control físico consiste en almacenar la cosecha de granos de maíz, dentro de diferentes tipos de envases ya sean plásticos o metálicos; estos envases deben estar sellados herméticamente evitando el ingreso de O₂ del medio ambiente (exterior), hacia el interior del envase. Para todo ser vivo el oxígeno es esencial para su supervivencia y ante la ausencia del mismo la plaga que se encuentre en el interior del recipiente herméticamente cerrado morirá lentamente.

8.4.8.3. Control Químico

El uso de insecticidas para el control de insectos plaga en granos almacenados se divide en tres grupos: preventivos, curativos y de rápida acción. En el grupo preventivo generalmente se utilizan insecticidas residuales líquidos o en polvo con la capacidad de controlar adultos y algunas fases juveniles, pero incapaces de controlar huevos, larvas y pupas que se desarrollan al interior del grano. Como su nombre lo indica los insecticidas preventivos tienen el propósito de evitar que el insecto plaga ingrese al grano por un tiempo determinado después de ser aplicados; la aplicación se lo realiza en instalaciones vacías previo a la recepción del grano o también sobre el grano mismo antes de ser almacenado. Para el control del gorgojo de maíz, mayormente los insecticidas utilizados son los curativos, que controlan los insectos plagas ya presentes en los granos. En el caso de los insecticidas denominados curativos generalmente se utilizan gases que actúan por inhalación, requieren el mayor grado de hermeticidad posible y un tiempo de exposición determinado. Estos insecticidas tienen la capacidad de controlar adultos, pupas, larvas y huevos que se

desarrollan en el interior del grano. Los insecticidas curativos tienen el propósito de eliminar una plaga presente, controla la infestación, pero no brinda ningún tipo de protección contra futuras infestaciones. (Abadía & Bartosik, 2013)

Abadía & Bartosik, (2013) mencionan que, el producto químico más usado por el agricultor para el control de insectos plagas en granos almacenados es la fosfina o fosforo de aluminio. La fosfina es un gas altamente tóxico para los insectos, con la capacidad de eliminar todos sus estadios de desarrollo (huevos, larvas, pupas y adultos). Este químico al ser aplicado sobre la semilla no afecta su poder germinativo y desaparece completamente en el transcurso de 15 días. Al entrar en contacto con la humedad el fosforo de aluminio libera un gas que no presenta color, pero si generar un olor fuerte y desagradable que es fácilmente detectable, tiene un alto poder de penetración, lo que le permite ingresar a todos los rincones del recipiente o lugar de almacenamiento. (Nath et al., 2011)

Álvarez, (2020), informa sobre el mecanismo de acción del fosforo de aluminio, ingresa a través de los poros respiratorios provocando instantáneamente la muerte del insecto por alteración de los procesos de respiración celular. Causando una fuerte irritación al tracto respiratorio, destruyendo las paredes y membranas celulares, induciendo a la peroxidación lipídica.

8.4.8.4. Control Biológico

Lara et al., (2007) mencionan que, hay gran cantidad de depredadores que se alimentan de insectos plagas en granos almacenado. La más importante y el depredador que mayormente se utiliza es una avispa que pertenece a la familia Pteromalidae enemiga natural del gorgojo. Esta avispa es de color verde metálico y pequeña, permaneciendo junto a los gorgojos. El ataque de la avispa comienza localizando el orificio realizado por la larva del gorgojo, ingresando el ovopositor y depositando su huevecillo cerca de la larva del gorgojo, a los 14 días esta emerge y finalmente la larva del gorgojo muere.

Castillo, (2014) señala que, este método de control se basa en la utilización de microorganismos como bacterias, hongos e insectos (depredadores) para mitigar la población de insectos plaga. Se conoce alrededor de 1500 especies de microorganismos entomopatógenos, incluidos hongos, virus, protozoarios y bacterias.

Tanada & Kaya, (1993) señalan, los siguientes ordenes de insectos que son infectados por hongos entomopatógenos: Hemíptera, Díptera, Coleóptera, Lepidóptera, Hymenóptera y Orthóptera. En ciertos casos cuando el insecto se encuentra en estados inmaduros (ninfas y larvas) el nivel de infestación es menor que en los estados maduros (adulto). Con respecto a los estados de huevo y pupa no son frecuentemente infectados. Actualmente el uso de hongos entomopatógenos se considera una alternativa de control para insectos plagas y lo conforman más de 750. (Pucheta et al., 2006)

8.5. Hongo Entomopatógeno *Beauveria bassiana*

8.5.1. *Beauveria bassiana*

Este hongo entomopatógeno fue descrito por primera vez por Jean Beauverie en el año de 1911 bajo el nombre de *Botrytis bassiana*. Después, Vuillemin lo describió en su clase actual. Se realizaron ensayos enzimáticos en donde se determinó el género *Beauveria spp.*, y además se diferenció seis especies mencionadas a continuación: *B. alba*, *B. amorpha*, *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *B. velata* y *B. caledonica*. (Noboa & Quelal, 2015)

8.5.2. Distribución geográfica

Jara, (2009) indica que, el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* se desarrolla de manera natural en los suelos, es un hongo cosmopolita, es decir que se distribuye por todo el mundo, de forma saprofítica y parásita infectando mayormente a insectos del orden Coleóptera y Lepidóptera.

8.5.3. Generalidades de *Beauveria bassiana*

El hongo *Beauveria bassiana* por su alto poder entomopatógeno tiene la capacidad de parasitar a insectos de diferentes especies causando la enfermedad denominada “muscardina blanca”. El signo de esta enfermedad se observa fácilmente debido a que las conidias cubren el cuerpo o los espacios articulares del insecto hospedero con una capa de color blanco. Este hongo pertenece a la clase Deuteromycetes y de esta manera se encuentra en la clasificación de los hongos imperfectos. (Castillo et al., 2009)

8.5.4. Clasificación taxonómica de *Beauveria bassiana*

A continuación, se describe la clasificación taxonómica de *Beauveria bassiana*:

Tabla 4. Clasificación taxonómica de *Beauveria bassiana*

Reino	Fungi
División	Amastigomicotina
Subdivisión	Deuteromycotina
Clase	Deutermycetes
Subclase	Hyphomycetes
Orden	Moniliales
Familia	Moniliaceae
Género	<i>Beauveria</i>
Especie	<i>bassiana</i>

Fuente: (Gallegos et al., 2004)

8.5.5. Caracterización morfológica de *Beauveria bassiana*

8.5.5.1. Características macroscópicas

Mandujano, (2015) menciona que, el hongo en cultivo puro y sembrado en PDA (Papa Dextrosa Agar), al transcurso de 15 días presenta un micelio algodonoso de color blanco a medida que pasa el tiempo se vuelve de aspecto polvoriento de color amarillento o cremoso. Al reverso de la placa en la parte central es de color rojizo y en los alrededores es de color amarillento.

8.5.5.2. Características microscópicas

El micelio se ramifica formando conidióforos simples e irregulares que terminan en vértices en forma de racimo, el conidióforo es abultado en su base, surgiendo un adelgazamiento en el área donde se insertan los conidios los cuales son globosos de 2.09 μ de largo 1.6 μ de ancho, estos se insertan sobre estigmas dispuestos en zigzag. (Castillo, 2014)

8.5.6. Condiciones de crecimiento de *Beauveria bassiana*

A continuación, se detallan las condiciones óptimas para el desarrollo de *Beauveria bassiana*:

Tabla 5. Condiciones de desarrollo para *Beauveria bassiana*

Factor	Descripción
pH	Crecimiento: 5,7 a 5,9
Temperatura	Crecimiento micelial: 10 °C a 30 °C Crecimiento y esporulación: 28 °C
Humedad Relativa	Crecimiento: 92,5 % a 94 %
Necesidades nutricionales	Sacarosa Fuentes de carbono (glucosa, almidón y pectina) Nitrógeno

Fuente: (Noboa & Quelal, 2015)

8.5.7. Mecanismo de acción de *Beauveria bassiana*

El mecanismo de acción del hongo entomopatógeno está conformado por dos fases: patogénica y saprofítica.

Jara, (2009) indica que, la primera fase patogénica también denominada infectiva, inicia cuando las conidias entran en contacto con la cutícula del hospedero (insecto) y en condiciones óptimas de humedad (92%), las conidias comienzan a germinar y penetrar la cutícula del insecto y finalmente se desarrolla el micelio blanco en el cuerpo del insecto.

El hongo se desarrolla en el punto de infección, produciendo toxinas que se difunden en el celoma, a través de la hemolinfa y causa la muerte. A partir de la muerte del insecto y en condiciones óptimas de humedad el hongo se empieza a desarrollar abundantemente sobre el insecto muerto, produciendo una gran cantidad de conidias que son los propágulos que dan origen a una nueva infección. (Jara, 2009)

CAPÍTULO III

9. HIPÓTESIS

Mortalidad de *Pagiocerus frontalis*

H₀: La aplicación de *Beauveria bassiana* no produce mortalidad en insectos adultos de *Pagiocerus frontalis*.

H_a: La aplicación de *Beauveria bassiana* si produce mortalidad en insectos adultos de *Pagiocerus frontalis*.

10. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

10.1. Localización del ensayo

El ensayo se ubicó en el Laboratorio de microbiología de la Carrera de Agronomía, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

10.1.1. Croquis

Campus Experimental Salache, barrio Eloy Alfaro, cantón Latacunga a una altura de 2730 (m s. n. m.) con 78°37'25" de longitud oeste y 00°59'55" de latitud sur.

Gráfico 3. Croquis de ubicación del proyecto



Fuente: (Google Earth, 2021)

10.2. Tipo de Investigación

10.2.1. Experimental

Se diseñó un fenómeno en donde las variables fueron manipuladas en condiciones controladas. El fenómeno estudiado se midió acorde a lineamientos establecidos.

10.3. Métodos de Investigación

10.3.1. Observación Científica

La observación científica permitió obtener una percepción directa del objeto de investigación.

10.3.2. Cuantitativo

Se obtuvo datos que son procesados, los mismos proporcionaron una fuente verídica de los resultados obtenidos.

10.3.3. Inductivo

Se obtuvieron conclusiones generales a partir de premisas particulares que se procesaron a lo largo de la investigación.

10.4. Técnicas de Investigación

10.4.1. Observación directa

Se permitió estar en contacto con el insecto plaga *Pagiocerus frontalis* utilizados en la investigación y a su vez se observó el comportamiento de los mismos al ser inoculados con diferentes dosis de *Beauveria bassiana*.

10.4.2. Fichaje

Permitió el registro de datos que se obtuvo de las fichas, las cuales fueron elaboradas y ordenadas que contendrían la mayor información posible obtenida de la investigación.

10.5. Materiales y Equipos

10.5.1. Materiales de laboratorio:

1. Insectos infestados con *Beauveria bassiana*
2. Agar Papa Dextrosa (PDA)

3. Agua destilada
4. Cajas Petri
5. Antibiótico (Gentamax 280) presentación de ampolleta
6. Pinzas metálicas
7. Agujas de disección
8. Bisturí
9. Porta y cubre objetos
10. Aislados de *Beauveria Bassiana*

10.5.2. Materiales para el ensayo:

1. Granos de maíz
2. Vasos de 14 onzas
3. Lienzo o Tela Tul
4. Ligas plásticas

10.5.3. Equipos de laboratorio:

1. Microscopio
2. Autoclave
3. Cámara de Flujo Laminar
4. Cámara de Incubación
5. Cámara de Neubauer

10.6. Diseño Experimental

Se realizó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA), con un arreglo factorial $A \times B \times C + 1$; donde se presentó el Factor (A) como *Beauveria bassiana* (nativa y comercial), el Factor (B) como dosis (2; 2,5; 3 cc) y el Factor (C) forma de aplicación (preventivo y curativo). Este diseño contó con un testigo (granos de maíz inoculados con insectos adultos de *Pagiocerus frontalis*). Se realizaron tres repeticiones por cada tratamiento planteado, dando un total de $13 \times 3 = 39$ unidades experimentales.

10.7.Unidad Experimental

La unidad experimental constó de 100 granos de maíz ubicados en vasos plásticos transparentes, en estos vasos se inoculó 10 gorgojos adultos de *Pagiocerus frontalis*.

10.8.Factores en estudio

El presente ensayo constó de tres factores en estudio:

Factor A: *Beauveria bassiana*

Bn = *Beauveria* nativa

Bc = *Beauveria* comercial

Factor B: Dosis de aplicación

D1 = Dosis 1 (2 cc) bajo

D2= Dosis 2 (2,5 cc) normal

D3= Dosis 3 (3 cc) alto

Factor C: Forma de aplicación

Pre = Preventivo

Cur = Curativo

10.9.Tratamientos en estudio

A continuación, se presentan los tratamientos y su simbología utilizados en el ensayo experimental:

Tabla 6. Tratamientos en estudios acorde al diseño experimental planteado

TRATAMIENTOS	SIMBOLOGÍA	<i>Beauveria bassiana</i>	DOSIS	FORMA DE APLICACIÓN
T1	Bnd1Pre	Nativa	2 cc	Preventivo
T2	Bnd2Pre	Nativa	2,5 cc	Preventivo
T3	Bnd3Pre	Nativa	3 cc	Preventivo

T4	Bcd1Pre	Comercial	2 cc	Preventivo
T5	Bcd2Pre	Comercial	2,5 cc	Preventivo
T6	Bcd3Pre	Comercial	3 cc	Preventivo
T7	Bnd1Cur	Nativa	2 cc	Curativo
T8	Bnd2Cur	Nativa	2,5 cc	Curativo
T9	Bnd3Cur	Nativa	3 cc	Curativo
T10	Bcd1Cur	Comercial	2 cc	Curativo
T11	Bcd2Cur	Comercial	2,5 cc	Curativo
T12	Bcd3Cur	Comercial	3 cc	Curativo
T13	Testigo			

Fuente: (Tituaña; 2021)

En donde:

Bn: *Beauveria bassiana* nativa

Bc: *Beauveria bassiana* comercial

d1: Dosis 1 (2 cc) baja

d2: Dosis 2 (2,5 cc) media

d3: Dosis 3 (3 cc) alta

Pre: Forma de aplicación preventivo

Cur: Forma de aplicación curativo

10.10. ADEVA

A continuación, se presenta el modelo del ADEVA correspondiente al diseño experimental:

Tabla 7. Esquema del ADEVA

F.V.	gl
TRATAMIENTOS	12
BLOQUES	2
FACTOR A (<i>Beauveria</i>)	1
FACTOR B (Dosis)	2
FACTOR C (Forma de aplicación)	1
FACTOR A*FACTOR B	2
FACTOR A*FACTOR C	1
FACTOR B*FACTOR C	2
FACTOR A*FACTOR B*FACTOR C	2
Testigo vs Tratamientos	1
Error	24
Total	38

Fuente: (Tituaña; 2021)

10.11. Variables en estudio

A continuación, se presenta las variables en estudios a evaluar en la investigación:

Tabla 8. Variables a evaluar

TIPO DE VARIABLE	NOMBRE	INDICADOR	ÍNDICE
DEPENDIENTE	Mortalidad	Mortalidad del gorgojo barrenador del grano	% de mortalidad de insectos (adultos)
	Granos dañados	Daño causado en los granos de maíz por el gorgojo	% de granos dañados

	Pérdida de peso de granos	Peso perdido en semillas de maíz dañadas	% de pérdida de peso de semillas
INDEPENDIENTE	<i>Beauveria bassiana</i>	Concentración de esporas 10^8	Suspensión de tres dosis 2 cc 2,5 cc 3 cc

Fuente: (Tituaña; 2021)

10.12. Manejo del Experimento

La presente investigación constó de tres fases, siendo estas:

10.12.1. Fase de captura, aislamiento, re-aislamiento y multiplicación de *Beauveria bassiana*.

La ejecución de esta fase se lo realizó a partir de protocolos establecidos tanto para el método de captura, método de aislamiento, método de re-aislamiento y método de multiplicación.

10.12.1.1. Método de captura:

Se empleó la metodología utilizada por (Castillo et al., 2012) mencionando, una recolección en campo de insectos muertos infectados por especies de *Beauveria*, los cuales presentan una cubierta blanca muy densa formada por el micelio y esporulación del hongo. Generalmente los insectos atacados se momifican quedando adheridos en la planta.

A continuación, se detalla la obtención de muestras:

- 1.- La recolección de los insectos (picudo negro del plátano), se realizó en un lote ubicado en el sector “Congoma bajo” perteneciente a la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas.
- 2.- Para efecto de la recolección de insectos se ocupó tarrinas plásticas transparentes y papel adsorbente (simulando una cámara húmeda).

3.- En el lugar del muestreo se observó en el interior de los pseudotallos de plátanos cortados y se visualizó posibles insectos adheridos en su interior momificados y cubiertos por un micelio blanco.

4.- Se retiró el insecto cuidadosamente del material vegetal y posteriormente se lo depositó en el papel adsorbente.

5.- Finalmente la muestra se la depositó en la tarrina para su análisis en laboratorio.

La metodología empleada se detalla en el Protocolo de colecta (Anexo 19).

10.12.1.2. Método de aislamiento:

Se empleó la metodología utilizada por (Castillo et al., 2012) mencionando que, las muestras obtenidas se las debe colocar en el medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) para su crecimiento.

A continuación, se detalla los pasos realizados y materiales utilizados para el aislamiento de *Beauveria*:

1.- Se preparó medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), realizando los cálculos recomendables para la cantidad de agua destilada y agar a utilizarse.

Cantidad para el agua destilada: 100 ml a razón de 4 – 5 cajas Petri.

Cantidad para el agar: 39 gr. a razón de 1000 ml de agua destilada.

2.- Se esterilizó el medio de cultivo en la autoclave junto al resto de materiales como pinzas y agujas de disección en un período de tiempo de 45 minutos; en el caso de contar con cajas Petri de vidrio se las debe esterilizar.

3.- Previamente se debe desinfectar con alcohol la cámara de flujo laminar y una vez que el medio y los materiales se encuentren esterilizados se los colocó en la cámara y posteriormente el medio se lo depositó en cada caja Petri.

4.- Las muestras de insectos se colocó en cada caja Petri respectivamente y se las selló con cinta Parafilm.

5.- Se realizó un rotulado para su identificación, identificando la fecha de elaboración de la caja Petri y tipo de muestra que se colecto.

6.- Posteriormente las cajas se cubrió con papel film con el propósito de evitar contaminaciones y finalmente se las colocó en la cámara de incubación a una temperatura de 24°C, con un período de tiempo de 5 a 7 días.

7.- Al transcurso de 5 – 7 días se observó el crecimiento micelial de *Beauveria* la misma que cubrió por completo al insecto recolectado.

8.- Se realizó la identificación en el microscopio para lo cual se hizo un leve raspado de la parte micelial del hongo y se lo colocó en un porta objetos, seguidamente se añadió una gota de azul de metileno con la finalidad de teñir las estructuras del hongo y finalmente se observó en el microscopio.

La metodología empleada se detalla en el Protocolo de aislamiento e identificación (Anexo 19).

10.12.1.3. Método de re-aislamiento:

Se lo empleó para garantizar la autenticidad y pureza de las placas Petri. Partiendo de aislamientos monospóricos que pueden ser por colonia o por punta de hifa.

Se realizó el aislamiento de cultivos monospóricos por colonia, para lo cual se adaptó la metodología utilizada por (Cañedo & Ames, 2004).

A continuación, se describen los pasos para la elaboración de cultivos monospóricos:

- 1.- Se seleccionó placas Petri con el hongo en estudio cuyas características sean las mejores y libres de contaminación.
- 2.- En cada caja Petri se colocó agua destilada y con un asa metálica se realizó un leve raspado sobre la superficie de la caja.
- 3.- El contenido de producto del raspado se lo depositó en una probeta hasta completar los 100 ml.
- 4.- Una vez obtenida esta solución se realizó un conteo de conidias con una Cámara de Neubauer con la finalidad de conocer la concentración con la que se trabajó.
- 5.- En la cámara de flujo laminar, con una micropipeta se realizó una dilución de 900 μ l de agua destilada estéril y 100 μ l de la solución. Se colocó en tubos Eppendorf.
- 6.- La dilución contenida en los tubos Eppendorf se agitó por 30 segundos con el agitador digital.
- 7.- Previamente se preparó Agar-agua y con una micropipeta se depositó toda la dilución en una caja Petri y con un asa metálica se esparció todo el contenido por la caja. Se selló con cinta Parafilm y se rotuló con la fecha y nombre.
- 8.- Al transcurso de 24 a 48 horas se observó por medio del microscopio las cajas Petri en dónde se apreció las estructuras formándose para lo cual únicamente se trabajó con una espora, posteriormente se señaló el sitio donde se ubica la espora y con un bisturí se recortó la zona y se colocó en un medio de cultivo con PDA.

9.- Al transcurso de 8 días se observó la presencia de colonias formadas del hongo. Finalmente, el contenido de esta caja se envió a un laboratorio externo para el análisis taxonómico.

10.12.1.4. Método de multiplicación:

Se empleó la metodología utilizada por (Choquetarqui et al., 2011) mencionando que, de los aislados de *Beauveria*, se realizarán varios cortes de 5 mm con un bisturí y posteriormente serán colocados en un medio de cultivo fresco (PDA) suplementado con un antibiótico (a base de gentamicina) y sellado con cinta Parafilm y debe ser colocado en la cámara de incubación.

A continuación, se detalla los pasos realizados y materiales utilizados para la multiplicación de *Beauveria bassiana*:

- 1.- Se preparó medio de cultivo siguiendo los pasos descritos en la metodología de aislamiento anteriormente. Además, se desinfectó la cámara de flujo laminar.
- 2.- El medio de cultivo se llevó a la cámara de flujo laminar esterilizada y se lo dejó enfriar a temperatura ambiente, posteriormente se colocó el antibiótico “Gentamax 280” en su presentación de ampolleta, finalmente el medio de cultivo se lo mezcló con el antibiótico.
- 3.- De la caja Petri que contenga el asilado de *Beauveria*, se realizó cortes con un bisturí en aquellas partes en las que se evidenció mayor proporción del micelio blanco y con una pinza se retiró el pedazo cortado y se lo colocó en la caja Petri, seguidamente se selló con cinta Parafilm, finalmente se colocó en la cámara de incubación a una temperatura promedio de 24°C durante 7 días.
- 4.- Al transcurso de 7 días se observó que la caja Petri está cubierta con *B. bassiana*. La misma que será considerada como el primer subcultivo limpio y libre de contaminación.
- 5.- Se preparó nuevamente medio de cultivo (PDA) suplementado con el antibiótico (Gentamax de 280) y se lo colocó en cajas Petri.
- 6.- Del subcultivo de *B. bassiana* se realizó cortes de 5 mm con el bisturí y cada corte se colocó en una caja Petri respectivamente, seguidamente se selló con la cinta Parafilm y se identificó.
- 7.- Finalmente se envolvió con papel film y se colocó las cajas en la cámara de incubación y en un período de 5 – 7 días se obtuvo nuevas cajas Petri que se encuentran cubiertas con el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*.

