



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

Título:

**“EVALUACIÓN DE *Beauveria bassiana* EN DIFERENTES CONCENTRACIONES
PARA EL CONTROL DEL GORGOJO DEL MAÍZ (*Sitophilus zeamais*)
ALMACENADOS EN GRANOS DE MAÍZ (*Zea mays L.*), BAJO CONDICIONES
CONTROLADAS, SALACHE -LATACUNGA - COTOPAXI – 2021.”**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingeniera Agrónoma

Autora:

Sotelo Erazo Valeria Michelle.

Tutora:

Toapanta Gallegos Diana Elizabeth Ing. Mg.

LATACUNGA - ECUADOR

Marzo 2022

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Valeria Michelle Sotelo Erazo, con cédula de ciudadanía **1725205353**, declaro ser autora del presente proyecto de investigación: **“EVALUACIÓN DE *Beauveria bassiana* EN DIFERENTES CONCENTRACIONES PARA EL CONTROL DEL GORGOJO DEL MAÍZ (*Sitophilus zeamais*) ALMACENADOS EN GRANOS 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, 28 de marzo del 2022

Valeria Michelle Sotelo Erazo
Estudiante
CC: 1725205353

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 **SOTELO ERAZO VALERIA MICHELLE**, identificado con cédula de ciudadanía **1725205353** de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA 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* EN DIFERENTES CONCENTRACIONES PARA EL CONTROL DEL GORGOJO DEL MAÍZ (*Sitophilus zeamais*) ALMACENADOS EN GRANOS 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* EN DIFERENTES CONCENTRACIONES PARA EL CONTROL DEL GORGOJO DEL MAÍZ (*Sitophilus zeamais*) ALMACENADOS EN GRANOS 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, **LA 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 **LA 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. 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.
2. La publicación del trabajo de grado.
3. La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
4. La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
5. 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 **LA 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 **LA 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 28 días del mes de marzo del 2022.

Valeria Michelle Sotelo Erazo
LA 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* EN DIFERENTES CONCENTRACIONES PARA EL CONTROL DEL GORGOJO DEL MAÍZ (*Sitophilus zeamais*) ALMACENADOS EN GRANOS DE MAÍZ (*Zea mays L.*), BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, SALACHE -LATACUNGA - COTOPAXI – 2021” de Sotelo Erazo Valeria Michelle, 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, 28 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: Sotelo Erazo Valeria Michelle, con el título del Proyecto de Investigación: **“EVALUACIÓN DE *Beauveria bassiana* EN DIFERENTES CONCENTRACIONES PARA EL CONTROL DEL GORGOJO DEL MAÍZ (*Sitophilus zeamais*) ALMACENADOS EN GRANOS 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. MsC. Guido Yauli Chicaiza
CC: 0501604409

Lector 2
Ing. PhD. Edwin Chancusig Espin
CC: 0501148837

Lector 3
Ing. Mg. Francisco Hernán Chancusig
CC: 0501883920

AGRADECIMIENTO

En el presente trabajo quiero agradecer en primer lugar a Dios y la Virgen de Guadalupe por iluminar mi camino y acompañarme en cada etapa de mi vida, además brindarme salud, fortaleza y sabiduría para alcanzar mis metas propuestas.

A mi Madre, por su apoyo incondicional, paciencia y comprensión quien es un pilar fundamental en mi vida e inspiración. De igual manera agradezco a mis hermanos por acompañarme en todo momento, brindándome todas sus fuerzas para cumplir este sueño anhelado.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi y Facultad CAREN por permitirme continuar con mis estudios para terminar con mi formación profesional.

A mi tutora de proyecto de titulación Ing. Diana Toapanta quien, con su conocimiento, experiencia, y dedicación me apoyo y guió en todas las fases de la investigación.

Al laboratorio de la Carrera de Agronomía, en especial a la Ing. Tannya Llanos, quien con sus conocimientos apoyo a la construcción de la parte metodológica de la presente investigación. También deseo expresar un agradecimiento al Ing. Klever Quimbiulco, docente y amigo por haber involucrado en este proyecto.

A mi mejor amiga y a mi enamorado por su apoyo, paciencia en todo momento ayudándome a crecer como persona y profesional.

Valeria Michelle Sotelo Erazo

DEDICATORIA

A Dios y la Virgen de Guadalupe, por brindarme fortaleza de seguir luchando por mis sueños.

A mi madre María del Carmen Erazo y a mis hermanos Daniel, Juan Carlos, Josué, Jhonatan y Carlo quienes con amor y sacrificio me supieron ayudar, apoyarme en los momentos más difíciles de mi vida, con sus consejos e ideas que fueron lo que estimularon y aportaron incondicionalmente para la culminación de la carrera.

Valeria.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “EVALUACIÓN DE *Beauveria bassiana* EN DIFERENTES CONCENTRACIONES PARA EL CONTROL DEL GORGOJO DEL MAÍZ (*Sitophilus zeamais*) ALMACENADOS EN GRANOS DE MAÍZ (*Zea mays L.*), BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, SALACHE -LATAACUNGA - COTOPAXI – 2021.”

AUTOR: Sotelo Erazo Valeria Michelle

RESUMEN

La investigación evaluó diferentes concentraciones de *Beauveria bassiana* para el control del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) en granos de maíz almacenados, bajo condiciones controladas para determinar la concentración letal y ser aplicada como una alternativa de control de este insecto plaga y así poder reducir las pérdidas de producción en el manejo postcosecha durante su almacenamiento. La investigación inicio con una salida de campo para capturar insectos infestados con hongos entomopatógenos, posteriormente se realizó el aislamiento y cultivos monospóricos para identificar el género y especie del hongo, finalmente se realizó la multiplicación de este hongo. A continuación, se realizó suspensiones a diferentes concentraciones mediante el conteo de conidios; y por último la aplicación de las concentraciones de *Beauveria bassiana* según el diseño experimental planteado. La implementación de esta investigación se lo realizó en el Laboratorio de Agronomía de la Universidad Técnica de Cotopaxi, aplicando un diseño de bloques completos al azar (DBCA) con un arreglo factorial de A x B incluyendo el testigo, con tres repeticiones, donde el factor A corresponde a (*Beauveria* nativa y comercial), el factor B corresponde a las concentraciones (10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8). Las variables en estudio fueron el porcentaje de mortalidad, de granos dañados y de pérdida de peso de granos. Estas variables se normalizaron y se analizaron en el programa InfoStat obteniendo los siguientes resultados, el porcentaje de mortalidad de *Beauveria* nativa con una concentración letal $7,42 \times 10^8$ conidios /ml (T5) que alcanzó el 100%, siendo el más alto en comparación con el testigo (T13) en el que obtuvo 0%. Con respecto a la variable de porcentaje de granos dañados se observó que el mejor tratamiento es *Beauveria* nativa con una concentración 10^8 (T5) obteniendo un 25% de granos dañados siendo el porcentaje más bajo en comparación al testigo (T13) que registró un 80% de granos dañados. El porcentaje de pérdida de peso de granos determinó que el mejor tratamiento T5 (*Beauveria* nativa con una concentración 10^8) obteniendo un 29,7 % 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 82,9%.

Palabras claves: *Sitophilus zeamais*, *Beauveria bassiana*, concentración, maíz, mortalidad.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES

THEME: “EVALUATION OF *Beauveria bassiana* IN DIFFERENT CONCENTRATIONS FOR THE CONTROL OF CORN GORGE (*Sitophilus zeamais*) STORED IN CORN GRAINS (*Zea mays L.*), UNDER CONTROLLED MARACENATED CONDITIONS, SALACHE -LATACUNGA - COTOPAXI - 2021”

AUTHOR: Sotelo Erazo Valeria Michelle

ABSTRACT

The research evaluated different concentrations of *Beauveria bassiana* for the control of the corn weevil (*Sitophilus zeamais*) in stored corn grains under controlled conditions to determine the lethal concentration and be applied as an alternative to control this pest insect and thus be able to reduce the production losses in postharvest handling during storage. The investigation began with a field trip to capture insects infected with entomopathogenic fungi, then isolation and monosporic cultures were carried out to identify the genus and species of the fungus; finally, the multiplication of this fungus was carried out. Next, suspensions were made at different concentrations by counting conidia; and, ultimately, the application of the concentrations of *Beauveria bassiana* according to the proposed experimental design. The implementation of this research was carried out in the Agronomy Laboratory of the Technical University of Cotopaxi, applying a randomized complete block design (DBCA) with a factorial arrangement of A x B, including the control, with three repetitions, where the factor A corresponds to (native and commercial *Beauveria*), factor B corresponds to the concentrations (10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8). The variables under study were the percentage of mortality, damaged grains, and grain weight loss. These variables were normalized and analyzed in the InfoStat program, obtaining the following results: the mortality percentage of native *Beauveria* with a lethal concentration of 7.42×10^8 conidia /ml (T5) that reached 100%, being the highest in comparison with the control (T13) in which he obtained 0%. Regarding the percentage variable of damaged grains, it was observed that the best treatment is native *Beauveria* with a concentration of 10^8 (T5), obtaining 25% of damaged grains, being the lowest percentage compared to the control (T13), which registered 80% of damaged grains. The percentage of grain weight loss determined that the best treatment, T5 (native *Beauveria* with a concentration of 10^8), obtained 29.7% weight loss, being the lowest percentage for this variable; compared to the control (T13) that presented the highest percentage in weight loss, reaching 82.9%.

Key words: *Sitophilus zeamais*, *Beauveria bassiana*, concentration, maize, 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	3
5. PROBLEMÁTICA.....	4
6. OBJETIVOS	4
6.1. Objetivo General	4
6.2. Objetivos Específicos	5
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.....	5
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	9
8.1. El Maíz.....	9
8.1.1. Origen del maíz.....	9

8.1.2.	Clasificación taxonómica del maíz.....	9
8.1.3.	Descripción Morfológica.....	9
8.1.4.	Descripción Botánica	10
8.1.4.1.	Raíz	10
8.1.4.2.	Tallo	10
8.1.4.3.	Hojas.....	10
8.1.4.4.	Inflorescencia	10
8.1.4.5.	Grano.....	10
8.2.	Cosecha del maíz.....	11
8.3.	Postcosecha del maíz	11
8.3.1.	Doblado.....	11
8.3.2.	Recolección	11
8.3.3.	Secado.....	12
8.3.4.	Selección y clasificación	12
8.3.5.	Limpieza.....	12
8.3.6.	Desgranado.....	12
8.3.7.	Almacenamiento	13
8.3.8.	Principales plagas en maíz almacenado	13
8.3.8.1.	Gorgojo barrenador del grano (<i>Pagiocerus frontalis</i>)	13
8.3.8.2.	Barrenador grande del grano (<i>Prostephanus truncatus H</i>)	13
8.3.8.3.	Palomilla dorada del maíz (<i>Sitotroga cerealella O.</i>).....	13
8.3.8.4.	Barrenillo de los granos (<i>Rhyzoperta dominica</i>).....	14
8.4.	Gorgojo del maíz (<i>Sitophilus zeamais</i>)	14
8.4.1.	Generalidades	14
8.4.2.	Origen y distribución.....	14

8.4.3.	Clasificación taxonómica del gorgojo del maíz.....	15
8.4.4.	Descripción morfológica	15
8.4.5.	Ciclo biológico	15
8.4.6.	Estadios de desarrollo de <i>Sitophilus zeamais</i>	16
8.4.6.1.	Huevo	16
8.4.6.2.	Larva.....	16
8.4.6.3.	Pupa.....	16
8.4.6.4.	Adulto	16
8.4.7.	Comportamiento y ataque característico de <i>Sitophilus zeamais</i>	17
8.4.8.	Métodos de control.....	17
8.4.8.1.	Control Cultural.....	18
8.4.8.2.	Control Químico.....	18
8.4.8.3.	Control Biológico	18
8.5.	Hongos Entomopatógenos	18
8.5.1.	<i>Beauveria bassiana</i>	19
8.5.2.	Generalidades de <i>Beauveria bassiana</i>	19
8.5.3.	Clasificación taxonómica de <i>Beauveria bassiana</i>	19
8.5.4.	Caracterización morfológica de <i>Beauveria bassiana</i>	19
8.5.4.1.	Características macroscópicas	20
8.5.4.2.	Características microscópicas.....	20
8.5.5.	Mecanismo de acción de <i>Beauveria bassiana</i>	20
9.	HIPÓTESIS.....	22
10.	METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	22
10.1.	Localización del ensayo	22
10.1.1.	Croquis.....	22

10.2.	Tipo de Investigación.....	23
10.2.1.	Experimental.....	23
10.3.	Métodos de Investigación.....	23
10.3.1.	Observación Científica	23
10.3.2.	Cuantitativo	23
10.3.3.	Inductivo	23
10.4.	Técnicas de Investigación.....	23
10.4.1.	Observación directa.....	23
10.5.	Materiales y Equipos.....	23
10.5.1.	Materiales de laboratorio:	23
10.5.2.	Materiales para el ensayo:	24
10.5.3.	Equipos de laboratorio:	24
10.6.	Diseño Experimental.....	24
10.7.	Unidad Experimental	25
10.8.	Factores en estudio.....	25
10.9.	Tratamientos en estudio.....	25
10.10.	ADEVA.....	26
10.11.	Variables en estudio	27
10.12.	Manejo del Experimento	27
10.12.1.	Fase de captura, aislamiento, re-aislamiento y multiplicación de <i>Beauveria bassiana</i>	28
10.12.1.1.	Método de captura de insectos infectados:	28
10.12.1.2.	Método de aislamiento del hongo:.....	28
10.12.1.3.	Método de identificación morfológica del hongo:	29
10.12.1.4.	Método de multiplicación del hongo:	30

10.12.2.	Elaboración de las suspensiones a diferentes concentraciones y conteo de conidios.	31
10.12.2.1.	Suspensión madre.....	32
10.12.2.2.	Conteo de conidias	32
10.12.2.3.	Elaboración de las concentraciones y su conteo	33
10.12.3.	Fase de aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> en la plaga a evaluarse.....	33
10.12.3.1.	Colecta y mantenimiento de insecto plaga:	33
10.12.3.2.	Implementación del bioensayo	34
10.12.3.3.	Aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> :	35
10.12.3.4.	Inoculación:	35
10.13.	Datos a Evaluar.....	35
10.13.1.	Porcentaje de insectos muertos:	35
10.13.2.	Porcentaje de granos dañados:	36
10.13.3.	Porcentaje de pérdida de peso de semillas:	36
10.14.	Análisis estadístico.....	36
10.15.	ANÁLISIS PROBIT	37
11.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	39
11.1.	Análisis de Mortalidad <i>Sitophilus zeamais</i>	39
11.1.1	Mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> por semanas	47
11.2.	Análisis de Porcentaje de Granos dañados	49
11.3.	Análisis de Porcentaje de Pérdida de peso.....	59
11.4.	Análisis de la Concentración letal	66
12.	IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES, ECONÓMICOS).	68
12.1.	Impactos Técnicos	68
12.2.	Impactos Sociales.	68

12.3.	Impactos Ambientales	68
12.4.	Impactos Económicos	68
13.	PRESUPUESTO	69
14.	CONCLUSIONES.....	71
15.	RECOMENDACIONES.....	71
16.	BIBLIOGRAFÍA.....	72
17.	ANEXOS	78

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos	5
Tabla 2.	Tratamientos en estudios acorde al diseño experimental planteado.....	25
Tabla 3.	Esquema del ADEVA	26
Tabla 4.	Variables a evaluar.....	27
Tabla 5.	ADEVA para la variable de porcentaje de Mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i>	39
Tabla 6.	Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos en la mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i>	40
Tabla 7.	Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A.	41
Tabla 8.	Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor B.....	42
Tabla 9.	Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y Factor B.....	43
Tabla 10.	Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para los tratamientos.	44
Tabla 11.	Contraste Testigo VS Tratamientos.....	45
Tabla 12.	Contraste del Factor A.....	46
Tabla 13.	Contraste del Factor B.	46
Tabla 14.	Contraste del Factor A* Factor B.....	46

Tabla 15. ADEVA para la variable de porcentaje de granos dañados.	50
Tabla 16. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos en los granos dañado.	50
Tabla 17. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A.	52
Tabla 18. Prueba de Tukey, para la comparación de rangos para el Factor B.....	52
Tabla 19. Prueba de Tukey, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y Factor B.....	53
Tabla 20. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para los tratamientos.	54
Tabla 21. Contraste Testigo VS Tratamientos.....	55
Tabla 22. Contraste del Factor A.....	56
Tabla 23. Contraste del Factor B.	56
Tabla 24. Contraste del Factor A* Factor B.....	57
Tabla 25. Porcentaje de granos dañados por semanas.....	57
Tabla 26. ADEVA para la variable del porcentaje de pérdida de peso.....	59
Tabla 27. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos del porcentaje de pérdida de peso.....	60
Tabla 28. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A.	61
Tabla 29. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor B.....	62
Tabla 30. Prueba de Tukey, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y Factor B.....	62
Tabla 31. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para los tratamientos.	63
Tabla 32. Contraste Testigo VS Tratamientos.....	65
Tabla 33. Contraste del Factor A.....	65
Tabla 34. Contraste del Factor B.....	65
Tabla 35. Contraste del Factor A* Factor B.....	66
Tabla 36. Concentración letal CL50 y CL90 de Beauveria para <i>Sitophilus zeamais</i>	67
Tabla 34. Presupuesto general.....	69

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Ciclo de vida de <i>Sitophilus zeamais</i> en el grano de maíz.	17
Gráfico 2. Croquis de ubicación del proyecto	22
Gráfico 3. Porcentaje de mortalidad total de los tratamientos.	39
Gráfica 4. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos en la mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i>	41
Gráfica 5. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A.	42
Gráfica 6. Prueba de Tukey, para la comparación de rangos para el Factor B	43
Gráfica 7. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y el Factor B	44
Gráfica 8. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para los tratamientos.	45
Gráfica 9. Porcentaje de Mortalidad en la semana uno.	47
Gráfica 10. Porcentaje de Mortalidad en la semana dos.....	48
Gráfica 11. Porcentaje de Mortalidad en la semana tres.	48
Gráfica 12. Porcentaje de Mortalidad en la semana cuatro.	49
Gráfico 13. Porcentaje de granos dañados total de los tratamientos.	49
Gráfica 14. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos en los granos dañados..	51
Gráfica 15. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A.....	52
Gráfica 16. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor B.....	53
Gráfica 17. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y el Factor B.....	54
Gráfica 18. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para los tratamientos....	55
Gráfica 19. Porcentaje de granos dañados por semanas	58
Gráfico 20. Porcentaje de pérdida de peso total de los tratamientos.	59
Gráfica 21. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos en los granos dañados..	60

Gráfica 22. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A.....	61
Gráfica 23. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor B.....	62
Gráfica 24. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y el Factor B.....	63
Gráfica 25. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para los tratamientos....	64
Gráfica 28. Mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> en las diferentes concentraciones de <i>Beauveria</i> con sus respectivos rangos de la Prueba de Tukey 5%.	66
Gráfica 29. Relación entre mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> expresada en valores Probit y el Log de las concentraciones.....	67

ANEXOS

Anexo 1. Hoja de vida de la docente tutora	78
Anexo 2. Aval de traducción	81
Anexo 3. Ficha técnica del producto BAUVEB.....	82
Anexo 4. Resultado del análisis de identificación taxonómica.....	84
Anexo 5. Insectos capturados en la salida de campo	86
Anexo 7. Identificación del hongo <i>Beauveria bassiana</i> por medio del microscopio	87
Anexo 8. Elaboración de cultivos monospóricos	88
Anexo 9. Multiplicación del hongo <i>Beauveria bassiana</i>	88
Anexo 11. Recolección y crianza del gorgojo (<i>Sitophilus zeamais</i>)	90
Anexo 12. Unidad experimental	91
Anexo 13. Aplicación de las suspensiones con diferentes concentraciones de <i>Beauveria bassiana</i> en las unidades experimentales.	91
Anexo 14. Insectos muertos por la infestación de <i>Beauveria bassiana</i>	92
Anexo 15. PROTOCOLO DE LABORATORIO PARA EL MANEJO DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO.....	93

CAPÍTULO I

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título:

“Evaluación de *Beauveria bassiana* en diferentes concentraciones para el control del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) almacenados en granos de maíz (*Zea mays L.*), bajo condiciones controladas, Salache -Latacunga - Cotopaxi – 2021.”

Fecha de inicio:

Noviembre del 2021

Fecha de finalización:

Abril 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: Valeria Michelle Sotelo Erazo

Lector A: Ing. MsC. Guido Yauli

Lector B: Ing. PhD. Edwin Marcelo Chancusig

Lector C: Ing. Mg. Francisco Chancusig

Área de Conocimiento.

Agricultura- Agricultura, Silvicultura y Pesca – Agricultura.

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

En el manejo postcosecha unos de los principales problemas se enfrentan los agricultores en el almacenamiento de granos, como por ejemplo en los granos de maíz ser almacenados son propenso a los ataques de plagas que al no ser controla a tiempo puede llegar a terminar con la producción entera. Por razón los agricultores acuden a las casas comerciales para adquirir insecticidas a base de Fosfuro de Aluminio y al usar con frecuencia los agricultores se vuelven dependientes de este producto y a la plaga resistente del mismo. En respuesta a esta situación se realizó la presente investigación con finalidad de proponer una nueva alternativa empleando del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en diferentes concentraciones para el control de *Sitophilus zeamais* comúnmente conocido como el gorgojo del maíz, para

lo cual se realizará una captura, aislamiento, identificación y reproducción del hongo entomopatógeno, a continuación se elabora diferentes concentraciones del hongo que serán aplicadas en las unidades experimentales donde se obtendrán los datos de mortalidad para un posterior análisis para determinar la concentración letal del hongo *Beauveria bassiana* para el control gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*).

3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El maíz se encuentra entre los principales cultivos de la sierra ecuatoriana debido a su aporte alimenticio y económico, por este motivo es indispensable la producción de este grano, pero se ve afectado su rendimiento ya que está expuesto a los ataques de las plagas en su almacenamiento, como es el caso de gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) que en poblaciones altas puede llegar ocasionar pérdidas totales del grano almacenado.(Padilla, 2015)

Frente a esta situación, los agricultores recurren al uso frecuente de insecticidas químicos altamente tóxicos que repercute directamente en la salud humana y animal. Para mitigar el uso de productos químicos nace esta investigación con la finalidad de proporcionar una alternativa ecológica de control con el uso del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* ya que es considerado un agente de control biológico por su eficiencia en el sector agrícola.(Chiribiga et al., 2015) En esta investigación se determinará la concentración letal del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* para el control gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*).

4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

4.1. Beneficiarios Directos

Los beneficiarios directos son los agricultores que se dedican al cultivo de maíz de la provincia de Cotopaxi, además los productores de maíz a nivel nacional.

4.2. Beneficiarios Indirectos

Los beneficiarios indirectos son los estudiantes y docentes de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

5. PROBLEMÁTICA

El maíz tiene su origen en Mesoamérica (México y Guatemala) aproximadamente entre los años 8000 y 600 AC, posteriormente se extendió alrededor del mundo convirtiéndose en el cereal de gran importancia económica y alimentaria.

