



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

Título:

“EVALUACIÓN DE DOS TIPOS DE *Beauveria bassiana* PARA EL CONTROL DE LA MOSCA DE LOS ESTIGMAS (*Euxesta stigmatias*) DEL CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays*), BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, SALACHE – LATACUNGA - COTOPAXI – 2022”

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

Autora:
Caiza Chiguano Carina Fernanda

Tutora:
Toapanta Gallegos Diana Elizabeth, Ing. Mg.

Co - tutora:
Llanos Proaño Tannya Elizabeth, Ing. Mg.

LATACUNGA – ECUADOR

Agosto 2022

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Carina Fernanda Caiza Chiguano, con cédula de ciudadanía No. 1726828799, declaro ser autora del presente proyecto de investigación: “Evaluación de dos tipos de *Beauveria bassiana* para el control de la mosca de los estigmas (*Euxesta stigmatias*) del cultivo de maíz (*Zea mays*), bajo condiciones controladas, Salache – Latacunga - Cotopaxi – 2022”, siendo la Ingeniera Mg. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos, Tutor 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, 25 de agosto del 2022

Carina Fernanda Caiza Chiguano
Estudiante
CC: 1726828799

Ing. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos, Mg.
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 **CAIZA CHIGUANO CARINA FERNANDA**, identificada con cédula de ciudadanía **1726828799** 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. - LA CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Agronomía titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Evaluación de *Beauveria bassiana* para el control de la mosca de los estigmas (*Euxesta stigmatias*) del cultivo de maíz (*Zea mays*), bajo condiciones controladas, Salache – Latacunga - Cotopaxi – 2022”, 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: octubre 2018 – marzo 2019

Finalización de la carrera: abril 2022 – agosto 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 3 de junio del 2022

Tutora: Ingeniera Mg. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos

Tema: “Evaluación de dos tipos de *Beauveria bassiana* para el control de la mosca de los estigmas (*Euxesta stigmatias*) del cultivo de maíz (*Zea mays*), bajo condiciones controladas, Salache – Latacunga - Cotopaxi – 2022”

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:

- a) 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.
- b) La publicación del trabajo de grado.

- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- e) 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 **LA 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 25 días del mes de agosto del 2022.

Carina Fernanda Caiza Chiguano
LA CEDENTE

Ing. Cristian Tinajero Jiménez, Ph.D.
LA CESIONARIA

AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

“EVALUACIÓN DE DOS TIPOS DE *Beauveria bassiana* PARA EL CONTROL DE LA MOSCA DE LOS ESTIGMAS (*Euxesta stigmatias*) DEL CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays*), BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, SALACHE – LATACUNGA - COTOPAXI – 2022”, de Caiza Chiguano Carina Fernanda, de la carrera de Agronomía, 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, 25 de agosto del 2022

Ing. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos, Mg.

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, la postulante: Caiza Chiguano Carina Fernanda, con el título del Proyecto de Investigación: EVALUACIÓN DE DOS TIPOS DE *Beauveria bassiana* PARA EL CONTROL DE LA MOSCA DE LOS ESTIGMAS (*Euxesta stigmatias*) DEL CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays*), BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, SALACHE – LATACUNGA - COTOPAXI – 2022”, 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, 25 de agosto del 2022

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

Lector 2
Ing. Santiago Jiménez Jácome, Mg.
CC: 0501946263

Lector 3
Ing. Emerson Jácome Mogro, Mg.
CC: 0501974703

AGRADECIMIENTO

En el presente trabajo quiero agradecer en primer lugar a Dios por brindarme salud, sabiduría, iluminarme y guiarme en todo momento de mi vida para alcanzar mis metas propuestas.

A mi familia, por acompañarme en todo momento, brindándome todas sus fuerzas para cumplir este logro, especialmente a mi madre por su apoyo incondicional, paciencia y comprensión, ella es un pilar fundamental en mi vida e inspiración.

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 y experiencia me guío 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.

Finalmente, a mi enamorado y amigos por su apoyo y paciencia en todo momento ayudándome a crecer como persona y profesional.

Carina Fernanda Caiza Chiguano

DEDICATORIA

A Dios, por brindarme fortaleza y entendimiento para culminar una etapa en la trayectoria de mi vida.

A mis padres Luis Caiza, Laura Chiguano y a mis hermanos Paulina, Jenny y Pedro quienes con amor y sacrificio me supieron ayudar y apoyarme en los momentos difíciles de mi vida con sus consejos, aportando incondicionalmente para la culminación de la carrera.

Fercha

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “EVALUACIÓN DE DOS TIPOS DE *Beauveria bassiana* PARA EL CONTROL DE LA MOSCA DE LOS ESTIGMAS (*Euxesta stigmatias*) DEL CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays*), BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, SALACHE – LATACUNGA - COTOPAXI – 2022”

AUTORA: Caiza Chiguano Carina Fernanda

RESUMEN

Entre las plagas más importantes que atacan al maíz esta la mosca de los estigmas que disminuye notablemente el rendimiento hasta un 90% en la etapa reproductiva (R3) lechoso (tierno) si no se realiza un control adecuado. El propósito de la investigación es identificar el mejor tipo de *Beauveria bassiana* y determinar la mejor concentración para el control de la mosca de los estigmas en estadio adulto, bajo condiciones controladas. Planteando una alternativa de control del insecto para reducir las pérdidas de producción en la etapa reproductiva. La investigación se lo realizó en el Laboratorio de Agronomía de la Universidad Técnica de Cotopaxi, realizando un arreglo factorial AxB+1 adicional implementado en un DBCA con cuatro repeticiones, donde el Factor A corresponde a tipos de *Beauveria bassiana* (nativa y comercial) y el Factor B a las concentraciones (10^5 , 10^7 , 10^9 esporas/ml), obteniendo un total de 28 unidades experimentales con 15 insectos por cada unidad experimental. Las variables determinadas fueron el porcentaje de mortalidad y tiempo para controlar *Euxesta stigmatias* empleando *Beauveria bassiana*. Los resultados obtenidos se analizaron en el programa InfoStat y tras obtener en el ADEVA resultados significativos, se realizó la prueba de Tukey al 5% para la obtención de los diferentes rangos de significancia. El resultado para el porcentaje de mortalidad se determinó que el tratamiento seis (T6) que corresponde a la aplicación de *Beauveria bassiana* nativa con una concentración de 10^9 esporas/ml alcanzó el 100% de mortalidad, siendo el mejor en comparación con el adicional que no presento insectos muertos. Con respecto a la variable tiempo para controlar al insecto se obtuvo que el tratamiento tres (T3) que corresponde a la aplicación de *Beauveria bassiana* comercial con una concentración 10^9 esporas/ml con un promedio de 11 días fue el mejor, seguido del tratamiento seis (T6) que corresponde a la aplicación de *Beauveria bassiana* nativa con una concentración de 10^9 esporas/ml que obtuvo un promedio de 13 días. Por lo tanto, se concluye que el mejor tipo fue *Beauveria bassiana* nativa para controlar la mosca de los estigmas en estadio adulto, además, la mejor concentración fue 10^9 esporas/ml.