La metodología empleada se detalla en el Protocolo de multiplicación (Anexo 19).

10.12.2. Fase de conteo y elaboración de la solución madre

En la ejecución de esta fase se adaptó la metodología utilizada por (Antía et al., 1992) mencionando que, la preparación de la solución madre se realiza con un volumen de Agua Destilada Estéril (ADE) de 200 ml y el hongo *Beauveria* producido en cajas Petri.

10.12.2.1. Solución madre

A continuación, se describe la elaboración de la solución madre:

- 1.- Se seleccionó 6 cajas Petri de las cepas de *Beauveria*, para la selección se consideró características del micelio como su coloración, esporulación y libre de contaminación.
- 2.- En cada caja Petri se colocó agua destilada y se realizó un raspado del contenido micelial con un asa metálica.
- 3.- El contenido de las cajas Petri se los depositó en una probeta de vidrio de 100 ml.

La metodología empleada se detalla en el Protocolo de elaboración de la suspensión o solución madre (Anexo 19).

10.12.2.2. Conteo de esporas

El conteo de conidias de las cepas de *Beauveria Bassiana*, se lo realizó de la siguiente manera:

- 1.- La solución madre de *Beauveria bassiana* se agitó por 1 minuto en el agitador electrónico a 300 rpm (revoluciones por minuto) con el propósito de obtener una muestra homogénea.
- 2.- Con una micropipeta se extrae 2000 μ L (microlitros) y se lo colocó en una Cámara de Neubauer finalmente se tapó con un cubre objetos y posteriormente se observó en el microscopio enfocando a 40X.
- 3.- El conteo se lo realizó en forma de zigzag para cada cuadrante. Recalcando que únicamente se contó aquellas esporas que se encuentren en el interior de cada cuadrante y descartando aquellas esporas que se encuentren afuera o se ubican en las líneas de división.

Finalmente se aplicó la siguiente

Concentración de esporas = Promedio del conteo de esporas x número de μL x diluciones (en el caso de realizarlo).

Con el conteo de esporas se determinó que la concentración de *Beauveria bassiana* corresponde a 10^8 .

Nota: El resultado obtenido de la aplicación de la fórmula se lo coloca en notación científica.

La metodología empleada se detalla en el Protocolo de conteo de conidias (Anexo 19).

10.12.3. Fase de aplicación de *Beauveria bassiana* en la plaga a evaluarse

Previamente se realizó la colecta y mantenimiento de los insectos plagas en este caso del gorgojo barrenador del grano (*Pagiocerus frontalis*), bajo condiciones de laboratorio.

10.12.3.1. Colecta y mantenimiento del insecto plaga:

A continuación, se detalla el proceso y materiales utilizados para la colecta y mantenimiento del gorgojo:

Materiales:

1. Granos de maíz infestados con insectos adultos de *Pagiocerus frontalis* (1 kg)
2. Granos de maíz sanos (5 lb)
3. Recipiente plástico (1)
4. Tela tul o nailon (1 m)
5. Ligas plásticas (2)

Procedimiento:

- 1.- Los granos infestados con esta plaga se los obtuvo de pequeños agricultores de la parroquia de Aloasí perteneciente al cantón Mejía, para lo cual se colectó 1 kg de granos infestados con insectos adultos de *Pagiocerus frontalis*.
- 2.- En un recipiente de plástico amplio, se colocó los granos infestados con el insecto plaga y se adicionó 5 libras de maíz sano.

3.- El recipiente plástico se lo cubrió con tela tul o nailon y se lo sujetó firmemente con las ligas plásticas

4.- En un período de 4 – 6 semanas se observó el incremento poblacional de insectos adultos de *Pagiocerus frontalis*.

10.12.3.2. Inoculación:

A continuación, se describe el proceso y materiales utilizados para la inoculación de los insectos adultos de *Pagiocerus frontalis*:

Materiales:

1. Granos de maíz
2. Vasos plásticos transparentes de 14 onzas (39)
3. Tela tul (3 m.)
4. Ligas plásticas (39)
5. Insectos adultos de *Pagiocerus frontalis*

Procedimiento:

- 1.- En un vaso plástico se colocó 100 granos de maíz.
- 2.- Se inoculó 10 insectos adultos de *Pagiocerus frontalis* por vaso.
- 3.- La parte superior del vaso se la tapó con tela tul y se sujetó con las ligas plásticas.

10.12.3.3. Aplicación de *Beauveria bassiana*:

La aplicación se realizó de la siguiente manera.

- 1.- Con una jeringa de insulina se tomó la dosis a evaluarse (2; 2,5; 3 cc respectivamente) de la solución madre.
- 2.- Se colocó la dosis en agua destilada y se mezcló.
- 3.- La mezcla preparada con la dosis correspondiente se depositó en un rociador pequeño.
- 4.- Finalmente se procedió a fumigar cada unidad experimental acorde al diseño establecido.

Este proceso se utilizó tanto para la fumigación con *B. bassiana* nativa y *B. bassiana* comercial.

La metodología empleada se detalla en el Protocolo de dosificación (Anexo 19).

10.13. Datos a Evaluar

10.13.1. Porcentaje de insectos muertos:

Se realizó el conteo de insectos adultos muertos de *Pagiocerus frontalis*, después de la aplicación de *Beauveria bassiana* en diferentes dosis, para el registro de este dato, se retiró los granos del vaso de cada unidad experimental, se los colocó en una hoja de papel y se verificó la cantidad de insectos adultos muertos.

Para el cálculo del porcentaje de mortalidad se empleó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Mortalidad observada} = \frac{\text{Total de insectos muertos}}{\text{Total de insectos expuestos}} (100)$$

10.13.2. Porcentaje de granos dañados:

Se realizó el conteo de número de granos dañados por unidad experimental, se contó aquellos granos perforados y en su interior se encuentre el insecto plaga, para efecto de toma de este dato, de cada grano que contenga al gorgojo se lo rompió y se lo descartó.

El porcentaje de granos dañados se calculó mediante la fórmula: (Harris & Lindblad, 1978)

$$\% \text{ Grano dañado} = \frac{\text{Número de granos dañados}}{\text{Total de granos}} (100)$$

Nota: El registro de datos para el porcentaje de insectos adultos muertos y porcentaje de granos dañados se realizó cinco días a la semana durante un mes. Teniendo un total de 20 datos al finalizar el mes.

10.13.3. Porcentaje de pérdida de peso de granos:

Se realizó el registro de datos del peso de granos dañados y el peso de granos sanos; este dato se lo registró al día 20, es decir en la última toma de datos.

El porcentaje de pérdida de peso se calculó con la siguiente fórmula

$$\% \text{ Pérdida de peso} = \frac{PD}{PS} (100)$$

Dónde:

PS = Peso promedio de granos sanos

PD = Peso promedio de granos dañados

10.14. Análisis estadístico

Los datos obtenidos se normalizaron, ordenaron y clasificaron en una hoja virtual del programa Excel, posteriormente se empleó el programa InfoStat para subir los datos obtenidos acorde al diseño experimental planteado en la investigación para la obtención del ADEVA.

Se realizó la Prueba de Tukey al 5% para determinar los rangos de significancia en los valores que presentaron significancia.

CAPÍTULO IV

11. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

11.1. Análisis de mortalidad para *Pagiocerus frontalis*

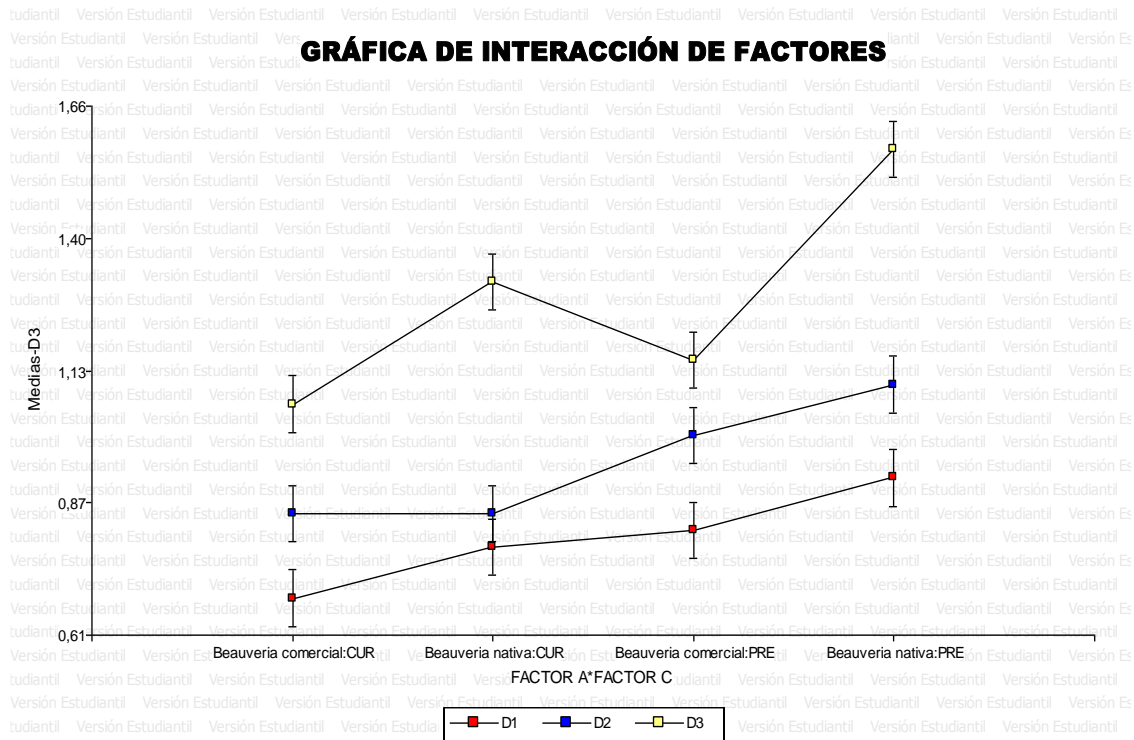
La mortalidad de insectos adultos de *Pagiocerus frontalis*, se analizó por medio de un ADEVA, en el cual se presenta los valores de significancia para cada factor y sus respectivas interacciones.

Tabla 9. ADEVA de mortalidad de *Pagiocerus frontalis* con los tres factores en estudio, sus interacciones y el testigo.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
TRATAMIENTOS	4,89	12	0,41	46,92	<0,0001	**
BLOQUES	0,06	2	0,03	3,64	0,0415	NS
FACTOR A (<i>Beauveria</i>)	0,23	1	0,23	23,00	0,0001	*
FACTOR B (Dosis)	1,4	2	0,7	70,00	<0,0001	**
FACTOR C (Forma de aplicación)	0,26	1	0,26	26,00	<0,0001	**
FACTOR A*FACTOR B	0,13	2	0,07	7,00	0,0041	NS
FACTOR A*FACTOR C	0,02	1	0,02	2,00	0,1599	NS
FACTOR B*FACTOR C	0,01	2	3,60E-03	0,36	0,6818	NS
FACTOR A*FACTOR B*FACTOR C	0,01	2	0,01	1,00	0,5548	NS
Testigo vs Tratamientos	2,83	1	2,83	325,62	<0,0001	**
Error	0,21	24	0,01			
Total	5,17	38				
C.V.	9,99					

Fuente: (Tituaña; 2021)

En la Tabla 9, se observa la diferencia significativa para cada factor. En donde el Factor A (*Beauveria bassiana*) se presenta valores de significancia, para el Factor B (Dosis) y el Factor C (Forma de aplicación) se presenta valores altamente significativos, con respecto a las interacciones entre factores se observa que no presentan significancia. Además, los tratamientos y el Testigo vs Tratamientos si presentan valores altamente significativos. El análisis de variancia presentó un coeficiente de variación de 9,99% reflejando el buen manejo de la parte experimental y además un registro de datos homogéneos.

Gráfico 4. Interacción de factores para la variable de mortalidad de *Pagiocerus frontalis*

Fuente: (Tituaña; 2021)

En el Gráfico 4, se observa que no hay interacción entre los factores, corroborando los valores de las interacciones que no presentaron significancia en el ADEVA de la Tabla 9. Por otra parte, se observa que cada factor actuó de manera independiente en los respectivos tratamientos, es decir que la interacción entre *Beauveria* comercial aplicada de forma curativa en dosis 1 (baja) es totalmente diferente a la interacción entre *Beauveria* nativa aplicada de forma preventiva en dosis 3 (alta).

Los grupos o rangos de significancia se los determinó con la Prueba de Tukey al 5%, para determinar cuántos rangos existen en los valores que se obtuvo significancia en el ADEVA.

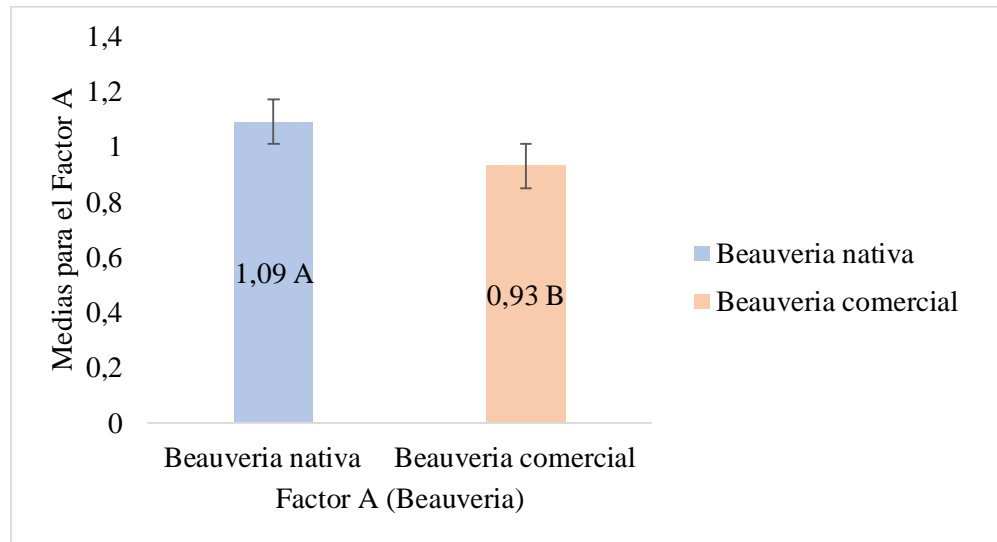
Tabla 10. Prueba de Tukey al 5% para el Factor A (*Beauveria bassiana*)

FACTOR A	Medias	n	E.E.	Rangos
Beauveria nativa	1,09	18	0,02	A
Beauveria comercial	0,93	18	0,02	B

Fuente: (Tituaña; 2021)

En la Tabla 10, se observa que existen dos rangos de significancia para el Factor A (*Beauveria bassiana*), siendo *Beauveria* nativa la mayor ubicándose en el rango A con una media de 1,09 y *Beauveria* comercial la menor ubicándose en el rango B con una media de 0,93.

Gráfico 5. Prueba de Tukey al 5% para el Factor A (*Beauveria bassiana*)



Fuente: (Tituaña; 2021)

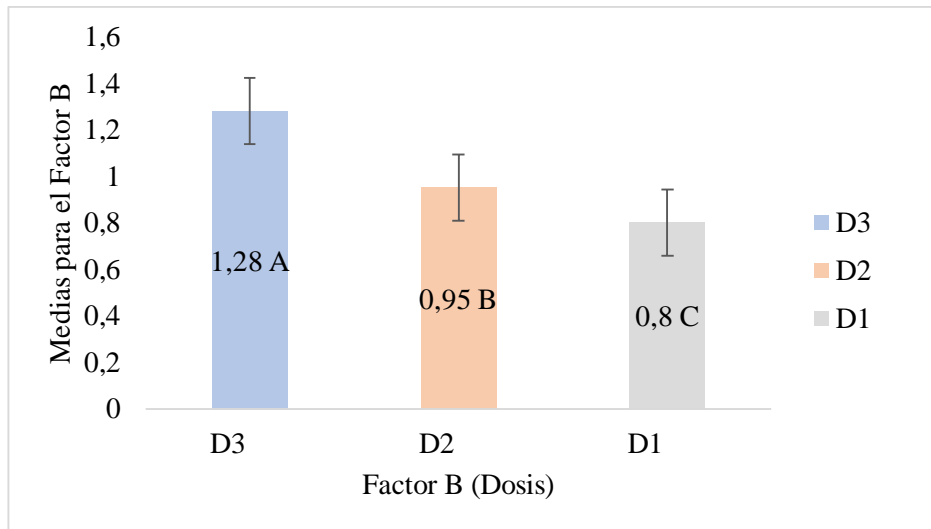
En el Gráfico 5, se observa dos rangos de significancia para el Factor A (*Beauveria bassiana*), siendo *Beauveria* nativa la mayor ubicándose en el rango A con una media de 1,09 y *Beauveria* comercial la menor ubicándose en el rango B con una media de 0,93.

Tabla 11. Prueba de Tukey al 5% para el Factor B (Dosis)

FACTOR B	Medias	n	E.E.	Rangos
D3	1,28	12	0,03	A
D2	0,95	12	0,03	B
D1	0,8	12	0,03	C

Fuente: (Tituaña; 2021)

En la Tabla 11, se observa que existen tres rangos de significancia para el Factor B (Dosis), siendo la Dosis 3 (alta) la mayor ubicándose en el rango A con una media de 1,28 y la Dosis 1 (baja) la menor ubicándose en el rango C con una media de 0,8.

Gráfico 6. Prueba de Tukey al 5% para el Factor B (Dosis)

Fuente: (Tituaña; 2021)

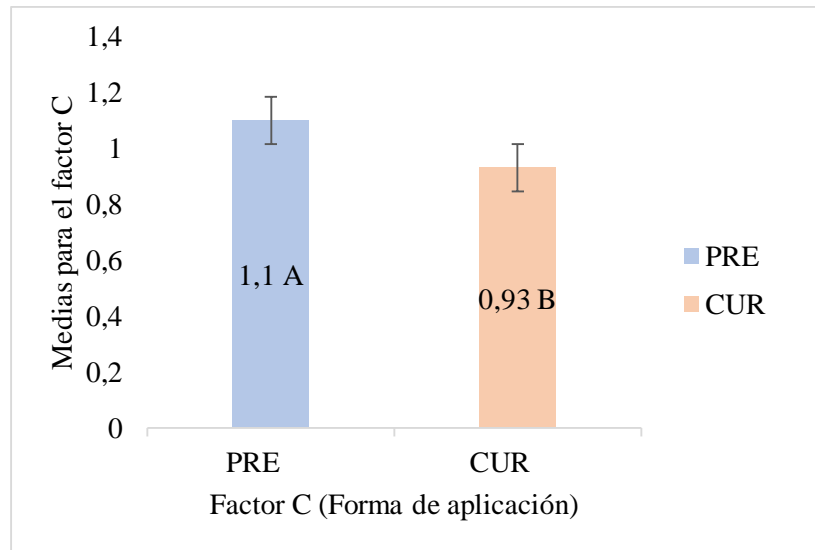
En el Gráfico 6, se observa tres rangos de significancia para el Factor B (Dosis), siendo la Dosis 3 (alta) la mayor ubicándose en el rango A con una media de 1,28, la Dosis 2 (media) obtuvo el rango B con una media de 0,95 y la Dosis 1 (baja) la menor ubicándose en el rango C con una media de 0,8.

Tabla 12. Prueba de Tukey al 5% para el Factor C (Forma de aplicación)

FACTOR C	Medias	n	E.E.	Rangos
PRE	1,1	18	0,02	A
CUR	0,93	18	0,02	B

Fuente: (Tituaña; 2021)

En la Tabla 12, se observa que existen dos rangos de significancia para el Factor C (Forma de aplicación), siendo la forma de aplicación Preventiva la mayor ubicándose en el rango A con una media de 1,1 y la forma de aplicación Curativa la menor ubicándose en el rango B con una media de 0,93.

Gráfico 7. Prueba de Tukey al 5% para el Factor C (Forma de aplicación)

Fuente: (Tituaña; 2021)

En el Gráfico 7, se observa dos rangos de significancia para el Factor C (Forma de aplicación), siendo la forma de aplicación Preventiva la mayor ubicándose en el rango A con una media de 1,1 y la forma de aplicación Curativa la menor ubicándose en el rango B con una media de 0,93.