A nivel mundial en el 2019 la producción de maíz fue de aproximadamente 1,120.46 millones de toneladas siendo los principales productores Estados Unidos, China y Brasil (Micolucci, 2020). En el Ecuador según (CFN) para el año 2020, la superficie total cosechada de maíz en fue de 355,913 hectáreas, siendo una producción de 1,358,626 toneladas métricas de las cuales la provincia de Los Ríos abarcó el 47% (144,109ha) de la producción nacional, seguido de Manabí con el 21% (90,749ha) y Guayas con el 18% (55,511ha).

Este cereal al ser de gran importancia se requiere evitar las pérdidas en su producción y económicas ya que este cultivo no solo presenta plagas y enfermedades en el campo sino también en el proceso de postcosecha específicamente en su almacenamiento, entre sus plagas más comunes tenemos el gorgojo del maíz, este ataca directamente al maíz ya que el adulto perfora el grano para ovipositar sus huevos y sus larvas se alimentan del endospermo echando a perder totalmente el grano y por ende su producción. (Micolucci, 2020)

Los productores del maíz para controlar esta y otras plagas usan pesticidas de químicos de alto costo, que reducen la rentabilidad de este cultivo. Adicionalmente desencadena otro problema con el uso excesivo de químicos, ya que para proteger sus cultivos los agricultores recurren al uso frecuente de estos productos siendo expuestos insecticidas muy tóxicos, no sólo para los insectos, sino también para el hombre. Ya que al ser inhalados presentan intoxicación manifestada con malestar general, dolor de cabeza, vómitos, vértigos, angustia, opresión en el pecho y zumbido en los oídos. (Padilla, 2015)

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo General

Evaluar *Beauveria bassiana* en diferentes concentraciones para el control del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) almacenados en granos de maíz (*Zea mays L.*), bajo condiciones controladas, Salache -Latacunga - Cotopaxi – 2021.

6.2. Objetivos Específicos

- Obtener una cepa del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* a partir de insectos infestados capturados en campo.
- Determinar la concentración letal del hongo *Beauveria bassiana* para el control gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*).
- Estimar el porcentaje de grano dañado y pérdida de peso del grano que ocasiona el gorgojo a la semilla del maíz.

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 VERIFICACIÓN
Obtener una cepa del hongo entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i> a partir de insectos infestados capturados en campo.	<ul style="list-style-type: none"> • Colecta de insectos infestados con el hongo entomopatógeno en una salida de campo. 	Insectos infestados con el hongo entomopatógeno.	Fotografías
	<ul style="list-style-type: none"> • Aislamiento y purificación del hongo capturado de los insectos infestados en medio de cultivo PDA. 	Cultivos hongo entomopatógeno puro libre de contaminación.	Fotografías
	<ul style="list-style-type: none"> • Obtención de cultivos monospóricos 	Cultivos monospóricos.	Fotografías

	del hongo entomopatígeno.		
	<ul style="list-style-type: none"> Identificación del hongo a nivel de género. 	Descripción de características morfológicas del hongo entomopatígeno capturado.	Resultado del análisis. Fotografías.
	<ul style="list-style-type: none"> Reproducción del hongo entomopatígeno identificado. 	Subcultivos del hongo entomopatígeno puros, sin contaminación.	Fotografías
Determinar la concentración letal del hongo <i>Beauveria bassiana</i> para el control gorgojo del maíz (<i>Sitophilus zeamais</i>).	<ul style="list-style-type: none"> Elaboración de una suspensión madre del hongo entomopatígeno. 	Suspensión madre del hongo a una concentración determinada de conidios.	Fotografías Libreta de campo
	<ul style="list-style-type: none"> Elaboración de concentraciones a partir de la suspensión madre mediante conteo de las UFC (Unidades Formadoras de Colonias) 	Diluciones con diferentes concentraciones (10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8) del hongo entomopatígeno.	Fotografías Libreta de campo
	<ul style="list-style-type: none"> Instalación del ensayo en el 	Ensayo implementado	Diseño experimental

laboratorio de Carrera de la Agronomía.	con unidades experimentales	Libreta de campo Fotografías
<ul style="list-style-type: none"> • Aplicación suspensiones a diferentes concentraciones del hongo entomopatógeno en las unidades experimentales. 	Unidades experimentales formadas por granos de maíz, rociados con el hongo entomopatógeno en diferentes concentraciones acorde al diseño experimental planteado.	Libreta de campo Fotografías Diseño experimental.
<ul style="list-style-type: none"> • Inoculación del insecto en cada unidad experimental. 	Unidades experimentales con granos de maíz infestado con gorgojos.	Libreta de campo Fotografías
<ul style="list-style-type: none"> • Toma de datos las unidades experimentales. 	Datos del índice de mortalidad de los gorgojos con respecto al producto	Libreta de campo Fotografías

		comercial y del producto nativo.	
	<ul style="list-style-type: none"> Análisis y discusión de los resultados. 	La concentración letal adecuada.	Datos Excel Libro de campo.
Estimar el porcentaje de grano dañado y pérdida de peso del grano que ocasiona el gorgojo a la semilla de maíz.	<ul style="list-style-type: none"> Toma de datos las unidades experimentales. 	Datos del número de granos dañados y su peso, el peso de granos sanos restantes.	Libreta de campo Fotografías
	<ul style="list-style-type: none"> El porcentaje de granos dañados y pérdida de peso de las unidades experimentales. 	Análisis y discusión de los resultados.	Datos Excel Libro de campo.

Fuente: Valeria Sotelo.

CAPÍTULO II

8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

8.1. El Maíz

8.1.1. Origen del maíz

El maíz (*Zea mays*) tuvo su origen en Mesoamérica (México y Guatemala), sus primeras apariciones fueron entre los años 8000 y 600 AC posiblemente a lo largo del acantilado occidental de México Central o del Sur, a 500 km de la Ciudad de México, por lo cual no hay dudas que el maíz tiene origen americano. (Acosta, 2009)

En el Ecuador, mediante algunas investigaciones de fitolitos encontradas en muestras de suelo se determinó que el cultivo del maíz tuvo sus inicios hace 6500 años en la Península de Santa Elena en el cual se cree que fue cultivada por los habitantes de la cultura “Las Vegas”. (Guacho, 2014)

8.1.2. Clasificación taxonómica del maíz

Según Ortigoza et al., (2019)

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Subclase: Commelinidae

Orden: Poales

Familia: Gramíneas

Género: *Zea*

Especie: *mays*

8.1.3. Descripción Morfológica

Es una planta anual de 1,5 a 3 metros con tallos gruesos y macizos. Hojas anchas, con nervio central marcado. La raíz es fuertemente pivotante y con capacidad de profundizar

en el suelo. Es una planta diclino-monoica, es decir, posee flores femeninas y masculinas sobre la misma planta. La inflorescencia masculina es una panoja laxa y apical, mientras que la inflorescencia femenina, es una espiga compuesta y axilar, cubierta por brácteas foliáceas.(Hidalgo, 2018)

8.1.4. Descripción Botánica

8.1.4.1. Raíz

Está compuesto por una raíz principal que se origina del embrión, también presenta raíces adventicias y de soporte que tienen su origen en los nudos basales dando una mejor estabilidad a la planta, además interviene en el proceso fotosintético.(Valladares, 2010)

8.1.4.2. Tallo

Es erecto, leñoso y cilíndrico, tiene como función el transporte de sales minerales y agua que va desde la raíz hasta la parte aérea de la planta. El tallo está compuesto por una epidermis externa protectora, también una pared vascular y una medula de tejido esponjoso blanco.(Obando, 2019)

8.1.4.3. Hojas

Son largas y anchas con borde lisos y de coloración color verde, se desarrollan en la parte superior de los nudos, el haz de la hoja es pilosa y su envés es glabra. Cada planta puede presentar entre 15 a 30 hojas.(Obando, 2019)

8.1.4.4. Inflorescencia

Es una planta monoica, es refiere a que presentan flores masculinas y femeninas, la espiga está formada por las flores masculinas son encargas de producir el polen. Las flores femeninas son conocidas como panojas o mazorca se origina en las axilas de las hojas, estas contienen los ovarios los cuales se convertirán en granos una vez realizada la polinización.(Chanataxi, 2016)

8.1.4.5. Grano

También llamados cariósides, cada mazorca puede contener de 600 a 1000 granos, ordenados en hileras son dentados o semi-dentados. Según la variedad pueden ser

crystalinos u opacos, su color también puede variar entre blanco y amarillo.(Valladares, 2010)

8.2. Cosecha del maíz

Este proceso se realiza cuando el grano haya alcanzado su madurez fisiológica, que este consiste en la formación de una capa negra en la base del grano o también se puede dejar secar la mazorca en la planta, (Peñaherrera, 2011)

8.3. Postcosecha del maíz

El manejo postcosecha del grano de maíz es muy importante para mantener la buena calidad, tanto para el consumo de las personas como para la comercialización. A nivel mundial, las pérdidas de granos almacenados están por encima del 10 al 25%, del total de la producción. Esto se debe al ataque de diferentes plagas como insectos, hongos y roedores. Además, de otros factores entre ellos están: la humedad excesiva, las impurezas y altas temperaturas, los cuales, por desconocimiento, no se manejan adecuadamente.(Deras, 2012)

A continuación, se describen los procesos que se realiza para el manejo en postcosecha de maíz:

8.3.1. Doblado

Está practica consiste en doblar la planta de maíz para evitar que, entre el agua por la punta de la mazorca, y además impide la entra de la luz a cultivos que se encuentren sembrados en el mismo surco del maíz. El tiempo adecuado para realizar esta actividad es después de que el grano llegue a madurez fisiológica.(Leiva, 2015)

8.3.2. Recolección

Consiste del desprendimiento las mazorcas de la planta, esta actividad hay que realizar cautelosamente ya que las mazorcas se quiebran o pueden sufrir daños físicos. Hay que tener en cuenta el grado de madurez fisiológica del grano y sobre todo de su porcentaje de humedad ya que esto puede presentarse pérdidas considerables. (Agustín, 2009)

8.3.3. Secado

Es un proceso por el cual cierta masa de aire pasa a través de los granos quitándole la humedad. Esta actividad se la realiza para reducción del contenido de humedad de acuerdo al estándar de comercialización, también reducir de la actividad química y microbiológica, además para conservar las propiedades nutricionales, biológicas y extender la vida útil del grano. Un buen secado puede alcanzar 16 a 14 % de humedad del grano permite menor daño en el desgrane, acondicionamiento y almacenamiento.(Valdivia, 2011)

8.3.4. Selección y clasificación

Se debe seleccionar las mazorcas que presenten un buen tamaño y uniformes, que estén libres del ataque de plagas y enfermedades, granos de buen tamaño y con hileras rectas, son signos de buen rendimiento.(Saquimux, 2010)

8.3.5. Limpieza

Es importante que el grano esté limpio es decir que no contenga tierras, granos partidos o materias extrañas como residuos vegetales, libre de insectos ya que estos aspectos pueden alterar el contenido de humedad y el apareamiento de hongos, siendo propensos al ataque de insectos.(Morocho, 2016)

8.3.6. Desgranado

Las operaciones de desgrane se pueden realizar de diferentes maneras como desgrane a mano, con ayuda de un instrumental sencillo, también el desgrane mecánico con ayuda de máquinas sencillas accionadas manualmente y de máquinas de motor.

El desgranado a mano: Consiste en ejercer una presión con los pulgares sobre los granos para conseguir que se desprendan de la mazorca. También se utiliza otro método que consiste en frotar dos mazorcas una contra otra.

El desgranado mecánico: Con desgranadores manuales, la actividad es más fácil y más rápido, generalmente son accionadas mediante una manivela o un dispositivo de pedal que requieren un solo operario. Con desgranadores mecánicos son versátiles presentan

un tambor giratorio y de un elemento fijo contra el cual se frota el grano y estas máquinas puede requerir la intervención de dos o tres operarios. (Tapia et al., 2017)

8.3.7. Almacenamiento

Durante el almacenamiento ocurre el fenómeno de la respiración, causada por el propio grano, esto da origen a actividades metabólicas produciendo energía y agua, que tienden a acumularse en el lugar donde se generaron, formando focos de calentamiento que son los indicios del deterioro del grano almacenado. Los granos de maíz deben almacenarse de tal forma que no se deteriore su calidad. (Hernández et al., 2009)

Hernández (2009) también menciona que el principio de un buen almacenamiento y conservación de granos es el empleo de bodegas secas o de recipiente, limpios, que mantengan al producto fresco, seco y protegido de plagas.

8.3.8. Principales plagas en maíz almacenado

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

El gorgojo barrenador adulto mide 2,5 mm de largo y 1,5 mm de ancho presenta un color marrón oscuro, su cabeza tiene una trompa corta y con escasas vellosidad en el lado dorsal tiene antenas por lo general acodadas, nasudas, su es cuerpo élitros y patas duras, formando un exterior sólido y muy resistente. Las larvas son gusanos con capsula cefálica oscuras y cuerpos blancos. Esta plaga fue descubierta en el año 1930 pero solamente en Colombia, Ecuador y en el Perú es conocida. (Castro & Mejía, 2011)

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

El adulto presenta una forma cilíndrica y alargada de su cuerpo, con terminación en cuadro, puede medir de 3 a 4 mm de longitud, su es color café rojizo a café oscuro. Su característica peculiar es que el protórax cubre la cabeza del insecto como si fuera una capucha. Es considerada como la plaga que más pérdidas y daños causa, la principal característica de su ataque es la gran cantidad de polvillo parecido a la harina, que los adultos producen al taladrar y alimentarse de los granos. (García-Lara et al., 2007)

8.3.8.3. Palomilla dorada del maíz (*Sitotroga cerealella O.*)

Son pequeñas palomillas de color amarillo a grisáceo, que pueden medir entre 6 a 9 mm de longitud y la expansión alar varia de 13-19 mm, tiene alas anteriores que son de color amarillento con puntos y alas posteriores más pequeñas y de color uniforme. Esta plaga puede presentar en campo, pero es más común encontrarla en almacenamiento, las larvas de palomilla afectan al grano perforándolo y vaciándolo ya que hay es el lugar donde completan su desarrollo. (García-Lara et al., 2007)

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

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

8.4. Gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*)

8.4.1. Generalidades

Este insecto es conocido comúnmente como gorgojo o picudo del grano de maíz. Su nombre científico es *Sitophilus zeamais* pertenece al Orden Coleóptera y familia Curculionidae. Esta plaga se considera de las más destructiva atacan a los granos almacenados como maíz, arroz en cáscara y cereales menores. Esta especie posee antenas en forma de codo, peculiar de los curculiónidos. Los adultos llegan a medir de 2.5 a 4 mm de largo y son de color café a negruzco y tiene color café rojizo cuando están recién eclosionados. (Vázquez, 2014)

8.4.2. Origen y distribución

Según García-Lara et al., (2007) es considerado como un insecto originario de la India lugar donde inició su distribución por el mundo, aunque afecta mayormente a las zonas tropicales y subtropicales húmedas, y también se le encuentra en zonas templadas.

8.4.3. Clasificación taxonómica del gorgojo del maíz

Según Helder (2014)

Phylum:	Artrópoda
Subphylum:	Mandibulata
Clase:	Insecta
Subclase:	Pterygota
Orden:	Coleóptera
Suborden:	poliphaga
Superfamilia:	Curculionoidea
Familia:	Curculionidae
Subfamilia:	Calendrinae
Género:	<i>Sitophilus</i>
Especie:	<i>Sitophilus zeamais</i>

8.4.4. Descripción morfológica

Sitophilus zeamais se caracteriza por tener una región circumoral alargada en forma de una trompa o probóscide larga y recurvada, sus antenas son geniculadas, insertas en los lados de la probóscide, y terminadas en una maza compacta. Su cuerpo es de forma ovalada o semicilíndrica con patas que tienen los fémures engrosados, las tibias recurvadas y los tarsos son pseudotetrámeros, con pubescencia interior. Las larvas poseen forma de “C”, casi cilíndricas con color blanco cremoso. Sus élitros (parte posterior que recubre las alas anteriores del insecto), presentan igualmente cuatro manchas de color rojo cobrizo. (Alvarado, 2017)

8.4.5. Ciclo biológico

Helder (2014) indica que el ciclo biológico inicia cuando la hembra después de aparearse y localizar un grano, excava un hoyo masticándolo en el cual deposita un huevo,

posteriormente secreta una sustancia de textura viscosa, semejante a la goma denominada mucílago que cubre el hoyo hasta llenar el compartimiento. Este mucílago que cubre al huevecillo es la única evidencia de que el grano ha sido infestado. Los huevos pueden ser depositados en cualquier zona del grano ya que usualmente se coloca más de un huevo por grano, pero las larvas no llegan a su madurez debido a que existe el canibalismo entre ellas.

8.4.6. Estadios de desarrollo de *Sitophilus zeamais*

Esta especie presenta cuatro estadios larvales, los cuales se desarrollan dentro del grano y duran alrededor de 20 días.

8.4.6.1. Huevo

El huevo mide 0,7 mm con forma oval y eclosiona de 3-6 días después de ser depositado.(Espinoza González, 2021)

8.4.6.2. Larva

Las larvas son de color blanquecino y sin patas las cuales son las que más daño causan al grano pues para alimentarse hacen surcos dentro del endospermo y embrión; nunca viven fuera del grano y mudan unas 4 veces hasta convertirse en pupa al cabo de tres semanas (Padilla, 2015).

8.4.6.3. Pupa

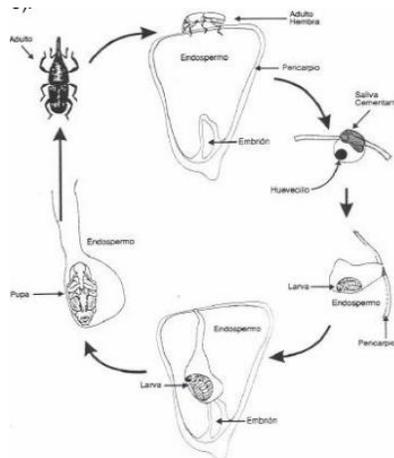
La pupa es tipo exarate de color blanco aperlado mide aproximadamente 5 mm de longitud y se encuentra en el interior de los granos.(Vázquez, 2014)

8.4.6.4. Adulto

Finalmente se convierte en adulto cuando está fuera del grano. Su ciclo completo de vida dura entre 30 hasta 113 días produciéndose 2 o 3 generaciones por año. Durante la fase adulta los cambios en la temperatura fuera del intervalo de 15-30°C incrementa la mortalidad y la reducción en la humedad tiene el mismo efecto. Suele hacerse el muerto cuando es molestado.(Padilla, 2015)

Helder (2014) menciona que para diferenciar el sexo de *S. zeamais* hay que tomar en cuenta las características del pico. Ya que el macho presenta una prominente caprina media en el dorso del pico, se origina en la parte antero-frontal entre los ojos compuestos y se extiende casi hasta el ápice del pico, mientras que el pico de la hembra carece de caprina, es delgado y liso, sus puntuaciones son menos numerosas, superficiales y se encuentran en pequeñas hendiduras.

Gráfico 1. Ciclo de vida de *Sitophilus zeamais* en el grano de maíz.



Fuente: (Alvarado, 2017)

8.4.7. Comportamiento y ataque característico de *Sitophilus zeamais*

El daño directo al grano por *Sitophilus zeamais* es que este se alimenta del embrión o endospermo, disminuyendo de la calidad nutritiva, también menor peso del grano de maíz y limita la capacidad germinativa de las semillas. Además, se produce contaminación con el excremento y formación de telas por las polillas.

Los daños indirectos pueden ser la presencia de humedad y altas temperaturas lo que hace que ya no puede ser comercializado. (Espinoza González, 2021)

8.4.8. Métodos de control

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

8.4.8.1. Control Cultural

García-Lara et al.(2007) indican:

- Se recomienda aplicar mezclas de agentes protectores como la cal, tierra diatomea entre capa y capa de grano, o vaciar los agentes y mezclarlos con el grano. Ya que estas sustancias han dado excelentes resultados porque se adhieren a la cutícula del insecto plaga y les ocasionan graves daños hasta incluso la muerte.
- Se recomienda también el uso de plantas como agentes repelentes: hojas de eucalipto, hojas del árbol Neem que llegan a reducir hasta en un 25% la presencia del gorgojo.

8.4.8.2. Control Químico

En casos de infestaciones a gran escala, se recomienda fumigar con fosfuro de aluminio mejor conocido como fosfina. Para su aplicación hay que tener en cuenta las medidas de protección establecidas.(García-Lara et al., 2007)

8.4.8.3. Control Biológico

Su enemigo natural es una avispa perteneciente a la familia Pteromalidae, Hymenoptera, que frecuentemente se encuentra en el maíz almacenado. La avispa actúa localizando la galería que forma la larva del gorgojo hasta introducir su ovipositor en el pericarpio colocando sus huevecillos muy cerca de la larva del gorgojo. Al eclosionar la larva de la avispa va desarrollándose en el interior de su hospedero, emerge al día 14 y la larva del gorgojo muere.(Helder, 2014)

8.5. Hongos Entomopatógenos

Los hongos Entomopatógenos son reguladores naturales han atraído la atención como agentes de control biológico para los insectos plaga. Los órdenes de insectos que suelen ser más propensos a los hongos son Hemíptera, Díptera, Coleóptera, Lepidóptera, Hymenoptera y Ortóptera. Los hongos entomopatógenos constituyen actualmente una alternativa para el control de insectos plaga ya que constituyen un grupo de más de 750 especies.(Helder, 2014)

8.5.1. *Beauveria bassiana*

Es un hongo saprófito facultativo posee células quitinizadas y parasita, fue descrito por primera vez por Jean Beauverie en el año 1911 con el nombre de *Botrytis bassiana*. Posteriormente, Vuillemin la catalogó en su clase actual. En ensayos enzimáticos se determinó al género *Beauveria spp.*, y sus seis diferentes especies: *B. alba*, *B. amorpha*, *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *B. velata* y *B. caledonica* (Noboa & Alex, 2015)

8.5.2. Generalidades de *Beauveria bassiana*

Es un hongo imperfecto de la clase Deuteromycetes, capaz de infectar a más de 200 especies de insectos. Este hongo está ampliamente distribuido en todas las regiones del mundo y puede ser aislado de insectos, ácaros y suelo, donde el hongo es parte normal de la flora microbiana y otros sustratos. Tiene apariencia polvosa, de color blanco algodonoso o amarillento cremoso. El ciclo de vida de este hongo consta de dos fases: la patogénica y la saprofítica. (Intagri, 2014)

8.5.3. Clasificación taxonómica de *Beauveria bassiana*

Según (Utus, 2017)

Reino: Fungi

División: Deuteromycotina

Clase: Deuteromycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: *Beauveria*

Especie: *Bassiana*

8.5.4. Caracterización morfológica de *Beauveria bassiana*

8.5.4.1. Características macroscópicas

Castillo et al.(2012) menciona que en el medio de cultivo de PDA los aislamientos presentaron colonias de aspecto algodonosa al principio, que luego se tornaron pulverulentas con superficie semi-elevada y crecimiento moderado. Las colonias presentaron color blanco que durante el crecimiento micelial fue tomando un color amarillento, y su reverso es blanco o amarillo pálido.

8.5.4.2. Características microscópicas

Beauveria bassiana, es un hongo imperfecto, posee hifas septadas que contiene las estructuras reproductivas denominadas conidióforos, sobre los cuales se desarrollan las conidias que son células únicas haploides e hidrofóbicas, globosas y ovals de color blanco cremoso posee esterigmas alternados en zigzag alargados en su extremo distal llamados raquis.