Palabras claves: *Euxesta stigmatias*, *Beauveria bassiana*, concentración, maíz, mortalidad.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

TITLE: "EVALUATION OF TWO TYPES OF *Beauveria bassiana* FOR CONTROL OF THE STEM MITE (*Euxesta stigmatias*) OF CORN CROP (*Zea mays*), UNDER CONTROLLED CONDITIONS, SALACHE - LATACUNGA - COTOPAXI - 2022"

AUTHOR: Caiza Chiguano Carina Fernanda

ABSTRACT

Among the most important pests that attack corn is the stigma fly, which significantly reduces yields up to 90% in the reproductive stage (R3) milky (tender) if adequate control is not carried out. The purpose of the research was to identify the best type of *Beauveria bassiana* and determine the best concentration for the control of the stigma fly in the adult stage, under controlled conditions. This is an alternative to control the insect in order to reduce production losses in the reproductive stage. The research was carried out in the Agronomy Laboratory of the Technical University of Cotopaxi, using an additional AxB+1 factorial arrangement implemented in a DBCA with four replications, where Factor A corresponds to types of *Beauveria bassiana* (native and commercial) and Factor B to the concentrations (10^5 , 10^7 , 10^9 spores/ml), obtaining a total of 28 experimental units with 15 insects for each experimental unit. The variables determined were the percentage of mortality and time to control *Euxesta stigmatias* using *Beauveria bassiana*. The results obtained were analyzed in the InfoStat program and after obtaining significant results in ADEVA, the Tukey test at 5% was performed to obtain the different ranges of significance. The result for the percentage of mortality was determined that treatment six (T6), which corresponds to the application of native *Beauveria bassiana* with a concentration of 10^9 spores/ml, reached 100% mortality, being the best in comparison with the additional one that did not present dead insects. With respect to the variable time to control the insect, treatment three (T3) which corresponds to the application of commercial *Beauveria bassiana* with a concentration of 10^9 spores/ml with an average of 11 days was the best, followed by treatment six (T6) which corresponds to the application of native *Beauveria bassiana* with a concentration of 10^9 spores/ml that obtained an average of 13 days. Therefore, it is concluded that the best type was native *Beauveria bassiana* to control the stigma fly in the adult stage, in addition, the best concentration was 10^9 spores/ml.

Key words: *Euxesta stigmatias*, *Beauveria bassiana*, concentration, corn, mortality.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR	iii
AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	v
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vi
AGRADECIMIENTO	vii
DEDICATORIA	viii
RESUMEN	ix
ÍNDICE DE CONTENIDOS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xv
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xvi
1. INFORMACIÓN GENERAL	1
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	2
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	2
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	3
4.1. Beneficiarios Directos	3
4.2. Beneficiarios Indirectos	3
5. PROBLEMÁTICA	3
6. OBJETIVOS	4
6.1. Objetivo General	4
6.2. Objetivos Específicos	4
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	5
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA	7
8.1. El maíz	7
8.1.1. Generalidades del maíz	7
8.1.2. Origen del maíz	7

8.1.3.	Importancia del maíz en el mundo	7
8.1.4.	Importancia del maíz en Ecuador	7
8.1.5.	Taxonomía del maíz	8
8.1.6.	Descripción morfológica	8
8.2.	Desarrollo del cultivo	8
8.2.1.	Etapas reproductivas	9
8.3.	Principales plagas del maíz	9
8.3.1.	Mosca de los estigmas (<i>Euxesta stigmatias</i>)	10
8.3.2.	Gusano de la mazorca (<i>Heliothis zea</i>)	10
8.3.3.	Gusano cogollero (<i>Spodoptera frugiperda</i>)	10
8.3.4.	Gusano alambre (<i>Agrotis spp.</i>)	10
8.3.5.	Barrenador del tallo (<i>Diatraea saccharalis</i>)	10
8.4.	Mosca de los estigmas (<i>Euxesta stigmatias</i>)	10
8.4.1.	Origen de <i>Euxesta stigmatias</i>	11
8.4.2.	Clasificación taxonómica	11
8.4.3.	Descripción morfológica	11
8.4.4.	Ciclo biológico	12
8.4.5.	Estadíos de desarrollo de <i>Euxesta stigmatias</i>	12
8.4.5.1.	Huevo	12
8.4.5.2.	Larva	12
8.4.5.3.	Pupa	12
8.4.5.4.	Adulto	12
8.4.6.	Comportamiento y ataque característico de <i>Euxesta stigmatias</i>	13
8.4.7.	Métodos de control	13
8.4.7.1.	Control Cultural	13
8.4.7.2.	Control Químico	13
8.4.7.3.	Control Biológico	14

8.5.	Hongos Entomopatógenos	14
8.5.1.	<i>Beauveria bassiana</i>	14
8.5.2.	Clasificación taxonómica	15
8.5.3.	Características morfológicas de <i>Beauveria bassiana</i>	15
8.5.3.1.	Características macroscópicas	15
8.5.3.2.	Características microscópicas	16
8.5.4.	Condiciones de crecimiento de <i>Beauveria bassiana</i>	16
8.5.5.	Modo de acción de la <i>Beauveria bassiana</i>	16
8.5.6.	Aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> para controlar la mosca de los estigmas	17
9.	HIPÓTESIS	18
10.	METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	18
10.1.	Localización del ensayo	18
10.1.1.	Croquis	18
10.2.	Tipos de Investigación	19
10.2.1.	Experimental	19
10.3.	Métodos de Investigación	19
10.3.1.	Observación Científica	19
10.3.2.	Cuantitativo	19
10.3.3.	Inductivo	19
10.4.	Técnicas de Investigación	19
10.4.1.	Observación directa	19
10.5.	Materiales, Reactivos y Equipos	19
10.5.1.	Materiales de laboratorio	19
10.5.2.	Reactivos	20
10.5.3.	Equipos de laboratorio	21
10.6.	Diseño experimental	21
10.7.	Unidad Experimental	21

10.8. Factores en estudio	21
10.9. Tratamientos en estudio	22
10.10. ADEVA	22
10.11. Variables en estudio	23
10.12. Manejo del Experimento	23
10.12.1. Fase de reactivación y multiplicación de <i>Beauveria bassiana</i>	23
10.12.1.1. Método de reactivación de <i>B. bassiana</i> en un medio de Agar - Insecto	23
10.12.1.2. Método de multiplicación del hongo	24
10.12.2. Elaboración de suspensiones y conteo de esporas	26
10.12.2.1. Suspensión madre	26
10.12.2.2. Conteo de esporas	27
10.12.2.3. Elaboración de suspensiones a diferentes concentraciones	28
10.12.2.4. Elaboración de suspensiones a diferentes concentraciones y conteo de esporas de la <i>Beauveria bassiana</i> comercial	28
10.12.3. Fase de aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> en la plaga a evaluarse	29
10.12.3.1. Colecta y alimentación de la plaga en sus estadios de larva, pupa y adulto	29
10.12.3.2. Implementación del ensayo y Aplicación de <i>Beauveria bassiana</i>	30
10.13. Datos a Evaluar	31
10.13.1. Porcentaje de mortalidad de <i>Euxesta stigmatias</i>	31
10.13.2. Tiempo para controlar <i>Euxesta stigmatias</i>	31
10.14. Análisis estadístico	31
11. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	32
11.1. Análisis de Mortalidad <i>Euxesta stigmatias</i>	32
11.2. Análisis del tiempo para el control de <i>Euxesta stigmatias</i>	37
12. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES, ECONÓMICOS)	43
12.1. Impactos Técnicos	43
12.2. Impactos Sociales	43

12.3. Impactos Ambientales	44
12.4. Impactos Económicos	44
13. CONCLUSIONES	45
14. RECOMENDACIONES	45
15. BIBLIOGRAFÍA	46
16. ANEXOS	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos	5
Tabla 2. Clasificación taxonómica del maíz	8
Tabla 3. Etapas vegetativas y reproductivas de la planta de maíz.....	9
Tabla 4. Taxonomía de las mosca de los estigmas	11
Tabla 5. Taxonomía de <i>Beauveria bassiana</i>	15
Tabla 6. Tratamientos en estudios acorde al diseño experimental planteado.....	22
Tabla 7. Esquema del ADEVA.....	22
Tabla 8. Variables a evaluar	23
Tabla 9. ADEVA para la variable de porcentaje de mortalidad de <i>Euxesta stigmatias</i>	33
Tabla 10. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos en la mortalidad de <i>Euxesta stigmatias</i>	33
Tabla 11. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A.....	34
Tabla 12. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor B	35
Tabla 13. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y Factor B.	36