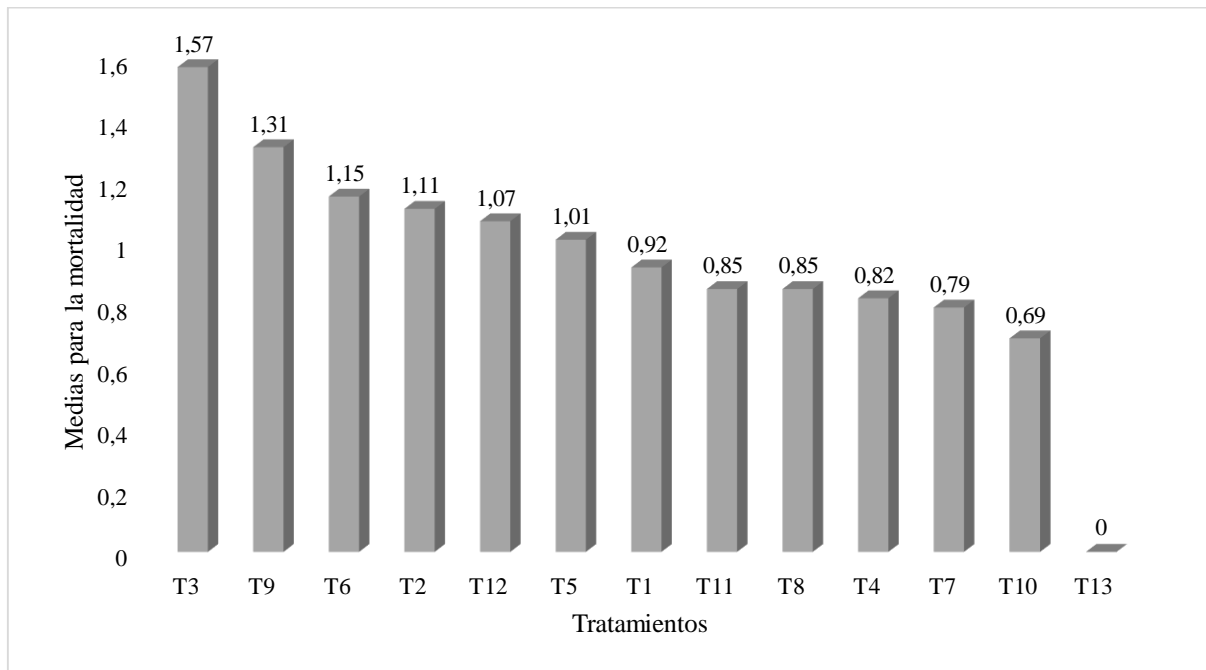
Tabla 13. Prueba de Tukey al 5% para los Tratamientos

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	Rangos						
T3	1,57	3	0,05	A						
T9	1,31	3	0,05	A		B				
T6	1,15	3	0,05	B		C				
T2	1,11	3	0,05	B		C		D		
T12	1,07	3	0,05	B		C		D	E	
T5	1,01	3	0,05	C		D		E	F	
T1	0,92	3	0,05	C		D		E	F	G
T11	0,85	3	0,05	D		E		F	G	
T8	0,85	3	0,05	D		E		F	G	
T4	0,82	3	0,05	E		F		G		
T7	0,79	3	0,05	F		G				
T10	0,69	3	0,05	G						
T13	0	3	0,05	H						

Fuente: (Tituaña; 2021)

En la Tabla 13, se observa que existen 8 rangos de significancia para los Tratamientos, siendo el T3 (*Beauveria* nativa: Dosis 3: Preventiva) el mayor ubicándose en el rango A con una media de 1,57 y el T13 (Testigo) el menor ubicándose en el rango H con una media de 0 (no presento mortalidad).

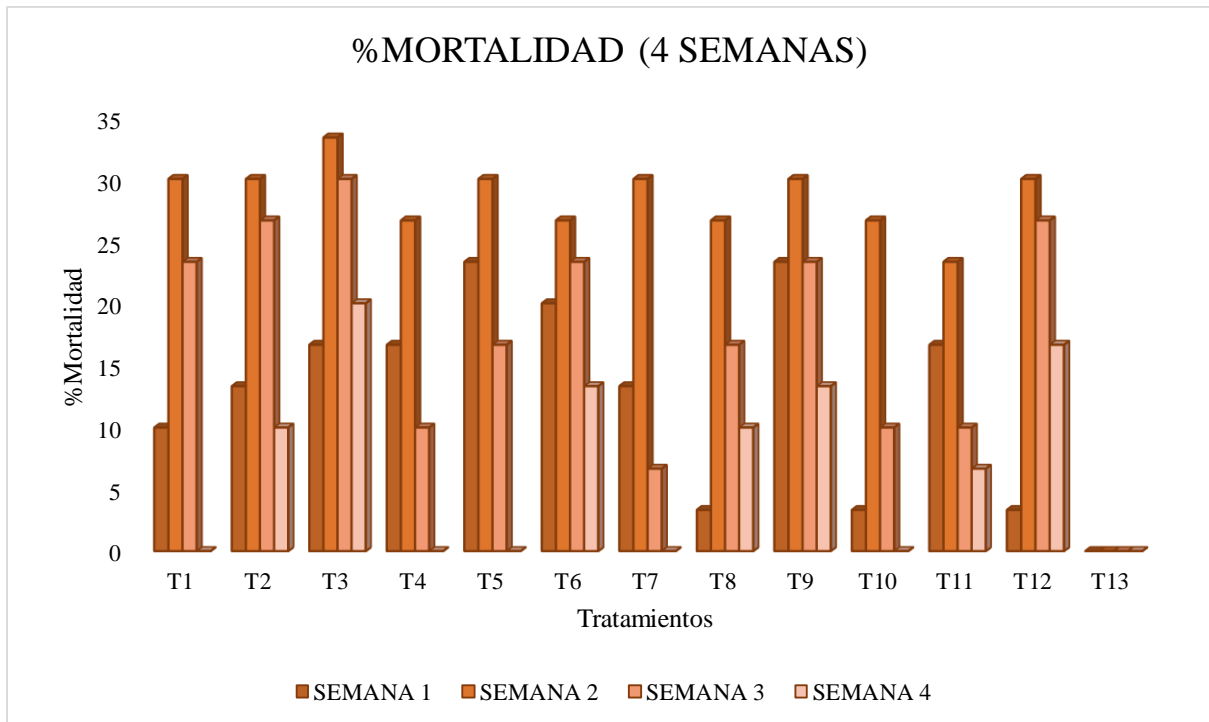
Gráfico 8. Medias de mortalidad para los Tratamientos



Fuente: (Tituaña; 2021)

En el Gráfico 8, se observa la mortalidad de *Pagiocerus frontalis* en los diferentes Tratamientos en estudio, en donde el T3 que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 3 (alta) y forma de aplicación preventiva registró la mayor media de mortalidad destacándose como el mejor, posteriormente se encuentra el T9 que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 3 (alta) y forma de aplicación curativa; en comparación con el T13 que corresponde al Testigo que no registró una media de mortalidad.

Los resultados descritos en el Gráfico 8, demuestran la mortalidad de *Pagiocerus frontalis*, por efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*. (Mandujano, 2015) indica que este hongo tiene mayor patogenicidad sobre el gorgojo *P. frontalis* permitiendo la colonización del micelio sobre el insecto infectado. En el manejo de la parte experimental se observó síntomas sobre los gorgojos en las unidades experimentales establecidas destacándose la pérdida de apetito y el entorpecimiento de movimiento y finalmente causando la muerte del insecto.

Gráfico 9. Porcentaje de mortalidad de *Pagiocerus frontalis* en cuatro semanas

Fuente: (Tituaña; 2021)

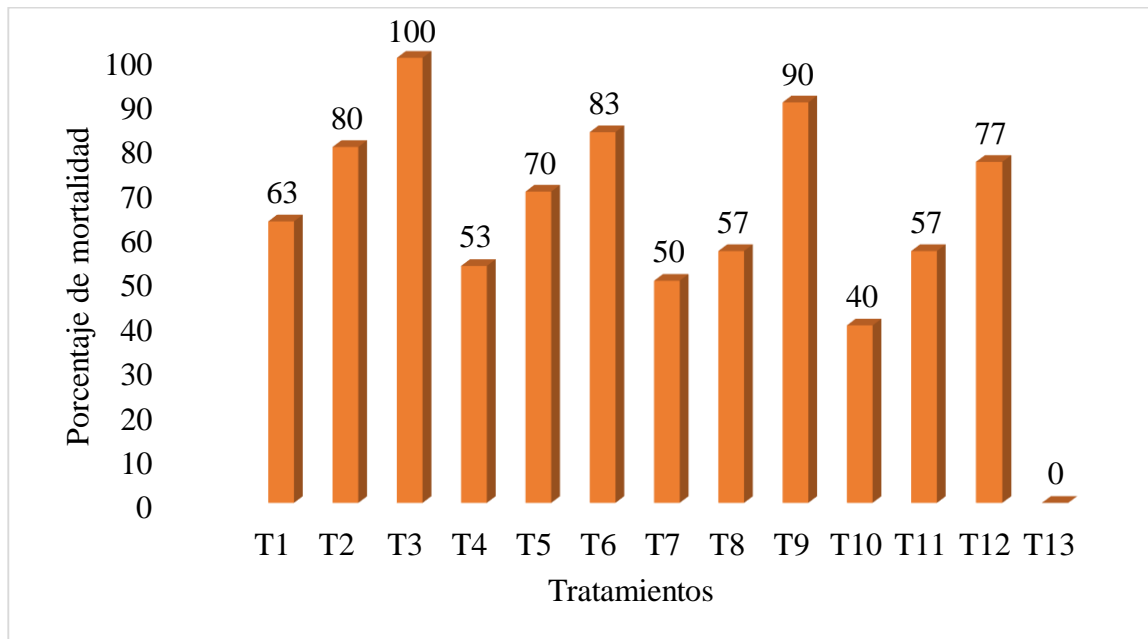
En el Gráfico 9, se observa el porcentaje de mortalidad distribuido en las 4 semanas que duró la parte experimental. En donde el (T3) que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 3 (alta) y forma de aplicación preventiva registró los porcentajes más altos a partir de la segunda semana, siendo estos 33%, 30% y el 20% de mortalidad para la segunda, tercera y cuarta semana respectivamente; en comparación con el (T13) que corresponde al testigo que no registró mortalidad de *Pagiocerus frontalis* en el transcurso de cuatro semanas.

La mortalidad de *Pagiocerus frontalis*, se la registro durante cuatro semanas. En la primera semana se empezó a observar insectos muertos, previo a esto en el transcurso de esta semana se observó síntomas sobre los insectos caracterizándose por la disminución en la actividad del gorgojo lo que concuerda con (Suárez, 2009) quien describe este mismo síntoma, posteriormente el mismo autor menciona que al quinto día después de aplicar *Beauveria bassiana* se registra mortandad de los gorgojos en los granos de maíz

A partir de la segunda semana se empieza a registrar mayores porcentajes de mortalidad en los tratamientos concordando con (Mandujano, 2015 & Suárez, 2009) quienes mencionan que, a los 15 días después de aplicar *Beauveria bassiana* se registra el porcentaje más alto de mortalidad en aquellos tratamientos que se aplicó este hongo entomopatógeno.

En cambio (Fernández & Paico, 2018) mencionan que, conforme va aumentando las semanas de exposición de los insectos al entomopatógeno, asciende los porcentajes de mortalidad para los insectos, posteriormente los porcentajes de mortalidad empiezan descender debido a que, el índice poblacional inicial va disminuyendo consecuencia de la mortalidad de los insectos.

Gráfico 10. Porcentaje total de mortalidad de *Pagiocerus frontalis*



Fuente: (Tituaña; 2021)

En el Gráfico 10 se observa, los porcentajes totales de mortalidad para cada tratamiento. En donde el (T3) que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 3 (alta) y forma de aplicación preventiva registró un 100% de mortalidad siendo este el mejor tratamiento; le sigue el (T9) que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 3 (alta) y forma de aplicación curativa con un 90% de mortalidad; otro tratamiento que registró porcentajes altos de mortalidad es el (T6) que corresponde a *Beauveria* comercial con dosis 3 (alta) y forma de aplicación preventiva que registro un 83% de mortalidad; con respecto al resto de tratamientos registraron porcentajes entre el 40% al 80% de mortalidad y finalmente se tiene el (T13) que corresponde al testigo que no registró mortalidad de *Pagiocerus frontalis*.

El resultado obtenido para el T3 (*Beauveria* nativa* D3* Preventiva) que registró un 100% de mortalidad destacándose como el mejor, es similar a los resultados obtenidos de (Mandujano, 2015 & Suárez, 2009) quienes reportaron un 100% de mortalidad al aplicar *Beauveria bassiana* para el control de *Pagiocerus frontalis*.

En la parte experimental se realizó dos formas de aplicación: una preventiva y otra curativa, los resultados obtenidos para la mortalidad de *Pagiocerus frontalis* demuestran que, la forma de aplicación preventiva es mejor que la forma de aplicación curativa. (Molina & Espinal, 2000) indican que, al aplicar este hongo entomopatógeno de las formas descritas anteriormente obtuvieron una mayor mortalidad de gorgojos al aplicar *Beauveria bassiana* de forma preventiva.

11.2. Análisis de granos dañados de maíz

Los granos dañados de maíz, se analizó por medio de un ADEVA, en el cual se presenta los valores de significancia para cada factor y sus respectivas interacciones.

Tabla 14. ADEVA para los granos dañados de maíz con los tres factores en estudio, sus interacciones y el testigo

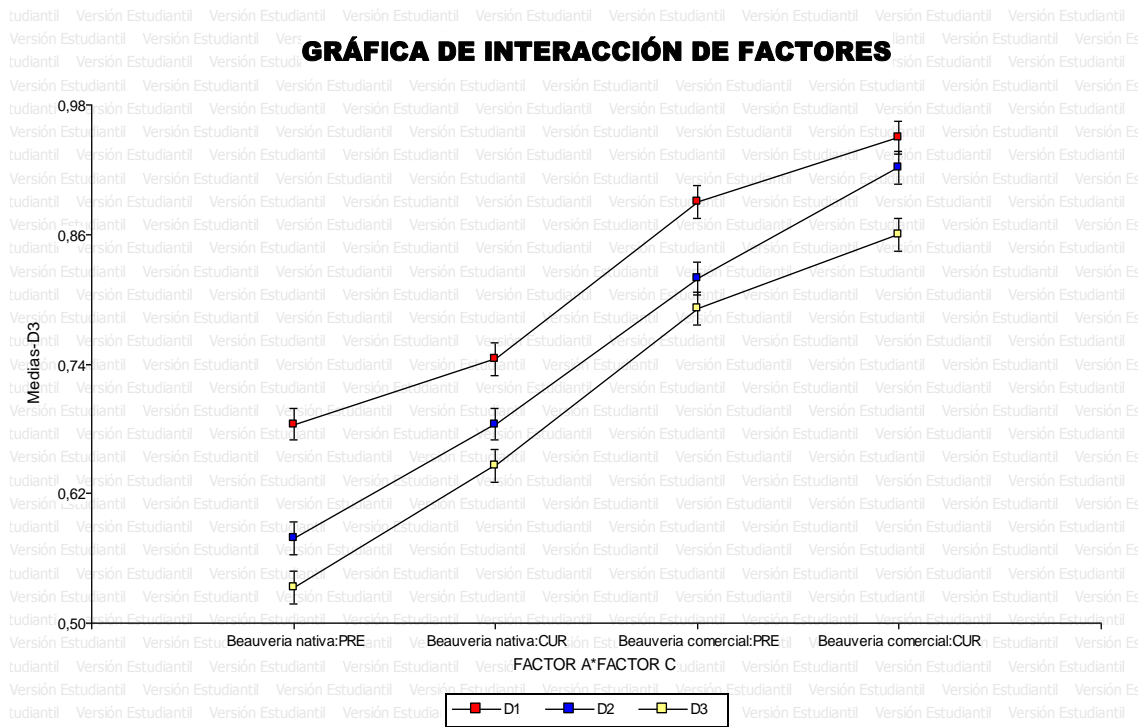
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
TRATAMIENTOS	0,93	12	0,08	124,13	<0,0001	**
BLOQUES	1,10E-03	2	5,40E-04	0,86	0,4351	NS
FACTOR A (<i>Beauveria</i>)	0,46	1	0,46	741,94	<0,0001	**
FACTOR B (Dosis)	0,07	2	0,04	64,52	<0,0001	**
FACTOR C (Forma de aplicación)	0,06	1	0,06	96,77	<0,0001	**
FACTOR A*FACTOR B	2,00E-03	2	1,00E-03	1,61	0,2517	NS
FACTOR A*FACTOR C	5,80E-04	1	5,80E-04	0,94	0,3634	NS
FACTOR B*FACTOR C	3,00E-03	2	1,50E-03	2,42	0,1297	NS
FACTOR A*FACTOR B*FACTOR C	9,00E-04	2	4,50E-04	0,73	0,5257	NS
Testigo vs Tratamientos	0,33	1	0,33	527,29	<0,0001	**
Error	0,01	24	6,20E-04			
Total	0,94	38				
C.V.	3,18					

Fuente: (Tituaña; 2021)

En la Tabla 14, se observa la diferencia significativa para cada factor. En dónde, el Factor A (*Beauveria bassiana*), el Factor B (Dosis) y el Factor C (Forma de aplicación) presentan valores altamente significativos, con respecto a las interacciones entre factores se observa que no presentan significancia. Además, los tratamientos y el Testigo vs Tratamientos si presentan valores altamente significativos. El análisis de variancia presentó un coeficiente de variación

de 3,18% reflejando el buen manejo de la parte experimental y además un registro de datos homogéneos.

Gráfico 11. Interacción de factores para la variable de granos dañados de maíz



Fuente: (Tituaña; 2021)

En el Gráfico 11, se observa que no hay interacciones entre los factores, corroborando los valores de las interacciones que no presentaron significancia en el ADEVA de la Tabla 27. Por otra parte, se observa que cada factor actuó de manera independiente en los respectivos tratamientos, es decir que la interacción entre *Beauveria* nativa aplicada de forma preventiva en dosis 3 (alta) es totalmente diferente a la interacción entre *Beauveria* comercial aplicada de forma curativa en dosis 1 (baja).

Los grupos o rangos de significancia se los determinó con la Prueba de Tukey al 5%, para determinar cuántos rangos existen en los valores que se obtuvo significancia en el ADEVA.

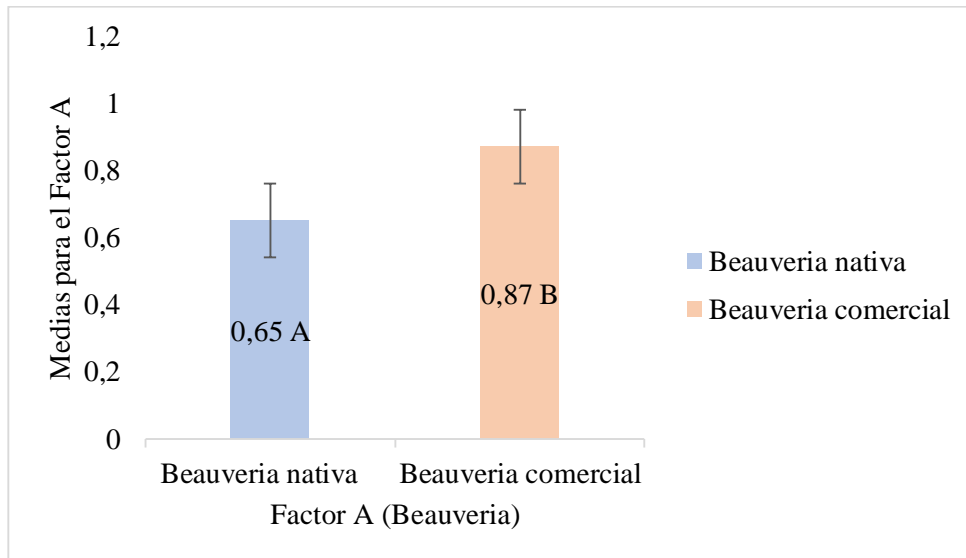
Tabla 15. Prueba de Tukey al 5% para el Factor A (*Beauveria bassiana*)

FACTOR A	Medias	n	E.E.	Rangos
Beauveria nativa	0,65	18	0,01	A
Beauveria comercial	0,87	18	0,01	B

Fuente: (Tituaña; 2021)

En la Tabla 15, se observa que existen dos rangos de significancia para el Factor A (*Beauveria bassiana*) siendo *Beauveria* nativa la menor ubicándose en el rango A con una media de 0,65 y *Beauveria* comercial la mayor ubicándose en el rango B con una media de 0,87.

Gráfico 12. Prueba de Tukey al 5% para el Factor A (*Beauveria*)



Fuente: (Tituaña; 2021)

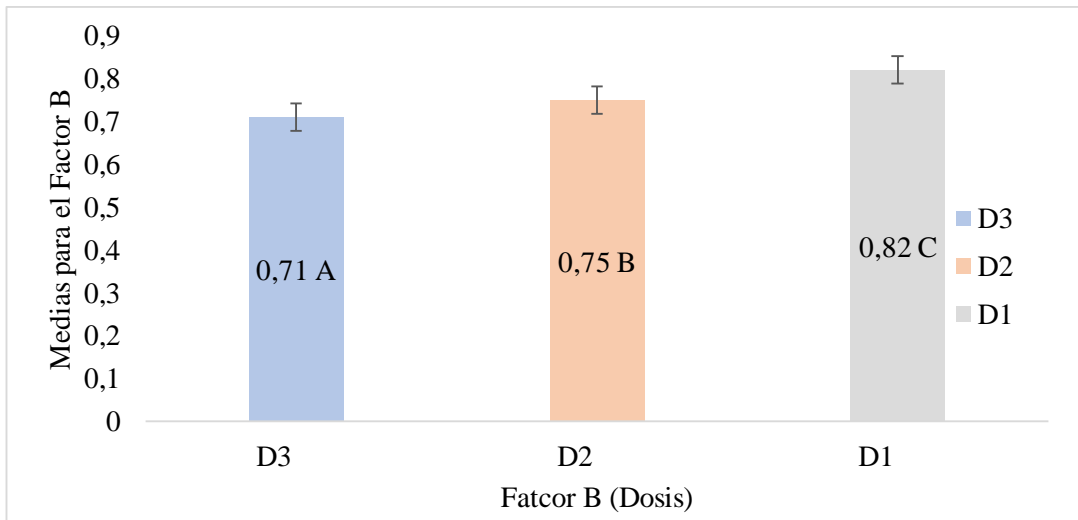
En el Gráfico 12, se observa dos rangos de significancia para el Factor A (*Beauveria bassiana*), siendo *Beauveria* nativa la mayor ubicándose en el rango A con una media de 0,65 y *Beauveria* comercial la menor ubicándose en el rango B con una media de 0,87.

Tabla 16. Prueba de Tukey al 5% para el Factor B (Dosis)

FACTOR B	Medias	n	E.E.	Rangos
D3	0,71	12	0,01	A
D2	0,75	12	0,01	B
D1	0,82	12	0,01	C

Fuente: (Tituaña; 2021)

En la Tabla 16, se observa que existen tres rangos de significancia para el Factor B (Dosis), siendo la Dosis 3 (alta) la menor ubicándose en el rango A con una media de 0,71 y la Dosis 1 (baja) la mayor ubicándose en el rango C con una media de 0,82.