En el caso de cultivos sólidos el hongo produce conidias de forma esférica de 1-3 μms de diámetro u oval. (Noboa & Alex, 2015)

8.5.5. Mecanismo de acción de *Beauveria bassiana*.

Noboa & Alex (2015) indican que el mecanismo de acción de *Beauveria bassiana* sobre los insectos se divide en las siguientes etapas:

Adhesión de la conidia a la epicutícula del insecto que consiste en la fijación de los propágulos del hongo con la superficie del insecto.

La germinación de la unidad infectiva sobre la cutícula inicia una vez que la conidia emite uno o varios tubos germinales que al crecer y alargarse dan origen a las hifas.

La penetración de la cutícula del insecto por el tubo germinativo consiste en la penetración de la hifa penetrar a través del integumento que envuelve factores mecánicos y enzimáticos, desarrollando de esta manera el apresorio que es una estructura celular que ejerce presión contra las capas cerosas del exoesqueleto del insecto, al mismo tiempo se liberan varios tipos de enzimas como quitinasas y cutinasas.

La producción de metabolitos tóxicos por ser parte del hongo entomopatógeno logra atacar el complejo proteína-quitina del insecto que, al cruzar la barrera del integumento, por histólisis, la *Beauveria bassiana* produce toxinas las cuales erosionan el granuloma y permiten a las blastosporas invadir el hemocele, los cuerpos hifales proliferan solamente después de la muerte del huésped, así el papel de las toxinas entomógenas es de particular importancia en el proceso de infección.

Las toxinas como beauvericina, beauverolidos, bassianolides, isarolides, ácido oxálico, destruxinas y tochalasinas causan la muerte del insecto debido a la degeneración de los tejidos, producto de la pérdida de la integridad estructural de las membranas seguido de la deshidratación de las células por pérdida de fluido

Muerte del huésped: Cuando el insecto huésped fallece, *Beauveria bassiana* continúa creciendo saprofiticamente y se dispersa a través de todos los tejidos del insecto en competencia con la flora bacteriana intestinal produciendo oosporein, un pigmento antibiótico rojo que le da una coloración característica al cadáver, aplacando el crecimiento de bacterias.

Producción de unidades infectivas en el exterior del insecto: Después de la completa invasión del cadáver de insecto, el desarrollo posterior del hongo sobre el insecto momificado depende de la humedad relativa ambiental. En algunas plagas bajo condiciones de laboratorio, el micelio de *Beauveria bassiana* emerge y esporula sobre cualquier parte del insecto, quedando frecuentemente los élitros y cabeza libres de micelio

CAPÍTULO III

9. HIPÓTESIS

H_0 = Con la aplicación de al menos una de las concentraciones de *Beauveria bassiana* no se logrará la mortalidad del gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais*.

H_A = Con la aplicación de al menos una de las concentraciones de *Beauveria bassiana*, se logrará la mortalidad del gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais*.

10. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

10.1. Localización del ensayo

El ensayo se ubicó en el Laboratorio de la Carrera de Agronomía, dentro de 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 $78^{\circ}37'25''$ de longitud oeste y $00^{\circ}59'55''$ de latitud sur.

Gráfico 2. Croquis de ubicación del proyecto



Fuente: (Google Earth, 2021)

10.2. Tipo de Investigación

10.2.1. Experimental

Se manipuló variables experimentales en condiciones controladas donde se observó y describió el comportamiento si se altera o cambia.

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 fueron procesados posteriormente los mismos proporcionaron una fuente verídica de los resultados obtenidos.

10.3.3. Inductivo

Se obtuvo 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

Permitió estar en contacto con los insectos plagas que se emplearon en esta investigación y a su vez se observó el comportamiento de los mismos al ser inoculados con las diferentes concentraciones de *Beauveria bassiana*.

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)
6. Pinzas
7. Aguja de disección
8. Bisturí
9. Porta y cubre objetos
10. Cepas de *Beauveria Bassiana*

10.5.2. Materiales para el ensayo:

1. Granos de maíz
2. Tarrinas transparentes de un ¼
3. Tapas de las tarrinas
4. Tela Tul
5. 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 Aleatorizado (DBCA), con un arreglo factorial de $2 \times 5 + 1$; donde se presentó el Factor (A) como *Beauveria bassiana* (nativa y comercial), el Factor (B) como las concentraciones (10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8) y más un testigo (granos de maíz inoculados con el insecto plaga). Se realizaron tres repeticiones por cada tratamiento planteado, dando un total de $11 \times 3 = 33$ unidades experimentales.

10.7.Unidad Experimental

Cada unidad experimental constó de 100 granos de maíz, tarrinas plásticas transparentes, en estas tarrinas se inoculó 10 gorgojos.

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: Concentración

C1= 10^4

C2= 10^5

C3= 10^6

C4= 10^7

C5= 10^8

10.9. Tratamientos en estudio

A continuación, se presentan los tratamientos que serán empleados en el ensayo experimental:

Tabla 2. Tratamientos en estudios acorde al diseño experimental planteado.

TRATAMIENTOS	CONCENTRACIÓN	<i>Beauveria bassiana</i>	SIMBOLOGÍA
T1	10^4	Nativa	BnC1
T2	10^5	Nativa	BnC2
T3	10^6	Nativa	BnC3
T4	10^7	Nativa	BnC4
T5	10^8	Nativa	BnC5
T6	10^4	Comercial	BcC1
T7	10^5	Comercial	BcC2

T8	10^6	Comercial	BcC3
T9	10^7	Comercial	BcC4
T10	10^8	Comercial	BcC5
T11	Testigo		

Fuente: Valeria Sotelo.

En donde:

Bn: Beauveria bassiana nativa

Bc: Beauveria bassiana comercial

C1= 10^4

C2= 10^5

C3= 10^6

C4= 10^7

C5= 10^8

10.10. ADEVA

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

Tabla 3. Esquema del ADEVA

F de V	GL
TRATAMIENTOS	10
BLOQUES	2
FACTOR A (<i>Beauveria</i>)	1
FACTOR B (Concentraciones)	4
FACTOR A*FACTOR B	4
Testigo VS Tratamientos	1
Error	20
Total	32

Fuente: Valeria Sotelo.

10.11. Variables en estudio

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

Tabla 4. Variables a evaluar

TIPO DE VARIABLE	NOMBRE	INDICADOR	ÍNDICE
DEPENDIENTE	Mortalidad	Índice de mortalidad del gorgojo barrenador del grano	% de mortalidad de insectos (adultos)
	Granos dañados	Daño causado en los granos por parte del 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>	Número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC)	Concentración de esporas 10 ⁴ 10 ⁵ 10 ⁶ 10 ⁷ 10 ⁸

Fuente: Valeria Sotelo.

10.12. Manejo del Experimento

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

Esta fase se realizó en base a protocolos establecidos como para el método de captura, método de aislamiento, método de re-aislamiento y método de multiplicación.

10.12.1.1. Método de captura de insectos infectados:

Se empleó la metodología utilizada por (Castillo et al., 2012), quien menciona una salida de campo para la recolección de insectos muertos infectados por hongo entomopatógeno *Beauveria*, los que se pueden identificar por presentar 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 describe el proceso de recolección de muestras:

- 1.- La recolección se realizó en un terreno ubicado en el sector “Congoma bajo” perteneciente a la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas.
- 2.- Se simuló una cámara húmeda empleando tarrinas plásticas transparentes y papel adsorbente.
- 3.- En el lugar del muestreo empezó la búsqueda en el interior de los pseudotallos de plátanos cortados y donde se observó insectos adheridos en su interior momificados y cubiertos por un micelio blanco posiblemente infectados por *Beauveria*.
- 4.- Se retiró el insecto cuidadosamente del material vegetal y posteriormente se lo depositó en la cámara húmeda previamente realizada, para proporcionar condiciones adecuadas para su desarrollo.
- 5.- Finalmente la muestra es llevada al laboratorio para su análisis.

Información más detallada (consultar el Protocolo de Colecta en el Anexo 15)

10.12.1.2. Método de aislamiento del hongo:

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

A continuación, los pasos realizados y materiales a utilizados para el aislamiento del hongo:

1.- Se elaboró medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), teniendo en cuenta las cantidades recomendadas tanto para agua destilada y para agar.

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 en la autoclave el medio de cultivo, materiales como pinzas, agujas de disección y cajas Petri en el caso que sean de vidrio, en un período de tiempo de 45 minutos.

3.- Mientras tanto se desinfectó la cámara de flujo de laminar con alcohol, una vez que el medio y los materiales se esterilizaron totalmente se los colocó en la cámara y posteriormente el medio se lo depositó en cada caja Petri.

4.- Ya sólido el medio, en cada caja Petri se colocó las muestras de insectos capturados y se las selló con cinta Parafilm.

5.- Se realizó un rotulado para su identificación, colocando la fecha de elaboración y tipo de muestra.

6.- Posteriormente las cajas se cubrió con papel film para evitar contaminaciones y finalmente se las colocó en la cámara de incubación de 5 – 7 días a una temperatura promedio de 24 °C.

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

Información más detalla (consultar el Protocolo de Aislamiento en el Anexo 15)

10.12.1.3. Método de identificación morfológica del hongo:

Este procedimiento se realizó en el laboratorio de la Carrera de agronomía y en un laboratorio externo (BIONIKA LABS) especializado en este tipo de análisis, dicho laboratorio solicitó un cultivo monospórico del hongo para su identificación. Por lo cual se realiza un cultivo monospórico según la metodología de Cañedo et al., (2004)

Se realizó la caracterización morfológica:

1.- Se realizó la identificación en el microscopio donde 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.

A continuación, se detalla los pasos a realizarse y materiales a utilizarse un cultivo monospórico:

1. Se selecciona cajas Petri con hongo que presentan adecuadas características y libres de contaminación.
2. En cada caja Petri se coloca agua destilada y con un alza se realiza un raspado dejando totalmente limpia la caja.
3. El agua destilada con los restos del hongo es depositada en una probeta hasta alcanzar los 100ml.
4. Una vez obtenida esta solución se debe realizar un conteo de conidios en una Cámara de Neubauer.
5. En la cámara de flujo laminar, con una micropipeta se realiza una dilución de 900 μ l de agua destilada y 100 μ l de la solución anterior en un tubo Eppendorf o microcentrífuga.
6. Los tubos Eppendorf con la dilución son agitados por 30 segundos un agitador de tubos.
7. Con una micropipeta se deposita la toda dilución en una caja Petri con Agar en agua y con un alza se esparce por toda la caja. Se sella con cinta parafilm y se rotula con fecha y nombre.
8. Se da un seguimiento de uno o dos días a las cajas, que son observadas al microscopio para detectar la presencia de conidios que con la ayuda de un bisturí se recorta la zona y es trasferida a otra caja Petri con PDA que será sellada y rotulada.
9. Un tiempo de 8 días se puede notar la presencia de colonias formadas del hongo. Esta caja será enviada al laboratorio para su análisis.

Información más detalla (consultar el Protocolo de Identificación en el Anexo 15)

10.12.1.4. Método de multiplicación del hongo:

Se empleó la metodología utilizada por (Choquetarqui et al., 2011) mencionando que, de los cultivos puros libres de contaminación, se realizaron 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) y sellado con cinta Parafilm y debe ser colocado en la incubadora.

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

- 1.- Se preparó medio de cultivo siguiendo los pasos descritos anteriormente y de la misma manera se desinfectó la cámara de flujo laminar.
- 2.- Posteriormente cuando el medio de cultivo se llevó a la cámara de flujo laminar se dejó enfriar el mismo a temperatura ambiente y se colocó el antibiótico, en este caso se ocupó el medicamento “Gentamax 280” en su presentación de ampolleta, el mismo que se mezcló con el medio de cultivo.
- 3.- De la caja Petri que contenga los cultivos monospóricos, se realizó un corte con un bisturí de la parte que contenga mayor proporción del micelio blanco y con una pinza se retiró el pedazo cortado y se lo colocó en la caja Petri, seguidamente se colocó una cinta Parafilm y se identificó la caja Petri, finalmente se colocó en la cámara de incubación a una temperatura promedio de 24°C.
- 4.- Al transcurso de 7 días se observó la caja Petri cubierta con *B. bassiana*. La misma que será considerada como el primer subcultivo de la cepa madre (insecto).
- 5.- Al obtenerse el primer subcultivo limpio y sin contaminación, se preparó nuevamente medio de cultivo suplementado con el antibiótico.
- 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 en papel film y se colocó las cajas en la cámara de incubación y al transcurso de 5 – 7 días se observó que las nuevas cajas se encuentran cubiertas con *B. bassiana*.

Información más detalla (consultar el Protocolo de Multiplicación en el Anexo 15)

10.12.2. Elaboración de las suspensiones a diferentes concentraciones y conteo de conidios.

En la ejecución de esta fase se adaptó la metodología utilizada por (Mancillas, 2011), mencionando en primera instancia la preparación de la suspensión madre con un volumen

de Agua Destilada Estéril de 200 ml que a partir de la cual se realizaron las respectivas diluciones del hongo *Beauveria bassiana*.

10.12.2.1. Suspensión madre

La elaboración de la suspensión madre se lo realizó de la siguiente forma:

- 1.- Se seleccionó 6 cajas Petri que presenten las mejores características del hongo como su coloración, esporulación y libre de contaminación.
- 2.- En cada caja Petri se colocó agua destilada para realizar un raspado hasta dejar limpia la caja.
- 3.- El agua destilada con los restos del hongo se depositó en una probeta hasta alcanzar los 100ml.

10.12.2.2. Conteo de conidias

El conteo de conidios de cepas del hongo *B. Bassiana*, se lo realizó de la siguiente manera:

- 1.- La suspensión madre se agitó por 1 minuto en el agitador electrónico a 300 rpm (revoluciones por minuto) para obtener una muestra homogénea.
- 2.- Se extrajo con la micropipeta 2000 μL (microlitro) y se depositó en la Cámara de Neubauer finalmente se colocó un cubre objeto y posteriormente se observó en el microscopio enfocando a 40X.
- 3.- El conteo se realizó en forma de zigzag, es decir que de cada cuadrante lateral se contó de esta manera. Cabe mencionar que únicamente se contó aquellas esporas que se encuentren en el interior de cada cuadro descartando aquellas que se encuentren entre líneas de división y afuera.

Finalmente se aplicó la siguiente

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

Información más detalla (consultar el Protocolo de elaboración de suspensión madre y conteo de conidias en el Anexo 15)

10.12.2.3. Elaboración de las concentraciones y su conteo

Una vez ya determinada la concentración de la suspensión madre se realizaron diluciones para las demás concentraciones.

1. En cuatro tubos de ensayo (A, B, C y D) se coloca 9ml de agua destilada en cada uno.
2. Se realiza cuatros diluciones con la ayuda de una pipeta se extrae 1ml de la suspensión madre y es colocada en el tubo de ensayo A, posteriormente de la dilución A se extrae 1ml y es depositado en el tubo de ensayo B, después se extrae 1ml de la dilución B y es depositado en tubo de ensayo C y finalmente de la dilución C se extrae 1ml y es depositado el tubo de ensayo D siendo esta la última dilución. Cada dilución es agitada por 300 rpm.
3. Se volvió a realizar el conteo de conidios para cada dilución. Procedimiento en el que se estableció las concentraciones 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 y 10^8 .

Información más detalla (consultar el Protocolo de elaboración de suspensiones a diferentes concentraciones en el Anexo 15)

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

Previamente se debe realizó la colecta y mantenimiento de los insectos plagas en este caso del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*)

10.12.3.1. Colecta y mantenimiento de insecto plaga:

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

Materiales:

1. Granos de maíz infestados con gorgojos
2. Granos de maíz sanos
3. Recipiente plástico

4. Lienzo
5. Ligas plásticas. (3)

Procedimiento:

1.- Los granos infestados con esta plaga se obtuvieron del Proyecto “Granos Andinos” ubicado en la facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

2.- En un recipiente de plástico amplio, se colocó los granos infestados esparcidos y posteriormente se adicionó 5 libras de maíz sano.

3.- Seguidamente se cubrió el recipiente plástico con lienzo y se lo sujetó firmemente con las ligas plásticas

4.- Al trascurso de 4 – 6 semanas se observó que la población de gorgojos se incrementó.

Obtenido una alta población de insectos plagas se realizó la inoculación de los mismos en los granos de maíz y posteriormente la aplicación de *Beauveria bassiana*.

10.12.3.2. Implementación del bioensayo

A continuación, los materiales utilizados en cada unidad experimental:

Materiales:

1. Granos de maíz
2. Tarrinas plásticas transparentes de ¼ (33)
3. Tapas de tarrinas de ¼ (33)
4. Tela tul
5. Ligas plásticas (2)

Procedimiento:

1.- Se colocó en cada tarrina plástica 100 granos de maíz.

2.- Se tapó primero una la tapa de la tarrina y se cubrió con la tela tul la parte superior de la tarrina y se sujetó con las ligas plásticas.

10.12.3.3. Aplicación de *Beauveria bassiana*:

La aplicación se realizó de la siguiente manera.

- 1.- Los 9ml de concentración anteriormente realizado se depositó en un rociador pequeño.
- 2.- Se procedió a fumigar cada unidad experimental acorde al diseño establecido.

Este proceso será utilizado para la fumigación con *B. bassiana* nativa y *B. bassiana* comercial.

10.12.3.4. Inoculación:

A continuación, se describe el proceso:

- 1.- Se inoculó los insectos plagas (10 insectos adultos) por tarina.
- 2.- Se tapó primero una la tapa de la tarrina y se cubrió con la tela tul la parte superior de la tarrina y se sujetó con las ligas plásticas.

10.13. Datos a Evaluar

10.13.1. Porcentaje de insectos muertos:

Se realizó el conteo de insectos muertos, después de la aplicación de *Beauveria bassiana*, durante cinco días a la semana, de cada unidad experimental se retiró los granos de la tarrina correspondiente, se expandió en una hoja de papel y verificó la cantidad de insectos muertos.

Para calcular el porcentaje de mortalidad se empleó la siguiente fórmula:

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

10.13.2. Porcentaje de granos dañados:

Se realizó el conteo de número de granos infestados, es decir, el conteo de cada grano que este perforado 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 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 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 semillas:

Para terminar con la toma de datos se realizó el registro de datos del peso de los granos dañados y el peso de los granos sanos en la última semana.

El porcentaje de pérdida de peso se calculó mediante la fórmula de:

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

Dónde:

PS = Peso promedio de granos sanos

PD = Peso promedio de granos dañados

10.14. Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron registrados de forma ordena en una hoja de cálculo del programa Excel, para posteriormente ser ingresados al programa InfoStat acorde al diseño experimental planteado en la investigación y finalmente se obtuvo el ADEVA.

10.15. ANÁLISIS PROBIT

En probabilidad y estadística se llama función Probit a la inversa de la función de distribución o función cuantil asociada con la distribución normal estándar. La función tiene aplicaciones en gráficos estadísticos exploratorios y modelos Probit (Sisniegas, 2012).

El procedimiento Probit permite encontrar estimadores m-verosímiles de parámetros de regresión y de tasas naturales (por ejemplo, tasas de mortalidad) de respuesta para ensayos biológicos cuantiles, analizando porcentajes de efecto vs. dosis dentro del marco de la regresión.

Castillo, (2004) mencionada que para el cálculo de la CL (Concentración letal) generalmente se usa el análisis Probit puede ser con o sin ajuste. En un experimento típico de pruebas de toxicidad aguda se tiene la siguiente situación:

Concentración de la sustancia (d).

Número de individuos (n).

Número de organismos muertos o afectados (r).

Porcentaje de efecto (p).

$$p = \frac{r}{n} (100)$$

La representación gráfica de p vs. d, o relación concentración-respuesta, genera una curva parabólica que debe ser presentada en un modelo lineal, para la cual se transforma los valores d a una escala logarítmica ($X = \log_{10}(d)$), lo cual mostrará una relación concentración-respuesta de forma S o sigmoidea normal. Posteriormente, mediante las tablas de Probit se transforma p (porcentaje de efecto) a unidades probit mediante una tabla de distribución normal el valor de z correspondiente a una probabilidad acumulada igual a p y se obtiene una distribución de puntos en un sistema bivariado de tipo lineal, los cuales se procesan según un análisis de regresión típico. Hay que recordar que Probit es una transformación sobre la tasa de efecto (p), y la ecuación generada es de la forma

$$y = a + bx$$

Donde:

y (expresado en unidades probit) = $z+5$

z = Variable normal estándar = z_0 tal que la Prob ($z \leq z_0$) = p

a y b son los estimadores de los parámetros de la recta de regresión

Así, cuando $p=50\%$ entonces $y=5$, por lo tanto:

$x_5 = \log_{10} CL_{50}$, entonces $CL_{50} = 10x_5$

Para facilitar los cálculos, para esta investigación este análisis se realizó en Excel y software STATGRAPHICS para los gráficos se empleó el programa InfoStat.

El procedimiento Probit permite encontrar estimadores m-verosímiles de parámetros de regresión y de tasas naturales (por ejemplo, tasas de mortalidad) de respuesta para ensayos biológicos cuantales, analizando porcentajes de efecto vs. dosis dentro del marco de la regresión.

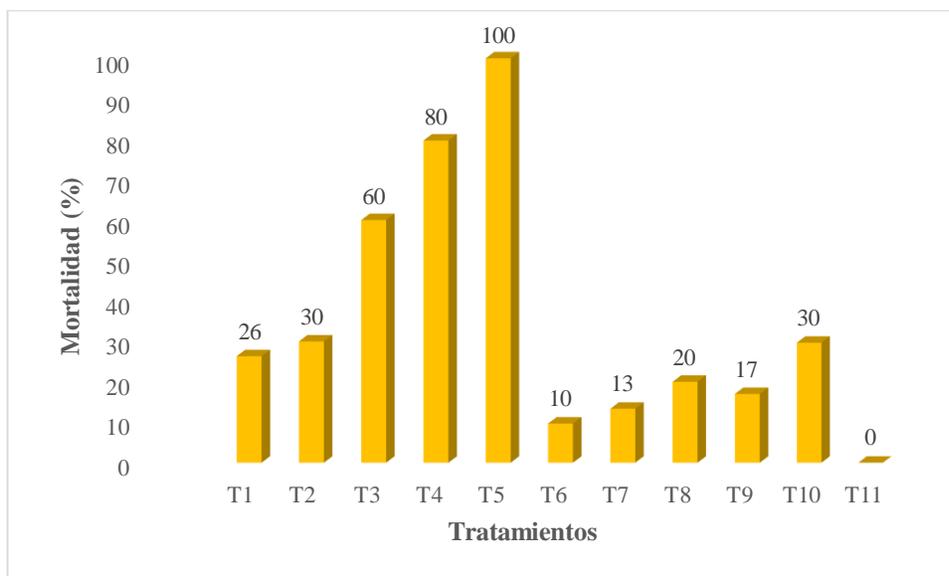
CAPÍTULO IV

11. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

11.1. Análisis de Mortalidad *Sitophilus zeamais*

En las siguientes tablas se presentan los datos de mortalidad de *Sitophilus zeamais* controlados con *Beauveria bassiana* en diferentes concentraciones almacenados en granos de maíz bajo condiciones controladas.

Gráfico 3. Porcentaje de mortalidad total de los tratamientos.



Fuente: Valeria Sotelo.

En el gráfico 1, se observa la mortalidad de los tratamientos, siendo el T5 (*Beauveria bassiana* con concentración 10^8) el mayor porcentaje con un 100% mientras que el T11 (Testigo) obtuvo un 0% de mortalidad.