Tabla 14. ADEVA para la variable tiempo para controlar <i>Euxesta stigmatias</i>	38
Tabla 15. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos de promedio de tiempo para controlar <i>Euxesta stigmatias</i>	39
Tabla 16. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A	40
Tabla 17. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor B	40
Tabla 18. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y Factor B.	41

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Vista macroscópica de <i>Beauveria bassiana</i>	15
Gráfico 2. Vista microscópica de <i>Beauveria bassiana</i>	16
Gráfico 3. Croquis de ubicación del proyecto	18
Gráfico 4. Porcentaje de mortalidad total de los tratamientos.....	32
Gráfico 5. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A.....	35
Gráfico 6. Prueba de Tukey, para la comparación de rangos para el Factor B	36
Gráfico 7. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y el Factor B	37
Gráfico 8. Promedio de tiempo para controlar <i>Euxesta stigmatias</i>	37
Gráfico 9. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A.....	40
Gráfico 10. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor B	41
Gráfico 11. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y el Factor B	42
Gráfico 12. Comportamiento de la <i>Beauveria bassiana</i> (nativa y comercial) durante la investigación.....	42

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Hoja de vida del Tutor	50
Anexo 2. Hoja de vida del Lector 1	52
Anexo 3. Hoja de vida del Lector 2.....	53
Anexo 4. Hoja de vida del Lector 3.....	54
Anexo 5. Ficha técnica del producto Ento – Bass	55
Anexo 6. Ciclo biológico de <i>Euxesta stigmatias</i> adaptada a condiciones de Laboratorio	57
Anexo 7. Reactivación de una cepa de <i>Beauveria bassiana</i>	57
Anexo 8. Multiplicación de la cepa activa de <i>Beauveria bassiana</i>	58
Anexo 9. Elaboración de la Suspensión madre	58
Anexo 10. Conteo de esporas	59
Anexo 11. Elaboración de suspensiones a diferentes concentraciones	59
Anexo 12. Colecta y Alimentación de la plaga	60
Anexo 13. Unidad Experimental	60
Anexo 14. Implementación del bioensayo y Aplicación de <i>Beauveria bassiana</i>	61
Anexo 15. Introducción de la plaga a cada Unidad Experimental (15 insectos plaga).....	61
Anexo 16. Insectos muertos por la infestación de <i>Beauveria bassiana</i>	62
Anexo 17. Comprobación de mortalidad por <i>Beauveria bassiana</i>	62
Anexo 18. Presupuesto general	63
Anexo 19. Costos de producción de <i>Beauveria bassiana</i>	65
Anexo 20. Protocolo de manejo en Laboratorio de <i>Beauveria bassiana</i> y Alimentación de <i>Euxesta stigmatias</i>	66
Anexo 21. Aval de Traducción	80

CAPÍTULO I

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título:

“Evaluación de dos tipos de *Beauveria bassiana* para el control de la mosca de los estigmas (*Euxesta stigmatias*) del cultivo de maíz (*Zea mays*), bajo condiciones controladas, Salache – Latacunga - Cotopaxi – 2022”

Fecha de inicio:

Abril del 2022

Fecha de finalización:

Agosto 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 Agronomía

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. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos, Mg.

Autora: Carina Fernanda Caiza Chiguano

Lector A: Ing. Edwin Chancusig Espín, PhD.

Lector B: Ing. Santiago Jiménez Jácome, Mg.

Lector C: Ing. Emerson Jácome Mogro, Mg.

Área de Conocimiento.

Agricultura- Agricultura, Silvicultura y Pesca – Agricultura.

Línea de investigación:

Análisis, conservación y aprovechamiento de la 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. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

En el manejo del cultivo de maíz, uno de los principales problemas que enfrentan los agricultores en el campo son las plagas, que atacan durante su fase reproductiva y al no ser controlados a tiempo puede llegar a terminar con la producción del cultivo con un nivel de infestación muy alto. En respuesta a esta situación se realizó la presente investigación evaluando el control de la mosca de los estigmas (*Euxesta stigmatias*), empleando el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en diferentes concentraciones.

Para la investigación se realizó las siguientes actividades en el laboratorio:

- La reactivación y la multiplicación del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*.
- Elaboración de la suspensión madre y contabilización del número de esporas, a partir de ello se preparó las suspensiones a diferentes concentraciones.
- Aplicación sobre las unidades experimentales para posteriormente evaluar la mortalidad de la mosca de los estigmas (*Euxesta stigmatias*) y el tiempo para controlar el insecto.

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 obtener producciones con altos rendimientos y bajos índices de ataques de plagas durante su ciclo reproductivo.

Entre las principales plagas se encuentra la mosca de los estigmas (*Euxesta stigmatias*) que en poblaciones altas puede llegar ocasionar pérdidas del ochenta al noventa por ciento del cultivo.

El desconocimiento de los agricultores sobre el uso de microorganismos del suelo (hongos entomopatógenos) para controlar plagas en diversos cultivos.

De acuerdo a lo mencionado esta investigación está enfocada en el control mediante el uso del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* para *Euxesta stigmatias*, plaga de los granos de maíz que ataca en la fase reproductiva R1 (barbas) y R3 (lechoso - tierno), este hongo ha demostrado ser un excelente controlador de plagas en estado adulto del orden Díptera.

Además, al utilizar el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* se contribuye al cuidado del medio ambiente y se disminuye el riesgo de contaminación a la salud de los seres humanos y de los animales por residuos de los insecticidas de síntesis químico.

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

4.2. Beneficiarios Indirectos

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

5. PROBLEMÁTICA

A nivel mundial el maíz constituye en uno de los principales cultivos con fines alimenticios y comerciales. En el Ecuador según la Corporación Financiera Nacional para el año 2020, la superficie total cosechada de maíz fue de 355,913 hectáreas, siendo una producción de 1,358,626 toneladas métricas de la 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).

Arenillo, (2017), menciona que la mosca de los estigmas es una plaga de importancia en los maíces cultivados en la Sierra ecuatoriana, debido al ataque en la etapa reproductiva disminuyendo notablemente la producción, afectando la calidad y cantidad del grano en mazorcas de maíz en estado lechoso, provocando que el agricultor no pueda comercializar el maíz cuando tiene daños en los granos, lo que ocasiona una pérdida económica para ellos.

Estudios realizados por el INIAP en el año 2002 las pérdidas ocasionadas por la mosca de los estigmas en la mazorca de maíz en estado lechoso (tierno) en la Región Sierra del país, se encontraba entre el 80 – 90%. Mientras que, en la provincia de Pichincha, otro estudio realizado por (Arenillo, 2017), determina que el porcentaje de daño que ocasiona la mosca de los estigmas esta entre 60 – 71%. De acuerdo con lo mencionado, la especie *Euxesta stigmatias* es considerada una de las plagas más perjudiciales para el maíz en estado lechoso (tierno), se presenta específicamente en la mazorca de maíz dulce, (García y Camacho, 2010).

Por tal razón los agricultores han optado con frecuencia a la utilización de insecticidas de síntesis químico, según el INEC para el año 2020, el uso de insecticidas en el país fue de setenta y nueve por ciento, mientras que, el uso de insumos organicos para el mismo año fue de cuatro por ciento.

En la presente investigación se evaluó el control biológico para combatir este insecto con ayuda de *Beauveria bassiana* que permita disminuir pérdidas durante la cosecha de las mazorcas en estado lechoso a los agricultores, generando un impacto positivo tanto ambiental como económico.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo General

Evaluar dos tipos de *Beauveria bassiana* para el control de la mosca de los estigmas (*Euxesta stigmatias*) del cultivo de maíz (*Zea mays*), bajo condiciones controladas.

6.2. Objetivos Específicos

- Identificar el mejor tipo de *Beauveria bassiana* para el control de la mosca de los estigmas (*Euxesta stigmatias*) en estadio adulto.
- Determinar la mejor concentración para el control de la mosca de los estigmas (*Euxesta stigmatias*) en estadio adulto.