Gráfico 13. Prueba de Tukey al 5% para el Factor B (Dosis)

Fuente: (Tituaña; 2021)

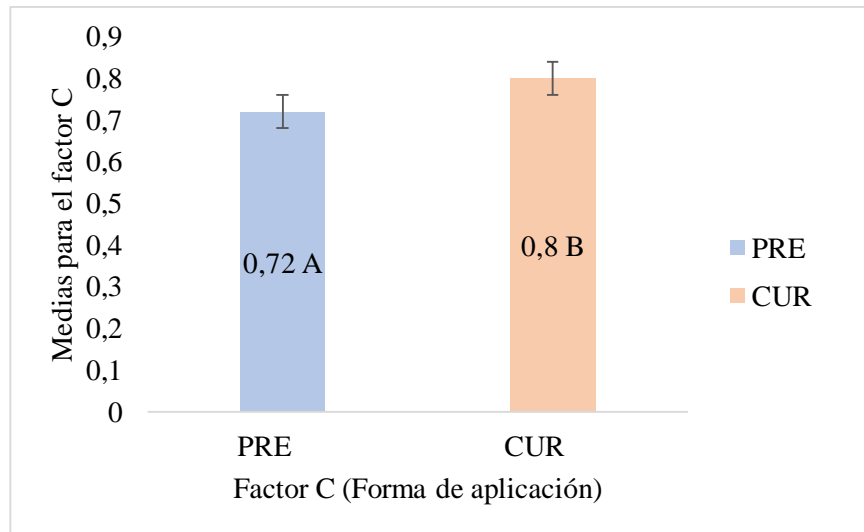
En el Gráfico 13, se observa tres rangos de significancia para el Factor B (Dosis), siendo la Dosis 3 (alta) la mayor ubicándose en el rango A con una media de 0,71, la Dosis 2 (media) obtuvo el rango B con una media de 0,75 y la Dosis 1 (baja) la menor ubicándose en el rango C con una media de 0,82.

Tabla 17. Prueba de Tukey al 5% para el Factor C (Forma de aplicación)

FACTOR C	Medias	n	E.E.	Rangos
PRE	0,72	18	0,01	A
CUR	0,8	18	0,01	B

Fuente: (Tituaña; 2021)

En la Tabla 17, se observa que existen dos rangos de significancia para el Factor C (Forma de aplicación), siendo la forma de aplicación Preventiva la menor ubicándose en el rango A con una media de 0,72 y la forma de aplicación Curativa la mayor ubicándose en el rango B con una media de 0,8.

Gráfico 14. Prueba de Tukey al 5% para el Factor C (Forma de aplicación)

Fuente: (Tituaña; 2021)

En el Gráfico 14, se observa dos rangos de significancia para el Factor C (Forma de aplicación), siendo la forma de aplicación Preventiva la mayor ubicándose en el rango A con una media de 0,72 y la forma de aplicación Curativa la menor ubicándose en el rango B con una media de 0,8.

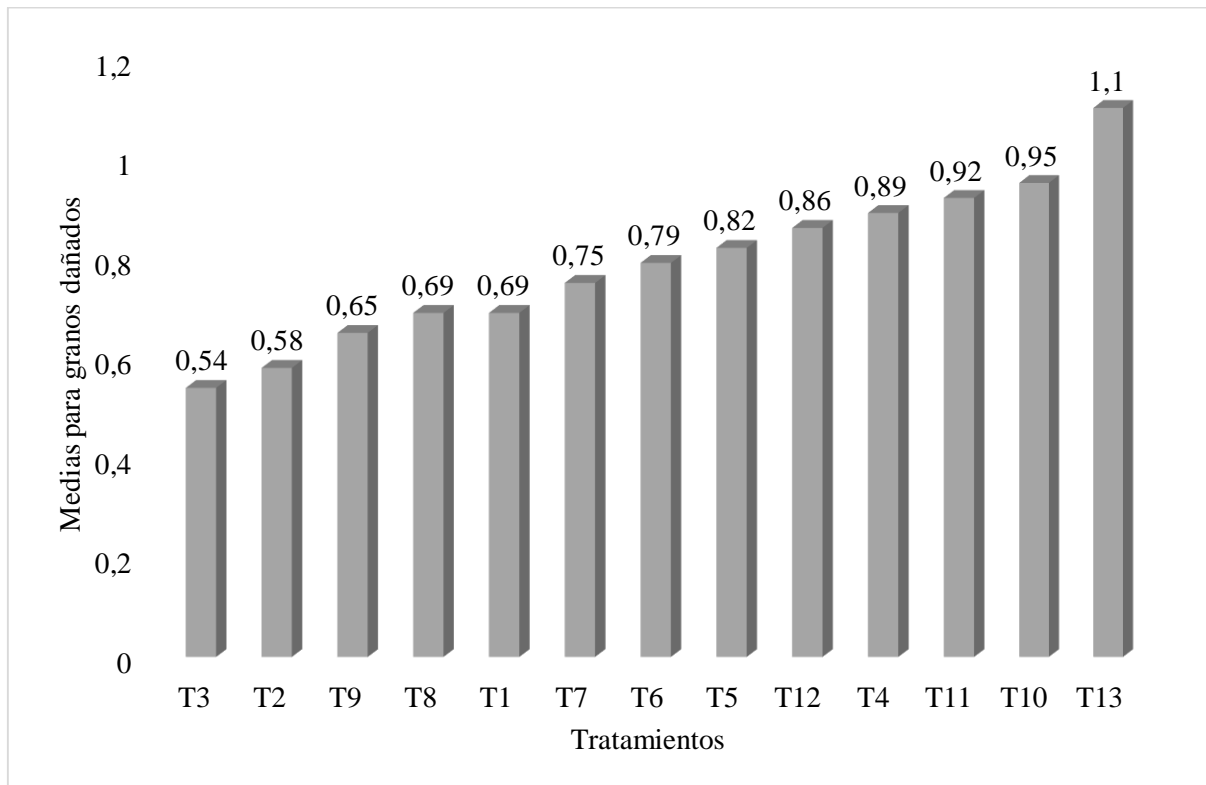
Tabla 18. Prueba de Tukey al 5% para los Tratamientos

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	Rangos	
T3	0,54	3	0,01	A	
T2	0,58	3	0,01	A B	
T9	0,65	3	0,01	B C	
T8	0,69	3	0,01	C D	
T1	0,69	3	0,01	C D	
T7	0,75	3	0,01	D E	
T6	0,79	3	0,01	E F	
T5	0,82	3	0,01	E F G	
T12	0,86	3	0,01	F G H	
T4	0,89	3	0,01	G H I	
T11	0,92	3	0,01	H I	
T10	0,95	3	0,01	I	
T13	1,1	3	0,01	J	

Fuente: (Tituaña; 2021)

En la Tabla 18, se observa que existen 10 rangos de significancia para los Tratamientos, siendo el T3 (*Beauveria* nativa: Dosis 3: Preventiva) el menor ubicándose en el rango A con una media de 0,54, el T110 (*Beauveria* comercial: Dosis 1: Curativa) se ubica en el rango I con una media de 0,95 y el T13 (Testigo) el mayor ubicándose en el rango J con una media de 1,1.

Gráfico 15. Medias de granos dañados para los Tratamientos



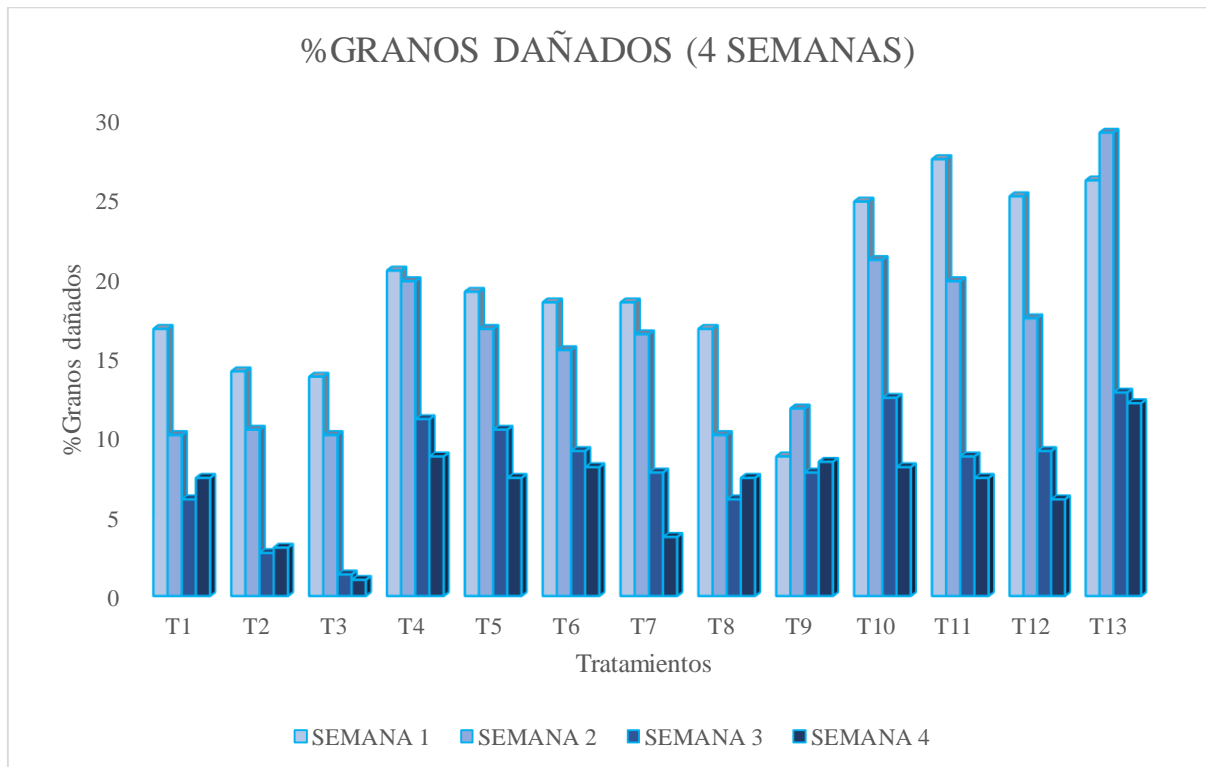
Fuente: (Tituaña; 2021)

En el Gráfico 15, se observa las medias para granos dañados por el ataque de *Pagiocerus frontalis* en los diferentes Tratamientos en estudio, en donde el T3 que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 3 (alta) y forma de aplicación preventiva registró la menor media de granos dañados destacándose como el mejor, posteriormente se encuentra el T2 que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 2 (media) y forma de aplicación preventiva; en comparación con el T13 que corresponde al Testigo que registró la media de granos dañados más alta.

La variable de granos dañados es una consecuencia del fuerte ataque de los insectos plagas que se desarrollan en los granos almacenados siendo el principal *Pagiocerus frontalis*, provocando una disminución en la calidad del grano. (Luna, 1999). Los resultados descritos en el Gráfico 15 evidencian como al aplicar un control biológico a través del uso del hongo entomopatógeno

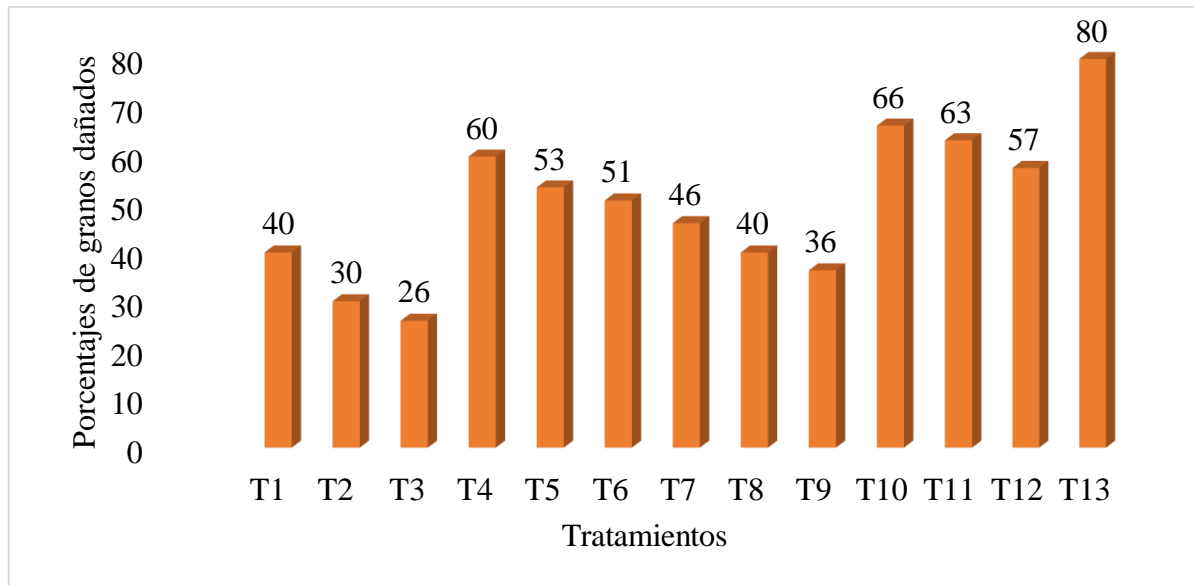
Beauveria bassiana, disminuye considerablemente el ataque de *Pagiocerus frontalis*, preservando así la integridad de los granos de maíz. Según (Álvarez, 2020) menciona, que al probar diferentes métodos de control para *P. frontalis* el que mejor resultado presentó es el método de control biológico utilizando *Beauveria bassiana*, debido a que obtuvo una menor cantidad o número de granos daños por parte del tratamiento biológico.

Gráfico 16. Porcentaje de granos dañados en cuatro semanas



Fuente: (Tituaña; 2021)

En el gráfico 16, se observa el porcentaje de granos dañados de maíz distribuido en las 4 semanas que duró la parte experimental. En donde el (T3) que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 3 (alta) y forma de aplicación preventiva registró los porcentajes semanales más bajos, siendo estos el 14% en la primera semana, 10% en la segunda semana, 1% en la tercera y cuarta semana; en comparación con el (T13) que corresponde al testigo que registró los porcentajes más altos de granos dañados, siendo estos el 26% en la primera semana, 29% en la segunda semana, 12% en la tercera y cuarta semana.

Gráfico 17. Porcentaje total de granos dañados

Fuente: (Tituaña; 2021)

En el Gráfico 17 se observa, los porcentajes totales de granos dañados para cada tratamiento. En donde el (T3) que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 3 (alta) y forma de aplicación preventiva registró un 26% de granos dañados siendo este el mejor tratamiento; le sigue el (T2) que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 2 (media) y forma de aplicación preventiva con un 30% de granos dañados; otro tratamiento que registró porcentajes bajos de granos dañados es el (T9) que corresponde a *Beauveria* nativa con dosis 3 (alta) y forma de aplicación curativa que registró un 36% de granos dañados; con respecto al resto de tratamientos registraron porcentajes entre el 40% al 66% para esta variable y finalmente se tiene el (T13) que corresponde al testigo que registró un 80% de granos dañados.

La reducción significativa en la viabilidad del grano es un problema común efecto de la infestación de *Pagiocerus frontalis*. El resultado obtenido para el mejor tratamiento que corresponde al T3 (*Beauveria* nativa* D3* Preventiva) que registró un 26% de granos dañados es similar a los resultados obtenidos por (Padín et al., 2002 & Popoola et al., 2015) quienes mencionan, haber obtenido un 22,30% y 24,5% respectivamente para la variable de granos dañados de maíz.

Al comparar los resultados de los tratamientos en los que se aplicó *Beauveria* y los resultados del testigo (T13), se observa que aquellos tratamientos en los que se aplicó *Beauveria bassiana* presentaron menores porcentajes de granos dañados de maíz en comparación del tratamiento al que no se aplicó nada. (Álvarez, 2020) indican que, al no aplicar ningún tipo de control a

Pagiocerus frontalis este prolifera llegando a causar un daño superior a los 75% en los granos de maíz.

Padín et al., (2002) indica que, cuando los granos de maíz son tratados con productos biológicos como *Beauveria bassiana*, los daños por gorgojos disminuyen hasta en un 20%.

11.3. Análisis de pérdida de peso en granos de maíz

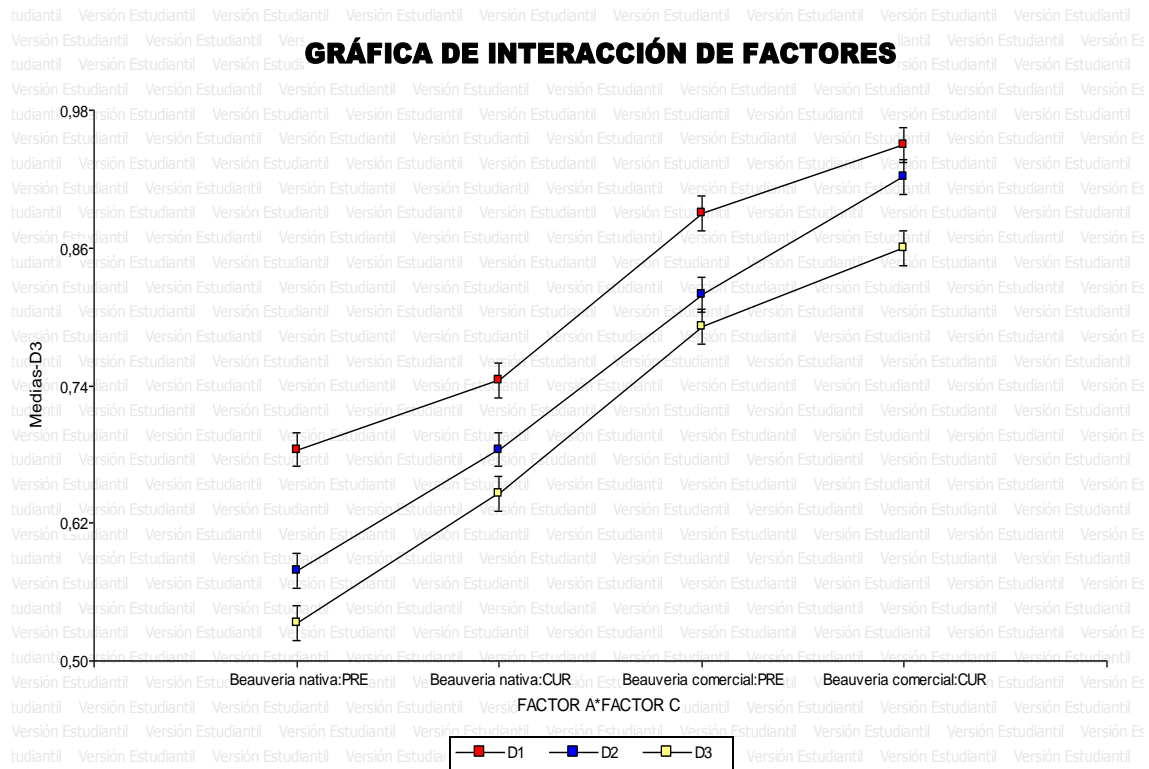
La pérdida de peso en granos de maíz, se analizó por medio de un ADEVA, en el cual se presenta los valores de significancia para cada factor y sus respectivas interacciones.

Tabla 19. ADEVA para la pérdida de peso en granos de maíz con los tres factores en estudio, sus interacciones y el testigo.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
TRATAMIENTOS	1,15	12	0,1	1387,52	<0,0001	**
BLOQUES	5,00E-05	2	2,50E-05	0,36	0,6999	NS
FACTOR A (<i>Beauveria</i>)	0,56	1	0,56	8115,94	<0,0001	**
FACTOR B (Dosis)	0,13	2	0,06	869,57	<0,0001	**
FACTOR C (Forma de aplicación)	0,13	1	0,13	1884,06	<0,0001	**
FACTOR A*FACTOR B	4,40E-03	2	2,20E-03	31,88	<0,0001	**
FACTOR A*FACTOR C	0,01	1	0,01	144,93	<0,0001	**
FACTOR B*FACTOR C	2,20E-04	2	1,10E-04	1,59	0,1924	NS
FACTOR A*FACTOR B*FACTOR C	0,01	2	3,00E-03	49,35	<0,0001	**
Testigo vs Tratamientos	0,32	1	0,32	4590,64	<0,0001	**
Error	1,70E-03	24	6,90E-05			
Total	1,15	38				
C.V.	0,96					

Fuente: (Tituaña; 2021)

En la Tabla 19, se observa la diferencia significativa para cada factor. En dónde, el Factor A (*Beauveria bassiana*), el Factor B (Dosis) y el Factor C (Forma de aplicación) presentan valores altamente significativos, con respecto a las interacciones entre factores únicamente no presento significancia la interacción del Factor B*Factor C (Dosis* Forma de aplicación). Además, los tratamientos y el Testigo vs Tratamientos si presentan valores altamente significativos. El análisis de variancia presentó un coeficiente de variación de 0,96% reflejando el buen manejo de la parte experimental y además un registro de datos homogéneos

Gráfico 18. Interacción de factores para la variable de pérdida de peso

Fuente: (Tituaña; 2021)

En el Gráfico 18, se observa que los factores actúan de manera independiente en cada tratamiento; cada factor tiene una tendencia constante como lo muestra el gráfico es decir que para cada forma de aplicación empieza a subir es así que la interacción de *Beauveria* nativa aplicada de manera preventiva en dosis 3 (alta) tuvo un menor efecto en la pérdida de peso de los granos de maíz, lo contrario ocurre con *Beauveria* comercial aplicada de manera curativa en dosis 1 (baja) que presenta la mayor pérdida de peso en granos de maíz.

Los grupos o rangos de significancia se los determinó con la Prueba de Tukey al 5%, para determinar cuántos rangos existen en los valores que se obtuvo significancia en el ADEVA.