Tabla 5. ADEVA para la variable de porcentaje de Mortalidad de *Sitophilus zeamais*

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor	
TRATAMIENTOS	5,47	10	0,55	193,75	<0,0001	**
BLOQUES	3,00E-03	2	1,50E-03	0,52	0,6	ns
FACTOR A (<i>Beauveria</i>)	1,92	1	1,92	685,71	<0,0001	**
FACTOR B (Concentraciones)	1,61	4	0,4	142,86	<0,0001	**

FACTOR A*FACTOR B	0,67	4	0,17	60,71	<0,0001	**
Testigo VS Tratamientos	1,27	1	1,27	450,95	<0,0001	**
Error	0,06	20	2,80E-03			
Total	5,53	32				
CV %						8,55

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 5, se puede observar que, si existe diferencias altamente significativas para el Factor A, Factor B, su respectiva interacción, tratamientos y el testigo vs tratamientos. En el cual se obtuvo un coeficiente de variación de 8,55% lo que se interpreta que existió un correcto manejo de las unidades experimentales durante toda la fase de estudio.

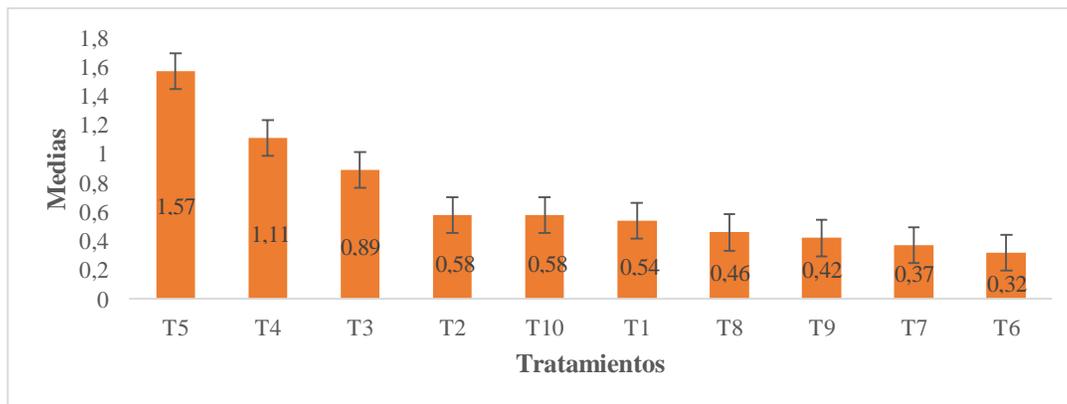
Tabla 6. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos en la mortalidad de *Sitophilus zeamais*

	Tratamientos	Medias	n	E.E.	Rangos
T5	Beauveria nativa	C5	1,57	3	0,03 A
T4	Beauveria nativa	C4	1,11	3	0,03 B
T3	Beauveria nativa	C3	0,89	3	0,03 C
T2	Beauveria nativa	C2	0,58	3	0,03 D
T10	Beauveria comercial	C5	0,58	3	0,03 D
T1	Beauveria nativa	C1	0,54	3	0,03 D
T8	Beauveria comercial	C3	0,46	3	0,03 D E
T9	Beauveria comercial	C4	0,42	3	0,03 D E
T7	Beauveria comercial	C2	0,37	3	0,03 E
T6	Beauveria comercial	C1	0,32	3	0,03 E

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 6, se observa que el T5 (*Beauveria nativa* con concentración 10^8) se encuentra en el rango A con una media de 1,57 siendo el mayor, mientras que el T6 (*Beauveria comercial* con concentración 10^4) se ubica en el rango E con una media de 0,32 siendo el menor.

Gráfica 4. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos en la mortalidad de *Sitophilus zeamais*.



Fuente: Valeria Sotelo.

Los datos obtenidos de la mortalidad de *Sitophilus zeamais* son similares con lo observado por Kassa et al. (2011) quienes en su experimento con *Beauveria bassiana* y *Sitophilus zeamais* encontraron una mortalidad del 93% al 95% en la concentración de conidios más alta (1×10^8), misma concentración que se empleó en la investigación pero en cual se obtuvo un 100% de mortalidad. También los autores registraron en la concentración más baja (1×10^4) una mortalidad que varió del 25% al 28,33%, valores similares a la mortalidad obtenida en la concentración más baja (10^4) con un 26%. Además, los mismos autores concluyeron que a partir de la concentración 10^7 de *Beauveria bassiana* son los más virulentos para *Sitophilus zeamais*, dato que concuerda con la mortalidad obtenida de la concentración (10^7) con un 80%.

A continuación, se aplicó la prueba de Tukey al 5 %, para la comparación de rangos para cada uno de los factores, su interacción y tratamientos que tienen significancia estadística en el porcentaje de mortalidad de *Sitophilus zeamais*.

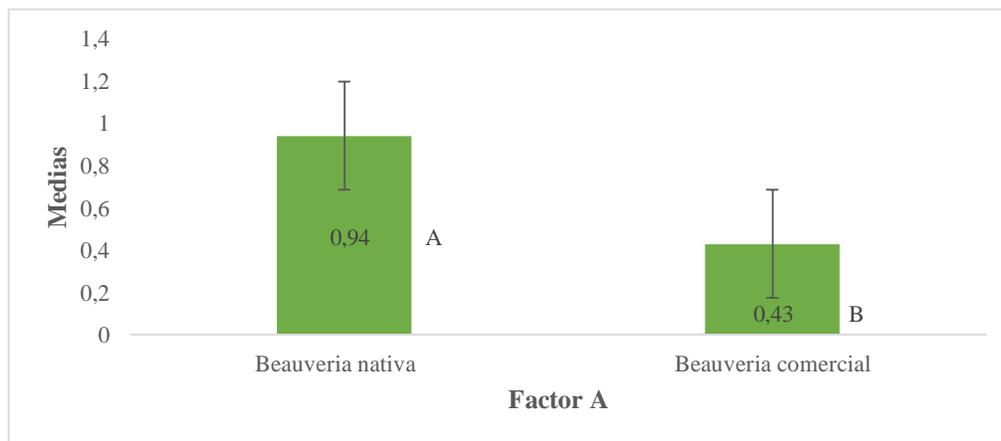
Tabla 7. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A.

FACTOR A	Medias	n	E.E.	Rangos
Beauveria nativa	0,94	15	0,01	A
Beauveria comercial	0,43	15	0,01	B

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 7, se observa que tenemos dos rangos, la *Beauveria nativa* se encuentra en el rango A con una media de 0,94 siendo el mayor, mientras que la *Beauveria comercial* se ubica en el rango B con una media de 0,43 siendo el menor.

Gráfica 5. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A.



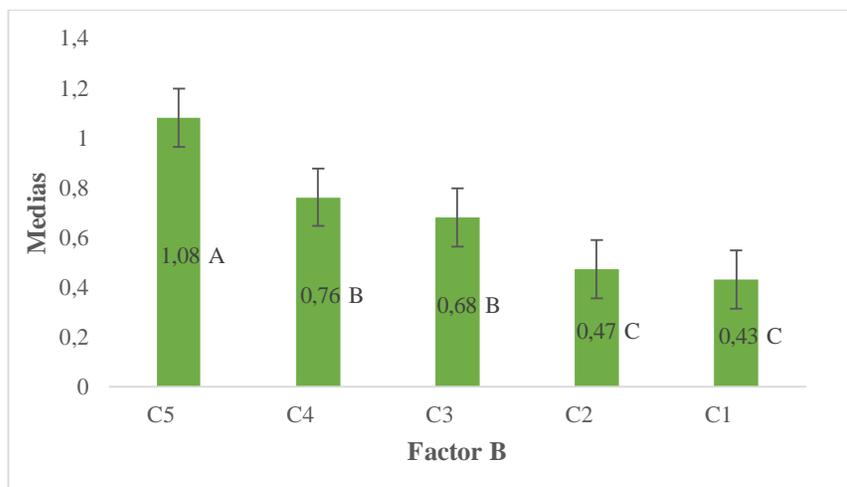
Fuente: Valeria Sotelo.

Tabla 8. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor B.

FACTOR B	Medias	n	E.E.	Rangos
C5	1,08	6	0,02	A
C4	0,76	6	0,02	B
C3	0,68	6	0,02	B
C2	0,47	6	0,02	C
C1	0,43	6	0,02	C

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 8, Se observa que tenemos tres rangos, la C5 (Concentración 10^8) se encuentra en el rango A con una media de 1,08 siendo el mayor, mientras que las C4 (Concentración 10^7) y C3 (Concentración 10^6) se ubican dentro del rango B con una media que oscila entre 0,68 a 0,76. Por último, tenemos las C2 (Concentración 10^5) y C1 (Concentración 10^4) en el rango C con una media que varía entre 0,43 a 0,47 siendo el menor.

Gráfica 6. Prueba de Tukey, para la comparación de rangos para el Factor B

Fuente: Valeria Sotelo.

Tabla 9. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y Factor B.

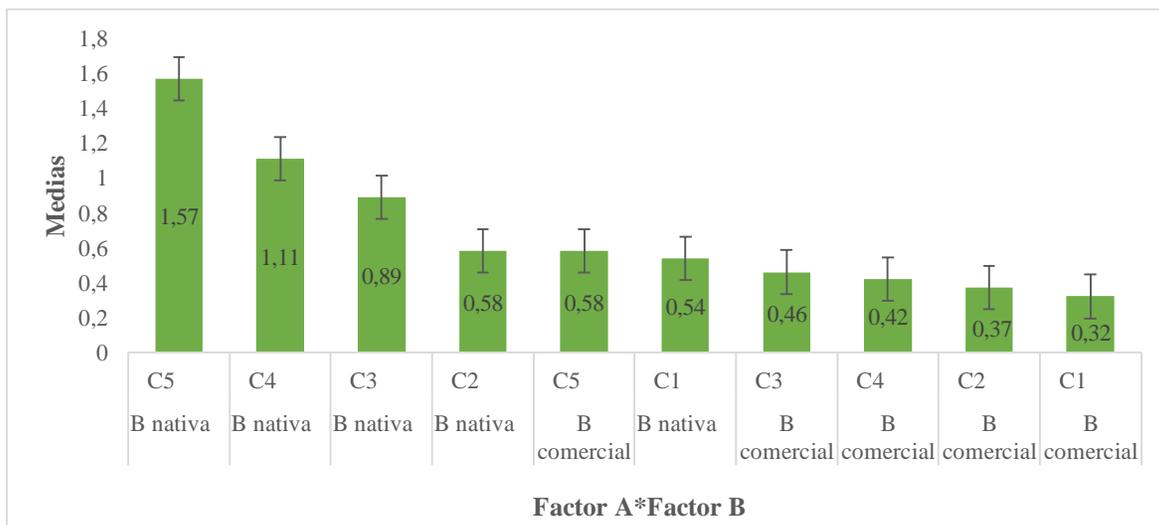
FACTOR A	FACTOR B	Medias	n	E.E.	Rangos
B nativa	C5	1,57	3	0,03	A
B nativa	C4	1,11	3	0,03	B
B nativa	C3	0,89	3	0,03	C
B nativa	C2	0,58	3	0,03	D
B comercial	C5	0,58	3	0,03	D
B nativa	C1	0,54	3	0,03	D
B comercial	C3	0,46	3	0,03	D E
B comercial	C4	0,42	3	0,03	D E
B comercial	C2	0,37	3	0,03	E
B comercial	C1	0,32	3	0,03	E

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 9, Se observa que tenemos cinco rangos, la *Beauveria nativa* con C5 (Concentración 10^8) se encuentra en el rango A con una media de 1,57 siendo el mayor rango, después sigue la *Beauveria nativa* con C4 (Concentración 10^7) se ubica en el rango B con una media de 1,11 mientras que la *Beauveria nativa* con C3 (Concentración 10^7) con una media de 0,89 que en el rango C. Posteriormente tenemos el rango D con una media que

oscila entre 0,42 – 0,58 y por último, al rango E con una media que varía entre 0,32 a 0,37 siendo el menor.

Gráfica 7. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y el Factor B



Fuente: Valeria Sotelo.

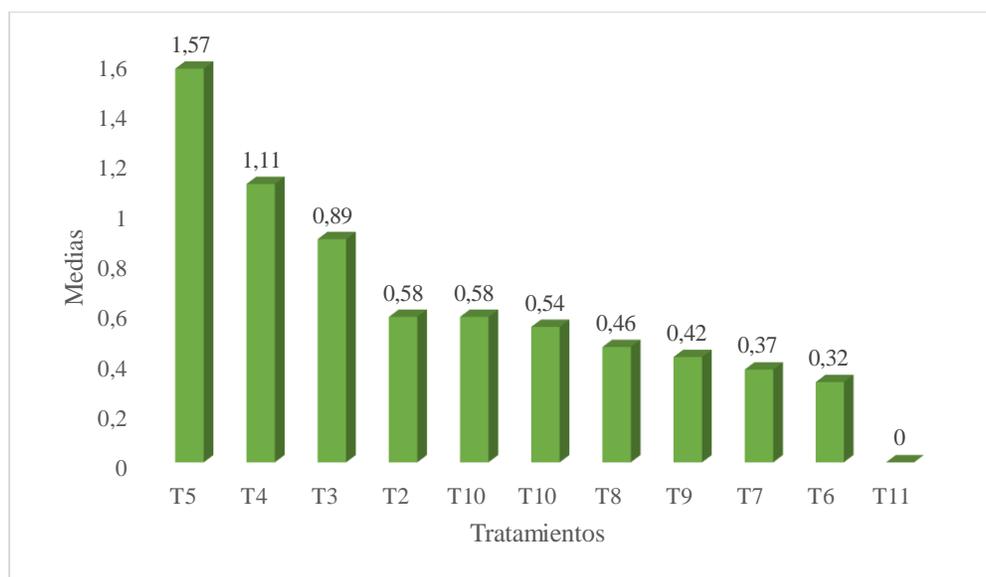
Tabla 10. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para los tratamientos.

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	Rangos
T5	1,57	3	0,03	A
T4	1,11	3	0,03	B
T3	0,89	3	0,03	C
T2	0,58	3	0,03	D
T10	0,58	3	0,03	D
T10	0,54	3	0,03	D E
T8	0,46	3	0,03	D E F
T9	0,42	3	0,03	E F
T7	0,37	3	0,03	F
T6	0,32	3	0,03	F
T11	0	3	0,03	G

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 10, Se observa que tenemos siete rangos, el T5 (*Beauveria* nativa con concentración 10^8) se encuentra en el rango A con una media de 1,57 siendo el mayor rango, después sigue el T4 (*Beauveria* nativa con concentración 10^7) se ubica en el rango B con una media de 1,11 mientras que el T3 (*Beauveria* nativa con concentración 10^7) con una media de 0,89 que en el rango C. Por último, al rango G el T11 (testigo) con una media de 0 siendo el menor.

Gráfica 8. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para los tratamientos.



Fuente: Valeria Sotelo.

CONTRASTES ORTOGONALES.

Al tener una diferencia altamente significativa se realiza una prueba de contrastes ortogonales, donde se compara y corrobora las diferencias existentes entre tratamientos,

Tabla 11. Contraste Testigo VS Tratamientos

TRATAMIENTOS	Contraste	E.E.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Contraste1	-6,83	0,31	1,27	1	1,3	471	<0,0001 **
Total			1,27	1	1,3	471	<0,0001

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 11, se observa que, si existe una diferencia altamente significativa entre el testigo y los tratamientos. Eso quiere decir que tanto el testigo como los tratamientos se comportaron diferente dentro de la investigación.

Tabla 12. Contraste del Factor A

FACTOR A	Contraste	E.E.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Contraste1	-0,51	0,02	1,92	1	1,9	615	<0,0001 **
Total			1,92	1	1,9	615	<0,0001

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 12, se observa que, si existe una diferencia altamente significativa en el Factor A ya que al compararlas la *Beauveria Nativa* obtuvo mejores resultados que la *Beauveria Comercial*.

Tabla 13. Contraste del Factor B.

FACTOR B	Contraste	E.E.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Contraste1	-1,27	0,1	0,48	1	0,5	154	<0,0001 **
Contraste2	-1,09	0,08	0,59	1	0,6	190	<0,0001 **
Contraste3	-0,49	0,06	0,24	1	0,2	76	<0,0001 **
Contraste4	-0,31	0,03	0,3	1	0,3	95	<0,0001 **
Total			1,61	4	0,4	129	<0,0001

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 13, se observa que, si existe una diferencia altamente significativa en el Factor B, esto se refiere a que las concentraciones (10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 y 10^8) empleadas en la investigación se comportaron de manera diferente. Ya que la concentración más alta 10^8 fue la que más se destacó entre todas las demás.

Tabla 14. Contraste del Factor A* Factor B.

FACTOR A*FACTOR B	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Contraste1	-3,61	0,31	0,44	1	0,4	139	<0,0001 **
Contraste2	-3,19	0,27	0,42	1	0,4	136	<0,0001 **

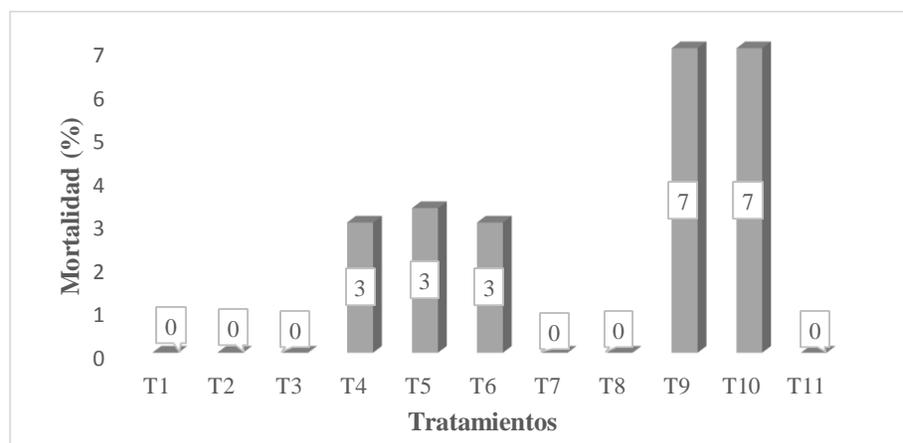
Contraste3	-2,43	0,24	0,32	1	0,3	101	<0,0001	**
Contraste4	-2,76	0,21	0,54	1	0,5	175	<0,0001	**
Contraste5	-1,78	0,18	0,32	1	0,3	102	<0,0001	**
Contraste6	-1,99	0,14	0,6	1	0,6	191	<0,0001	**
Contraste7	-1,82	0,11	0,83	1	0,8	266	<0,0001	**
Contraste8	-0,91	0,08	0,41	1	0,4	131	<0,0001	**
Contraste9	-0,46	0,05	0,32	1	0,3	103	<0,0001	**
Total			4,2	9	0,5	149	<0,0001	

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 14, se observa que, si existe una diferencia altamente significativa en el Factor A*B. La interacción entre estos dos factores si influyo dentro de la investigación

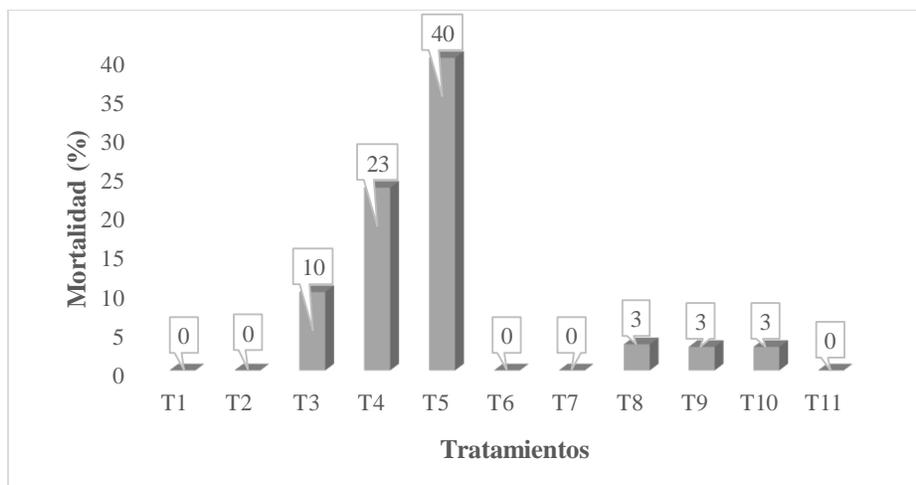
11.1.1 Mortalidad de *Sitophilus zeamais* por semanas

Gráfica 9. Porcentaje de Mortalidad en la semana uno.



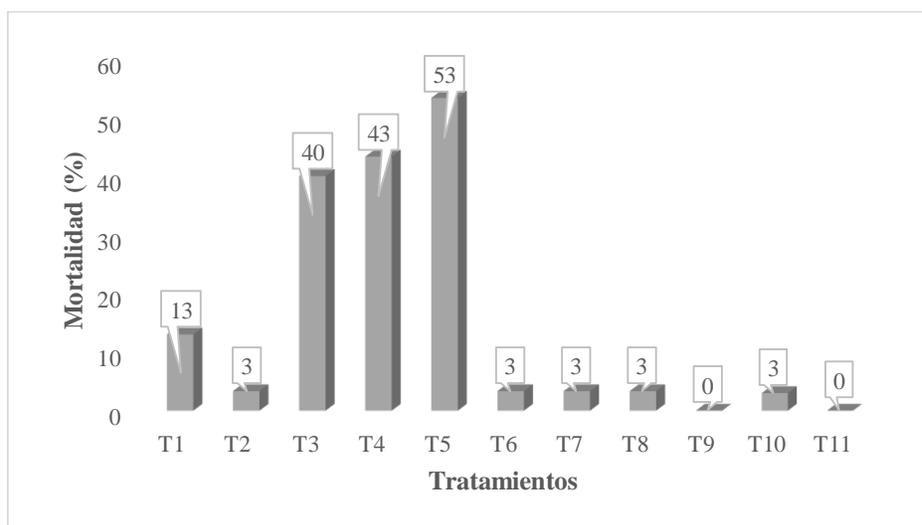
Fuente: Valeria Sotelo.

En la gráfica 9, se observa los tratamientos con mayor porcentaje de mortalidad son el T9 (Beauveria comercial con concentración 10^7) y T10 (Beauveria comercial con concentración 10^8) con un 7% cada uno, los demás tratamientos obtuvieron un porcentaje que varía de 0% a 3%.

Gráfica 10. Porcentaje de Mortalidad en la semana dos.

Fuente: Valeria Sotelo.

En la gráfica 10, se observa el tratamiento con mayor porcentaje de mortalidad es T5 (*Beauveria nativa* con concentración 10^8) con un 40%, seguido por T4 (*Beauveria nativa* con concentración 10^7) con un 23%, los demás tratamientos tuvieron un porcentaje que oscila entre 3% - 10% mientras que el T11 (testigo) mantuvo un 0% siendo el menor porcentaje de mortalidad.