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
Identificar el mejor tipo de <i>Beauveria bassiana</i> para el control de la mosca de los estigmas (<i>Euxesta stigmatias</i>) en estadio adulto.	Reactivación de una cepa de <i>Beauveria bassiana</i> del laboratorio de Agronomía.	Cepa activa de <i>Beauveria bassiana</i> inoculada en Agar-Insecto.	- Cajas Petri con el hongo activo.
	Multiplicación de <i>Beauveria bassiana</i> .	Subcultivos del hongo entomopatógeno.	- Cajas Petri con <i>Beauveria bassiana</i>
	Elaboración de la suspensión madre del hongo entomopatógeno.	Suspensión madre del hongo.	- Conteo de esporas en la cámara de Neubauer.
	Verificación de la viabilidad del producto comercial.	Número de esporas del producto comercial.	- Fotografías - Conteo de esporas en la cámara de Neubauer.
Determinar la mejor concentración para el control de la mosca de los estigmas (<i>Euxesta stigmatias</i>) en estadio adulto.	Elaboración de suspensiones a diferentes concentraciones a partir de la suspensión madre.	Suspensiones con diferentes concentraciones (10^5 , 10^7 , 10^9) del hongo entomopatógeno.	- Fotografías - Conteo de esporas en la cámara de Neubauer.
	Implementación del ensayo y Aplicación	Unidades experimentales	- Fotografías - Libreta de

de suspensiones a diferentes concentraciones del hongo entomopatógeno en cada unidad experimental	rociadas con el hongo entomopatógeno en diferentes concentraciones.	laboratorio
Conteo de insectos muertos después de la aplicación.	Porcentaje de mortalidad aplicando la fórmula: $\% Mc = \frac{X - Y}{X} (100)$	- Número de insectos muertos - Tabla de resultados
Registro de número de días a la muerte del insecto.	Tiempo para controlar <i>Euxesta stigmatias</i> en relación a la concentración aplicada y el número de días a la muerte.	- Número de insectos muertos. Tabla de datos

CAPÍTULO II

8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

8.1. El maíz

8.1.1. Generalidades del maíz

El maíz es uno de los cereales más consumidos a nivel mundial conjuntamente con el arroz y el trigo, perteneciente a la familia de las gramíneas o poáceas. Es una monocotiledónea con un ciclo vegetativo anual. El ciclo del cultivo dura de 80 a 200 días, desde la siembra hasta la cosecha, dependiendo de la variedad utilizada, (Grande y Orozco, 2012).

8.1.2. Origen del maíz

Según Otegui, (2004), el maíz es de origen mesoamericano con varios centros de diversidad, desde los incas y los quechuas de la región andina de América del Sur. Se menciona además que, hace más de 8000 años los indígenas americanos realizaron una selección y transformación (domesticación) mediante la misma el maíz ha adquirido varias cualidades nutricionales, pero perdió la capacidad de sobrevivir en forma silvestre.

8.1.3. Importancia del maíz en el mundo

El maíz es un cereal que tiene una importancia económica alta a nivel mundial por tener varios destinos finales, ya sea consumo alimentario para el hombre, como alimento animal o fuente de productos industrializados. La capacidad de adaptación del maíz a diferentes altitudes es otra de sus cualidades a ser un cereal de importancia, siendo una de las opciones principales a elegir los agricultores por el rendimiento de grano por hectárea, (FAO, 2022).

8.1.4. Importancia del maíz en Ecuador

El maíz en el país es de gran importancia debido al papel que cumple en la alimentación de la población. Ecuador en los últimos veinte años ha tenido un crecimiento en producción de maíz duro con un ochenta por ciento destinados para alimento y balanceados de animales principalmente esta variedad se cultiva en las zonas costeras, mientras el maíz suave o harinoso en la región andina, no ha registrado aumento en su producción esta variedad es

destinada en su mayoría para la alimentación familiar de los pequeños productores, (Hernández, 2019).

8.1.5. Taxonomía del maíz

Tabla 2. Clasificación taxonómica del maíz según, (Valladares, 2010).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Familia	Poaceae
Género	<i>Zea</i>
Especie	<i>Mays</i>

8.1.6. Descripción morfológica

El maíz es de ciclo anual, su altura puede ser de 1mt hasta mayor de 4mts según la variedad. La raíz es fasciculada que sirve de soporte y canal de ingreso de nutrientes para el resto de la planta, presenta un tallo erecto y macizo en su interior. Sus hojas son largas con su nervio central marcado se disponen abrazando al tallo, la inflorescencia masculina (panícula) y femenina (espiga compuesta) se encuentran en una misma planta, (Hidalgo, 2018).

8.2. Desarrollo del cultivo

Según Fassio y Carriquiry, (2008), el desarrollo del cultivo es una secuencia de etapas en un orden irreversible. Estas etapas van desde la germinación de la semilla hasta la floración y formación del fruto. Este ciclo comprende dos etapas: desarrollo vegetativo y desarrollo reproductivo.

Tabla 3. Etapas vegetativas y reproductivas de la planta de maíz

VEGETATIVA	REPRODUCTIVA
VE: Emergencia	R1: barbas
V1: Primera hoja	R2: ampolla
V2: Segunda hoja	R3: lechoso
V3: Tercera hoja	R4: pastoso
V(N): Enésima hoja	R5: dentado
VT: Panojamiento	R6: madurez fisiológica

Fuente: Fassio y Carriquiry, (2008)

8.2.1. Etapas reproductivas

Las fases reproductivas se refieren al desarrollo del grano y sus partes. La fase R1 comienza con la polinización, cuando las barbas se encuentran visibles, en condiciones adversas como controles no realizados para plagas en esta fase se reducirá el rendimiento. En la siguiente fase R2, la mazorca está por alcanzar o ya alcanzó su tamaño completo y empieza el desarrollo de los granos. Las barbas han completado su función de floración se oscurecen y comienzan a secarse. En la fase R3 los granos presentan un color amarillo en la parte exterior y blanco lechoso en el interior debido a la acumulación de almidón.

Debido a la continua acumulación de almidón en la R4 el grano presenta una consistencia pastosa en su interior y el grano ha alcanzado su tamaño ideal. En la penúltima fase R5, los granos se secan comenzando por la parte superior y finalmente en la R6 se define cuando todos los granos han alcanzado su máximo peso seco, (Fassio y Carriquiry, 2008).

8.3. Principales plagas del maíz

El maíz (*Zea mays*), al igual que otros cultivos explotados a nivel mundial es atacado por numerosos insectos plagas. Varios son los insectos que causan daños a este cultivo, ya sea atacando la semilla, las raíces, el tallo, las hojas y el fruto.

8.3.1. Mosca de los estigmas (*Euxesta stigmatias*)

Puede ocasionar daños muy graves a los cultivos de maíz. De hecho, en los campos de cultivo en los que no se controla la mosca durante los estadios reproductivos iniciales podría haber una pérdida de rendimiento total, (Giles, 2014).

8.3.2. Gusano de la mazorca (*Heliothis zea*)

Es una plaga que ataca en estado de larva alimentándose de los granos de la mazorca. Al inicio, la larva consume los granos lechosos de la punta de la mazorca, luego conforme va madurando el grano es consumido hasta su estado pastoso.

8.3.3. Gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*)

Los daños pueden afectar a varias gramíneas como sorgo, arroz; empezando desde las hojas tiernas dejando huecos irregulares, posteriormente pueden llegar a atacar a la mazorca cuando está en formación de granos hasta que su fase larval termine.

8.3.4. Gusano alambre (*Agrotis spp.*)

Su daño al cultivo de maíz se presenta en las primeras etapas del cultivo, afecta directamente a los granos que conduce a problemas de emergencia provocando marchitamiento de las plántulas (2-3 hojas) en caso de ataque precoz y después desaparición de las plantas.