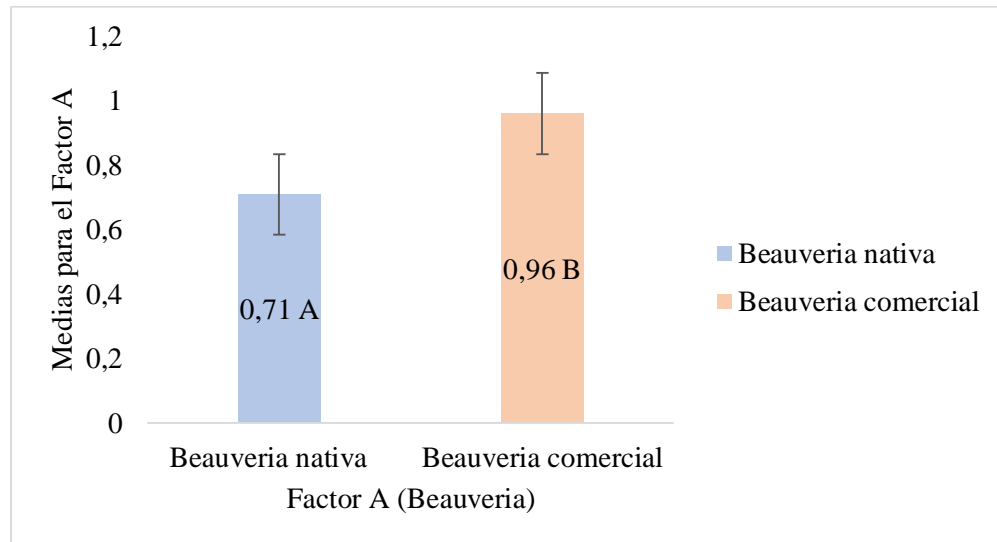
Tabla 20. Prueba de Tukey al 5% para el Factor A (*Beauveria bassiana*)

FACTOR A	Medias	N	E.E.	Rangos
Beauveria nativa	0,71	18	1,80E-03	A
Beauveria comercial	0,96	18	1,80E-03	B

Fuente: (Tituaña; 2021)

En la Tabla 20, se observa que existen dos rangos de significancia para el Factor A (*Beauveria bassiana*) siendo *Beauveria* nativa la menor ubicándose en el rango A con una media de 0,71 y *Beauveria* comercial la mayor ubicándose en el rango B con una media de 0,96.

Gráfico 19. Prueba de Tukey al 5% para el Factor A (*Beauveria*)



Fuente: (Tituaña; 2021)

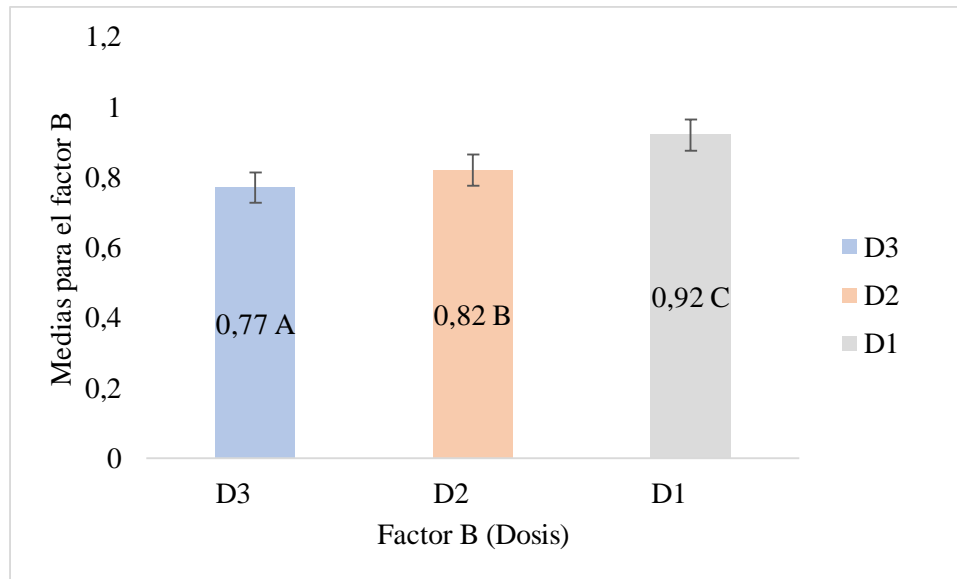
En el Gráfico 19, se observa dos rangos de significancia para el Factor A (*Beauveria bassiana*), siendo *Beauveria* nativa la mayor ubicándose en el rango A con una media de 0,71 y *Beauveria* comercial la menor ubicándose en el rango B con una media de 0,96.

Tabla 21. Prueba de Tukey al 5% para el Factor B (Dosis)

FACTOR B	Medias	n	E.E.	Rangos
D3	0,77	12	2,20E-03	A
D2	0,82	12	2,20E-03	B
D1	0,92	12	2,20E-03	C

Fuente: (Tituaña; 2021)

En la Tabla 21, se observa que existen tres rangos de significancia para el Factor B (Dosis), siendo la Dosis 3 (alta) la menor ubicándose en el rango A con una media de 0,77 y la Dosis 1 (baja) la mayor ubicándose en el rango C con una media de 0,92.

Gráfico 20. Prueba de Tukey al 5% para el Factor B (Dosis)

Fuente: (Tituaña; 2021)

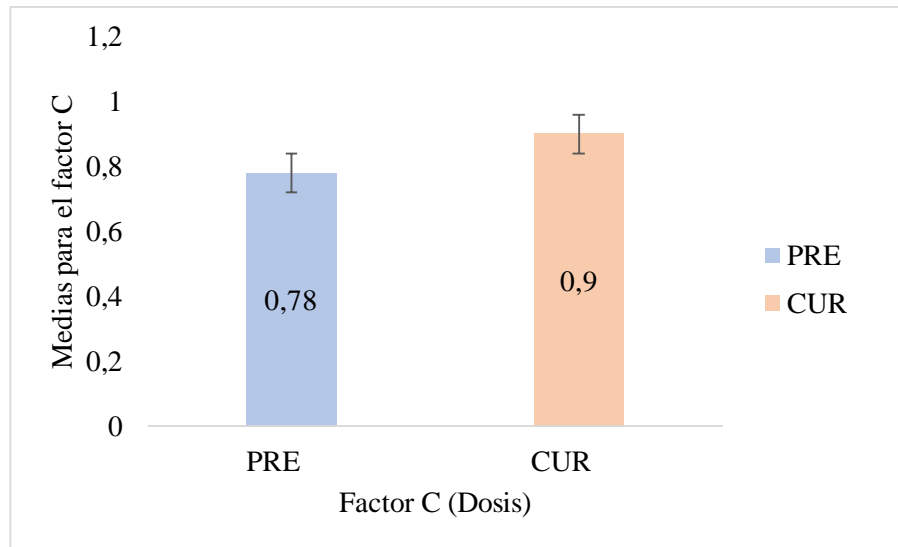
En el Gráfico 20, se observa tres rangos de significancia para el Factor B (Dosis), siendo la Dosis 3 (alta) la mayor ubicándose en el rango A con una media de 0,77, la Dosis 2 (media) obtuvo el rango B con una media de 0,82 y la Dosis 1 (baja) la menor ubicándose en el rango C con una media de 0,92.

Tabla 22. Prueba de Tukey al 5% para el Factor C (Forma de aplicación)

FACTOR C	Medias	n	E.E.	Rangos
PRE	0,78	18	1,80E-03	A
CUR	0,9	18	1,80E-03	B

Fuente: (Tituaña; 2021)

En la Tabla 22, se observa que existen dos rangos de significancia para el Factor C (Forma de aplicación), siendo la forma de aplicación Preventiva la menor ubicándose en el rango A con una media de 0,78 y la forma de aplicación Curativa la mayor ubicándose en el rango B con una media de 0,9.

Gráfico 21. Prueba de Tukey al 5% para el Factor C (Forma de aplicación)

Fuente: (Tituaña; 2021)

En el Gráfico 21, se observa dos rangos de significancia para el Factor C (Forma de aplicación), siendo la forma de aplicación Preventiva la mayor ubicándose en el rango A con una media de 0,78 y la forma de aplicación Curativa la menor ubicándose en el rango B con una media de 0,9.

Tabla 23. Prueba de Tukey al 5% para la interacción del Factor A*B

FACTOR A	FACTOR B	Medias	n	E.E.	Rangos
Beauveria nativa	D3	0,64	6	3,20E-03	A
Beauveria nativa	D2	0,71	6	3,20E-03	B
Beauveria nativa	D1	0,79	6	3,20E-03	C
Beauveria comercial	D3	0,91	6	3,20E-03	D
Beauveria comercial	D2	0,93	6	3,20E-03	E
Beauveria comercial	D1	1,04	6	3,20E-03	F

Fuente: (Tituaña; 2021)

En la Tabla 23, se observa que existen 6 rangos de significancia para la interacción entre el Factor A*B (*Beauveria** Dosis), siendo *Beauveria* nativa: Dosis 3 (alta) la menor ubicándose en el rango A con una media de 0,64 y *Beauveria* comercial: Dosis 1 (baja) la mayor ubicándose en el rango D con una media de 1,04.

Tabla 24. Prueba de Tukey al 5% para la interacción del Factor A*C

FACTOR A	FACTOR C	Medias	n	E.E.	Rangos
Beauveria nativa	PRE	0,67	9	2,60E-03	A
Beauveria nativa	CUR	0,76	9	2,60E-03	B
Beauveria comercial	PRE	0,89	9	2,60E-03	C
Beauveria comercial	CUR	1,03	9	2,60E-03	D

Fuente: (Tituaña; 2021)

En la Tabla 24, se observa que existen 4 rangos de significancia para la interacción entre el Factor A*C (*Beauveria** Forma de aplicación), siendo *Beauveria* nativa: Preventiva la menor ubicándose en el rango A con una media de 0,67 y *Beauveria* comercial: Curativa la mayor ubicándose en el rango D con una media de 1,03.

Tabla 25. Prueba de Tukey al 5% para la interacción del Factor A*B*C

Factor A	Factor B	Factor C	Medias	n	E.E.	Rangos
Beauveria nativa	D3	PRE	0,58	3	4,50E-03	A
Beauveria nativa	D2	PRE	0,66	3	4,50E-03	B
Beauveria nativa	D3	CUR	0,69	3	4,50E-03	C
Beauveria nativa	D1	PRE	0,76	3	4,50E-03	D
Beauveria nativa	D2	CUR	0,77	3	4,50E-03	D
Beauveria nativa	D1	CUR	0,83	3	4,50E-03	E
Beauveria comercial	D3	PRE	0,85	3	4,50E-03	E
Beauveria comercial	D2	PRE	0,87	3	4,50E-03	F
Beauveria comercial	D1	PRE	0,95	3	4,50E-03	G
Beauveria comercial	D3	CUR	0,97	3	4,50E-03	H
Beauveria comercial	D2	CUR	0,99	3	4,50E-03	H
Beauveria comercial	D1	CUR	1,14	3	4,50E-03	I

Fuente: (Tituaña; 2021)

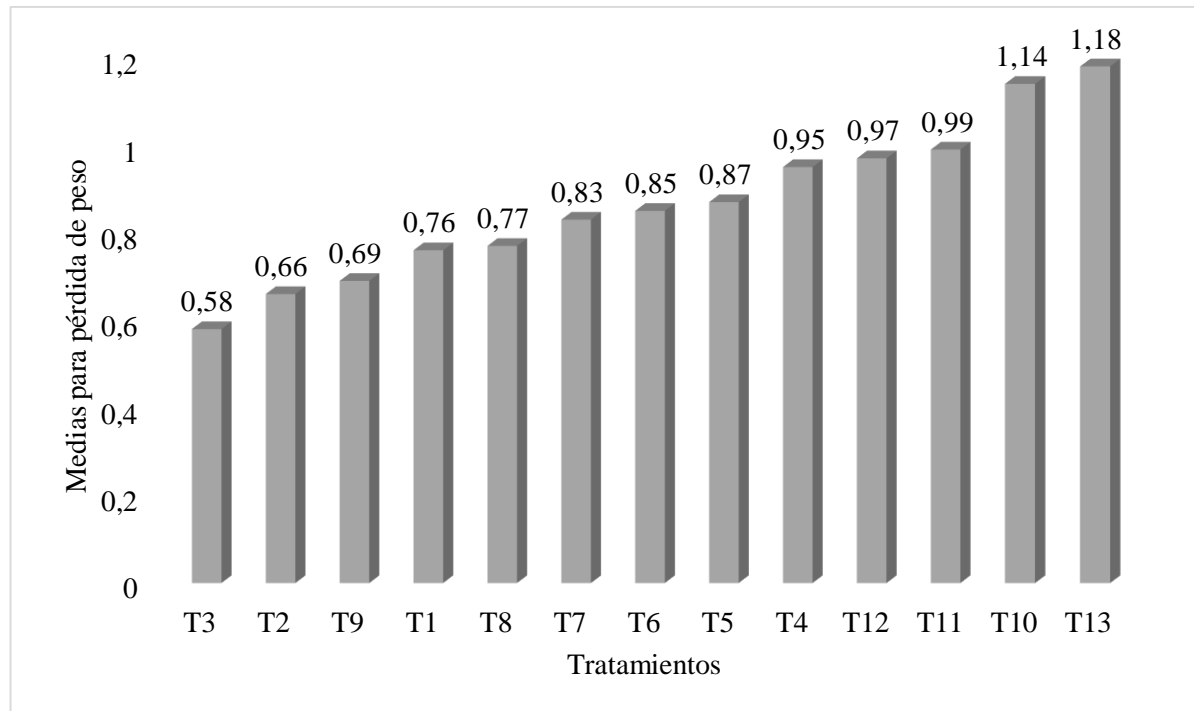
En la Tabla 25, se observa que existen 9 rangos de significancia para la interacción entre el Factor A*B*C (*Beauveria** Dosis* Forma de aplicación), siendo la *Beauveria* nativa: Dosis 3 (alta): Preventiva la menor ubicándose en el rango A con una media de 0,58 y *Beauveria* comercial: Dosis 1 (baja): Curativa la mayor ubicándose en el rango I con una media de 1,14.

Tabla 26. Prueba de Tukey al 5% para los Tratamientos

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	Rangos
T3	0,58	3	4,80E-03	A
T2	0,66	3	4,80E-03	B
T9	0,69	3	4,80E-03	C
T1	0,76	3	4,80E-03	D
T8	0,77	3	4,80E-03	D
T7	0,83	3	4,80E-03	E
T6	0,85	3	4,80E-03	E
T5	0,87	3	4,80E-03	F
T4	0,95	3	4,80E-03	G
T12	0,97	3	4,80E-03	H
T11	0,99	3	4,80E-03	H
T10	1,14	3	4,80E-03	I
T13	1,18	3	4,80E-03	J

Fuente: (Tituaña; 2021)

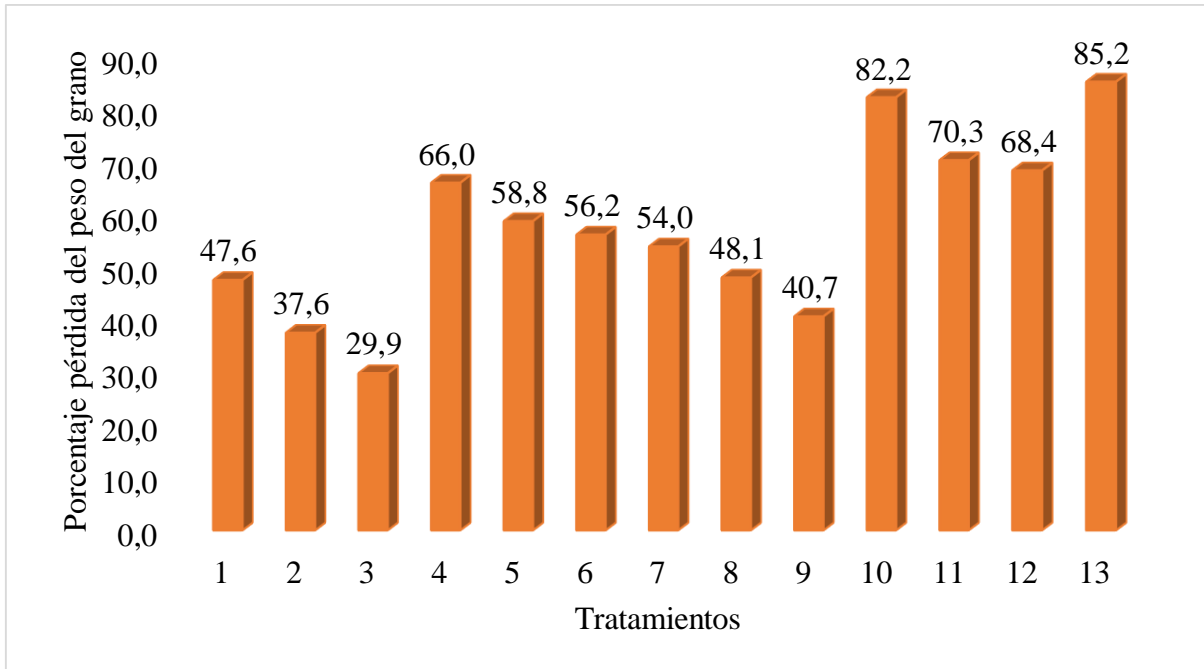
En la Tabla 26, se observa que existen 10 rangos de significancia para los Tratamientos, siendo el T3 (*Beauveria* nativa: Dosis 3: Preventiva) el menor ubicándose en el rango A con una media de 0,58, el T2 (*Beauveria* nativa: Dosis 2: Preventiva) se ubica en el rango B con una media de 0,66, el T9 (*Beauveria* nativa: Dosis 3: Curativa) se ubica en el rango C con una media de 0,69, el T110 (*Beauveria* comercial: Dosis 1: Curativa) se ubica en el rango I con una media de 1,14 y el T13 (Testigo) el mayor ubicándose en el rango J con una media de 1,18.

Gráfico 22. Medias de pérdida de peso para los Tratamientos

Fuente: (Tituaña; 2021)

En el Gráfico 22, se observa las medias para pérdida de peso dañados en granos dañados de maíz en los diferentes Tratamientos en estudio, en donde el T3 que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 3 (alta) y forma de aplicación preventiva registró la menor media de granos dañados destacándose como el mejor, posteriormente se encuentra el T2 que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 2 (media) y forma de aplicación preventiva; en comparación con el T13 que corresponde al Testigo que registró la media de pérdida de peso de granos dañados de maíz más alta.

Esta variable se relaciona directamente con el número de gorgojos, esto se debe a que, a mayor población de insectos mayor será la destrucción de grano y por ende mayor será pérdida de peso en los mismos. (Luna, 1999). Los resultados descritos en el Gráfico 22 demuestran que al aplicar *Beauveria bassiana* se controla a *Pagiocerus frontalis* debido a que los insectos presentan un síntoma característico que es la pérdida de apetito lo que conlleva a preservar la integridad de los granos y a su vez, se evita la pérdida de peso en los mismos, concordando con (Castillo, 2014) quien indica que, al aplicar *Beauveria bassiana* sobre granos almacenados de maíz los porcentajes de pérdida de peso son menores en comparación de aquellos granos a los que no se los colocó este entomopatógeno. Además, el mismo autor señala que al controlar a *P. frontalis* con *Beauveria bassiana*, los porcentajes de pérdida de peso son bajos.

Gráfico 23. Porcentaje total de pérdida de peso en granos de maíz

Fuente: (Tituaña; 2021)

En el gráfico 23, se observa el porcentaje de pérdida de peso de granos de maíz en la cuarta semana, dato único que se obtuvo al finalizar la parte experimental. Los resultados indican que el (T3) que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 3 (alta) y forma de aplicación preventiva registró el 29,9 % de pérdida de peso siendo el mejor tratamiento; le sigue el tratamiento (T2) que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa con dosis 2 (media) y forma de aplicación preventiva con un 37,6%; ; otro tratamiento que registró porcentajes bajos de granos dañados es el (T9) que corresponde a *Beauveria* nativa con dosis 3 (alta) y forma de aplicación curativa que registró un 36% de pérdida de peso; con respecto al resto de tratamientos registraron porcentajes entre el 41% al 82% para esta variable y finalmente se tiene el (T13) que corresponde al testigo que registró el porcentaje más alto en pérdida de peso llegando alcanzar un 85,2% al finalizar la parte experimental.

El resultado obtenido para el mejor tratamiento que corresponde al T3 (*Beauveria* nativa* D3* Preventiva) que obtuvo el 29,9% de pérdida de peso es similar a los resultados obtenidos por (Padín et al., 2002) quienes mencionan tener un porcentaje de pérdida del 25,4% para la variable de pérdida de peso.

En el tratamiento T13 al que no se le aplicó *Beuaveria bassiana*, se observa que el porcentaje de pérdida de peso en granos de maíz es el más alto llegando alcanzar un 85,2%, este resultado

es similar a los (Asante et al., 2015 & Padín et al., 2002) quienes reportan un porcentaje de pérdida de peso del 79,5% y 81,5% respectivamente.

12. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES, ECONÓMICOS)

Los impactos generados en los ámbitos técnicos, sociales, ambientales y económicos son los siguientes:

12.1. Impactos Técnicos

La utilización de microorganismos que son en beneficio de la agricultura es considerada como una biotecnología, de esta manera al utilizar al hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* para el control del gorgojo barrenador del grano (*Pagiocerus frontalis*), se genera una alternativa de control con respecto a la utilización de insecticidas químicos; con esta investigación y con sus resultados positivos se está en la capacidad de poner en uso esta alternativa con el propósito que beneficie a los productores de maíz.

12.2. Impactos Sociales

Los resultados obtenidos se encontrarán a disposición de toda persona que lo solicite o necesite, además en la metodología que abarca gran parte de la investigación se detalla de manera comprensiva la obtención de *Beauveria bassiana* a partir de los métodos de captura, aislamiento y propagación, esto con el propósito de que estudiantes y productores se interesen por el uso de este hongo entomopatógeno.

12.3. Impactos Ambientales

La investigación promueve el uso de un control biológico a partir de la utilización del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, de esta manera se da al agricultor una alternativa de control de insectos plagas en almacenamiento más sana para el ambiente evitando dejar residuos que sean tóxicos para el ser humano.