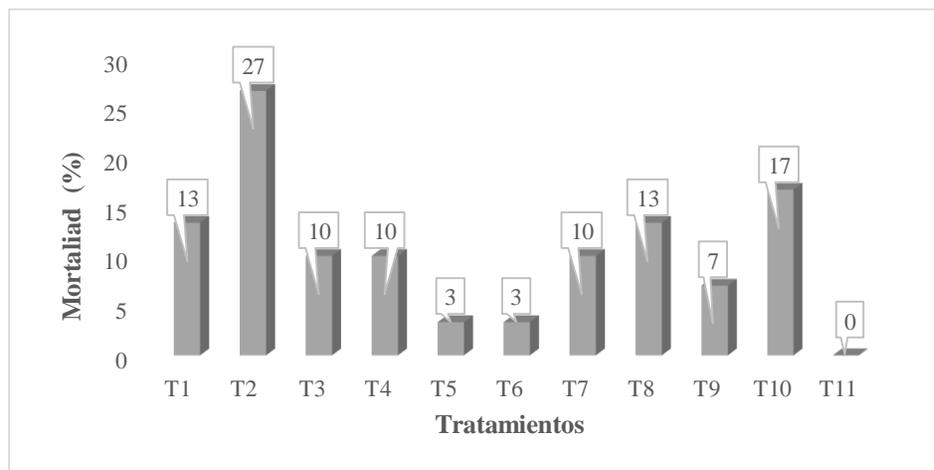
Gráfica 11. Porcentaje de Mortalidad en la semana tres.

Fuente: Valeria Sotelo.

En la gráfica 11, se observa el tratamiento con mayor porcentaje de mortalidad es T5 (*Beauveria nativa* con concentración 10^8) con un 53%, seguido por T4 (*Beauveria nativa* con

concentración 10^7) con un 43%, después el T3 (*Beauveria nativa* con concentración 10^6) con un 40%, a continuación, el T1 (*Beauveria nativa* con concentración 10^4) con 13%, mientras que los demás tratamientos obtuvieron una mortalidad entre 3% al 0%.

Gráfica 12. Porcentaje de Mortalidad en la semana cuatro.



Fuente: Valeria Sotelo.

En la gráfica 12, se observa el tratamiento con mayor porcentaje de mortalidad es T2 (*Beauveria nativa* con concentración 10^5) con 26%, seguido por el T10 (*Beauveria comercial* con concentración 10^8) con un 16%, los demás tratamientos tienen un porcentaje que varía entre 3% al 10%. El T11 (testigo) en las todas semanas tuvo un 0%.

11.2. Análisis de Porcentaje de Granos dañados

En las siguientes tablas se presentan los datos del porcentaje de granos dañados de maíz.

Gráfico 13. Porcentaje de granos dañados total de los tratamientos.



Fuente: Valeria Sotelo.

En el gráfico 13, se observa el T5 (*Beauveria bassiana* con concentración 10^8) el menor porcentaje con un 25% mientras que el T11 (Testigo) obtuvo un 80% siendo el mayor porcentaje.

Tabla 15. ADEVA para la variable de porcentaje de granos dañados.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
TRATAMIENTOS	0,58	10	0,06	1727,28	<0,0001	**
BLOQUES	4,00E-05	2	2,00E-05	0,6	0,5595	ns
FACTOR A (<i>Beauveria</i>)	0,04	1	0,04	1212,12	<0,0001	**
FACTOR B (Concentraciones)	0,12	4	0,03	909,09	<0,0001	**
FACTOR A*FACTOR B	0,05	4	0,01	303,03	<0,0001	**
Testigo VS Tratamientos	0,37	1	0,37	11162,26	<0,0001	**
Error	6,70E-04	20	3,30E-05			
Total	0,58	32				
CV%						0,76

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 15, se puede observar que, si existe diferencias altamente significativas para el Factor A, Factor B, su interacción, tratamientos y testigo vs tratamientos. En el cual se obtuvo un coeficiente de variación de 0,76% lo que se interpreta que existió un correcto manejo de las unidades experimentales durante toda la fase de estudio.

Tabla 16. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos en los granos dañados.

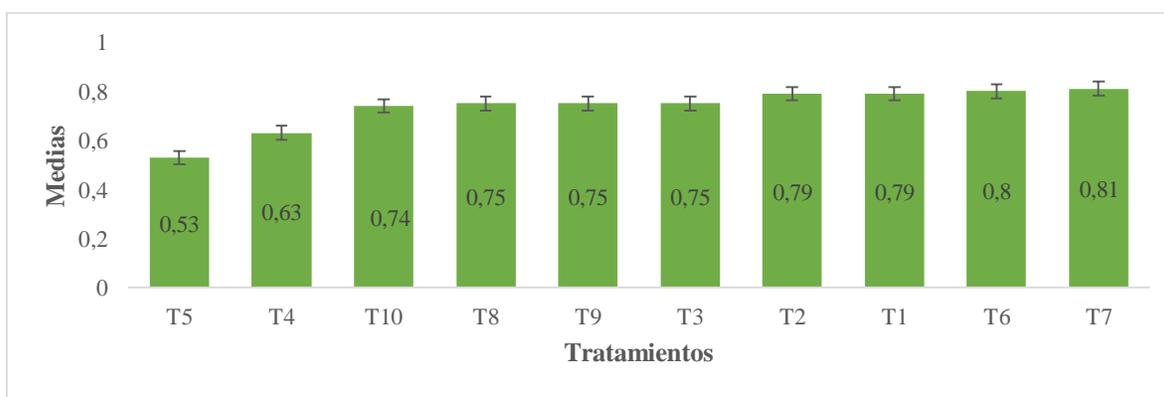
	Tratamientos	Medias	n	E.E.	Rangos
T5	Beauveria nativa	C5	0,53	3	3,10E-03 A
T4	Beauveria nativa	C4	0,63	3	3,10E-03 B
T10	Beauveria comercial	C5	0,74	3	3,10E-03 C
T8	Beauveria comercial	C3	0,75	3	3,10E-03 C
T9	Beauveria comercial	C4	0,75	3	3,10E-03 C
T3	Beauveria nativa	C3	0,75	3	3,10E-03 C
T2	Beauveria nativa	C2	0,79	3	3,10E-03 D
T1	Beauveria nativa	C1	0,79	3	3,10E-03 D E

T6	Beauveria comercial	C1	0,8	3	3,10E-03	D E
T7	Beauveria comercial	C2	0,81	3	3,10E-03	E

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 16, se puede observar que el T5 (*Beauveria nativa* con concentración 10^8) se encuentra en el rango A con una media de 0,53 siendo el menor, mientras que el T7 (*Beauveria comercial* con concentración 10^5) se ubica en el rango E con una media de 0,81 siendo el mayor.

Gráfica 14. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos en los granos dañados.



Fuente: Valeria Sotelo.

Los resultados obtenidos en la variable porcentaje de granos dañados son similares a los resultados obtenidos de Castillo (2014) quien en su experimento con *Beauveria bassiana* y *Sitophilus zeamais* obtuvo un 24,5% siendo el menor y al comparar con los datos obtenidos de la presente investigación que puede notar que solo existe un 5% de diferencia ya que el menor porcentaje de granos dañados fue de 25% en el T5 (*Beauveria nativa* con concentración 10^8).

Además, los mismos autores obtuvieron un porcentaje alto en el testigo en comparación con los otros tratamientos, situación similar que se evidencio en la investigación. El testigo (T11) obtuvo un 80% dato que concuerda con García & Bergvinson (2007) quienes mencionan que en granos no controlados, es decir no fumigados la plaga *Sitophilus zeamais* puede llegar a dañar en una 80%.

A continuación, se aplicó la prueba de Tukey al 5 %, para la comparación de rangos para cada uno de los factores e interacciones que tienen significancia estadística en los granos dañados.

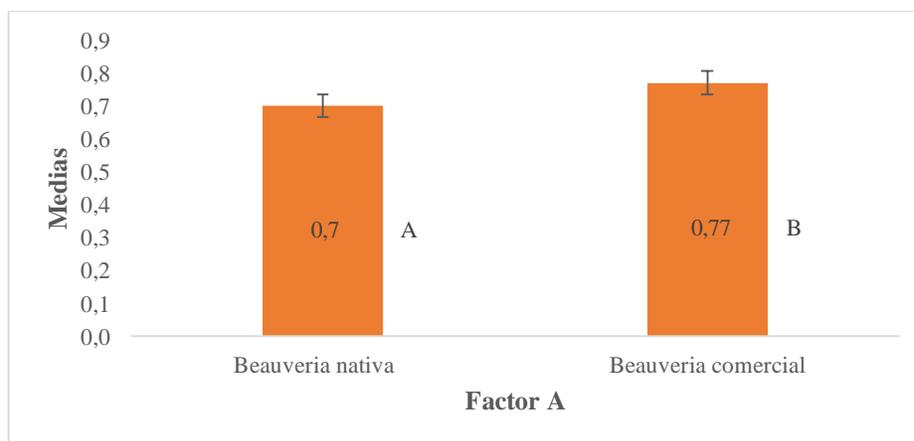
Tabla 17. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A.

FACTOR A	Medias	n	E.E.	Rangos
Beauveria nativa	0,7	15	1,40E-03	A
Beauveria comercial	0,77	15	1,40E-03	B

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 17, se puede observar que tenemos dos rangos, la *Beauveria nativa* se encuentra en el rango A con una media de 0,7 siendo el menor, mientras que la *Beauveria comercial* se ubica en el rango B con una media de 0,77 siendo el mayor.

Gráfica 15. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A.



Fuente: Valeria Sotelo.

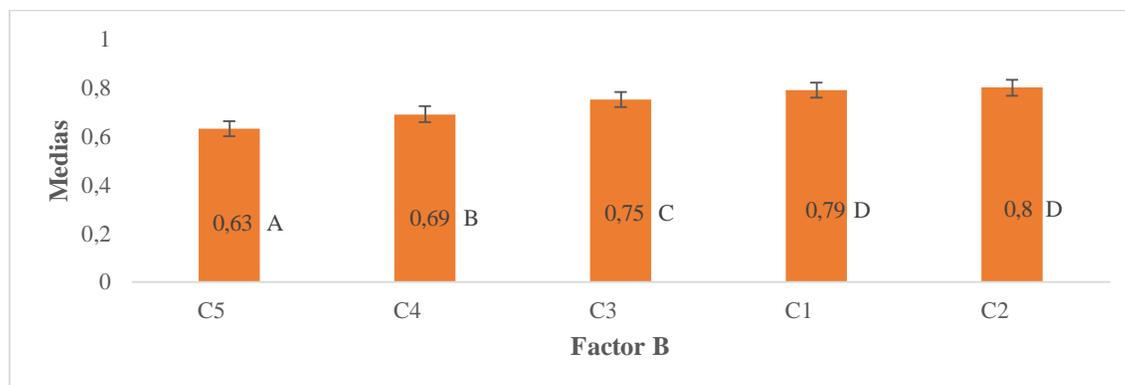
Tabla 18. Prueba de Tukey, para la comparación de rangos para el Factor B.

FACTOR B	Medias	n	E.E.	Rangos
C5	0,63	6	2,20E-03	A
C4	0,69	6	2,20E-03	B
C3	0,75	6	2,20E-03	C
C1	0,79	6	2,20E-03	D
C2	0,8	6	2,20E-03	D

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 18, se observa que tenemos cuatro rangos, la C5 (Concentración 10^8) se encuentra en el rango A con una media de 0,63 siendo el menor, seguido por la C4 (Concentración 10^7) que se ubica dentro del rango B con una media de 0,69 después continúa la C3 (Concentración 10^6) en el rango C con una media. Por último, tenemos las C1 (Concentración 10^4) y C2 (Concentración 10^5) en el rango D con una media que varía entre 0,79 a 0,80 siendo el menor.

Gráfica 16. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor B



Fuente: Valeria Sotelo.

Tabla 19. Prueba de Tukey, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y Factor B.

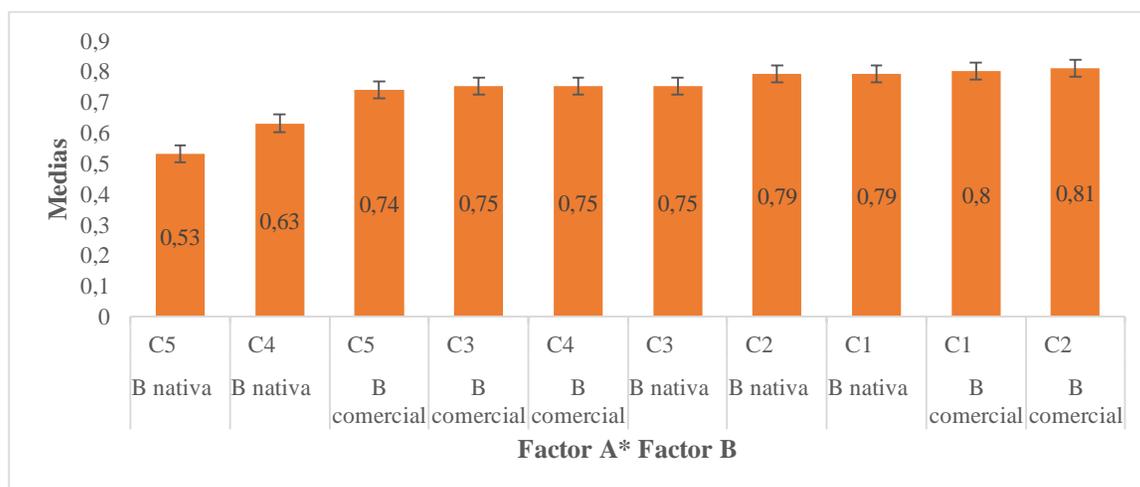
FACTOR A	FACTOR B	Medias	n	E.E.	Rangos
B nativa	C5	0,53	3	3,10E-03	A
B nativa	C4	0,63	3	3,10E-03	B
B comercial	C5	0,74	3	3,10E-03	C
B comercial	C3	0,75	3	3,10E-03	C
B comercial	C4	0,75	3	3,10E-03	C
B nativa	C3	0,75	3	3,10E-03	C
B nativa	C2	0,79	3	3,10E-03	D
B nativa	C1	0,79	3	3,10E-03	D E
B comercial	C1	0,8	3	3,10E-03	D E
B comercial	C2	0,81	3	3,10E-03	E

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 19, se observa que tenemos cinco rangos, la *Beauveria nativa* con C5 (Concentración 10^8) se encuentra en el rango A con una media de 0,53 siendo el menor rango,

después sigue la *Beauveria nativa* con C4 (Concentración 10^7) se ubica en el rango B con una media de 0,63 mientras que la *Beauveria comercial* con C5 (Concentración 10^8) , *Beauveria comercial* con C3 (Concentración 10^6), *Beauveria comercial* con C4 (Concentración 10^7) y la *Beauveria nativa* con C3 (Concentración 10^7) con una media de varía 0,74 - 0,75 que en el rango C. Posteriormente tenemos las siguientes interacciones *Beauveria nativa* con C2 (Concentración 10^5) y *Beauveria nativa* con C1 (Concentración 10^4) con una media 0,79 siendo el rango D. Por último, tenemos la *Beauveria comercial* con C1 (Concentración 10^4) y *Beauveria comercial* con C2 (Concentración 10^5) dentro al rango E con una media que varía entre 0,80 a 0,81 siendo el mayor rango.

Gráfica 17. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y el Factor B.



Fuente: Valeria Sotelo.

Tabla 20. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para los tratamientos.

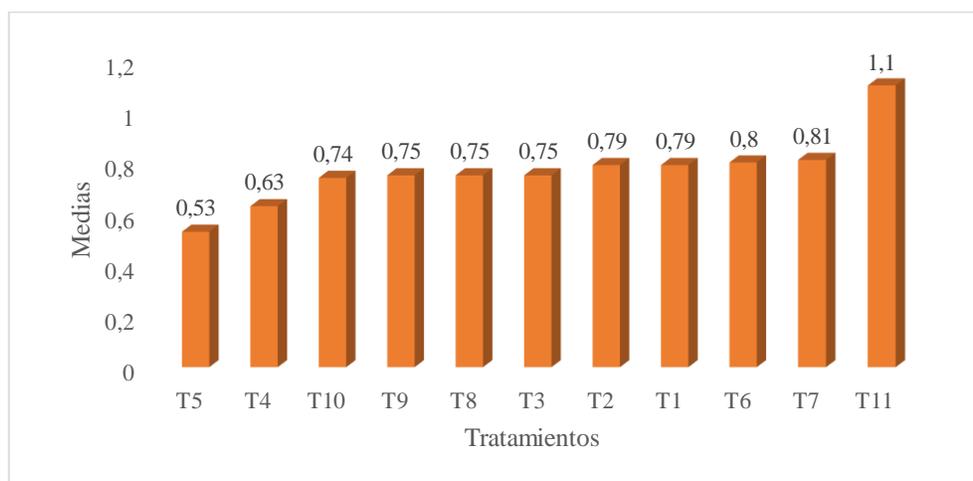
TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	Rangos
T5	0,53	3	3,30E-03	A
T4	0,63	3	3,30E-03	B
T10	0,74	3	3,30E-03	C
T9	0,75	3	3,30E-03	C
T8	0,75	3	3,30E-03	C
T3	0,75	3	3,30E-03	C
T2	0,79	3	3,30E-03	D

T1	0,79	3	3,30E-03	D E
T6	0,8	3	3,30E-03	D E
T7	0,81	3	3,30E-03	E
T11	1,1	3	3,30E-03	F

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 20, se observa que tenemos seis rangos, el T5 (*Beauveria* nativa con concentración 10^8) se encuentra en el rango A con una media de 0,53 siendo el menor rango, después sigue el T4 (*Beauveria* nativa con concentración 10^7) se ubica en el rango B con una media de 0,63 y por último el T11 (testigo) dentro al rango F con una media de 1,1 siendo el mayor rango.

Gráfica 18. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para los tratamientos.



Fuente: Valeria Sotelo.

CONTRASTES ORTOGONALES.

Al tener una diferencia altamente significativa se realiza una prueba de contrastes ortogonales, donde se compara y corrobora las diferencias existentes entre tratamientos, testigos y cada una de sus factores.

Tabla 21. Contraste Testigo VS Tratamientos

TRATAMIENTOS	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Contraste1	3,7	0,03	3,70E-01	1	3,70E-01	1,16E+04	<0,0001 **
Total			3,70E-01	1	3,70E-01	1,16E+04	<0,0001

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 21, se observa que, si existe una diferencia altamente significativa entre el testigo y los tratamientos. Eso quiere decir que tanto el testigo como los tratamientos se comportaron diferente dentro de la investigación.

Tabla 22. Contraste del Factor A

FACTOR A	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Contraste1	0,07	2,00E-03	0,04	1	0,04	1243,52	<0,0001 **
Total			0,04	1	0,04	1243,52	<0,0001

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 22, se observa que, si existe una diferencia altamente significativa en el Factor A ya que al compararlas la *Beauveria Nativa* obtuvo mejores resultados que la *Beauveria Comercial*.

Tabla 23. Contraste del Factor B.

FACTOR B	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Contraste1	0,3	0,01	0,03	1	0,03	935,53	<0,0001 **
Contraste2	0,31	0,01	0,05	1	0,05	1628,58	<0,0001 **
Contraste3	0,17	0,01	0,03	1	0,03	1036,27	<0,0001 **
Contraste4	0,06	3,10E-03	0,01	1	0,01	319,56	<0,0001 **
Total			0,12	4	0,03	979,98	<0,0001

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 23, se observa que, si existe una diferencia altamente significativa en el Factor B, esto se refiere a que las concentraciones (10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 y 10^8) empleadas en la investigación se comportaron de manera diferente. Ya que la concentración más alta 10^8 fue la que más se destacó entre todas las demás.

Tabla 24. Contraste del Factor A* Factor B.

FACTOR A*FACTOR B	Contraste	E.E.	SC	g		F	p-valor	
				l	CM			
Contraste1	0,62	0,03	0,01	1	0,01	438,98	<0,0001	**
Contraste2	0,71	0,03	0,02	1	0,02	718,81	<0,0001	**
Contraste3	0,26	0,02	3,60E-03	1	3,60E-03	122,38	<0,0001	**
Contraste4	0,26	0,02	4,80E-03	1	4,80E-03	163,17	<0,0001	**
Contraste5	0,22	0,02	4,80E-03	1	4,80E-03	163,4	<0,0001	**
Contraste6	0,47	0,01	0,03	1	0,03	1122,29	<0,0001	**
Contraste7	0,44	0,01	0,05	1	0,05	1663,97	<0,0001	**
Contraste8	0,34	0,01	0,06	1	0,06	1994,18	<0,0001	**
		4,40E-						
Contraste9	-0,11	03	0,02	1	0,02	565,29	<0,0001	**
Total			0,2	9	0,02	772,5	<0,0001	

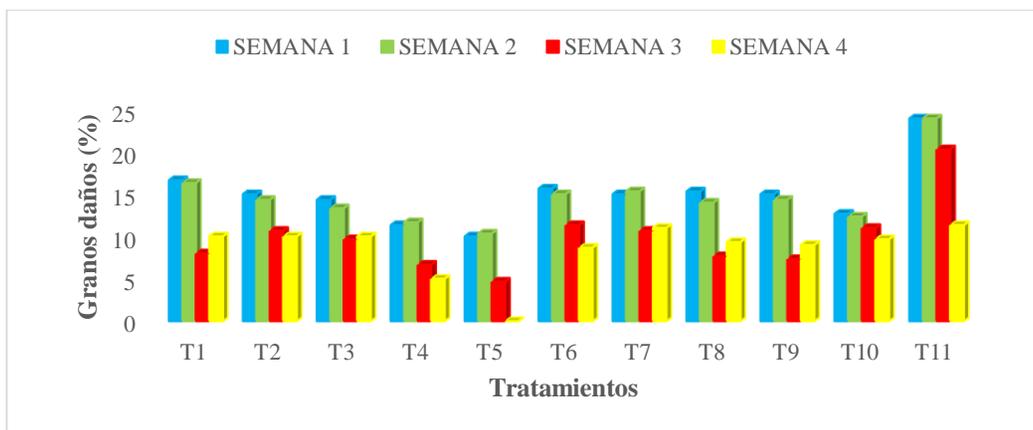
Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 24, se observa que, si existe una diferencia altamente significativa en el Factor A*B. La interacción entre estos dos factores si influyo dentro de la investigación.

Tabla 25. Porcentaje de granos dañados por semanas

PORCENTAJE DE GRANOS DAÑADOS				
TRATAMIENTOS	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	SEMANA 4
T1	17	16	8	10
T2	15	14	11	10
T3	14	13	10	10
T4	11	12	7	5
T5	10	10	5	0
T6	16	15	11	9
T7	15	15	11	11
T8	15	14	8	9
T9	15	14	7	9
T10	13	12	11	10
T11	24	24	20	11

Fuente: Valeria Sotelo.

Gráfica 19. Porcentaje de granos dañados por semanas

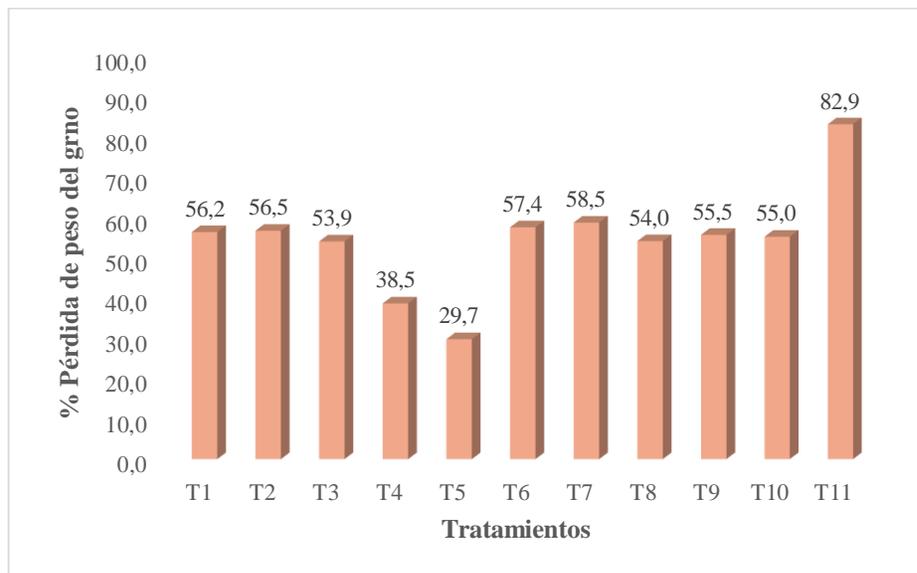
Fuente: Valeria Sotelo.