8.3.5. Barrenador del tallo (*Diatraea saccharalis*)

Las larvas ocasionan las pérdidas por daños fisiológico y mecánico. Las larvas producen galerías dentro de la caña, lo que reduce el flujo de agua y nutrientes e induce al quebrado de plantas y espigas. La producción se ve muy afectada, especialmente en siembras tardías.

8.4. Mosca de los estigmas (*Euxesta stigmatias*)

Los Ulidiidae son una gran y diversa familia de insectos del orden Díptera, que atacan al cultivo de maíz. *Euxesta stigmatias* se presentan con mayor frecuencia en este cultivo. Huepe y Vargas, (1986) mencionan que, en un principio era considerada una plaga de carácter secundario, pero después, debido a las investigaciones concluyeron que estos insectos causaban perjuicios que podían alcanzar un nivel alto, desde el punto biológico y económico.

Esta plaga ataca a los granos de la mazorca del maíz, este insecto está en toda América y se ha convertido en una amenaza seria en los valles altos de la región andina.

8.4.1. Origen de *Euxesta stigmatias*

La presencia de por lo menos doce diminutas larvas en un solo grano de maíz nuevo arrojó los primeros datos, confirmando la presencia de una nueva plaga de importancia económica. La presencia de la plaga fue reportada por primera vez, hace más de una década, en México, Estados Unidos (Florida) y Argentina, donde es considerada una plaga primaria explicó, (Barraza, 2008). En los países sudamericanos, el insecto también es conocido como gusano de la mazorca o mosca pinta. En el país sus primeros hallazgos fue entre los años 1959 y 1977, junto a la colaboración de Insect Identification and Parasitec Introduction Research Branch, (Merino, 2003).

8.4.2. Clasificación taxonómica

Tabla 4. Taxonomía de la mosca de los estigmas

Reino	Animalia
Phylum	Anthropoda
Clase	Insecta
Orden	Díptera
Familia	Ulidiidae
Genero	<i>Euxesta</i>
Especie	<i>E. stigmatias</i>

Fuente: Reyes, (2015)

8.4.3. Descripción morfológica

Las características generales son: las patas de color café o negras, presentan 4 bandas oscuras en las alas, la parte superior el primer flagelómero antenal es redondo, la vista frontal tiene varias setas o aristas cruciales, el ovipositor es angosto suave y no laminado apicalmente.

8.4.4. Ciclo biológico

El ciclo biológico de la mosca inicia después de aparearse, busca una planta de maíz donde los estigmas estén emergidos de la mazorca ovipositando hasta 95 huevecillos, entre los estigmas y en la base de la mazorca.

8.4.5. Estadios de desarrollo de *Euxesta stigmatias*

Según Guitiérrez, (2014), describe cuatro estadios de la mosca de los estigmas que se detallan a continuación:

8.4.5.1. Huevo

Los huevecillos duran dos días, son alargados, color blanco translucido, miden 0.80 milímetros de longitud y 0.20mm de ancho, los podemos encontrar de forma individual o en grupos, y eclosionan a las 48 horas a temperatura ambiente 25-34 °C.

8.4.5.2. Larva

Son de forma alargada y cilíndrica, sin patas ni pseudópodos, la parte apical es más ancha que la parte posterior, tienen ganchos bucales en la cabeza y dos espiráculos anales uniformes de color negro. La larva vive de 13 a 15 días, es de color blanco-amarillento y alcanza una longitud máxima de 7mm. Se encuentran dentro de la mazorca durante toda la etapa reproductiva y hasta antes de la madurez fisiológica.

8.4.5.3. Pupa

Es también alargada y cilíndrica, con un extremo más redondeado y con una elevación que sobresale; en el extremo contrario presentan dos apéndices. La pupa dura 7 días. El cuerpo es de color amarillento al principio, luego se torna rojizo brillante.

8.4.5.4. Adulto

Presenta cuatro bandas oscuras transversales en las alas, patas negras, con amarillo en el extremo superior del tarso en la parte inferior del fémur; la hembra es de mayor tamaño. Duran 90 días y alcanzan una longitud máxima de 10mm.

8.4.6. Comportamiento y ataque característico de *Euxesta stigmatias*

La mosca de los estigmas al ovipositar alrededor de 90 a 95 huevecillos es considerada una plaga de gran importancia para el cultivo de maíz.

Los daños que ocasionan las larvas que oviposita la mosca pueden ser directos e indirectos. Directos cuando las larvas afectan al grano de maíz, alimentándose del pericarpio, dejando la epidermis del grano. Indirectos cuando las larvas, una vez que emergen del huevecillo, se alimentan de los estigmas inhibiendo la polinización y la formación del grano en el maíz.

La mayor presencia de moscas en los cultivos de maíz se presenta en verano, ya que durante este ciclo se tienen las condiciones ambientales de humedad y temperatura adecuadas para el buen desarrollo de la mosca de los estigmas. Esta plaga no tiene conductas caníbales, es por ello que en una mazorca pueden vivir de 12 a 15 larvas sin atacarse entre ellos, (Guitiérrez, 2014).

8.4.7. Métodos de control

Existen varios métodos para controlar las plagas en el cultivo de maíz, a continuación, se mencionan:

8.4.7.1. Control Cultural

Guitiérrez, (2014) recomienda:

- Utilizar trampas amarillas cuando el cultivo de maíz empiece su estadio reproductivo como un control preventivo para las moscas.
- Otras investigaciones mencionan utilizar aceite vegetal, empleada incluso para controlar otras plagas este se debe aplicar sobre los estigmas del maíz.

8.4.7.2. Control Químico

La mosca de los estigmas años atrás era controlada químicamente con insecticidas efectivos (por ejemplo, clorpirifos), que se han reducido en gran medida y otros insecticidas han sido eliminados del mercado (ejemplo: metal paratión y endosulfán) pero con el pasar de los años la mosca ha ganado resistencia.

Mediante investigaciones realizadas por (Giles, 2014), resalta que la plaga es resistente por el uso de piretroides, de manera inicial aparentemente controla el 60% de la población de *Euxesta stigmatias*. Pero la plaga puede recuperarse en cuatro horas junto con las nuevas

moscas que vuelven a infestar los campos tratados, el problema de resistencia a los piretroides ayuda a explicar muchos de los problemas que están enfrentando los productores para controlar las moscas.

INIAP, (2021), recomienda el uso de mezclas de insecticidas con melaza, a manera de cebos. Para ello se debe realizar un coctel con cipermetrina.

8.4.7.3. Control Biológico

Albarracín, (2007), indica que la mosca de los estigmas tiene su propio depredador o parásito, el cual interrumpe su ciclo reproductivo. Para la mosca de los estigmas la avispa *Spalangia (Hymenóptera: pteromalidae)*, es un parásito en su estado de pupa, depositando un huevecillo dentro de ella completando su desarrollo hasta adulto en 15 días.

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. Encontrándolos de forma natural en el ecosistema, en el suelo, en restos de cultivos, sobre los cadáveres de insectos o sobre materia orgánica.

Se conocen aproximadamente 100 géneros y 700 especies de hongos entomopatógenos. Entre los más importantes están: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoophthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Verticillium*, (Ramírez, et al., 2014).

8.5.1. *Beauveria bassiana*

Es un hongo imperfecto de la clase Deuteromicetes, capaz de infectar a más de 200 especies de insectos es de apariencia polvosa de color blanco algodonoso o amarillento cremoso. El hongo fue expuesto por Jean Beauverie en 1911 con el nombre de *Botrytis bassiana*. Posteriormente, Vuillemin la clasificó en su clase actual. Investigaciones posteriores, determinaron el género como *Beauveria spp.*, y registraron seis especies: *B. alba*, *B. amorpha*, *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *B. velata* y *B. caledonica*, (Noboa y Quelal, 2015).