12.4. Impactos Económicos

Al utilizar este hongo entomopatógeno, se está salvaguardando la integridad de los granos almacenados de maíz, lo que beneficiaría directamente al productor debido a que, se generarían menores pérdidas económicas al presentarse *Pagiocerus frontalis*. Además, se abaratarían los costos de producción con respecto a la compra de los insecticidas gasificantes.

13. PRESUPUESTO

Tabla 27. Presupuesto general

Método Captura: Salida de campo				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Transporte	Pasaje Aloag - Santo Domingo	2	\$ 3,50	\$ 7,00
Tarrinas plásticas	De 1/4	2	\$ 0,20	\$ 0,40
Papel absorbente	Rollo	1	\$ 1,40	\$ 1,40
SUBTOTAL				\$ 8,80
Método Aislamiento				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Agar PDA	Envase de 500g	1	\$ 73,36	\$ 73,36
Parafilm	Rollo	1	\$ 59,00	\$ 59,00
Plástico film	Rollo 30m	1	\$ 1,00	\$ 1,00
Cajas Petri	Plásticas	4	\$ 0,30	\$ 1,20
Estuche de disección	De 12 piezas	1	\$ 15,00	\$ 15,00
Papel aluminio	Rollo 7m	1	\$ 2,00	\$ 2,00
Marcador	Tinta indeleble	1	\$ 1,30	\$ 1,30
Caja de porta objetos	De 100 unidades	1	\$ 2,70	\$ 2,70
Caja de cubre objetos	De 100 unidades	1	\$ 1,30	\$ 1,30
SUBTOTAL				\$ 156,86
Método Re-aislamiento				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Agar -Agar	Envase de 500g	1	\$ 24,00	\$ 24,00
Cajas Petri	Plásticas	20	\$ 0,30	\$ 6,00
Asa microbiológica	Metal	1	\$ 3,20	\$ 3,20
Mechero de alcohol	Vidrio	1	\$ 4,20	\$ 4,20
Alcohol	Litro	1	\$ 2,50	\$ 2,50
Bisturí	Caja de 100 unidades	1	\$ 10,00	\$ 10,00
Análisis del laboratorio	Identificación taxonómica	1	\$ 105,60	\$ 105,60
SUBTOTAL				\$ 155,50
Método de Reproducción				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Antibiótico	Gentamax 280 (ampolleta)	3	\$ 1,00	\$ 3,00
Cajas Petri	Plásticas	30	\$ 0,30	\$ 9,00
Plástico film	Rollo 30m	1	\$ 1,00	\$ 1,00
SUBTOTAL				\$ 13,00

Elaboración de solución madre y conteo de conidios				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Probeta	De vidrio de 100 ml	1	\$ 10,00	\$ 10,00
SUBTOTAL				\$ 10,00
Colecta y mantenimiento del insecto plaga				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Granos de maíz	Libra	5	\$ 1,00	\$ 5,00
Recipiente de plástico	De 6 litros	1	\$ 2,00	\$ 2,00
Tul	Metros	1	\$ 2,00	\$ 2,00
Ligias	Paquetes de 50 unidades	1	\$ 0,50	\$ 0,50
SUBTOTAL				\$ 9,50
Implementación				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Granos de maíz	Libra	5	\$ 1,00	\$ 5,00
Vasos transparentes	Paquetes de 25 Vasos de 14 onzas	2	\$ 1,00	\$ 2,00
Tul	Metros	3	\$ 2,00	\$ 6,00
Ligias	Paquetes de 50 unidades	1	\$ 0,50	\$ 0,50
Rociadores	De 75 ml	2	\$ 0,75	\$ 1,50
Beauveria Comercial	Presentación 100g	1	\$ 22,50	\$ 22,50
Jeringuilla	De insulina de 10cc	24	\$ 1,00	\$ 24,00
SUBTOTAL				\$ 61,50
TOTAL				\$ 415,16

Fuente: (Tituaña; 2021)

CAPITULO V

14. CONCLUSIONES

- Se obtuvo una cepa de *Beauveria bassiana* a partir de protocolos utilizados para la colecta, aislamiento y multiplicación de este hongo entomopatógeno.
- Se determinó que *Beauveria bassiana* es un antagonista del gorgojo barrenador del grano (*Pagiocerus frontalis*), obteniendo un 100% de mortalidad en el Tratamiento 3 que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa en la dosis 3 (D3 alta) a 3cc siendo el mejor tratamiento en el control de *Pagiocerus frontalis*.
- Se determinó el menor porcentaje de granos dañados y pérdida de peso en granos de maíz atacados por *Pagiocerus frontalis*, obteniendo el 29,9 % en el Tratamiento 3 que corresponde a la aplicación de *Beauveria* nativa en la dosis 3 (alta) y forma de aplicación preventiva.

15. RECOMENDACIONES

- Obtener muestras de insectos infectados por el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* provenientes de sectores en la región Sierra.
- Multiplicar al hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en bolsas plásticas con diferentes sustratos, con el propósito de obtener una producción masiva de este entomopatógeno.
- Realizar técnicas de conservación para preservar por mayor tiempo las muestras de *Beauveria bassiana* y que estas se encuentren disponibles y activas para futuras investigaciones.

16. BIBLIOGRAFÍA

- Abadía, B., & Bartosik, R. (2013). *Manual de buenas prácticas en poscosecha de granos*. Buenos Aires, Argentina: INTA.
- Álvarez, J. (2020). MÉTODOS DE CONTROL PARA GORGOJO DE MAÍZ (*Pagiocerus frontalis*) EN ALMACÉN. https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/6256/T010_47387151_t.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Antía, O., Posada, F., Bustillos, A., & González, M. (1992). Producción en finca del hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café. *Cenicafe*, 182(1), 1–12. <https://www.researchgate.net/publication/233957052>
- Asante, S., Nboyne, J., Nutsuganh, S., Abudulai, M., Ansaah, F. L. B., & Clottey, V. (2015). Biological control of the larger grain borer, *Prostephanus truncatus* (Horn) in stored maize using the fungal pathogen, *Beauveria bassiana* and the predator *Teretrius nigrescens* Lewis. *Journal of Stored Products and Postharvest*, 6(4), 30–37. <https://doi.org/10.5897/JSPPR2015>
- Bourne, L., Wong, F., Borboa, J., & Cinco, F. (2014). Daños causados por el barrenador mayor de los granos *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae) en maíz y ramas de plantas silvestres. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 20(1), 63–75. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2013.03.008>
- Cañedo, V., & Ames, T. (2004). *MANUAL DE LABORATORIO PARA EL MANEJO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS*. Lima, Perú: CIP.
- Castillo, A., Gómez, J., Infante, F., & Vega, F. (2009). Susceptibilidad del Parasitoide *Phymastichus coffea* LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) a *Beauveria bassiana* en Condiciones de Laboratorio. *Neotropical Entomology*, 38(5), 665–670. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S1519-566X2009000500017>
- Castillo, C., Cañizalez, L., Valera, R., Godoy, J., Guedez, C., Olivar, R., & Morillo, S. (2012). CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE *BEAUVERIA BASSIANA*, AISLADA DE DIFERENTES INSECTOS EN TRUJILLO-VENEZUELA. *ACADEMIA*, 11(23), 1–7.

- Castillo, H. (2014). Evaluación de cal viva y *Beauveria bassiana* para el manejo del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) en condiciones de laboratorio. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/bitstream/handle/20.500.12371/5346/174214TL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Castro, R., & Mejía, K. (2011). PREFERENCIA ALIMENTARIA DE *Pagiocerus frontalis* EN VARIEDADES DE MAÍZ EN EL DISTRITO DE COYA - PROVIINCIA DE CALCA. https://www.avocadosource.com/international/peru_papers/CastroRosa2011.pdf
- Cevallos, S. (07 de Febrero del 2020). “EVALUACIÓN DEL EFECTO DE OZONO(O₃) EN EL CONTROL DE GORGOJO *Pagiocerus frontalis* (F.), EN GRANOS ALMACENADOS DE MAÍZ SUAVE (*Zea mays* L.) EN LA PROVINCIA COTOPAXI, CAMPUS EXPERIMENTAL SALACHE, PROYECTO GRANOS ANDINOS 2020.” <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/6627/1/PC-000821.pdf>
- Choquetarqui, D., Almanza, L., & Loza, M. (2011). Selección de tres cepas criollas de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin como alternativa para el control biológico de la broca de café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari 1867) (Coleoptera: Scolytidae) a diferentes temperaturas. *Journal of the Selva Andina Reseach Society*, 1(1), 17–25.
- Deras, H. (2012). Guía técnica El cultivo del maíz. <http://repiica.iica.int/docs/b3469e/b3469e.pdf>
- Fernández, C., & Paico, S. (2018). Concentración mínima efectiva del entomopatógeno *Beauveria bassiana* expuesta a radiación UV-C. <https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/3939/BC-TES-TMP-2781.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Gallegos, G., Cepeda, M., & Olayo, R. (2004). *Entomopatógenos*. México: Trillas.
- Gallegos, P., & Vásquez, V. (Septiembre de 1994). Combate del gorgojo del maíz suave en almacenamiento casero mediante el empleo de cal o ceniza. <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/2569/1/iniapscl144.pdf>
- García, D. (2009, April). EVALUACIÓN DE INSECTICIDAS DE CUATRO GRUPOS TOXICOLÓGICOS PARA EL CONTROL DE *Sitophilus zeamais* MOTSCHULSKY. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/4297/T17073%20G>

ARCIA%20PEREZ%2c%20DAVID%20EDUARDO%20%20%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Gomez, D., & Aguilera, P. (1982). Biología de *Pagiocerus frontalis* (Fab.) (Coleoptera: scolytidae) en el extremo norte de Chile [*Zea mays*]. *IDESIA*, 6(2), 79–92.
- Google Earth. (2021). Mapa de la Universidad Técnica de Cotopaxi Campus Salache. <https://earth.google.com/web/search/Universidad+T%3ca9cnica+de+Cotopaxi,+Campus+Salache/@-0.9994491,-78.6191374,2704.12372296a,1056.36232403d,35y,0h,45t,0r/data=CpsBGnESawolMHg5MWQ0NjI1NjNhMzVhYTk5OjB4YTNhMDU5YWRhZTkwZmE2MxIDiNCtfPvvvyHALnyn6dTwCowVW5pdmVyc2lkYWQgVMOpY25pY2EgZGUgQ290b3BheGksIENhbXB1cyBTYWxhY2hlGAIgASImCiQJfEPF0cxm3r8Re4QzLkW74L8ZVPLpx1miU8AhH16O92aoU8AoAg>
- Grande, C., & Orozco, B. (2013). Producción y procesamiento del maíz en Colombia. *Revista Científica Guillermo de Ockham*, 11(1), 97–110.
- Guacho, E. (2014). "CARACTERIZACIÓN AGRO-MORFOLOGICA DEL MAÍZ (*Zea mays* L.) DE LA LOCALIDAD SAN JOSÉ DE CHAZO.". <https://core.ac.uk/download/pdf/234574936.pdf>
- Harris, K., & Lindblad, C. (1978). *Ostharvestgrain loss assessment methods: A manual of methods for the evaluation of postharvest losses*. USA: American Association of Cereals Chemists.
- Hernández, J., & Puentes, L. (2012). Manejo Postcosecha de Granos a nivel del Pequeño Agricultor. http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/6757/1/2006112716298_Manejo%20poscosecha%20de%20granos.pdf
- Jara, J. (2009). EVALUACIÓN DE CEPAS NATIVAS DE *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE GORGOJO NEGRO (*Cosmopolites sordidus* Germar) EN CONDICIONES DE LABORATORIO. <https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/974/MANDUJANO%20ADRIANZ%c3%89N%2c%20EMILY.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Kato, T., Mapes, C., Obando, L., Serratos, J., & Bye, R. (2009). ORIGEN Y DIVERSIFICACIÓN DEL MAÍZ UNA REVISIÓN ANALÍTICA. *Fitotecnia Mexicana*, 32(4), 116–117.
- Lara, S., Espinosa, C., & Bergvinson, D. (2007). *Manual de Plagas en granos almacenados y tecnologías alternas para su manejo y control*. México: CIMMYT.
- Loor, L. (Agosto del 2009). Evaluación del estándar de calidad en el manejo postcosecha del maíz (*Zea mays*) en el sitio Las Piedras de la parroquia Boyacá del cantón Chone en el 2019. <https://repositorio.ulead.edu.ec/bitstream/123456789/2304/1/ULEAM-AGRO-0058.pdf>
- López, R., & Gil, V. (2011). *Generalidades del Cultivo del Maíz*. Villa Clara, Cuba.: Feijóo.
- Luna, F. (1999). Evaluación de productos orgánicos en el control de plagas en los granos de maíz. <https://cenida.una.edu.ni/Tesis/tnj111961.pdf>
- Mandujano, E. (2015). Control biológico de *Pagiocerus frontalis* Fabr. (Gorgojo granero) con los hongos entomopatógenos: *Beauveria brongniartii*, *B. bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. <https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/974/MANDUJANO%20ADRIANZ%c3%89N%2c%20EMILY.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Marvaldi, A., & Lanteri, A. (2005). Key to higher taxa os South American weevils based on adult characters (Coleoptera, Curculionoidea). *Revista Chilena de Historia Natural*, 78(1), 65–87. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2005000100006>
- Mera, A., & Montaña, C. (2015). Evaluación de Arreglos Espaciales y Densidades Poblacionales en Híbridos de Maíz Comercial en Zonas de Bosque Tropical Seco durante la Época Lluviosa. <https://www.dspace.espol.edu.ec/retrieve/d9abc621-ad8f-4f47-9f0e-2299cc9e6d9d/D-88081.pdf>
- Molina, J., & Espinal, J. (2000). Evaluación de *Beauveria bassiana* para el combate de insectos plagas en maíz almacenado. *Agronomía Mesoamericana*, 11(2), 15–23.
- Morales, M. (2019). Evaluación de la actividad insecticida de aceites esenciales de menta (*Mentha pulegium*) y eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) para el control del gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*).

<https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/3847/1/T-UTEQ-0195.pdf>

Morocho, J. (20 de Mayo del 2016). PLAN DE OPERACIÓN Y MANEJO DEL CENTRO DE RECEPCIÓN, SECADO Y LIMPIEZA DE MAÍZ PARA LA ASOCIACIÓN DE PRODUCTORES AGROPECUARIOS JUNTOS POR UN FUTURO MEJOR DEL CANTÓN PINDAL, DE LA PROCINCIA DE LOJA. <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/12990/1/JESENIA%20ALEXANDRA%20MOROCHO%20HERRERA.pdf>

Nath, N., Bhattacharya, I., Tuck, A., Schlipalius, D., & Ebert, P. (2011). Mechanisms of phosphine toxicity. *Journal of Toxicology*, 2011, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2011/494168>

Noboa, G., & Quelal, A. (Mayo del 2015). DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE UN PROTOCOLO PARA MEJORAR LA PRODUCCIÓN Y CONSERVACIÓN DE *Beauveria bassiana* Y *Trichoderma harzianum* COMO APORTE A LOS PRODUCTORES DE CAFÉ ORGÁNICO DE LA ASOCIACIÓN “RÍO INTAG”, CANTÓN COTACACHI. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9400/1/UPS-QT07115.pdf>

Padín, S., Dal Bello, G., & Fabrizio, M. (2002). Grain loss caused by *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae* and *Acanthoscelides obtectus* in stored durum wheat and beans treated with *Beauveria bassiana*. *Journal of Stored Products Research*, 38(1), 69–74. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00046-1](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00046-1)

Paliwal, R. (2001). El Maíz en los Trópicos: Mejoramiento y producción. Retrieved January 15, 2022, from FAO website: https://www.fao.org/3/X7650S/x7650s04.htm#P0_0

Popoola, A., Osipitan, A., Afolabi, C., & Oke, O. (2015). Biological control of larger grain borer, *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae) with entomopathogenic fungi-*Beauveria bassiana* (Balsamo) vaillemin (Hypocreales: Cordycipitaceae). *International Journal of Entomology and Nematology*, 2(1), 2–8. Retrieved from www.premierpublishers.org.

Pucheta, M., Flores, A., Rodriguez, S., & de la Torre, M. (2006). Mecanismo de acción de hongos entomopatógenos. *Interciencia*, 31(12), 856–860.

Ramírez, R. (10 de Febrero del 2009). Historia Del Maíz. <https://es.scribd.com/doc/11996681/Historia-Del-Maiz>

- Suárez, H. (2009). PATOGENICIDAD DE *Beauveria bassiana* (DEUTEROMYCOTINA: HYPHOMYCETES) SOBRE *Sitophilus zeamais* MOTSCHULSKY (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) PLAGA DE MAÍZ ALMACENADO. *Intropica*, 4(2), 47–53.
- Suquilanda, M. (2012). Producción orgánica de cultivos andinos (Manual Técnico). <https://www.fao.org/family-farming/detail/es/c/384373/>
- Tanada, Y., & Kaya, H. (1993). *Insect Patology*. New York, Estados Unidos: Academic Press.
- Toledo, B. (2017, September 15). Evaluación agronómica de dos híbridos de maíz (*Zea mays* L.) en condiciones de siembras comerciales, en la granja experimental "Limoncito", en época lluviosa.
<http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/9114/1/T-UCSG-PRE-TEC-AGRONO-20.pdf>
- Valarezo, P. (2017). Evaluación de tres Híbridos de maíz (*Zea mays* L.) con tres distancias de siembra.
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/21554/1/Valarezo%20Torres%20Patricia%20Ver%c3%b3nica.pdf>
- Wendt, E., & Schulz, F. (1990). STUDIES ON THE BIOLOGY AND ECOLOGY OF *PAGIOCERUS FRONTALIS* (FABRICIUS) (COLEOPTERA: SCOLYTIDAE) INFESTING STORED MAIZE IN ECUADOR.
[https://www.semanticscholar.org/paper/STUDIES-ON-THE-BIOLOGY-AND-ECOLOGY-OF-PAGIOCERUS-\(-EIDT-WENDT/c9b4fd3d36f8b22bbb82fdaedd6a06327e6d6a10](https://www.semanticscholar.org/paper/STUDIES-ON-THE-BIOLOGY-AND-ECOLOGY-OF-PAGIOCERUS-(-EIDT-WENDT/c9b4fd3d36f8b22bbb82fdaedd6a06327e6d6a10)
- Willie, E. (2008). *Entomología Agrícola del Perú*. Lima, Perú: Sanidad Vegetal.
- Yáñez, C., Zambrano, J., Caicedo, M., & Heredia, J. (2013). El cultivo de maíz de altura.
<http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/2435>

17. ANEXOS

Anexo 1. Hoja de vida de la docente tutora



Diana Elizabeth Toapanta Gallegos

LUGAR Y FECHA DE NACIMIENTO: 6 de julio de 1979, Quito - Ecuador
LUGAR DE RESIDENCIA: Av. Río Coca y Av. Seis de Diciembre, Condominios San Isidro, Quito - Ecuador
TELÉFONO: 0984730356 - 062651205
E-MAIL: diana_toapanta@hotmail.com

FORMACIÓN ACADÉMICA

TÍTULO OBTENIDO: Magíster en Ciencias Agronómicas mención Producción y Protección Vegetal, Universidad de Concepción, junio 2015, Chillán - Chile.

TÍTULO OBTENIDO: Especialización en Agrobiotecnología, Universidad Central del Ecuador, diciembre 2012, Quito - Ecuador.

TÍTULO OBTENIDO: Ingeniera Agropecuaria, Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales, Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra, julio 19, 2007, Ibarra - Ecuador.

PERFIL PROFESIONAL

Profesional en el área de la protección vegetal y control biológico con participación en proyectos de investigación para la conservación de especies vegetales y forestales, responsable de liderar actividades de monitoreo e investigación de campo.

LINEAS DE INVESTIGACIÓN:

- Identificación y manejo de enfermedades.
- Diagnóstico y manejo de plagas.
- Control biológico de plagas y enfermedades en frutales.
- Identificación, conservación, manejo y cultivo de microorganismos con potencial biocontrolador.

EXPERIENCIA PROFESIONAL

Universidad Yachay Tech

Encargada del área de vinculación con la sociedad a cargo de la planificación, ejecución y difusión de actividades referentes a la participación efectiva de la institución en la sociedad, de noviembre 2019 a diciembre 2020.

UC Davis Chile Life Sciences Innovation Center

Asistente de investigación para proyectos de I + D, a cargo de la planificación y desarrollo de actividades de laboratorio, actividades de campo, reuniones de coordinación con grupos de investigación, de marzo 2017 a diciembre 2018.

Fundación Charles Darwin

Asistente de Investigación para la restauración ecológica de especies vegetales endémicas de Galápagos, a cargo de liderar actividades de monitoreo en campo, difusión y recaudación de fondos para el proyecto Galápagos Verde 2050, de julio a septiembre 2015.

Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad y el Agro

Laboratorista a cargo del análisis e identificación de microorganismos fitopatógenos, (virus, hongos, bacterias) de material vegetal, agua y suelo, de julio a diciembre 2011.

Ministerio de Ambiente y Agua

Proyecto "Revisión de las concesiones de agua de riego Demarcación Hidrográfica Cuenca del Río Mira", de julio a septiembre del 2010.

EXPERIENCIA DOCENTE

Universidad Central del Ecuador

Docente de Nivelación de las carreras de Medicina Veterinaria y Agronomía, de abril a julio 2019.

ESTANCIAS DE INVESTIGACIÓN

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias - Chile

Banco de la Colección de Recursos Microbianos Genéticos Microbianos de Chile, actividades de tesis de posgrado y conservación de accesiones, de marzo 2013 a junio 2015.

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias - Ecuador

Departamento Nacional de Biotecnología, actividades de tesis de posgrado en el área de biología molecular e identificación de patógenos de plantas, de abril 2009 a abril de 2010.

PUBLICACIONES

Diagnóstico molecular de *Phytophthora cinnamomi* asociado a la pudrición radicular en zonas productoras de aguacate en Ecuador, Toapanta-Gallegos DE, Morillo-Velasteguí LE, Viera-Arroyo WF. 2017. Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria. 18(2):285-294. doi: https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num2_art:628

Biocontrol Potential of Grapevine Endophytic and Rhizospheric Fungi Against Trunk Pathogens, Silva-Valderrama I, Toapanta D, Miccono MA, Lolas M, Díaz GA, Cantu D and Castro A (2021) Front. Microbiol. 11:614620. doi: 10.3389/fmicb.2020.614620

CURSOS REALIZADOS

CEBIO ECUADOR

Bioingeniería, escalado de bioprocesos con enfoque en parámetros para manejo operacional de biorreactores, modalidad virtual, de 27 febrero a 13 de marzo del 2021.