En la gráfica 19, se observa en la **Semana 1** los tratamientos con menor porcentaje de granos dañados son el T4 (*Beauveria nativa* con concentración 10^7) y T5 (*Beauveria nativa* con concentración 10^8) con un porcentaje que 10% y 11%, mientras que T11 (testigo) obtuvo un 24% siendo el mayor porcentaje de granos dañados los demás tratamientos obtuvieron un porcentaje que va desde los 13% hasta el 17%. En la **Semana 2** el tratamiento con menor porcentaje de granos dañados es T5 (*Beauveria nativa* con concentración 10^8) con un 10%, mientras que T11 (testigo) obtuvo un 24% siendo el mayor porcentaje de granos dañados los demás tratamientos obtuvieron un porcentaje que varía del 12% hasta el 16%. En la **Semana 3** el tratamiento con menor porcentaje de granos dañados es T5 (*Beauveria nativa* con concentración 10^8) con un 5%, mientras que T11 (testigo) obtuvo un 20% siendo el mayor porcentaje de granos dañados los demás tratamientos obtuvieron un porcentaje que va del 7% al 11%. En la **Semana 4** los tratamientos con menor porcentaje de granos dañados son el T4 (*Beauveria nativa* con concentración 10^7) y T5 (*Beauveria nativa* con concentración 10^8) con un porcentaje que 0% y 5%, mientras que los demás tratamientos obtuvieron un porcentaje que va desde los 9% hasta el 11%.

11.3. Análisis de Porcentaje de Pérdida de peso

En las siguientes tablas se presentan los datos del porcentaje de pérdida de peso.

Gráfico 20. Porcentaje de pérdida de peso total de los tratamientos.



Fuente: Valeria Sotelo.

En el gráfico 20, se observa que el T5 (*Beauveria nativa* con concentración 10^8) con un 29% siendo el menor, seguido por T4 (*Beauveria nativa* con concentración 10^7) con un 38%, mientras que el T11 (testigo) con un 82% siendo el mayor porcentaje en la pérdida de peso. Los demás tratamientos varían entre 55% a 58%.

Tabla 26. ADEVA para la variable del porcentaje de pérdida de peso.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
TRATAMIENTOS	0,58	10	0,06	1448,01	<0,0001	**
BLOQUES	2,20E-04	2	1,10E-04	2,76	0,0875	ns
FACTOR A (<i>Beauveria</i>)	0,06	1	0,06	1500,00	<0,0001	**
FACTOR B (Concentraciones)	0,11	4	0,03	750,00	<0,0001	**
FACTOR A*FACTOR B	0,08	4	0,02	500,00	<0,0001	**
Testigo VS Tratamientos	0,32	1	0,32	8100,27	<0,0001	**
Error	8,00E-04	20	4,00E-05			
Total	0,58	32				
CV%						0,76

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 26, se puede observar que, si existe diferencias altamente significativas para el Factor A, Factor B, su interacción, tratamientos y testigo vs tratamientos. En el cual se obtuvo un coeficiente de variación de 0,76% lo que se interpreta que existió un correcto manejo de las unidades experimentales durante toda la fase de estudio.

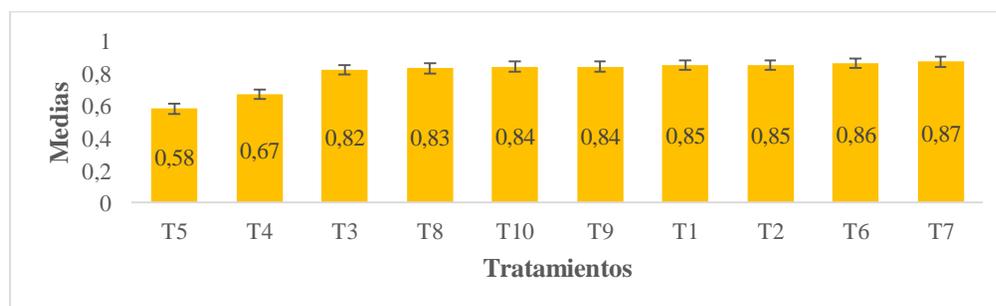
Tabla 27. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos del porcentaje de pérdida de peso.

	Tratamientos	Medias	n	E.E.	Rangos
T5	Beauveria nativa	C5 0,58	3	3,40E-03	A
T4	Beauveria nativa	C4 0,67	3	3,40E-03	B
T3	Beauveria nativa	C3 0,82	3	3,40E-03	C
T8	Beauveria comercial	C3 0,83	3	3,40E-03	C
T10	Beauveria comercial	C5 0,84	3	3,40E-03	C D
T9	Beauveria comercial	C4 0,84	3	3,40E-03	C D
T1	Beauveria nativa	C1 0,85	3	3,40E-03	D E
T2	Beauveria nativa	C2 0,85	3	3,40E-03	D E
T6	Beauveria comercial	C1 0,86	3	3,40E-03	E F
T7	Beauveria comercial	C2 0,87	3	3,40E-03	F

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 27, se observa que el T5 (*Beauveria nativa* con concentración 10^8) se encuentra en el rango A con una media de 0,58 siendo el menor, mientras que el T7 (*Beauveria comercial* con concentración 10^5) se ubica en el rango F con una media de 0,87 siendo el mayor.

Gráfica 21. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos en los granos dañados.



Fuente: Valeria Sotelo.

De acuerdo a los datos obtenidos en esta variable se observa que existe una similitud con Castillo, (2014) ya que porcentaje de pérdida de peso fue menor en los granos tratados con productos naturales que el porcentaje de los granos no tratados, como es caso de la investigación ya que el T5 (Beauveria nativa con concentración 10^8) obtuvo un 29,7% mientras que el testigo (T11) obtuvo un 82,9%.

A continuación, se aplicó la prueba de Tukey al 5 %, para la comparación de rangos para cada uno de los factores e interacciones que tienen significancia estadística en porcentaje de pérdida de peso.

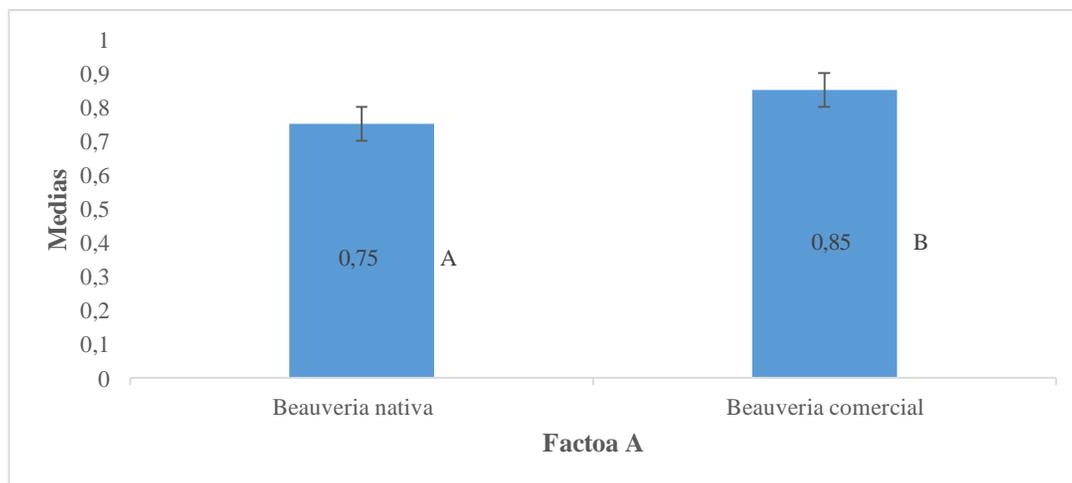
Tabla 28. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A.

FACTOR A	Medias	n	E.E.	Rangos
Beauveria nativa	0,75	15	1,50E-03	A
Beauveria comercial	0,85	15	1,50E-03	B

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 28, se observa que tenemos dos rangos, la *Beauveria nativa* se encuentra en el rango A con una media de 0,75 siendo el menor rango, mientras que la *Beauveria comercial* se ubica en el rango B con una media de 0,85 siendo el mayor rango.

Gráfica 22. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A.



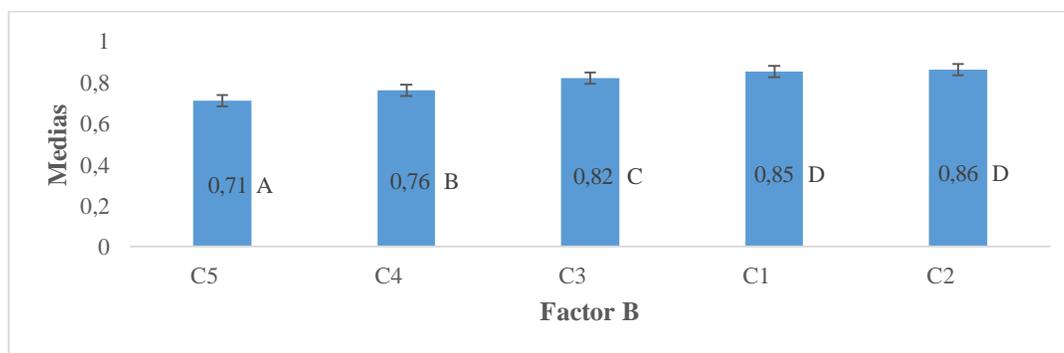
Fuente: Valeria Sotelo.

Tabla 29. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor B.

FACTOR B	Medias	n	E.E.	Rangos
C5	0,71	6	2,40E-03	A
C4	0,76	6	2,40E-03	B
C3	0,82	6	2,40E-03	C
C1	0,85	6	2,40E-03	D
C2	0,86	6	2,40E-03	D

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 29, se observa que tenemos cuatro rangos, la C5 (Concentración 10^8) se encuentra en el rango A con una media de 0,71 siendo el menor rango, seguido por el C4 (Concentración 10^7) con una media de 0,76 en el rango B, después se ubica el C3 (Concentración 10^6) con una media de 0,82 en el rango C. Por último, tenemos las C1 (Concentración 10^4) y C2 (Concentración 10^5) dentro al rango D con una media que varía entre 0,85 a 0,86 siendo el mayor rango.

Gráfica 23. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor B.

Fuente: Valeria Sotelo.

Tabla 30. Prueba de Tukey, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y Factor B.

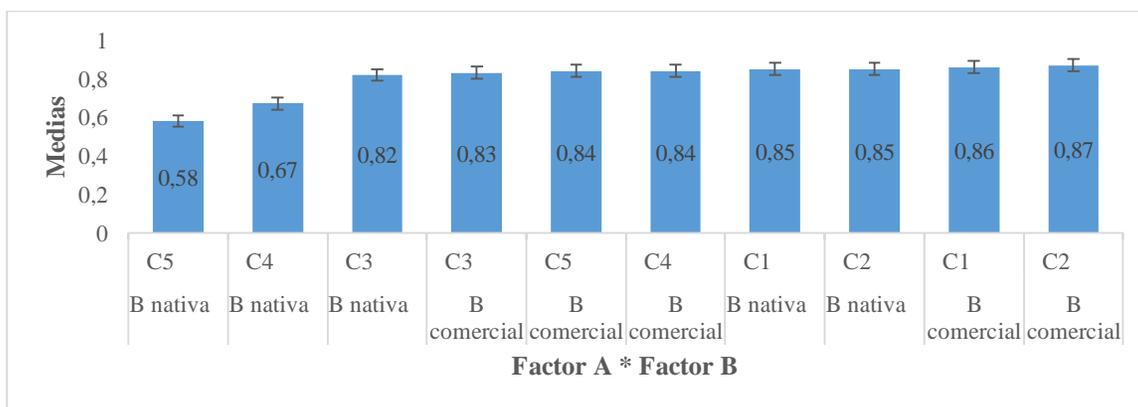
FACTOR A	FACTOR B	Medias	n	E.E.	Rangos
B nativa	C5	0,58	3	3,40E-03	A
B nativa	C4	0,67	3	3,40E-03	B
B nativa	C3	0,82	3	3,40E-03	C
B comercial	C3	0,83	3	3,40E-03	C

B comercial	C5	0,84	3	3,40E-03	C D
B comercial	C4	0,84	3	3,40E-03	C D
B nativa	C1	0,85	3	3,40E-03	D E
B nativa	C2	0,85	3	3,40E-03	D E
B comercial	C1	0,86	3	3,40E-03	E F
B comercial	C2	0,87	3	3,40E-03	F

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 30, se observa que tenemos seis rangos, la *Beauveria nativa* con C5 (Concentración 10^8) se encuentra en el rango A con una media de 0,58 siendo el menor rango, después sigue la *Beauveria nativa* con C4 (Concentración 10^7) se ubica en el rango B con una media de 0,67 mientras que la *Beauveria nativa* con C3 (Concentración 10^6) y *Beauveria comercial* con C3 (Concentración 10^6) con una media que varía 0,82 - 0,83 que en el rango C. Posteriormente el rango D con una media 0,84, mientras el rango E con una de media 0,85 y por último el rango F con una media que varía entre 0,86 a 0,87 siendo el mayor rango.

Gráfica 24. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y el Factor B.



Fuente: Valeria Sotelo.

Tabla 31. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para los tratamientos.

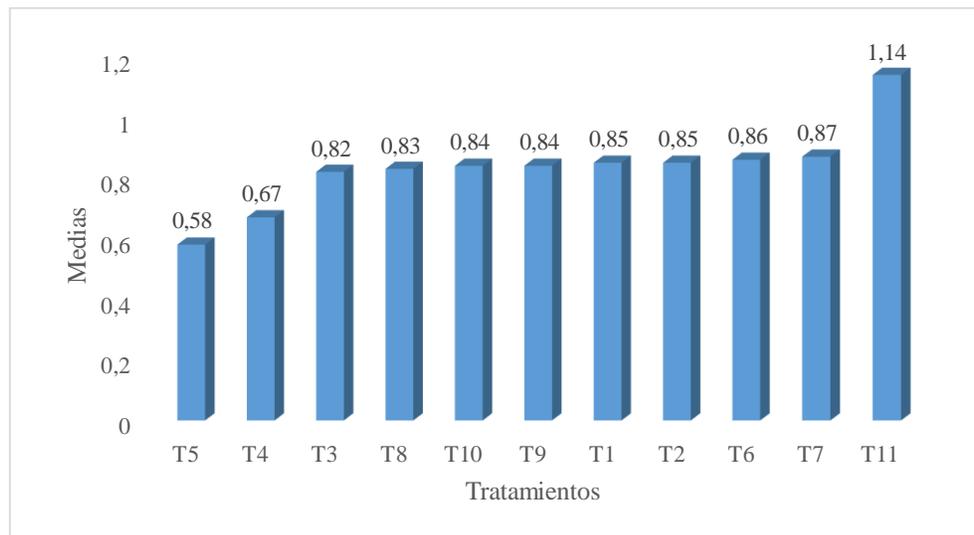
TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	Rangos
T5	0,58	3	3,60E-03	A
T4	0,67	3	3,60E-03	B
T3	0,82	3	3,60E-03	C

T8	0,83	3	3,60E-03	C
T10	0,84	3	3,60E-03	C D
T9	0,84	3	3,60E-03	C D
T1	0,85	3	3,60E-03	D E
T2	0,85	3	3,60E-03	D E
T6	0,86	3	3,60E-03	E F
T7	0,87	3	3,60E-03	F
T11	1,14	3	3,60E-03	G

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 31, se observa que tenemos siete rangos, el T5 (*Beauveria nativa* con concentración 10^8) se encuentra en el rango A con una media de 0,58 siendo el menor rango, después sigue el T4 (*Beauveria nativa* con concentración 10^7) se ubica en el rango B y por último el T11 (testigo) en el rango G con una media de 1,14 siendo el mayor rango

Gráfica 25. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para los tratamientos.



Fuente: Valeria Sotelo.

CONTRASTES ORTOGONALES.

Al tener una diferencia altamente significativa se realiza una prueba de contrastes ortogonales, donde se compara y corrobora las diferencias existentes entre tratamientos, testigos y cada una de sus factores.

Tabla 32. Contraste Testigo VS Tratamientos

TRATAMIENTOS	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Contraste1	3,44	0,04	0,32	1	0,32	6983,76	<0,0001 **
Total			0,32	1	0,32	6983,76	<0,0001

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 32, se observa que, si existe una diferencia altamente significativa entre el testigo y los tratamientos. Eso quiere decir que tanto el testigo como los tratamientos se comportaron diferente dentro de la investigación.

Tabla 33. Contraste del Factor A

FACTOR A	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Contraste1	0,09	2,20E-03	0,06	1	0,06	1844,58	<0,0001 **
Total			0,06	1	0,06	1844,58	<0,0001

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 33, se observa que, si existe una diferencia altamente significativa en el Factor A ya que al compararlas la *Beauveria Nativa* obtuvo mejores resultados que la *Beauveria Comercial*.

Tabla 34. Contraste del Factor B

FACTOR B	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Contraste1	0,27	0,01	0,02	1	0,02	611,01	<0,0001 **
Contraste2	0,3	0,01	0,04	1	0,04	1271,72	<0,0001 **
Contraste3	0,19	0,01	0,04	1	0,04	1017,68	<0,0001 **
Contraste4	0,05	3,40E-03	0,01	1	0,01	207,71	<0,0001 **
Total			0,11	4	0,03	777,03	<0,0001

Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 34, se observa que, si existe una diferencia altamente significativa en el Factor B, esto se refiere a que las concentraciones (10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 y 10^8) empleadas en la investigación se comportaron de manera diferente. Ya que la concentración más alta 10^8 fue la que más se destacó entre todas las demás.

Tabla 35. Contraste del Factor A* Factor B.

FACTOR A*FACTOR B	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Contraste1	0,59	0,03	0,01	1	0,01	336,1	<0,0001 **
Contraste2	0,7	0,03	0,02	1	0,02	586,99	<0,0001 **
Contraste3	0,33	0,03	0,01	1	0,01	167,77	<0,0001 **
Contraste4	0,44	0,02	0,01	1	0,01	392,47	<0,0001 **
Contraste5	0,41	0,02	0,02	1	0,02	481,46	<0,0001 **
Contraste6	0,47	0,02	0,03	1	0,03	942,31	<0,0001 **
Contraste7	0,48	0,01	0,06	1	0,06	1670,42	<0,0001 **
Contraste8	0,4	0,01	0,08	1	0,08	2325,79	<0,0001 **
Contraste9	0,09	4,80E-03	0,01	1	0,01	376,92	<0,0001 **
Total			0,25	9	0,03	808,91	<0,0001

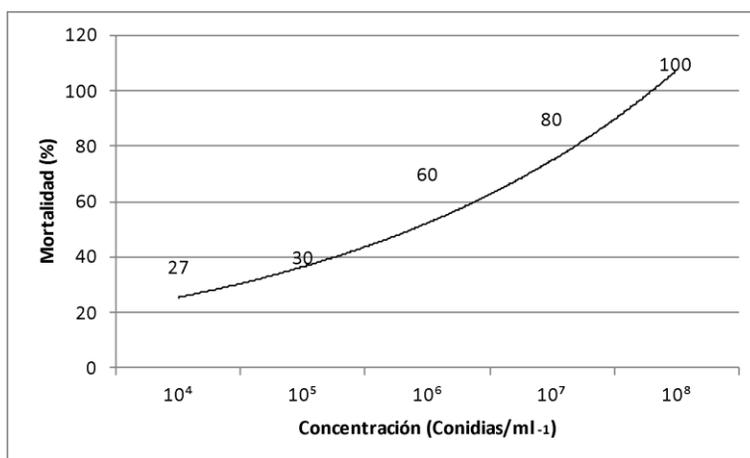
Fuente: Valeria Sotelo.

En la tabla 35, se observa que, si existe una diferencia altamente significativa en el Factor A*B. La interacción entre estos dos factores si influyo dentro de la investigación.

11.4. Análisis de la Concentración letal

Los resultados del porcentaje de mortalidad de *Sitophilus zeamais*, indicó que el T5 (*Beauveria nativa* con concentración 10^5) obtuvo el 100% de mortalidad.

Gráfica 28. Mortalidad de *Sitophilus zeamais* en las diferentes concentraciones de *Beauveria* con sus respectivos rangos de la Prueba de Tukey 5%.



Fuente: Valeria Sotelo.

En el gráfico 28, se observa la mortalidad en cada concentración, siendo la Concentración 10^8 con el porcentaje de mortalidad más alta mientras que la concentración 10^4 tiene el porcentaje de mortalidad más bajo.

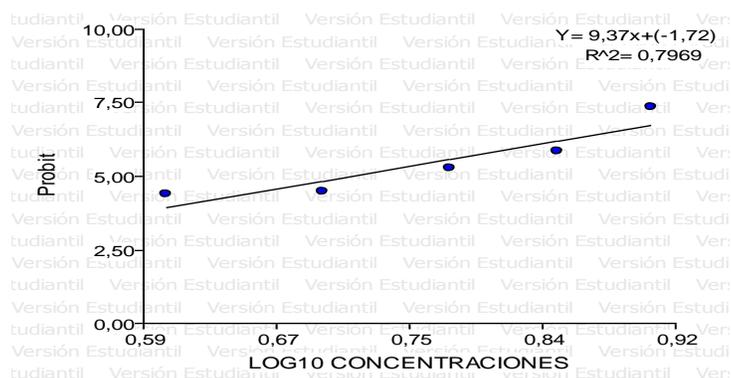
Mediante un Análisis Probit se obtuvo la correlación de las regresiones lineales obtenidas, donde se encuentran los límites de confianza para el Tratamiento T5.

Tabla 36. Concentración letal CL50 y CL90 de *Beauveria* para *Sitophilus zeamais*

Tratamiento	Límite Inferior	Límite CL ₅₀	Límite superior	Límite Inferior	Límite CL ₉₀	Límite superior
T5	$5,02 \times 10^5$	$5,47 \times 10^5$	$5,81 \times 10^5$	$7,95 \times 10^8$	$7,42 \times 10^8$	$10,02 \times 10^8$

Fuente: Valeria Sotelo.

Gráfica 29. Relación entre mortalidad de *Sitophilus zeamais* expresada en valores Probit y el Log de las concentraciones.



Fuente: Valeria Sotelo.