8.5.2. Clasificación taxonómica

Tabla 5. Taxonomía de *Beauveria bassiana*

Roberts y Humber, (1981), citado en la Sociedad Mexicana de Control Biológico (1995), dan a conocer la siguiente clasificación:

Reino	Fungi
División	Deuteromycotina
Clase	Deuteromycetes
Orden	Moniliales
Familia	Moniliaceae
Género	<i>Beauveria</i>
Especie	<i>Bassiana</i>

8.5.3. Características morfológicas de *Beauveria bassiana*

8.5.3.1. Características macroscópicas

La *Beauveria bassiana* sembrada en PDA (Papa Dextrosa Agar), al trascurso de 7 días presenta un micelio algodonoso blanco al principio y luego se torna amarillento o rosa pálido, con el paso de los días se vuelve polvoriento de color crema producto de las esporas, (Noboa y Quelal, 2015).

Gráfico 1. Vista macroscópica de *Beauveria bassiana*



8.5.3.2. Características microscópicas

Beauveria bassiana al ser un hongo imperfecto, posee hifas septadas que contienen las estructuras reproductivas denominadas conidióforos, sobre los cuales se desarrollan las esporas (células únicas haploides e hidrofóbicas, globosas y ovales de color blanco cremoso posee esterigmas alternados en zigzag alargados en su extremo distal llamados raquis), (Ortiz, 2009).

Gráfico 2. Vista microscópica de *Beauveria bassiana*



8.5.4. Condiciones de crecimiento de *Beauveria bassiana*

FACTOR	DESCRIPCIÓN
pH	Crecimiento: 5,7 a 5,9
Temperatura	Crecimiento y esporulación: 24 a 28 °C
Humedad relativa	Crecimiento: 92,5 % a 94 %
Necesidades nutricionales	Sacarosa Fuentes de carbono (glucosa, almidón y pectina) Nitrógeno

Fuente: Noboa y Quelal, (2015)

8.5.5. Modo de acción de la *Beauveria bassiana*

El ciclo de vida de este hongo consta de dos fases: la patogénica y la saprofítica, el desarrollo del hongo se puede dividir en las siguientes fases.

La primera fase o también denominada infectiva, inicia cuando las esporas entran en contacto con la cutícula del hospedero (insecto), la penetración del hongo al hospedero ocurre a través de la cutícula o por vía oral. Cuando la penetración se da por una cutícula, intervienen las lipasas, quitinasas y proteasas. Dentro del insecto, el hongo se ramifica y reside en las cavidades del huésped. Produce una toxina llamada Beauvericina que destruye el sistema inmunológico del patógeno, permitiendo que el hongo ataque todos sus tejidos. La invasión de los tejidos por parte del micelio del hongo causa la muerte del insecto. Durante el proceso de invasión del hongo se produce una gran variedad de metabolitos tóxicos. Cuando el insecto muere queda momificado. Algunas veces se pueden presentar zonas de pigmentación localizadas que corresponden a los sitios de penetración de las esporas. Por último, ocurre la esporulación y el inicio de un nuevo ciclo. El micelio del hongo se observa primero en las articulaciones y partes blandas del insecto y en días posteriores se incrementa a todo el cuerpo hasta finalmente cubrirlo, (Gomez, 1992).

8.5.6. Aplicación de *Beauveria bassiana* para controlar la mosca de los estigmas

El periodo óptimo para aplicar el insecticida biológico es cuando el cultivo de maíz se encuentra en el estadio reproductivo (R1 – R3), formación y llenado de grano, debido a que es el momento en el que se encuentra la mayor abundancia del insecto en su forma más susceptible (larva), la mayor población de adultos, que también son susceptibles al ataque de los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. Para el control de la mosca son necesarias tres aplicaciones en los primeros quince días de presencia del insecto con *Beauveria bassiana* y *Metarhizium*, (Guitiérrez, 2014).

CAPITULO III

9. HIPÓTESIS

Ho: Con la aplicación de al menos una de las concentraciones de *Beauveria bassiana*, se logrará la mortalidad de insectos adultos de *Euxesta stigmatias*.

Ha: Con la aplicación de al menos una de las concentraciones de *Beauveria bassiana*, no se logrará la mortalidad de insectos adultos de *Euxesta stigmatias*.

10. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

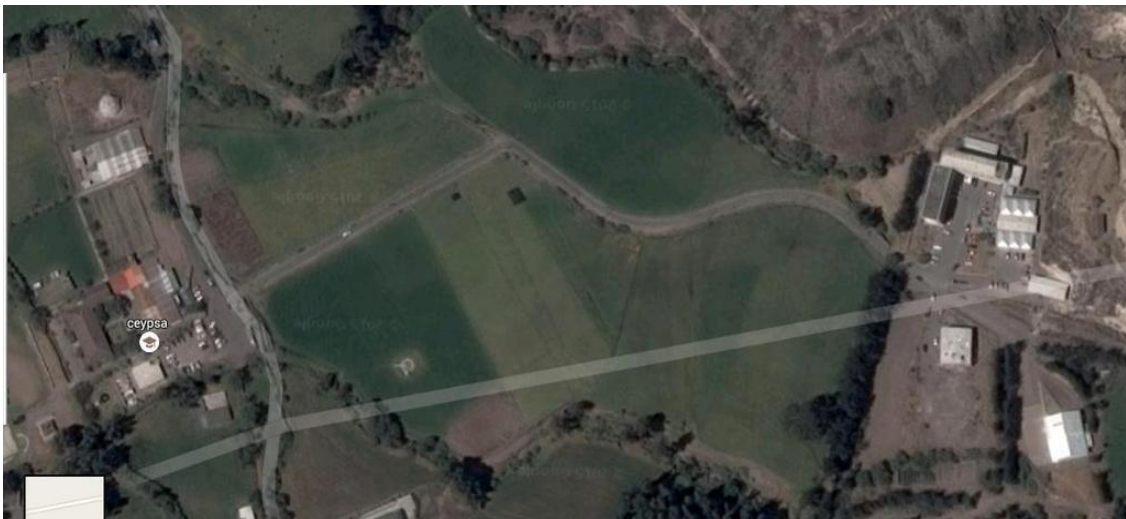
10.1. Localización del ensayo

El ensayo se ubicó en el Laboratorio de microbiología 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 3. Croquis de ubicación del proyecto



Fuente: (Earth, 2022)

10.2. Tipos de Investigación

10.2.1. Experimental

Se manipuló variables experimentales en condiciones controladas para observar y describir su comportamiento.

10.3. Métodos de Investigación

10.3.1. Observación Científica

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

10.3.2. Cuantitativo

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

10.3.3. Inductivo

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

10.4. Técnicas de Investigación

10.4.1. Observación directa

Permitió estar en contacto con el insecto plaga (*Euxesta stigmatias*) que se emplearon en esta investigación y a su vez se observó el comportamiento de los mismos al ser expuestas a las diferentes concentraciones de *Beauveria bassiana*.

10.5. Materiales, Reactivos y Equipos

10.5.1. Materiales de laboratorio

- Papel Parafilm
- Cajas Petri (plástico / vidrio)
- Plástico film
- Papel aluminio

- Papel absorbente
- Pinzas metálicas
- Porta bisturí
- Bisturí
- Tubos de ensayo de 15cm
- Pipetas de plástico de 5ml
- Asas metálicas de cien
- Frascos graduados 500ml
- Mechero
- Vasos de precipitación de 300ml
- Cepa de *Beauveria Bassiana*
- Mazorcas infestadas con larvas de *Euxesta stigmatias*
- Mazorcas de maíz (en etapa reproductiva R1 – R3)
- Larvas de *Phyllophaga spp.*
- Tarrinas de plástico
- Vasos cerveceros
- Medias nylon
- Elástico
- Algodón
- Cinta adhesiva doble faz
- Estilete
- Marcador permanente
- Mascarillas y guantes quirúrgicos
- Jeringuillas de 10ml
- Miel
- Rociadores

10.5.2. Reactivos

- Agar Papa Dextrosa (PDA)
- Agar – Agar
- Glucosa
- Tween 80

- Agua destilada
- Antibiótico (Gentamax ampolla)
- Vitaminas A y E

10.5.3. Equipos de laboratorio

- Microscopio
- Autoclave
- Balanza digital
- Cámara de Flujo Laminar
- Cámara de Incubación
- Cámara de Neubauer
- Agitador
- Vórtex
- Estereoscopio
- Micropipetas de 20 y 200 ul

10.6. Diseño experimental

Se realizó un arreglo factorial $A \times B + 1$ adicional implementado en un DBCA, con cuatro repeticiones por cada tratamiento planteado, dando un total de $7 \times 4 = 28$ unidades experimentales.