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS

Primer Simposio Internacional de Manejo Integrado de Plagas en Solanáceas, 7 y 8 de octubre de 2015, Quito - Ecuador

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN

Plant viruses and virus diseases, del 10 al 18 de marzo del 2014, Chillán - Chile

UNIVERSIDAD DE TALCA

XXIII Congreso de Fitopatología 2014, del 3 al 5 de diciembre del 2014, Talca - Chile.

REFERENCIAS PERSONALES

Álvaro Castro Ph.D.

Research Coordinator UC Davis Chile Life Sciences Innovation Center
Correo: alvcastro@ucdavischile.edu
Dirección: Andrés Bello 2299, Of. 1102, Providencia, Santiago de Chile

Lenín Jácome Ph.D.

Coordinador de Servicios Escolares Universidad Yachay Tech
Correo: lsjacome@yachaytech.edu.ec
Teléfono: 0987310866

Ing. Ana Garrido Msc.

Directora de Diagnóstico Vegetal en Agrocalidad
Correo: anagarridoharo@hotmail.com

Anexo 2. Aval de traducción



Universidad
Técnica de
Cotopaxi

CENTRO DE IDIOMAS

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que:

La traducción del resumen del proyecto de investigación al idioma Inglés cuyo título versa: **“EVALUACIÓN DE *Beauveria bassiana* PARA EL CONTROL DEL GORGOJO BARRENADOR DEL GRANO (*Pagiocerus frontalis*), EN GRANO ALMACENADO DE MAÍZ (*Zea mays L.*), BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, SALACHE – LATACUNGA – COTOPAXI - 2021”** presentado por **Tituaña Peralta José Israel**, estudiante de la carrera de **Ingeniería Agronómica**, perteneciente a la **Facultad Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales**, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo al peticionario hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimare conveniente.

Latacunga, 07 de abril del 2022.

Atentamente,



Atestado digitalmente por:
EDISON MARCELO
PACHECO PRUNA

Lic. Edison Marcelo Pacheco Pruna Mg.
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
C.C. 050261735-0



CENTRO
DE IDIOMAS

Anexo 3. Ficha técnica del producto Beauvetic



FICHA TÉCNICA

BEAUVETIC



* Bioregulator controlador de insectos



DESCRIPCIÓN

BEAUVETIC: *Beauveria bassiana*, hongo entomopatógeno causa efectos permanentes en las poblaciones de insectos plaga de importancia económica y es utilizado ampliamente como agente de control biológico en programas de manejo integrado, acciona al parasitar a los insectos plaga a los cuales les causa la enfermedad conocida como muscardina, una vez que ingresa al insecto coloniza su pared intestinal, produciéndole septicemia y ocasionándole la muerte. Infecta a más de 200 especies de insectos, entre los que se destacan gusanos, termitas, áfidos, ácaros, escarabajos, entre otros.



CONCENTRACIÓN	
Esporas viables por gramo	5x 10 ¹⁰

INSTRUCCIONES DE USO

Aplicar en todos los cultivos para el control de insectos, ácaros y gusanos, hormigas. Mezclar con agua, aplicar en drench o aspersión al suelo o foliar dirigido a la plaga en cualquier etapa del cultivo. Se puede usar en ciclo corto o largo. Se recomienda NO mezclar con fungicidas.

DOSIS

Ciclo	Hectárea	Litro de Agua	Recomendaciones
Corto	100 gr	0.5 g	3 Aplicaciones una vez por semana, varían de acuerdo al nivel de plaga en el cultivo
Largo	100 gr	0.5 g	3 Aplicaciones una vez por semana, varían de acuerdo al nivel de plaga en el cultivo

¡PRECAUCIONES! ⚠

Se debe tener la precaución de aplicarlo antes de las 10 de la mañana o pasado las 4 de la tarde debido a que los rayos ultravioleta del sol pueden causar pérdida de la población del microorganismo. Se debe almacenar en un lugar fresco y seco una vez abierto requiere refrigeración, evitar los rayos del sol. Se debe tener la precaución de aplicar el producto con equipo de protección. El producto tiene un tiempo e vida útil de doce meses después de su fecha de elaboración.

Yaruqui sector San Carlos, Línea Férrea S4 – 287, frente al rompe velocidades, Planta Baja, local 6
Telf 02 2779663

Anexo 4. Resultado del análisis taxonómico



ANÁLISIS DE LABORATORIO PSL 291 TAXONOMIA FUNGAL A NIVEL DE GENERO Y/O ESPECIE

Fecha toma de muestra: 11.02.2022	Fecha laboratorio: 04.03.2022
Solicitado por: Ing. Valeria Sotelo	Responsable: Srta. Valeria Sotelo – Sr. José Tituaña
Empresa: Particular	Finca: no reportada
Cultivo: Banano	Estadio Fisiológico: Producción
Ciclo Productivo: productivo	Variedad: no reportada
Material para análisis: Colonias microbianas	email: valeria.sotelo5353@utc.edu.ec
Orden de trabajo: 291	Factura: 4882

RESULTADOS

Muestra I.

UBICACION TAXONOMICA DE *Beauveria bassiana*.

Clasificación taxonómica según Alexopoulos y Mims (1979).

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

MORFOLOGIA

Colonias

Aterciopeladas, algodonosas, pulverulentas, con superficie semielevada, con formación de sinemas, como principal característica de la especie *B. bassiana*, en plena producción de conidias, al inicio de color blanco hueso, posteriormente de color amarillo pálido.

Conidioforos sencillos, irregularmente agrupados, verticilados en grupo, hinchadas en la base, acortándose en diámetro en la región que sostiene a la conidia, la cual se presenta en forma de zigzag.

Fiálides con una parte basal dilatada terminando en zig-zag.

Conidios hialinas, redondeadas o globosas o subglobosas unicelulares, con la base apiculada de 2.5-4,5 μm . El raquis de 25 μm .

Conidióforos células conidioforas alargadas, solitarias, de base subglobosa o cilíndrica de 3 a 20 μm de largo por 1.3 a 4 μm de ancho, formando racimos compactos.

GERMINACION

Las conidias germinan a las 18 horas de incubación, alcanzando el 99,80% de germinación.

METABOLITOS SECUNDARIOS

Metabolitos	Beauvericina	Bassianolídeos	Enniatinas A y B	Beauverolídeos	Bassianinas	Tenelinas	oosporeinas	Ácidos oxálicos	Oxalatos de calcio
Cepa 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Metabolitos	Ácido Fusárico	Ácido Dipicolínico	Paeolomicinas	Efrapeptinas	Beauverolídeos	Destruinas	Enniatinas	Ciclosporinas	Pyridovaticina
Cepa 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+

ENZIMAS DETECTADAS

Enzimas	Proteasas	Lipasas	Aminopeptidasas	Esterasas	Quitinasa
Cepa 1	+	+	+	+	+

Dr. Carlos Falconi Borja PhD
 BIONIKA LABS (PSL)
 0999796977-
 www.bdki.eu
 drfalconi-labs@biosoftware.de

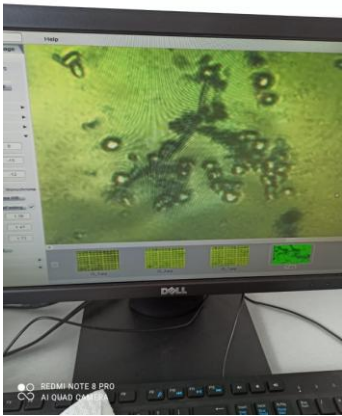
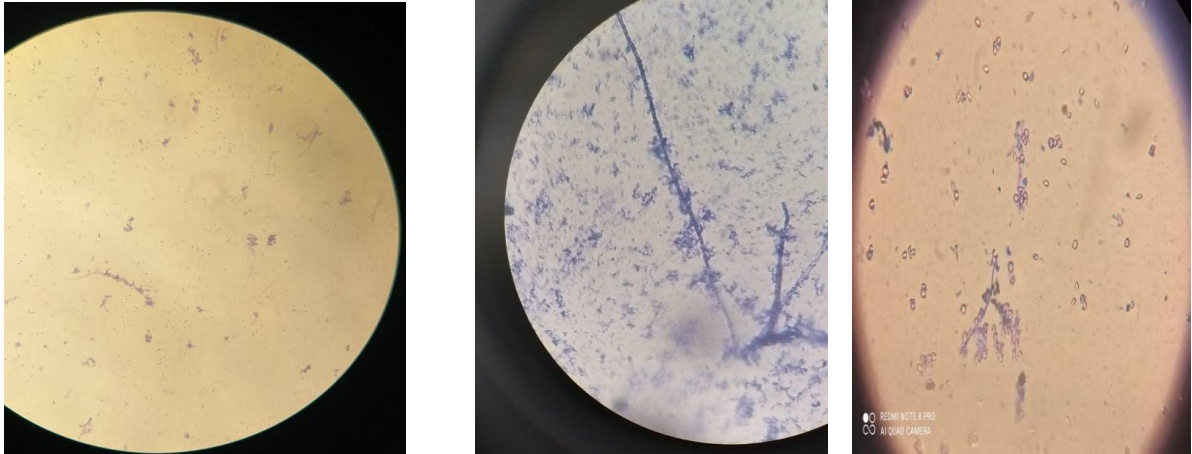
Anexo 5. Insectos colectados en el sector del Congoma Bajo



Anexo 6. Aislamiento del hongo *Beauveria bassiana* en el laboratorio

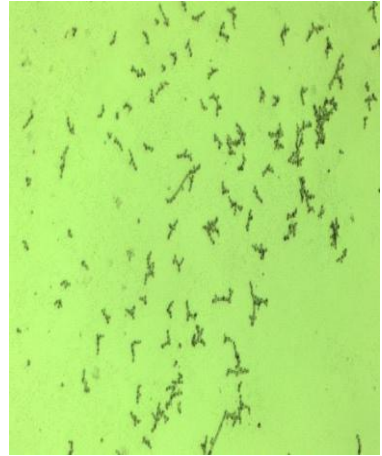


Anexo 7. Identificación de *B. bassiana* mediante características morfológicas

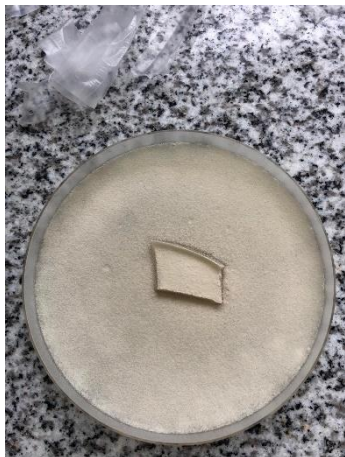


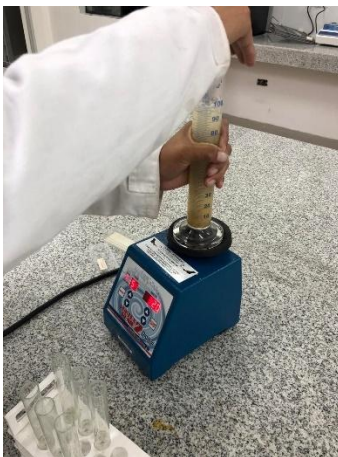
Anexo 8. Re-aislamiento del hongo *Beauveria bassiana* (elaboración de cultivos monospóricos)

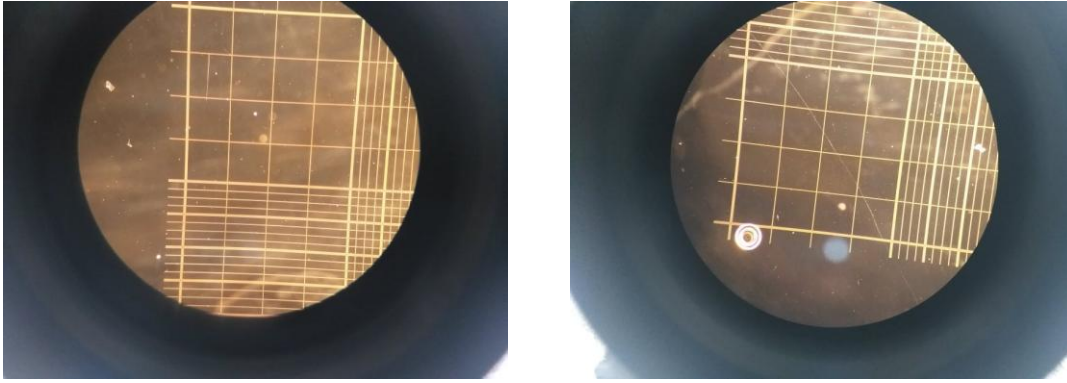




Anexo 9. Multiplicación del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*



Anexo 10. Elaboración de la solución madre a base de *Beauveria bassiana***Anexo 11.** Conteo de conidias para la determinación de la concentración 10^8 



Anexo 12. Colecta y mantenimiento del gorgojo barrenador del grano (*Pagiocerus frontalis*)



Anexo 13. Implementación del diseño experimental



Anexo 14. Unidad experimental**Anexo 15. Fumigación de *Beauveria bassiana* en las unidades experimentales**

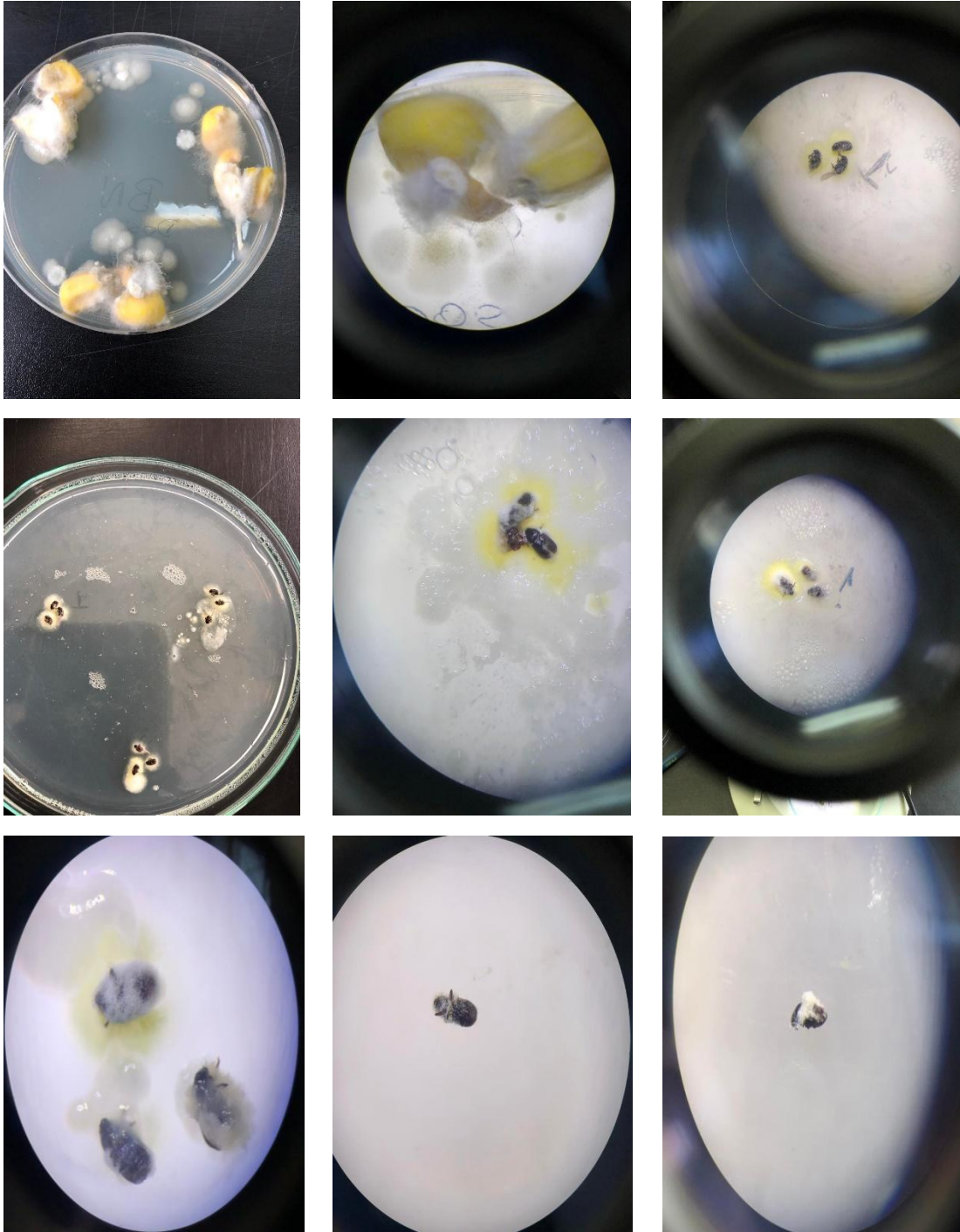
Anexo 16. Registro de la mortalidad de *Pagiocerus frontalis* y granos infestados



Anexo 17. Mortalidad de insectos adultos de *Pagiocerus frontalis*



Anexo 18. Insectos muertos por efecto de *Beauveria bassiana*



Anexo 19. Protocolo de laboratorio para el manejo del hongo entomopatógeno



UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES**

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**PROTOCOLO DE LABORATORIO PARA EL MANEJO DEL HONGO
ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana***

Autores:

Sotelo Erazo Valeria Michelle

Tituaña Peralta José Israel

Tutora:

Toapanta Gallegos Diana Elizabeth Ing. Mg.

Latacunga - Ecuador

Marzo 2022

CONTENIDO

1. COLECTA Y AISLAMIENTO DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO.....	1
1.1. Protocolo de Colecta.....	1
1.2. Protocolo de Aislamiento.....	2
1.3. Protocolo de Identificación.....	4
1.3.1. Descripción de las características morfológicas de la colonia:	4
1.3.2. Descripción de las características microscópicas:.....	4
1.4. Protocolo de Multiplicación.....	5
2. PROTOCOLO DE ELABORACIÓN DE SUSPENSIÓN MADRE Y CONTEO DE CONIDIAS	7
2.1. Suspensión Madre:.....	7
2.2. Conteo de Conidias.....	8
3. PROTOCOLO PARA LA ELABORACIÓN DE SUSPENSIONES A DIFERENTES CONCENTRACIONES	9
4. PROTOCOLO PARA LA DOSIFICACIÓN DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO	10
5. BIBLIOGRAFÍA.....	11

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 1. Registro de datos para insectos colectados.....	1
Tabla 2. Descripción morfológica de la colonia.....	4
Tabla 3. Descripción microscópica.....	5

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1. A) Insecto colectado en campo; B) Insecto en cámara húmeda	2
Figura 2. A) Materiales esterilizados; B) Medio de cultivo en cajas Petri; C) Muestra del insecto colocada en la caja Petri; D) Sellado de las cajas y E) Crecimiento micelial del hongo.....	3

Figura 3. A) Vista frontal de la caja; B) Vista posterior de la caja; C) Vista microscopio 10X y D) Vista microscopio 40X	5
Figura 4. A) Medio de cultivo suplementado con antibiótico; B) Mezcla del medio de cultivo con el antibiótico; C) Cortes de la parte micelial del hongo entomopatógeno; D) Cortes colocados en PDA suplementado; E) Rotulado de las cajas Petri; F) Cortes de 5mm del subcultivo limpio y G) Cajas Petri cubiertas con el hongo entomopatógeno	7
Figura 5. Cámara de Neubauer	8
Figura 6. Selección de cajas Petri; B) Raspado del hongo entomopatógeno; C) Suspensión madre; D) Mezcla de la Suspensión Madre; E) Cámara de Neubauer y F) Vista 40X de la cámara de Neubauer.	9
Figura 7. A) Identificación de los tubos de ensayo; B) Diluciones agitadas y C) Conteo de esporas para las diferentes diluciones	10
Figura 8. A) Toma de la dosificación; B) Dosis colocada en el vaso de precipitación; C) Mezcla del agua destilada y la dosis y D) Solución colocada en el rociador	11

1. COLECTA Y AISLAMIENTO DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO

1.1. Protocolo de Colecta

Se empleó la metodología utilizada por (Castillo et al., 2012) mencionando, una recolección en campo de insectos muertos infectados por especies de *Beauveria*, los cuales presentan una cubierta blanca muy densa formada por el micelio y esporulación del hongo. Generalmente los insectos atacados se momifican quedando adheridos en la planta.

A continuación, se detalla la obtención de muestras:

- 1.- Realizar la colecta de insectos en sectores libres de aplicaciones de insecticidas y fertilizantes químicos; de preferencia la colecta se lo realiza en horas de la mañana 07h00 a 09h00.
- 2.- Utilizar tarrinas plásticas y papel adsorbente para elaborar una cámara húmeda en donde se colocarán las muestras obtenidas en campo.
- 3.- En el sector seleccionado, realizar la búsqueda de insectos con signos aparentes de infección por hongos en el material vegetal (cortezas, plantas, tallos).
- 4.- Retirar el insecto cuidadosamente del material vegetal y depositar la muestra obtenida del insecto en la cámara húmeda.

Tabla 1. Registro de datos para insectos colectados.

Nombre del colector	José Tituaña
Nombre del insecto colectado	Picudo negro del banano
Lugar	Sector: Congoma bajo Provincia: Santo Domingo de los Tsáchilas
Cultivo	Banano
Fecha	11 de septiembre 2021
Observaciones	Insecto muerto encontrado en el interior del pseudotallo del banano cosechado. Presenta signos de micelio blanco cubierto a su alrededor.

Elaborado por: (Sotelo & Tituaña, 2022)



Figura 1. A) Insecto colectado en campo; B) Insecto en cámara húmeda

1.2. Protocolo de Aislamiento

Se empleó la metodología utilizada por (Castillo et al., 2012) mencionando que, las muestras obtenidas se las debe colocar en el medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) para su crecimiento.