Los datos obtenidos de CL₅₀ concuerdan con Mancillas (2011) quien su investigación determino la CL₅₀ para *Beauveria bassiana* fue de 9.2×10^4 conidios /ml con límites de confianza de 8.2×10^4 a 8.1×10^5 , similares de la resultados obtenidos esta investigación ya la CL₅₀ fue de $5,47 \times 10^5$ conidios /ml con límites de confianza de $5,02 \times 10^5$ a $5,81 \times 10^5$

Respecto a la CL₉₀ Valbuena & Alzate (2007) indican una concentración de 9.94×10^8 conidios/ml para *Beauveria bassiana* con límites de confianza de $1,04 \times 10^7$ a $2,5 \times 10^8$ similares de los resultados obtenidos esta investigación ya la CL₉₀ fue de $7,42 \times 10^8$ conidios /ml con límites de confianza de $7,95 \times 10^8$ a $10,02 \times 10^8$

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

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

12.1. Impactos Técnicos

Con el desarrollo de este proyecto de investigación, marcada una alternativa para el control de plagas en granos almacenados. Además de que permite transmitir a los agricultores y estudiantes de la carrera de ingeniería agrónoma un conocimiento en la captura, aislamiento, multiplicación y aplicación del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*.

12.2. Impactos Sociales.

Con este proyecto de investigación tenemos un impacto social positivo y efectivo debido a que con los resultados obtenidos se podrá hacer conciencia en los agricultores dedicados a la producción de maíz para optar por alternativas de control amigables con el ambiente, así como también a los estudiantes a realizar investigación nuevas alternativas de control sin afectar ni dañar al ecosistema.

12.3. Impactos Ambientales

Esta investigación contribuye en el cuidado del medio ambiente ya al proporcionar una alternativa de control con el uso de hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, se contrarrestar los efectos devastadores de productos tóxicos.

12.4. Impactos Económicos

La investigación no genera un impacto negativo, pero da inicio a desarrollar un bioinsumo que se podrá comparar con productos comerciales y conocer la cantidad de reducción de costos. Por el momento el impacto económico que ha generado la investigación es aportar a la comunidad Universitaria cepas del hongo *Beauveria bassiana*, para aquellos estudiantes que deseen profundizar más en el tema.

13. PRESUPUESTO

Tabla 34. Presupuesto general.

Método de captura de insectos infectados: Salida de campo				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Transporte	Pasaje Aloag - Santo domingo	2	\$ 3,50	\$ 7,00
Tarrinas plásticas	De ¼	2	\$ 0,20	\$ 0,40
Papel absorbente	Rollo	1	\$ 1,40	\$ 1,40
SUBTOTAL				\$ 8,80
Método de aislamiento del hongo				
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
SUBTOTAL				\$ 152,86
Método de identificación morfológica del hongo				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Caja de porta objetos	De 100 unidades	1	\$ 2,70	\$ 2,70
Caja de cubre objetos	De 100 unidades	1	\$ 1,30	\$ 1,30
Agar Alóag	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				\$ 159,50
Método de multiplicación del hongo				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Antibiótico	Gentamax 280	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 las suspensiones a diferentes concentraciones y conteo de conidios.				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Probeta	De vidrio de 100 ml	1	\$ 10,00	\$ 10,00
Tubos de ensayo	De vidrio	15	\$ 0,75	\$ 11,25
Gradilla	Para tubos de ensayo	1	\$ 5,00	\$ 5,00
SUBTOTAL				\$ 26,25
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	\$ 1,25	\$ 1,25
SUBTOTAL				\$ 10,25
Implementación del bioensayo				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Granos de maíz	Libra	5	\$ 1,00	\$ 5,00
Tarrinas transparentes	Paquetes de 50 tarrinas de 1/4	1	\$ 1,30	\$ 1,30
Tul	Metros	3	\$ 2,25	\$ 6,75
Ligias	Paquetes de 50 unidades	1	\$ 1,25	\$ 1,25
Rociadores	De 75 ml	2	\$ 0,75	\$ 1,50
Beauveria Comercial	Presentación 300g	1	\$ 40,00	\$ 40,00
SUBTOTAL				\$ 55,80
Total				\$ 426,46

CAPITULO V

14. CONCLUSIONES

- Se obtuvo una cepa del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* a partir de insectos infestados provenientes del sector del Congoma bajo de la Provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas.
- Se determinó la concentración letal del hongo *Beauveria bassiana* para el control de *Sitophilus zeamais*, siendo la concentración letal $7,42 \times 10^8$ conidios /ml con un porcentaje de mortalidad de 100%.
- El menor porcentaje de granos dañados y pérdida de peso se obtuvo en el T5 que corresponde a *Beauveria bassiana* con una concentración 10^8 , con un porcentaje de granos dañados de 25% y una pérdida de peso de 29%. El mayor porcentaje tanto para granos dañados y pérdida de peso se observó en el T11 (testigo) con un 80% de granos dañados y el 82% de pérdida de peso.

15. RECOMENDACIONES

- Recolectar hongos entomopatógenos provenientes de la región sierra para realizar estudios para determinar su concentración letal.
- Realizar un ensayo bajo condiciones controladas con la concentración 10^8 de *Beauveria bassiana* para determinar una adecuada dosificación para el control *Sitophilus zeamais*.
- Realizar ensayos con la aplicación de la concentración 10^8 de *Beauveria bassiana* en diferentes granos almacenados como arroz, frejol para determinar el porcentaje de mortalidad de las plagas más comunes en el almacenamiento de granos.

16. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, R. (2009). EL CULTIVO DEL MAÍZ, SU ORIGEN Y CLASIFICACIÓN. EL MAIZ EN CUBA. *Cultivos Tropicales*, 30, 113–120.
- Agustín, C. (2009). *EVALUACIÓN DE LA CASETA SECADORA PARA EL MANEJO POST COSECHA DE MAÍZ Zea mays EN LA COMUNIDAD CEDRITOS MILLA SIETE, MORALES, IZABAL* [UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA]. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_2551.pdf
- Alvarado, W. (2017). *Evaluación de especies vegetales para el control de gorgojo (Sitophilus zeamais) en maíz almacenado, coatepeque, quetzai tenango*. UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR FACULTAD.
- Castillo, C., Cañizales, M., Valera, R., Godoy, C., Guedez, C., Olivar, R., & Morillo, S. (2012). Morphological Characterisation of Beauveria Bassiana, Isolates From Different Insects in Trujillo State , Venezuela. *Revista ACADEMIA Trujillo Venezuela*, 11(23), 273–281.
- Castillo, G. (2004). *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones* (G. Castillo (ed.); Coordinaci).
- [https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/25000/mod_resource/content/1/toxicidad bioensayos idrc.pdf](https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/25000/mod_resource/content/1/toxicidad_bioensayos_idrc.pdf)
- Castillo, H. (2014). *Evaluación de cal viva y Beauveria bassiana para el manejo del gorgojo del maíz (Sitophilus zeamais Motschulsky) en condiciones de laboratorio*. BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA.
- Castro, R., & Mejía, K. (2011). *PREFERENCIA ALIMENTARIA DE Pagiocerus frontalis EN VARIEDADES DE MAÍZ EN EL DISTRITO DE COYA – PROVINCIA DE CALCA* [UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO]. http://www.avocadosource.com/international/peru_papers/CastroRosa2011.pdf

- CFN. (Mayo de 2021). *Corporación Financiera Nacional*. Obtenido de Corporación Financiera Nacional: <https://www.cfn.fin.ec/wp-content/uploads/downloads/biblioteca/2021/fichas-sectoriales-2-trimestre/Ficha-Sectorial-Maiz.pdf>
- Chanataxi, M. (2016). *RESPUESTA DEL CULTIVO DE MAÍZ DULCE VAR. BANDIT A LA APLICACIÓN DE NIVELES DE CALCIO, BORO Y AZUFRE BAJO INVERNADERO* [UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/7945/1/T-UCE-0004-10.pdf>
- Chiribiga, H., Gómez, G., & Garcés, K. (2015). *PROTOCOLOS PARA FORMULACIÓN Y APLICACIÓN DEL BIO-INSUMO: Beauveria bassiana, HONGO ENTOMOPATÓGENO PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE HORMIGAS CORTADORAS* (YSAÚ. IICA. <https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2646/BVE17038724e.pdf;jsessionid=9B736C0C2C15407308F3C699C342A045?sequence=1>
- Deras, H. (2012). *Guía técnica del cultivo de maíz*. IICA. <http://repiica.iica.int/docs/b3469e/b3469e.pdf>
- Espinoza González, L. A. (2021). *Formulación bioinsecticida a partir de Santa María (Tanacetum parthenium L.) para controlar el ataque del gorgojo de maíz (Sitophilus zeamais Motschulsky) a granos almacenados* [UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE CUENCA]. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/20307>
- García-Lara, S., Espinosa, C., & Bergvinson, D. J. (2007). *Manual de plagas en granos almacenados y tecnologías alternas para su manejo y control*. CIMMYT. http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Zoologia_Agricola/Manejo_Integrado/Material_Interes/Manualplagas_granos_almacenados.pdf
- García, S., & Bergvinson, D. (2007). PROGRAMA INTEGRAL PARA REDUCIR PÉRDIDAS POSCOSECHA EN MAÍZ. *Agricultura Técnica En México*, 33, 181–189. <https://www.redalyc.org/pdf/608/60833208.pdf>
- Guacho, E. (2014). “*CARACTERIZACIÓN AGRO-MORFOLOGICA DEL MAÍZ (Zea mays L.) DE LA LOCALIDAD SAN JOSÉ DE CHAZO.*” ESCUELA SUPERIOR

POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

- Helder, V. (2014). *Evaluación de cal viva y Beauveria bassiana para el manejo del gorgojo del maíz (Sitophilus zeamais Motschulsky) en condiciones de laboratorio*. [BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA]. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/bitstream/handle/20.500.12371/5346/174214TL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Hernández, C., Rodríguez, Y., Niño, Z., & Pérez, S. (2009). Efecto del Almacenamiento de Granos de Maíz (*Zea mays*) sobre la Calidad del Aceite Extraído. *Información Tecnológica*, 20, 21–30. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v20n4/art04.pdf>
- Hidalgo, M. G. (2018). *Evaluación morfológica y fisiológica de arquetipos de maíz* [INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS]. <https://www.biopasos.com/biblioteca/Evaluacion-morfologica-fisiologica-maiz-tesis.pdf>
- Intagri. (2014). *Beauveria bassiana en el Control Biológico de Patógenos*. Intagri. https://www.intagri.com/public_files/Beauveria.pdf
- Kassa, A., Zimmermann, G., Stephan, D., & Vidal, S. (2011). Susceptibility of *Sitophilus zeamais* (Mostch.) (Coleoptera: Curculionidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *SINET: Ethiopian Journal of Science*, 32(1), 21–28. <https://doi.org/10.4314/sinet.v32i1.68734>
- Leiva, M. (2015). “Evaluación de tres periodos de secado en campo, en cuatro materiales del maíz (*Zea mays* L.) en Granja Zahorí, Cuyotenango, Suchitepéquez. [UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA]. <http://www.repositorio.usac.edu.gt/4590/1/Maiz.pdf>
- Mancillas, J. (2011). *CARACTERIZACIÓN DE SECRESIONES DE Beauveria bassiana y Methahizium anisopliae CON ACTIVIDAD PATOGÉNICA CONTRA EL GODGOJO DEL FRIJOL Acanthoscelides obtectus*. INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL.
- Micolucci, V. (20 de June de 2020). *FAO*. Obtenido de *FAO*: <https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/EI%20estado%20mundial%20de>

%20la%20agricultura%20y%20la%20alimentaci%C3%B3n%202021%20-
 %20Lograr%20que%20los%20sistemas%20agroalimentarios%20sean%20m%C3%A1
 s%20resilientes%20a%20las%20perturbaciones%2

Morocho, J. (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 PROVINCIA DE LOJA* [UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA].
[https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/12990/1/JESENIA ALEXANDRA MOROCHO HERRERA.pdf](https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/12990/1/JESENIA_ALEXANDRA_MOROCHO_HERRERA.pdf)

Noboa, G., & Alex, Q. (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*. [UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE QUITO CARRERA:].
<https://doi.org/10.20868/UPM.thesis.39079>

Obando, E. (2019). *CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE MAÍZ BLANCO HARINOSO (Zea mays L.) MATERIAL NATIVO “Chazo” DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO* [UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO].
[https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29726/1/Tesis-234 Ingeniería Agronómica -CD 636.pdf](https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29726/1/Tesis-234_Ingeniería_Agronómica-CD_636.pdf)

Ortigoza, J., López, C., & González, J. (2019). *GUÍA TÉCNICA DEL CULTIVO DEL MAÍZ* (J. Ortigoza (ed.)).
https://www.jica.go.jp/paraguay/espanol/office/others/c8h0vm0000ad5gke-att/gt_04.pdf

Padilla, O. (2015). *Metodologías de tratamiento del gorgojo Sitophilus zeamais en maíz almacenado, como un aporte al manejo agroecológico de plagas*.
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9026/1/UPS-QT068110.pdf>

Peñaherrera, D. (2011). *MANEJO INTEGRADO DEL CULTIVO DEL MAIZ DE ALTURA*.
<https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/3302/1/iniapscpm190.pdf>

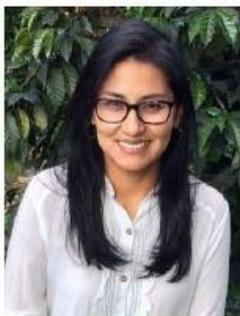
- Saquimux, F. (2010). *Selección masal en el cultivo de maíz (Zea mays L.) para pequeños agricultores*. ICTA. [https://www.icta.gob.gt/publicaciones/Maiz/seleccion del maiz.pdf](https://www.icta.gob.gt/publicaciones/Maiz/seleccion%20del%20maiz.pdf)
- Sisniegas, A. (2012). “ANÁLISIS PROBIT EN LA DETERMINACIÓN DE LA DOSIS Y EL TIEMPO LETAL MEDIO EN NEMATODOS” [UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO].
[https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10074/CORDOVA SANCHEZ%2C Kathy Yhaell.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10074/CORDOVA%20SANCHEZ%20Kathy%20Yhaell.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Tapia, M., Arla, S., & Tapia, E. (2017). Implementación de una máquina agrícola de bajo costo para el proceso de desgranado de maíz seco suave originario de la sierra ecuatoriana. *Enfoque UTE*, 8(1390- 6542), 1–14.
<http://scielo.senescyt.gob.ec/pdf/enfoqueute/v8n2/1390-6542-enfoqueute-8-02-00001.pdf>
- Utus, E. (2017). “*Empleo de Beauveria bassiana y Metarhizium anisopliae en el control de Premnotrypes spp. en siembras de papa variedad Huayro (Solanum x chaucha) en San Juan de Ampurhuay-Acoria-Huancavelica* [UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAVELICA].
[https://repositorio.unh.edu.pe/bitstream/handle/UNH/1646/UTUS HUAMANI.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unh.edu.pe/bitstream/handle/UNH/1646/UTUS%20HUAMANI.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Valbuena, D., & Alzate, C. (2007). *VALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS Beauveria bassiana (Bassi) Y Metarhizium anisopliae (Metchnikoff) EN EL CONTROL DE LA GARRAPATA DEL GANADO Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Canestrini) (Acari: Ixodidae) EN SU FASE PARASÍTICA* [PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA].
[https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8952/Trabajo de grado.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8952/Trabajo%20de%20grado.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Valdivia, R. (2011). *Secamiento de granos o semilla de maíz*. Catholic Relief Services.
[http://a4n.alianzacacao.org/uploaded/mod_documentos/SECAMIENTO DE GRANOS O SEMILLAS DE MAIZ.pdf](http://a4n.alianzacacao.org/uploaded/mod_documentos/SECAMIENTO%20DE%20GRANOS%20O%20SEMILLAS%20DE%20MAIZ.pdf)
- Valladares, C. (2010). *Taxonomía y Botánica de los Cultivos de Grano*.

<https://curlacavunah.files.wordpress.com/2010/04/unidad-ii-taxonomia-botanica-y-fisiologia-de-los-cultivos-de-grano-agosto-2010.pdf>

Vázquez, R. (2014). *Evaluación de Tres Insecticidas para el Control del Gorgojo del Maíz Sitophilus Zeamais MOTSCHULSKY, Bajo Condiciones de Laboratorio* [UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO].
http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3906/63137_VAZQUEZ_ZAMORANO%2C_RUSVER_LUIS_TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y

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

Lenin 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



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 al idioma Inglés del proyecto de investigación cuyo título versa: **“EVALUACIÓN DE *Beauveria bassiana* EN DIFERENTES CONCENTRACIONES PARA EL CONTROL DEL GORGOJO DEL MAÍZ (*Sitophilus zeamais*) ALMACENADOS EN GRANOS DE MAÍZ (*Zea mays L.*), BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, SALACHE -LATACUNGA - COTOPAXI – 2021.”** presentado por: **Sotelo Erazo Valeria Michelle**, estudiante de la carrera de **Ingeniería Agronómica**, perteneciente a la **Facultad de 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 a la peticionaria hacer uso del presente aval para los fines académicos legales.

Latacunga, 14 de abril del 2022

Atentamente,



WILMER PATRICIO
COLLAGUAZO VEGA



Mg. C. Wilmer Patricio Collaguazo Vega
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS-UTC
CC. 1722417571

Anexo 3. Ficha técnica del producto BAUVEB



Equabiológica, Agroindustria de Biotecnología y Control Biológico del Ecuador C. A.

Av. Manuel Córdova Galarza 155 y 21 de marzo,
Mitad del Mundo, Quito - Ecuador.

RUC: 1791994973001
Teléfono: (02)-2394905
Celular: 0991660279
E-mail: equabiologica@gmail.com

Saludos Cordiales.

Equabiológica es una empresa ecuatoriana de vanguardia en la producción de agentes de control biológico alternativos para la prevención de enfermedades y plagas. Aportamos efectivamente a la sostenibilidad, tecnología e investigación, asegurando un bajo impacto ambiental.

Mantenemos altos estándares de calidad garantizando productos de alta eficiencia en el campo; garantizamos la concentración de UFC's, así como también la constante selección y reactivación de cepas nativas permitiéndonos conservar su virulencia.

Estos productos son utilizados como preventivos de enfermedades foliares y radicales, bio-fertilizante orgánico y bio-aumentación. Así como también para el control de plagas: nematodos e insectos.

Los productos fabricados por EQUABIOLÓGICA son nativos del Ecuador lo que permite una gran adaptación al medio ambiente del país logrando un mayor control de las plagas y enfermedades. Las cepas no son organismos genéticamente modificados. Son resultado de un constante trabajo de investigación, reactivación y recolección de cepas nativas de los diferentes microorganismos alrededor de todo el territorio ecuatoriano así como el desarrollo de procedimientos adecuados en laboratorio que permiten obtener conidios que conserven su virulencia y especificidad en campo.

Nuestros productos son:



TRICHOEB es un fungicida biológico que contiene conidios del hongo *Trichoderma spp.*, siendo bio-regulador, bioestimulante y antagonista de fitopatógenos.

Su acción está determinada por la competencia por nutrientes y espacio, parasitismo y antibiosis, protegiendo el área radicular, también ayuda en la absorción de micro nutrientes estimulando el crecimiento de la planta y además ayuda a activar los mecanismos naturales de defensa de la planta.



NEMATEB es un producto biológico que contiene conidios del hongo *Paecilomyces lilacinus*, siendo bio-regulador y controlador de nemátodos patógenos. Mantiene las poblaciones de los nemátodos por debajo de los umbrales económicos

METAZEB: Insecticida Biológico a base de conidios del hongo *Metarhizium anisopliae* controla homópteros (salivazos, saltahojas), coleópteros (Cutzo, picudos) y lepidópteros. **Producción Bajo pedido.**

BAUVEB: Insecticida Biológico a base conidios del hongo *Beauveria bassiana* controla varios géneros de homópteros, lepidópteros, coleópteros, hemípteros. (Mosca blanca, gusano blanco de la papa, trips, hormigas). **Producción Bajo pedido.**

ARTHROEB: Nematicida Biológico a base conidios del hongo depredador *Arthrobotrys oligospora* controlador biológico de larvas y nematodos adultos.

LECANICEB: Insecticida Biológico a base conidios del hongo *Lecanicillium lecanii* controla varios géneros de homópteros, lepidópteros, ácaros y trips. (Mosca blanca, trips, ácaros y garrapatas). **Producción Bajo pedido.**

GLIOCEB: es un fungicida biológico que contiene conidios del hongo *Gliocadium sp.*, siendo bio-regulador, bioestimulante y antagonista de fitopatógenos. **Producción Bajo pedido.**

MYCEB: Insecticida Biológico a base conidios del hongo *Paecilomyces fumosoroseus* controla varios géneros de homópteros, lepidópteros, ácaros y trips. **Producción Bajo pedido.**

Soluciones EFECTIVAS, Soluciones NATURALES



Equabiológica, Agroindustria de Biotecnología y Control Biológico del Ecuador C. A.

Equabiológica

ENTOMEB: Insecticida Biológico a base conidios de los hongos, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* controla varios géneros de homópteros, lepidópteros, ácaros y trips. **Producción Bajo pedido.**

Los productos de producción bajo pedido necesitan un tiempo de fabricación mínima de 2-4 semanas, ya que son de origen microbiano.

Equabiológica C.A cuenta con los registros legales de operación emitidos por el Ministerio de Agricultura y Ganadería de Ecuador tanto para el laboratorio como para los productos TRICHOEB y NEMATEB y la **certificación de insumo orgánico otorgado por la BCS Oko Garantie.**

La lista de nuestros productos es la siguiente:



PRODUCTO	PRESENTACION	DOSIS RECOMENDADA	PRECIO
TRICHOEB	250 g	250 g / ha	\$ 35,00
TRICHOEB	50 g	250 g / ha	\$ 8,00
NEMATEB	200 g	200 g / ha	\$ 45,00
ARTHROEB	200 g	200 g / ha	\$ 65,00
ENTOMEB	250 g	250 g / ha	\$ 55,00
ENTOMEB	65 g	250 g / ha	\$ 14,80
BEAUVEB	300 g	300 g / ha	\$ 40,00
METAZEB	300 g	300 g / ha	\$ 40,00
LECANICEB	300 g	300 g / ha	\$ 40,00
GLIOCEB	200 g	200 g / ha	\$ 35,00
MYCEB	300 g	300 g / ha	\$ 40,00

Cada Producto tiene una recomendación diseñada para cada cultivo o plaga que se trate, así también la dosis recomendada puede ser fraccionada en dos o tres aplicaciones, se recomienda consultar con el personal Técnico de Equabiológica.

SE OTORGARA UNA POLITICA DE CREDITO DE 30-45 DIAS en compras mayores a los 2 kilos LA CUAL PODRA SER RECONSIDERADA DEPENDIENDO DEL VOLUMEN DE PEDIDO.

Equabiológica cuenta con el servicio de laboratorio en análisis micológicos, análisis de calidad de microorganismos y pruebas de compatibilidad con agroquímicos y fertilizantes. Nuestros clientes son acreedores a 2 análisis micológicos de suelo por cada 30 unidades adquiridas de nuestros productos. De ser requerido un mayor número de análisis la finca incurrirá en el costo de los mismos.

COSTO ANÁLISIS MICOLÓGICO \$15,00 (más IVA)

Esperamos pronto poder establecer relaciones comerciales con su empresa. Equabiológica siempre se encuentra en constante investigación y desarrollo y estamos abiertos a llevar y diseñar en todo momento investigaciones y ensayos de campo.

Atentamente,

Ing. Gabriel Montero
GERENTE GENERAL
EQUABIOLOGICA
0991660279

Anexo 4. Resultado del análisis de identificación taxonómica



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 1.