10.7. Unidad Experimental

Cada unidad experimental constó de 15 moscas las cuales se encontraban en tarrinas plásticas.

10.8. Factores en estudio

El presente ensayo constó de dos factores en estudio:

Factor A: *Beauveria bassiana*

B1 = *Beauveria bassiana* nativa

B2 = *Beauveria bassiana* comercial

Factor B: Concentración

C1= 10^5

$$C2=10^7$$

$$C3=10^9$$

10.9. Tratamientos en estudio

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

Tabla 6. Tratamientos en estudios acorde al diseño experimental planteado

Tratamientos	<i>Beauveria bassiana</i>	Concentraciones	Simbología
T1	Comercial	10^5	B2C1
T2	Comercial	10^7	B2C2
T3	Comercial	10^9	B2C3
T4	Nativa	10^5	B1C1
T5	Nativa	10^7	B1C2
T6	Nativa	10^9	B1C3
T7	Adicional		

10.10. ADEVA

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

Tabla 7. Esquema del ADEVA

F de V	gl
Repeticiones	3
Tratamientos	6
Factor A (<i>Beauveria bassiana</i>)	1
Factor B (Concentraciones)	2
Factor A*Factor B	2
Arreglo factorial vs Adicional	1
Error	18
Total	27

10.11. Variables en estudio

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

Tabla 8. Variables a evaluar

Tipo de variable	Nombre	Indicador	Índice	Técnica	Instrumentos
Dependiente	Mortalidad	Número de moscas de los estigmas muertas	% de mortalidad de insectos (adultos)	Conteo	Observación directa
	Tiempo	Número de días a la muerte de la mosca de los estigmas	Tiempo para controlar <i>Euxesta stigmatias</i>	Control	Registro de datos
Independiente	<i>Beauveria bassiana</i>	Número de esporas/ml	Suspensiones a diferentes concentraciones 10 ⁵ esporas/ml 10 ⁷ esporas/ml 10 ⁹ esporas/ml	Fórmula	Cámara de Neubauer

10.12. Manejo del Experimento

10.12.1. Fase de reactivación y multiplicación de *Beauveria bassiana*

Las distintas fases se realizaron en base a protocolos establecidos, tanto para el método de reactivación, así como el método de multiplicación.

10.12.1.1. Método de reactivación de *B. bassiana* en un medio de Agar - Insecto

Para la reactivación del hongo entomopatógeno se utilizó la metodología empleada por (Chiriboga, Gómez, y Garcés, 2015), donde indica que se debe considerar para este método insectos vivos al momento de ser recolectados. Para esta investigación empleamos la gallina ciega (*Phyllophaga* spp.).

A continuación, se detalla el procedimiento cabe mencionar que esta metodología se modificó en el laboratorio de Agronomía.

Materiales

- 70 gr de Insectos
- 18 gr de AGAR – AGAR
- 15 gr de Glucosa
- 1000 ml de Agua destilada

Procedimiento

1. Se desinfecto los insectos con hipoclorito de sodio al 0,5 % en agua destilada, sumergiéndoles durante 5 a 10 minutos. Luego se procedió a lavar en agua destilada para retirar el exceso de hipoclorito.
2. Los insectos desinfectados se procedió a licuarlos con 500 ml de agua destilada.
3. Los 500 ml restantes colocamos en un vaso de precipitación de 1000 ml, en eso depositamos los 18 gr de Agar – Agar, los 15 gr de Glucosa y diluimos totalmente.
4. En el mismo vaso de 1000 ml colamos el licuado de los insectos y realizamos una mezcla homogénea.
5. Finalmente depositamos en frascos graduados para ser esterilizados en la autoclave por 45 minutos para obtener el medio de cultivo Agar – Insecto, donde se sembró *Beauveria bassiana*.

10.12.1.2. Método de multiplicación del hongo

La multiplicación del hongo entomopatógeno se basó en la metodología utilizada por (Caballero, 2014), quien menciona que existen diversos métodos de multiplicación de hongos en medios de cultivos, para esta investigación se utilizó el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA).

A continuación, se enumera los materiales y el procedimiento:

Materiales

- 60 gr de PDA
- 1400 ml de agua destilada
- 70 Cajas Petri
- 1 Pinza metálica
- 1 Asa de cien

- Papel Parafilm
- Alcohol
- Bisturís
- Plástico film
- Papel aluminio
- 3 Antibiótico (Gentamax 280 ampolla)

Procedimiento

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.

Cantidad para el antibiótico: 50 µl a razón de 200 ml de medio de cultivo

2.- Se esterilizó en la autoclave el medio de cultivo junto con los demás materiales y cajas Petri en el caso que sean de vidrio envueltos en papel aluminio, en un período de tiempo de 45 minutos.

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

4.- De la caja Petri que contenía el hongo activado, se realizó un frotis con la asa de la parte que contenga mayor proporción del micelio y se colocó en la caja Petri realizando movimientos en zigzag sobre el medio, 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.

5.- Al transcurso de 7 días se observó la caja Petri cubierta con *B. bassiana*. La misma que será considerada como la primera cepa activada.

6.- Al obtenerse la primera cepa activada limpia y sin contaminación, se preparó nuevamente medio de cultivo suplementado con el antibiótico.

7.- De la cepa activada 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.

8.- Finalmente se envolvió en plástico 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*.

10.12.2. Elaboración de suspensiones a diferentes concentraciones y conteo de esporas.

Antes de realizar la aplicación en las unidades experimentales, se realizó una prueba del número de rociadas que podría alcanzar en toda el área de una mazorca. El resultado obtenido fue de 60 rociadas que equivale a 10ml por cada mazorca.

Por cada unidad experimental = 10 ml

Total, volumen a utilizar = 24 unidades experimentales x 10 ml = 240 ml

Volumen con diferentes *Beauveria bassiana*:

Beauveria bassiana nativa = 120 ml

Beauveria bassiana comercial = 120 ml

10.12.2.1. Suspensión madre

En la ejecución de esta fase se adaptó la metodología utilizada por (García, 2002), mencionando en primera instancia la preparación de la suspensión madre con un volumen de Agua Destilada Estéril de 120 ml que a partir de la cual se realizaron las respectivas diluciones del hongo *Beauveria bassiana*.

Materiales

- Cajas Petri con el hongo entomopatógeno
- Asas de cien
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitación
- Agua destilada estéril
- Tween 80
- Pipetas
- Gradilla
- Micropipeta
- Cámara de Neubauer
- Agitador

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

1. Para la investigación utilizamos Tween 80 el cual nos ayudara a un mejor conteo de esporas. Utilizando la siguiente fórmula obtuvimos la cantidad adecuada

$$C1V1 = C2V2$$

Donde:

C1 = la concentración de la solución inicial (80%)

V1 = volumen que debemos utilizar en la dilución

C2 = concentración que deseamos (0,05%)

V2 = volumen final de dilución (120 ml)

La cantidad de Tween 80 fue extraída con una micropipeta y depositada en el vaso de precipitación donde se hizo la solución madre, posteriormente fue disuelto correctamente con la ayuda del agitador.

2. Se seleccionó 6 cajas Petri que presenten las mejores características del hongo como su coloración, esporulación y libre de contaminación.
3. En cada caja Petri se colocó agua destilada estéril para realizar un raspado con la asa de cien del contenido micelial.
4. El agua destilada estéril con los restos del hongo se depositó en un vaso de precipitación hasta alcanzar los 120 ml.