Las muestras obtenidas son procesadas en el laboratorio:

1.- Preparar medio de cultivo de preferencia Agar Papa Dextrosa (PDA), considerando las siguientes medidas para su preparación:

Cantidad para el agua destilada: 100 ml a razón de 4 – 5 cajas Petri.

Cantidad para el agar: 39 gr. a razón de 1000 ml de agua destilada.

2.- Esterilizar el medio de cultivo (PDA) en la autoclave en un período de 45 minutos a 1 atmósfera de presión. Además, para los materiales de laboratorio (pinzas, agujas de disección y cajas Petri de vidrio) deben ser envueltas en papel aluminio para su esterilización.

3.- Desinfectar con papel adsorbente y alcohol al 90% la cámara de flujo laminar. El medio de cultivo y el resto de materiales esterilizados se coloca en la cámara de flujo laminar bajo luz ultravioleta en un período de 15 minutos.

4.- El medio de cultivo ya en temperatura ambiente se lo coloca en las cajas Petri; una vez que el medio de cultivo de la caja se encuentre sólido se colocan las muestras de insectos colectados.

5.- Las cajas que contienen los insectos colectados se las sella con cinta Parafilm y son rotuladas en la parte posterior con marcador indeleble indicando la fecha de elaboración y el tipo de muestra.

6.- Las cajas preparadas son colocadas en la cámara de incubación a una temperatura promedio de 24 °C en un periodo de tiempo de 7 días. Se sugiere envolver con plástico film las cajas Petri para evitar contaminaciones.

7.- Al terminar el periodo de 7 días se observa el crecimiento micelial del hongo sobre el insecto colectado.

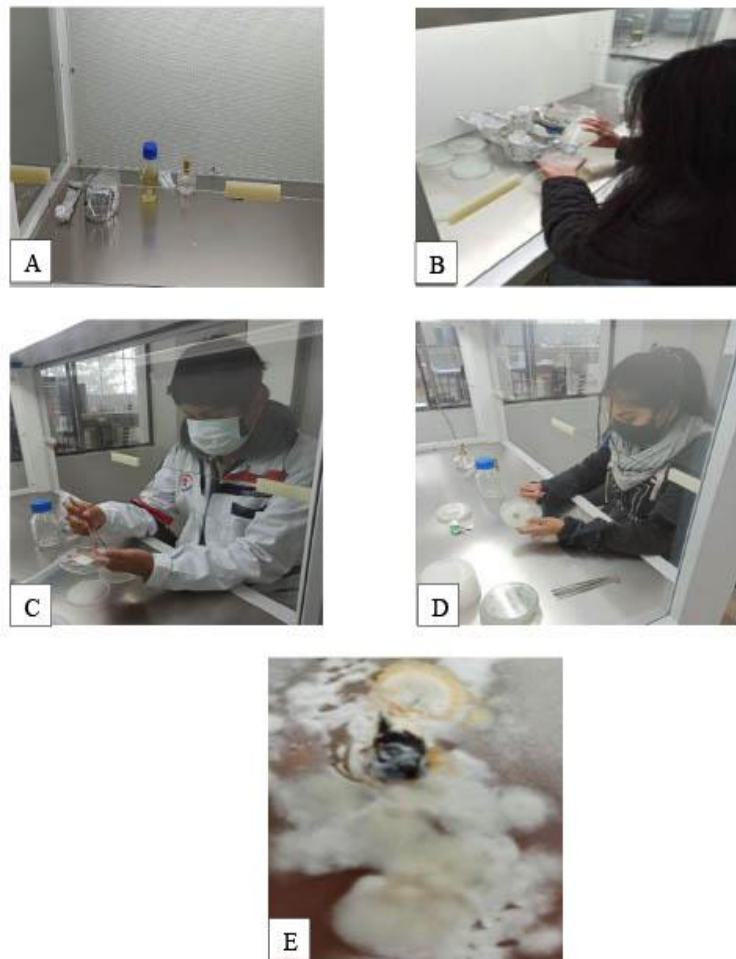


Figura 2. A) Materiales esterilizados; B) Medio de cultivo en cajas Petri; C) Muestra del insecto colocada en la caja Petri; D) Sellado de las cajas y E) Crecimiento micelial del hongo.

1.3. Protocolo de Identificación

La identificación se realiza mediante las características morfológicas de la colonia y características microscópicas.

1.3.1. Descripción de las características morfológicas de la colonia:

1.- Se observa características (estructura y color del micelio) en la parte frontal y posterior de la caja Petri que contiene el hongo producto de la colecta del insecto infectado.

Tabla 2. Descripción morfológica de la colonia.

Vista frontal	
Estructura	De 3 – 5 días es algodonosa y con el paso del tiempo se vuelve polvoso.
Color	Al principio es de color blanco y con el paso del tiempo se vuelve de color amarillo.
Vista posterior	
Color	En el centro es de color anaranjado y alrededor de color amarillo pálido.

Elaborado por: (Sotelo & Tituaña, 2022)

1.3.2. Descripción de las características microscópicas:

1.- Del contenido de la caja se extrae una pequeña muestra del micelio del hongo utilizando un asa metálica.

2.- El contenido que se extrae se lo deposita en un porta objetos y se realiza un raspado superficial.

3.- Se adiciona una gota de azul de metileno con el propósito de teñir las estructuras del hongo entomopatógeno y se coloca un cubre objetos.

4.- La placa elaborada se observa en el microscopio con el lente 40X.

Tabla 3. Descripción microscópica.

Micelio	Septado
Conidióforos	1 μ a 2 μ de diámetro, donde da origen a las esporas.
Conidias	2 μ a 3 μ de diámetro, son redondas y ovaladas.

Elaborado por: (Sotelo & Tituaña, 2022)

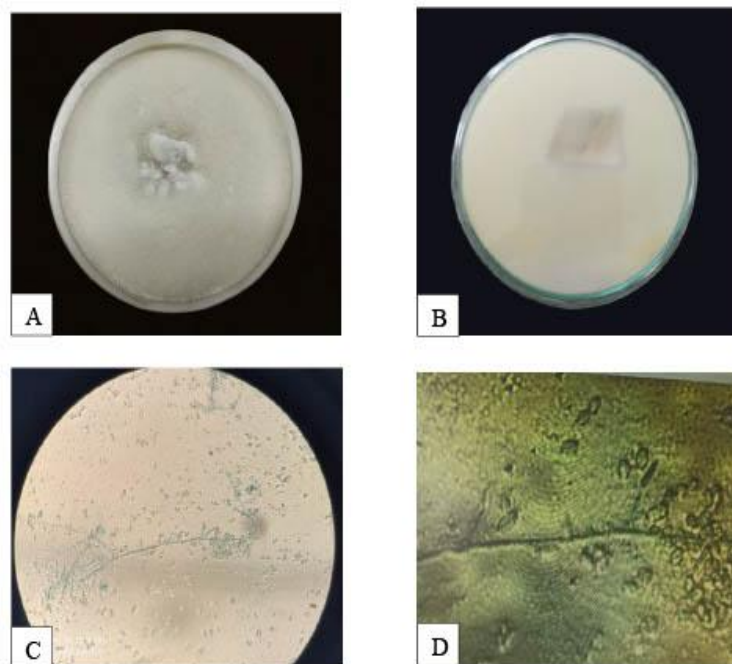


Figura 3. A) Vista frontal de la caja; B) Vista posterior de la caja; C) Vista microscopio 10X y D) Vista microscopio 40X.

1.4. Protocolo de Multiplicación

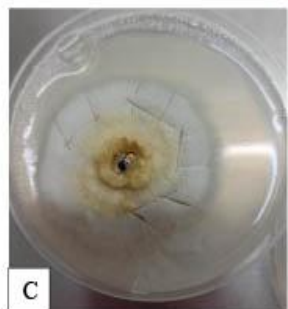
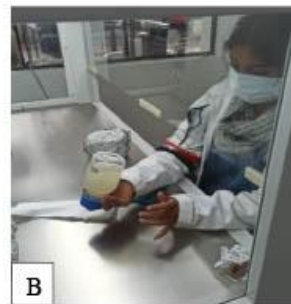
Se empleó la metodología utilizada por (Choquetarqui et al., 2011) mencionando que, de los aislados de *Beauveria*, se realizarán varios cortes de 5 mm con un bisturí y posteriormente será colocado en un medio de cultivo fresco y suplementado con un antibiótico (a base de gentamicina ¿cantidad?) y sellado con cinta Parafilm y debe ser colocado en la incubadora.

A continuación, se detalla la multiplicación del hongo entomopatógeno:

Seguir los pasos (1, 2, y 3) descritos en el “Protocolo de aislamiento”.

6

- 1.- El medio de cultivo ya en temperatura ambiente se coloca un antibiótico (Gentamax 280 presentación de ampollita 2 ml) con el propósito de evitar contaminaciones bacterianas y son colocados en cajas Petri.
- 2.- Realizar cortes del hongo aislado en la caja Petri de aquellos lugares en los que se presente esporulación y una gran formación de micelio.
- 3.- Los cortes son tomados con un bisturí y son colocados en las cajas Petri con antibiótico. Las cuales son selladas, rotuladas y colocadas en la cámara de incubación a una temperatura de 24°C durante 7 días.
- 4.- Al transcurso de 7 días se observa la caja Petri cubierta por el hongo entomopatógeno. Considerado como el primer subcultivo limpio y libre de contaminación.
- 5.- Preparar medio de cultivo (PDA), esterilizarlo con el resto de materiales de laboratorio y desinfectar la cámara de flujo laminar.
- 6.- Dejar enfriar el medio de cultivo a temperatura ambiente, colocar el antibiótico y depositar este medio en las cajas Petri.
- 7.- Del subcultivo del hongo entomopatógeno realizar cortes de 5 mm con el bisturí y colocarlos en cada caja Petri, sellar, rotular y colocar en la cámara de incubación a una temperatura promedio de 24°C durante 7 días.



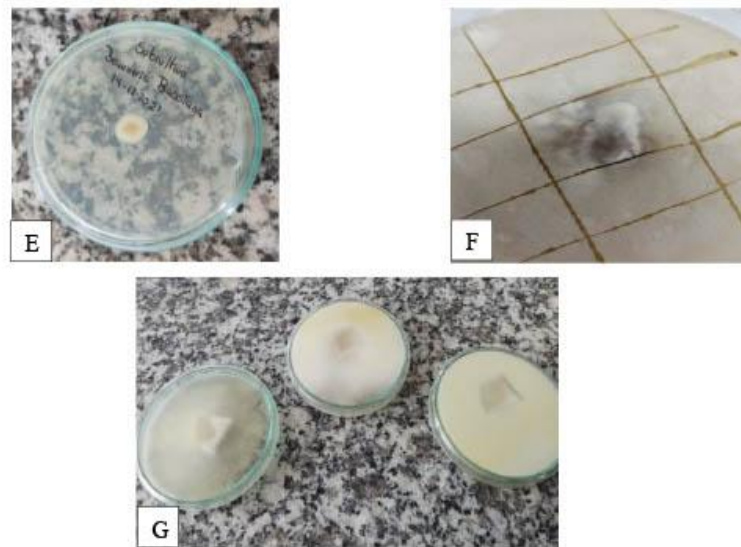


Figura 4. A) Medio de cultivo suplementado con antibiótico; B) Mezcla del medio de cultivo con el antibiótico; C) Cortes de la parte micelial del hongo entomopatógeno; D) Cortes colocados en PDA suplementado; E) Rotulado de las cajas Petri; F) Cortes de 5mm del subcultivo limpio y G) Cajas Petri cubiertas con el hongo entomopatógeno.

2. PROTOCOLO DE ELABORACIÓN DE SUSPENSIÓN MADRE Y CONTEO DE CONIDIAS

En la ejecución de esta fase se adaptó la metodología utilizada por (Antía et al., 1992) mencionando que, la preparación de la suspensión madre se realiza con un volumen de Agua Destilada Estéril de 200 ml que a partir de la cual se realizaron las respectivas diluciones del hongo entomopatógeno.

2.1.Suspensión Madre:

- 1.- Seleccionar 6 cajas Petri que tengan un periodo de incubación de 8 – 10 días obtenidas en el protocolo de multiplicación, estas deben presentar óptimas características como coloración, esporulación y libre de contaminación.
- 2.- Con un asa metálica realizar un raspado del micelio que se encuentra en las cajas Petri agregando agua destilada.
- 3.- El contenido de las cajas Petri se lo coloca en una probeta de vidrio hasta alcanzar 100 ml.

2.2. Conteo de Conidias

- 1.- La suspensión madre se agita por 1 minuto utilizando el agitador electrónico a 300 rpm (revoluciones por minuto) con el propósito de obtener una muestra homogénea.
- 2.- Extraer con una micropipeta 2000 μL (microlitro) de la suspensión madre y colocar el contenido en una Cámara de Neubauer, se coloca un cubre objetos y se observa en el microscopio enfocando a 40X.
- 3.- Para facilitar el proceso de conteo de esporas se sugiere dividir la cámara de Neubauer en cuadrantes, como se muestra en la foto.

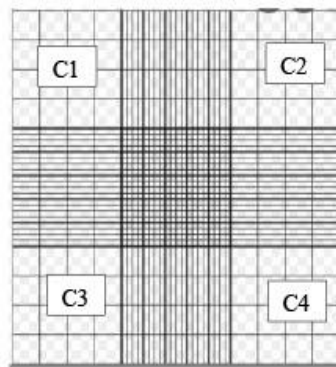


Figura 5. Cámara de Neubauer.

- 4.- Se realiza el conteo de todas las esporas que se encuentren dentro del cuadrante, no se toma en cuenta aquellas esporas que se ubican en las líneas de división o se ubiquen fuera del cuadrante. El conteo se lo realiza en forma de zigzag.
- 5.- Una vez concluido el proceso de conteo de cada cuadrante, se realiza una suma de todos los cuadrantes y se divide para el número de cuadrantes, para obtener una media de conteo de esporas.
- 6.- Con el valor obtenido se aplica la siguiente fórmula:

Concentración de esporas = Promedio del conteo de esporas x número de μL x diluciones (en el caso de realizarlo).

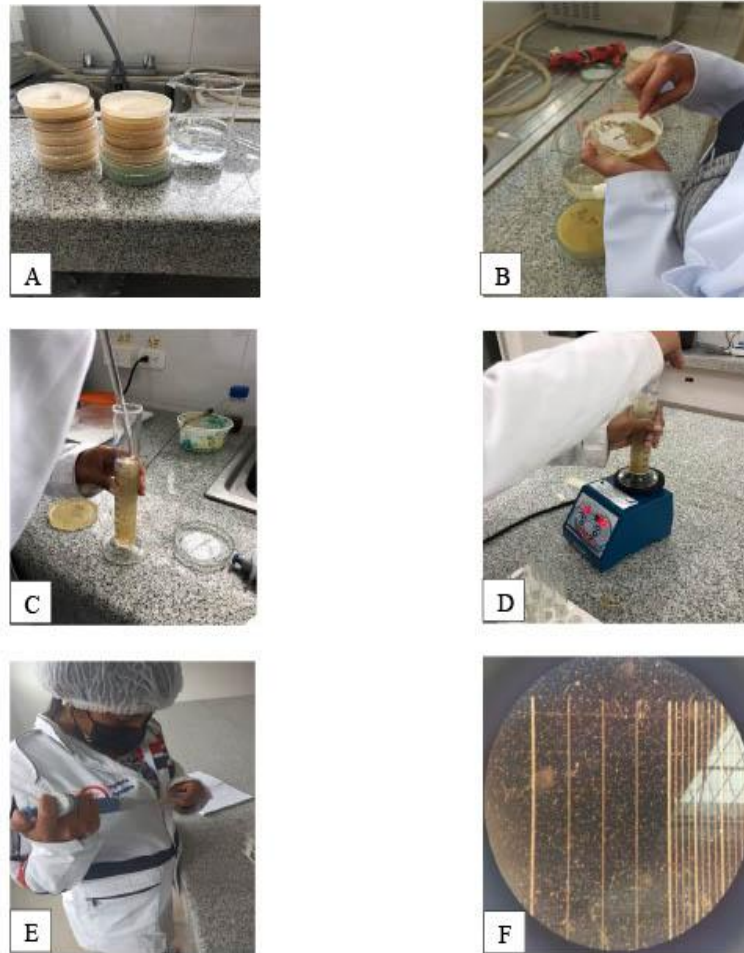


Figura 6. Selección de cajas Petri; B) Raspado del hongo entomopatógeno; C) Suspensión madre; D) Mezcla de la Suspensión Madre; E) Cámara de Neubauer y F) Vista 40X de la cámara de Neubauer.

3. PROTOCOLO PARA LA ELABORACIÓN DE SUSPENSIONES A DIFERENTES CONCENTRACIONES

Determinada la concentración de conidias de la suspensión madre se realizan diluciones para obtener diferentes concentraciones.

1.- En cuatro tubos de ensayo identificados como (A, B, C y D) se coloca 9ml de agua destilada en cada uno de los tubos.

2.- Extraer 1 ml de la suspensión madre con una pipeta, colocar el contenido extraído de la suspensión madre en el tubo de ensayo A, posteriormente de la dilución A se extrae 1 ml con la pipeta y se deposita en el tubo de ensayo B, este proceso de lo debe realizar hasta terminar el tubo de ensayo D. Cada dilución debe ser agitada por 300 rpm.

3.- Realizar el conteo de conidias para cada dilución realizada en los diferentes tubos de ensayo siguiendo los pasos descritos en el protocolo de conteo de conidias.

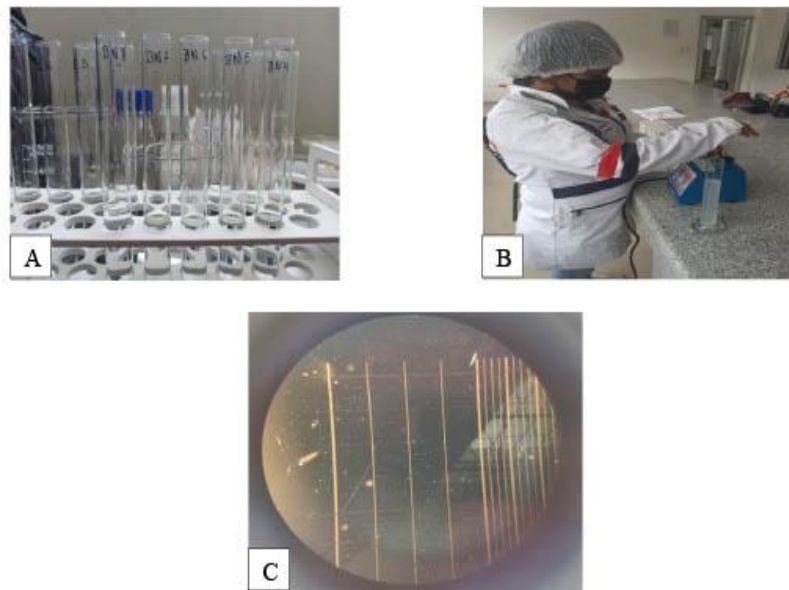


Figura 7. A) Identificación de los tubos de ensayo; B) Diluciones agitadas y C) Conteo de esporas para las diferentes diluciones.

4. PROTOCOLO PARA LA DOSIFICACIÓN DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO

La dosificación se debe preparar de la siguiente manera:

1.- De la suspensión madre, con una jeringuilla de insulina se debe extraer las dosificaciones que se va evaluar, cabe mencionar que solo se extraerá el contenido en centímetros cúbico (cc).

2.- El contenido de la jeringuilla debe ser colocado en un vaso de precipitación adicionando 1 litro de agua destilada

3.- El contenido del vaso de precipitación se lo mezcla muy bien con un agitador de vidrio, con la finalidad de obtener una solución homogénea.

4.- Colocar la solución que contiene la dosis en un rociador con una capacidad de 100 ml.

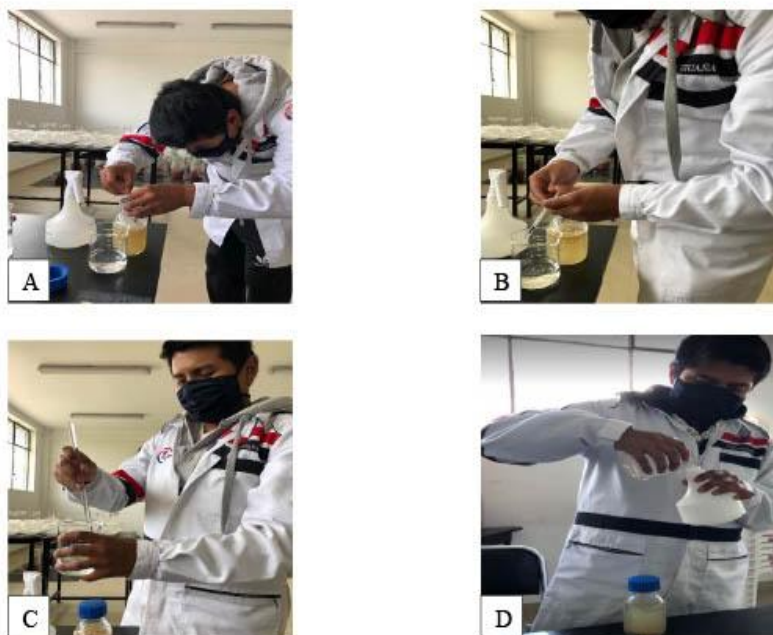


Figura 8. A) Toma de la dosificación; B) Dosis colocada en el vaso de precipitación; C) Mezcla del agua destilada y la dosis y D) Solución colocada en el rociador.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Antía, O., Posada, F., Bustillos, A., & González, M. (1992). Producción en finca del hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café. *Cenicafe*, 182(1), 1–12. <https://www.researchgate.net/publication/233957052>
- Castillo, C., Cañizalez, L., Valera, R., Godoy, J., Guedez, C., Olivar, R., & Morillo, S. (2012). CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE *BEAUVERIA BASSIANA*, AISLADA DE DIFERENTES INSECTOS EN TRUJILLO-VENEZUELA. *ACADEMIA*, 11(23), 1–7.
- Choquetarqui, D., Almanza, L., & Loza, M. (2011). Selección de tres cepas criollas de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin como alternativa para el control biológico de la broca de café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari 1867)(Coleoptera: Scolytidae) a diferentes temperaturas. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 1(1), 17–25.