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

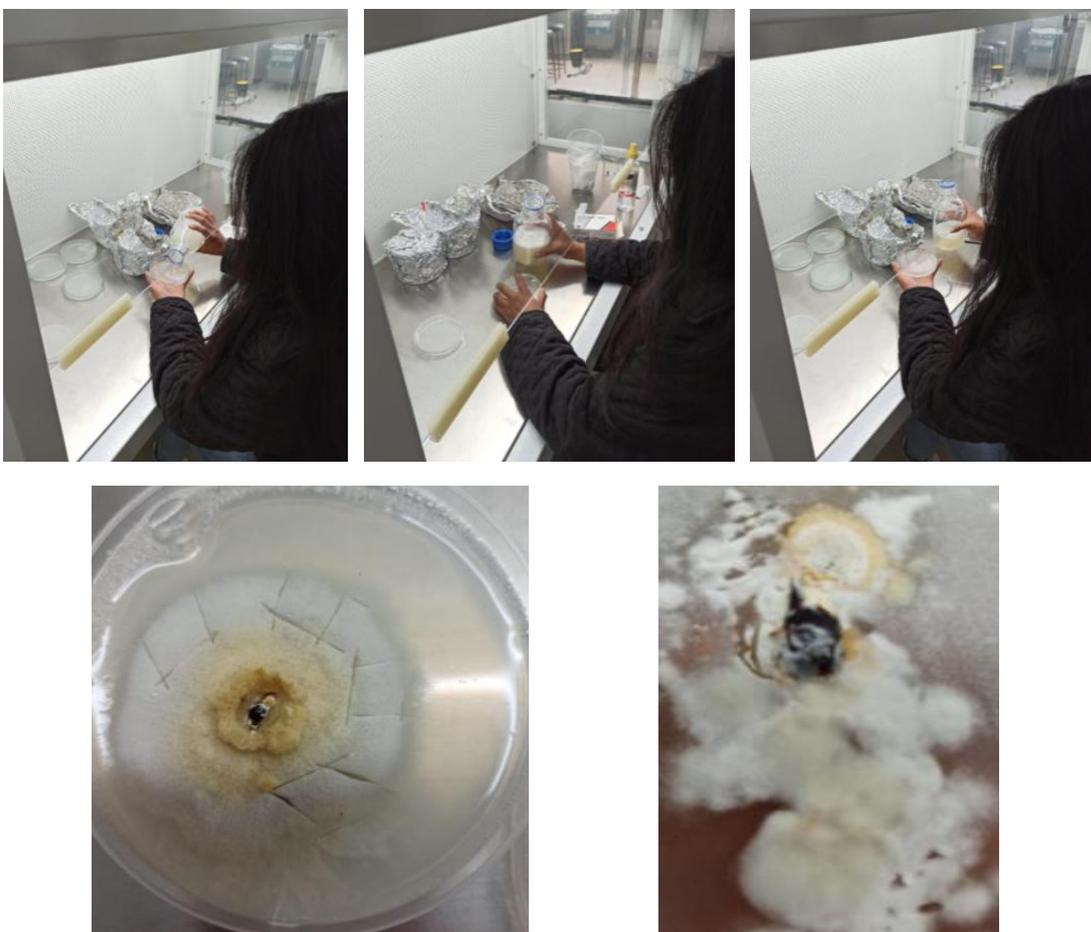
Metabolitos	Beauvericina	Bassianolíidos	Emiantinas A y B	Beauverolíidos	Bassianinas	Tenelinas	oosporinas	Ácidos oxálicos	Oxalatos de calcio
Cepa 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+

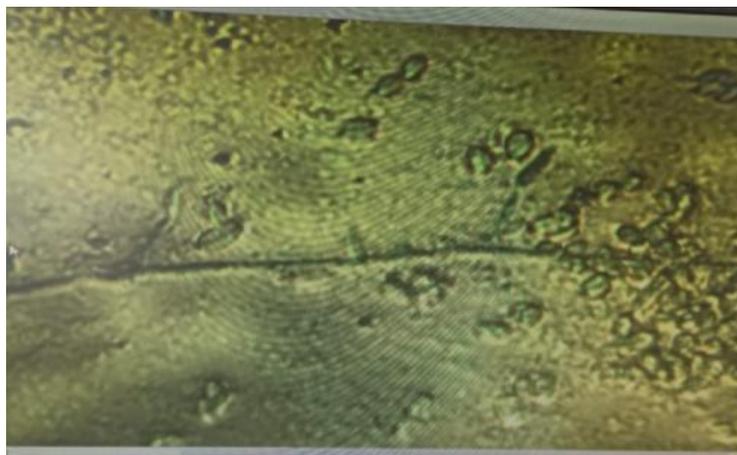
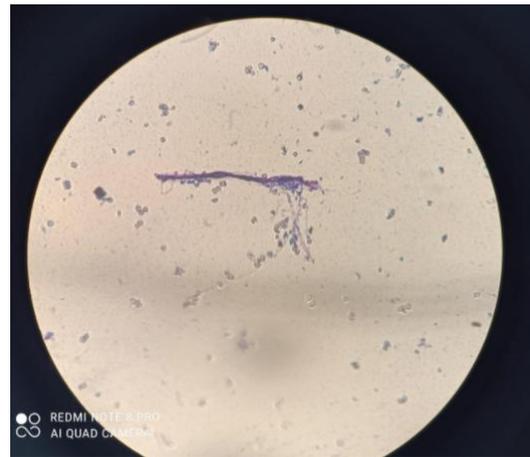
Metabolitos	Ácido Fusárico	Ácido Dipicolínico	Psicolomicinas	Efrapeptinas	Beauverolíidos	Destruixinas	Emiantinas	Ciclosporinas	Pyridovaticina
Cepa 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+

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 capturados en la salida de campo**Anexo 6.** Aislamiento del hongo *Beauveria bassiana* en el laboratorio

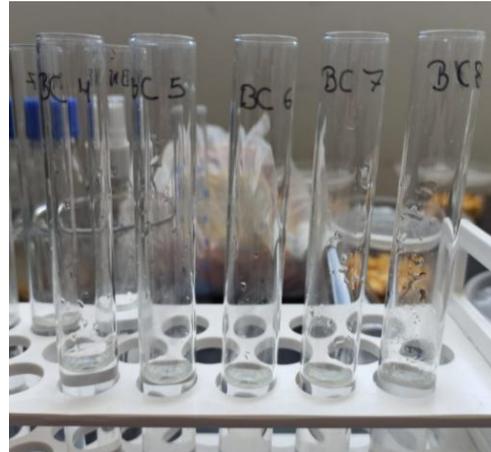
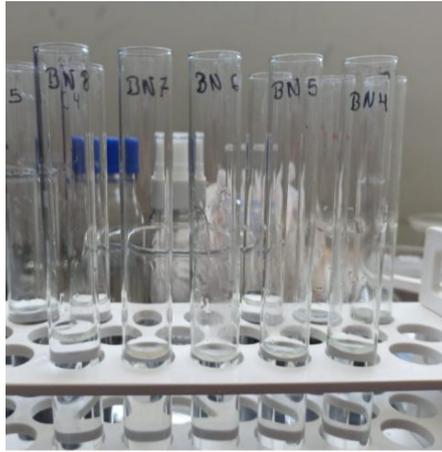
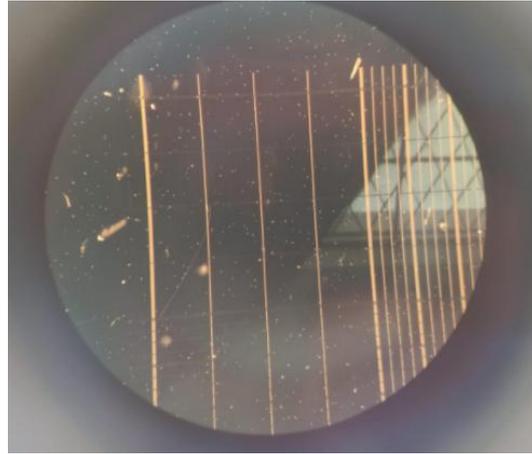
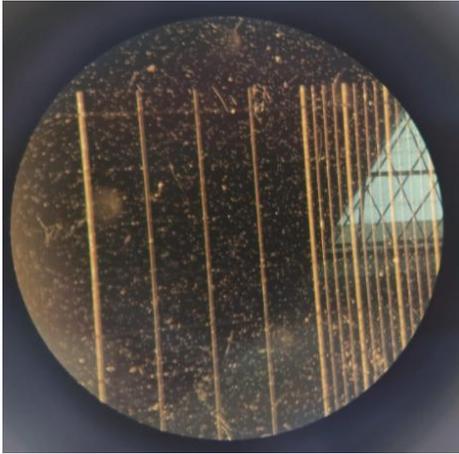
Anexo 7. Identificación del hongo *Beauveria bassiana* por medio del microscopio

Anexo 8. Elaboración de cultivos monospóricos**Anexo 9.** Multiplicación del hongo *Beauveria bassiana*



Anexo 10. Elaboración de las diferentes concentraciones a base de *Beauveria bassiana*





Anexo 11. Recolección y crianza del gorgojo (*Sitophilus zeamais*)



Anexo 12. Unidad experimental**Anexo 13.** Aplicación de las suspensiones con diferentes concentraciones de *Beauveria bassiana* en las unidades experimentales.

Anexo 14. Insectos muertos por la infestación de *Beauveria bassiana*



**Anexo 15. PROTOCOLO DE LABORATORIO PARA EL MANEJO DEL HONGO
ENTOMOPATÓGENO**



UNIVERSIDAD TÉCNICA 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)

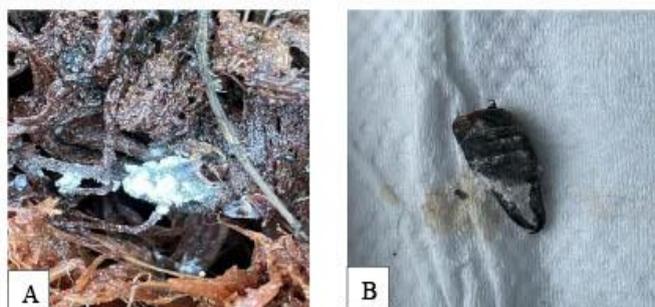


Figura 1. A) Insecto colectado en campo; B) Insecto en cámara húmeda

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 periodo 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 periodo 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.

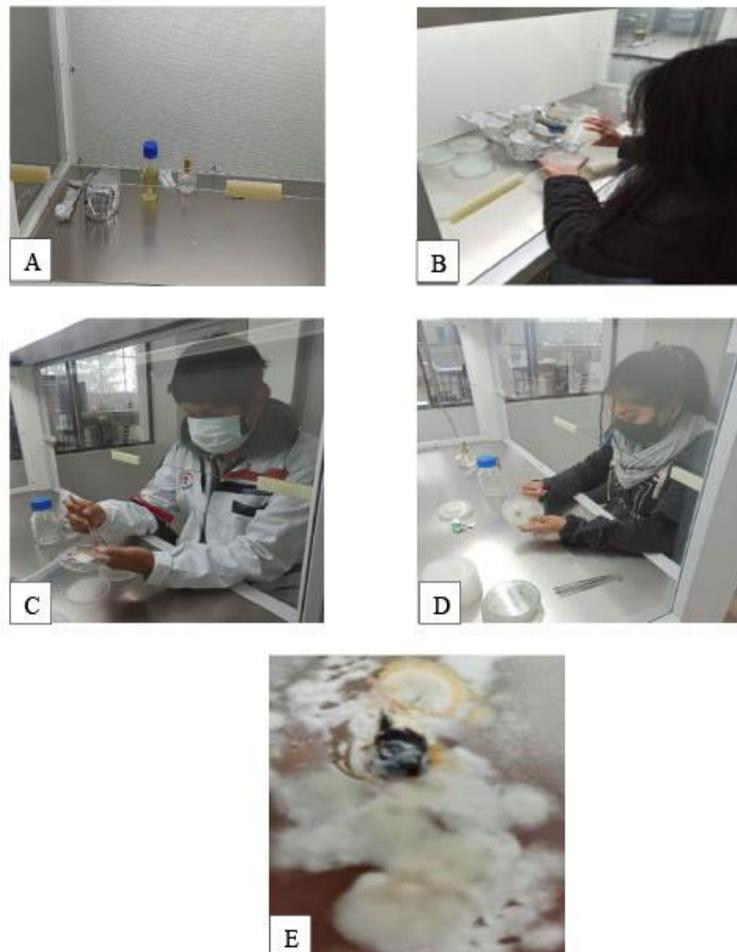


Figura 2. A) Materiales esterilizados; B) Medio de cultivo en cajas Petri; C) Muestra del insecto colocada en la caja Petri; D) Sellado de las cajas y E) Crecimiento micelial del hongo.

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)

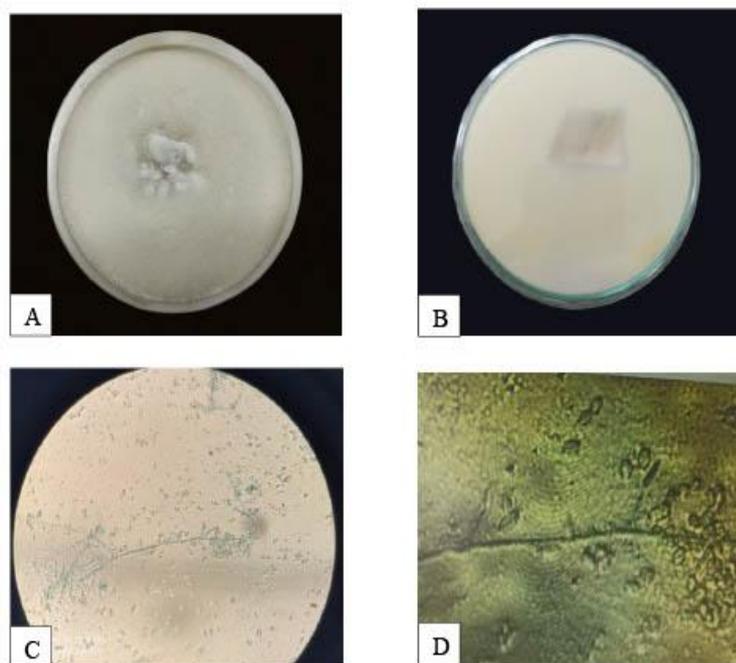


Figura 3. A) Vista frontal de la caja; B) Vista posterior de la caja; C) Vista microscopio 10X y D) Vista microscopio 40X.

1.4. Protocolo de Multiplicación

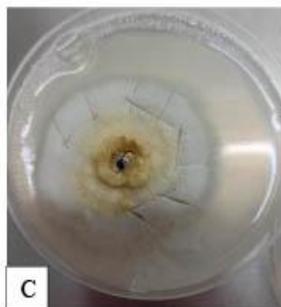
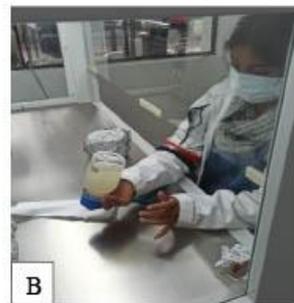
Se empleó la metodología utilizada por (Choquetarqui et al., 2011) mencionando que, de los aislados de *Beauveria*, se realizarán varios cortes de 5 mm con un bisturí y posteriormente será colocado en un medio de cultivo fresco y suplementado con un antibiótico (a base de gentamicina ¿cantidad?) y sellado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



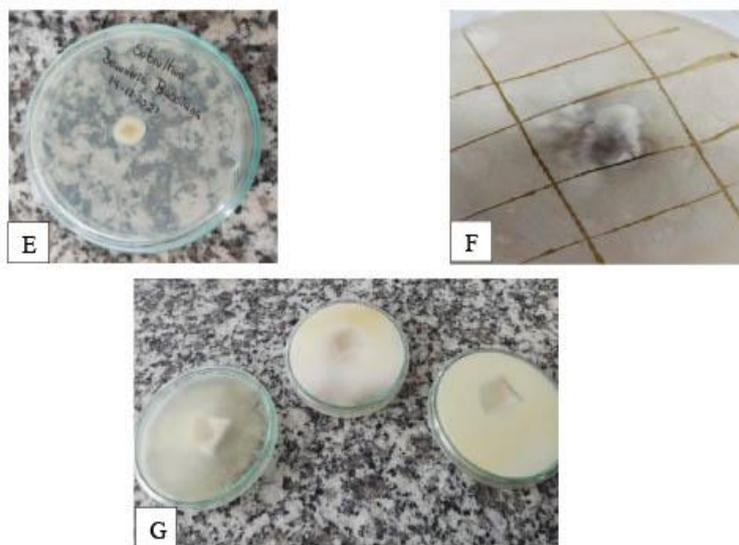


Figura 4. A) Medio de cultivo suplementado con antibiótico; B) Mezcla del medio de cultivo con el antibiótico; C) Cortes de la parte micelial del hongo entomopatógeno; D) Cortes colocados en PDA suplementado; E) Rotulado de las cajas Petri; F) Cortes de 5mm del subcultivo limpio y G) Cajas Petri cubiertas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

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

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 período 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.

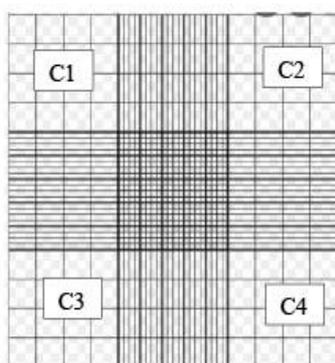


Figura 5. Cámara de Neubauer.

- 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).

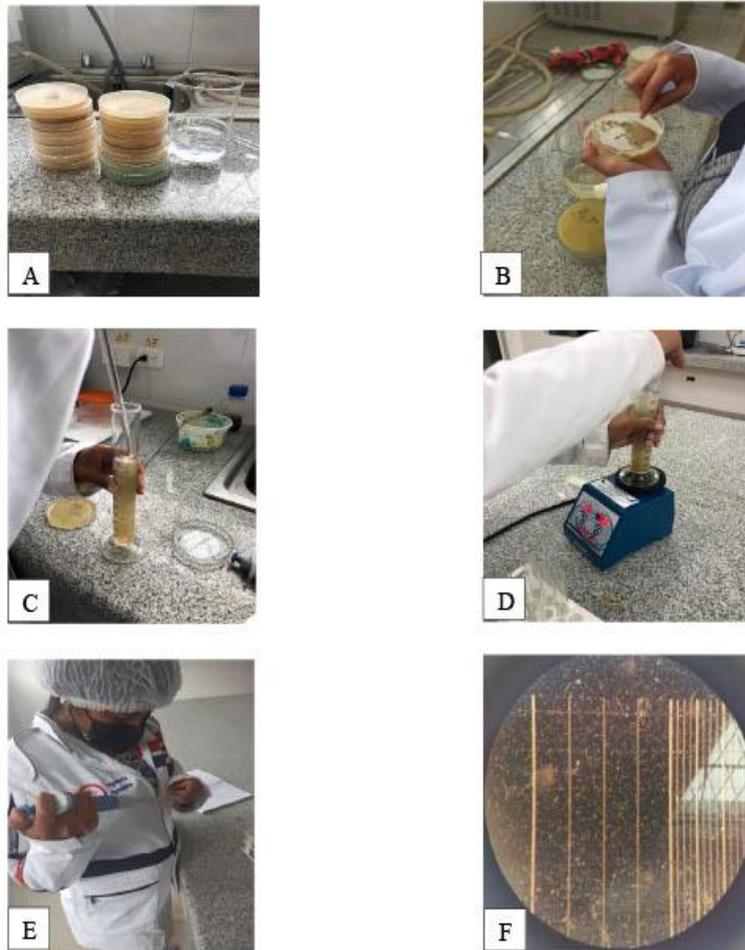


Figura 6. Selección de cajas Petri; B) Raspado del hongo entomopatígeno; C) Suspensión madre; D) Mezcla de la Suspensión Madre; E) Cámara de Neubauer y F) Vista 40X de la cámara de Neubauer.

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.

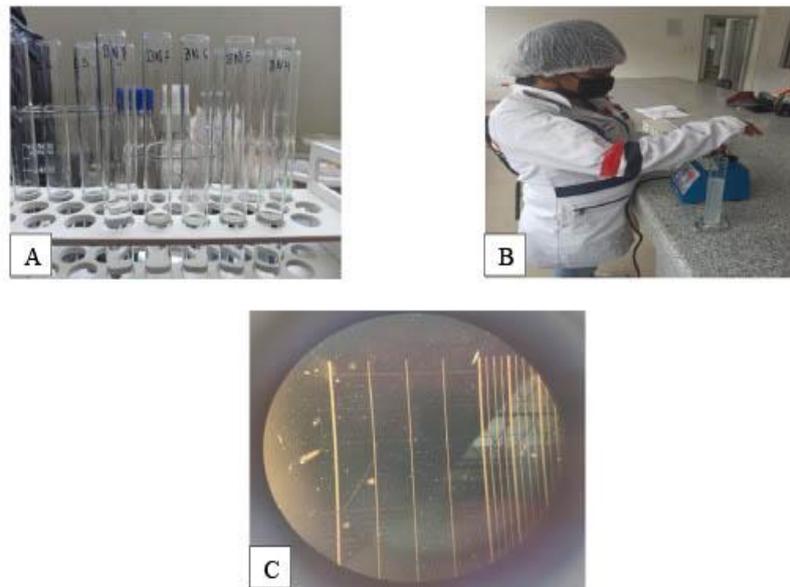


Figura 7. A) Identificación de los tubos de ensayo; B) Diluciones agitadas y C) Conteo de esporas para las diferentes diluciones.

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.

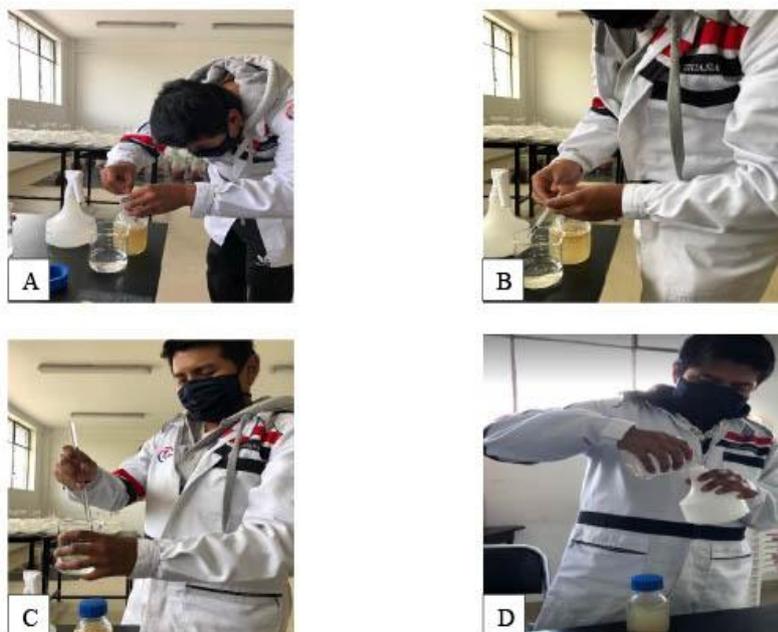


Figura 8. A) Toma de la dosificación; B) Dosis colocada en el vaso de precipitación; C) Mezcla del agua destilada y la dosis y D) Solución colocada en el rociador.

5. BIOBLOGRAFÍA

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 Reseach Society*, 1(1), 17–25.