10.12.2.2. Conteo de esporas

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

1. La suspensión madre se agitó por 4 minutos en el agitador a 300 rpm (revoluciones por minuto) para obtener una muestra homogénea.
2. Se extrajo con la micropipeta 60 μ l (microlitro) y se depositó en la Cámara de Neubauer finalmente se colocó un cubre objeto y posteriormente se observó en el microscopio enfocando a 10X.
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.

Finalmente se aplicó la siguiente formula:

$$\text{Conteo de esporas} = \frac{\# \text{ total de esporas}}{\# \text{ de cuadrantes contabilizados}} \times \frac{10.000}{\# \text{ de subcuadrantes contabilizados}}$$

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

10.12.2.3. Elaboración de suspensiones a diferentes concentraciones

Una vez determinada la concentración de la suspensión madre se realizó diluciones para obtener las suspensiones a diferentes concentraciones de esporas requeridas, las mismas que fueron realizadas de la siguiente manera:

1. En tubos de ensayo enumerados se colocó 9 ml de agua destilada en cada uno.
2. Se realizó diluciones con la ayuda de una pipeta, extraer 1 ml de la suspensión madre y colocar en el tubo de ensayo #1, posteriormente de la dilución #1 se extrae 1 ml y es depositado en el tubo de ensayo #2, después se extrae 1 ml de la dilución #2 y es depositado en tubo de ensayo #3 de esta manera se continua la secuencia hasta obtener el número de diluciones requeridas. Cada dilución es agitada en el vórtex durante 2 - 4 minutos con el propósito de obtener una muestra homogénea.
3. Se volvió a realizar el conteo de esporas para cada dilución. Procedimiento en el que se estableció las concentraciones 10^5 , 10^7 , 10^9 .

Para obtener las concentraciones utilizadas para una aplicación en la investigación se requirió:

Concentración 10^5 6 cajas Petri con el hongo *B. bassiana*.

Concentración 10^7 4 cajas Petri adicionales a las anteriores con el hongo *B. bassiana*.

Concentración 10^9 5 cajas Petri adicionales a las anteriores con el hongo *B. bassiana*.

10.12.2.4. Elaboración de suspensiones a diferentes concentraciones y conteo de esporas de la *Beauveria bassiana* comercial

Para la utilización de la *B. bassiana* comercial se basó en el procedimiento anterior, con unos pequeños cambios por el estado en que se encontró la *B. bassiana* comercial (líquido).

Para la suspensión madre se empezó tomando 1 ml del producto en 120 ml de agua destilada estéril, obteniendo en el conteo de esporas la concentración de *Beauveria bassiana* comercial corresponde a 10^4 . Para obtener las concentraciones requeridas para la investigación se realizó diluciones añadiendo de 0,5ml del producto a la suspensión madre hasta obtener lo deseado.

Concentración 10^5 1,5 ml de *B. bassiana* comercial

Concentración 10^7 1ml adicional a lo anterior de *B. bassiana* comercial

Concentración 10^9 1,5 ml adicional a lo anterior de *B. bassiana* comercial

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

Previamente se realizó la colecta y alimentación de la plaga, bajo condiciones de laboratorio.

10.12.3.1. Colecta y alimentación de la plaga en sus estadios de larva, pupa y adulto

Para la colecta y la alimentación de la plaga se tomó en cuenta el estadio a evaluarse (adulto) en la investigación, la plaga fue alimentada desde su estadio larval hasta adulto en el laboratorio. A continuación, se describe el proceso y los materiales utilizados para la colecta y alimentación de la plaga:

Materiales:

- Mazorcas de maíz infestadas con larvas de la mosca de los estigmas
- 50 Tarrinas de plástico
- 25 Vasos cerveceros
- 1 Caja acrílica
- 5 Medias nylon
- 5m Elástico
- 1 Algodón
- 1000ml Agua purificada
- 600ml Miel
- 30ml Vitamina A y E
- 1lb Azúcar
- Estigmas de maíz
- 1 Rociador

Procedimiento:

1. Las mazorcas infestadas con la plaga se los obtuvo de pequeños agricultores de la parroquia de Aloasí perteneciente al cantón Mejía, Pichincha.
2. Se colocó en los vasos cerveceros seguidamente se cubrió con un trozo de media nylon y se lo sujetó firmemente con el elástico.
3. Los vasos fueron trasladados inmediatamente al laboratorio de Agronomía.

Para su alimentación se empleó la metodología utilizada por (Cipriano *et al*, 2010), donde menciona que las larvas y adultos se alimentaron con miel de abeja, azúcar, vitaminas y agua.

- Alimentación para la plaga en estadio larval

La dieta fue elaborada con miel de abeja, azúcar, vitaminas A y E y agua (600ml)

La plaga fue alimentada tres veces por semana con un rociador sobre las mazorcas recolectadas.

- Mantenimiento para la plaga en estadio de pupa

La plaga en estadio de pupa fue trasladada a una camará húmeda (algodón + agua purificada (400ml)) hasta que llegue a su estadio adulto.

- Alimentación de la plaga en estadio adulto

Los insectos fueron alimentados con la dieta empleada en el estadio larval.

El insecto al llegar a su estadio adulto fue trasladado a tarrinas plásticas donde contenía estigmas de maíz para asimilar su territorio en el campo, durante 10 días se les tuvo en adaptación.

10.12.3.2. Implementación del ensayo y Aplicación de *Beauveria bassiana*

A continuación, se describe el proceso y materiales utilizados:

Materiales:

- 28 Mazorcas de maíz que se encuentren en el estadio reproductivo R1 - R3.
- 28 Tarrinas plásticas blancas
- 7 Medias nylon
- 4 Cinta adhesiva doble faz
- 3m Elastico
- 3lt Agua purificada
- 2 Algodones
- 2 Rociadores

Procedimiento:

1. Se realizó una camará húmeda y sobre ella se colocó una mazorca de maíz.
2. La aplicación se realizó por aspersión, se tomó 10ml de la concentración y se depositó en un rociador pequeño.
3. La aspersión se realizó en dos lugares de cada unidad experimental, 5ml (30 roceadas) sobre la mazorca, luego se colocó trozos de cinta adhesiva doble faz en las

esquinas de la tarrina, después se cubrió con un trozo de media nylon donde se aplicó los 5ml (30 roceadas) restantes de la concentración.

4. Se introdució los insectos (15 moscas) por una abertura pequeña entre la tarrina y la media nylon y finalmente se sujetó correctamente con elástico para evitar que el insecto se escape.

Este proceso se utilizó con *B. bassiana* nativa y *B. bassiana* comercial con diferente rociador. La aplicación de las diferentes concentraciones de *Beauveria bassiana* se realizó tres veces.

10.13. Datos a Evaluar

10.13.1. Porcentaje de mortalidad de *Euxesta stigmatias*

Se realizó el conteo de insectos muertos diariamente de cada unidad experimental, se retiró a los insectos por una pequeña abertura entre la tarrina y la media nylon y se verificó la cantidad de insectos muertos.

Para calcular el porcentaje de mortalidad se empleó la siguiente fórmula, (Delgado, 2014).

$$\% \text{ Mc} = \frac{X - Y}{X} (100)$$

Dónde:

%Mc = Porcentaje de Mortalidad corregida.

X = Número de insectos vivos en el testigo.

Y = Número de insectos vivos en la unidad experimental.

10.13.2. Tiempo para controlar *Euxesta stigmatias*

Esta variable se registró mediante la relación que existe entre la suspensión a diferente concentración aplicada y el número de días a la muerte de los insectos en cada unidad experimental, hasta lograr un control de *Euxesta stigmatias*.

10.14. Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron registrados de forma ordenada 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.

Se realizó la Prueba de Tukey al 5% para determinar los rangos de significancia.

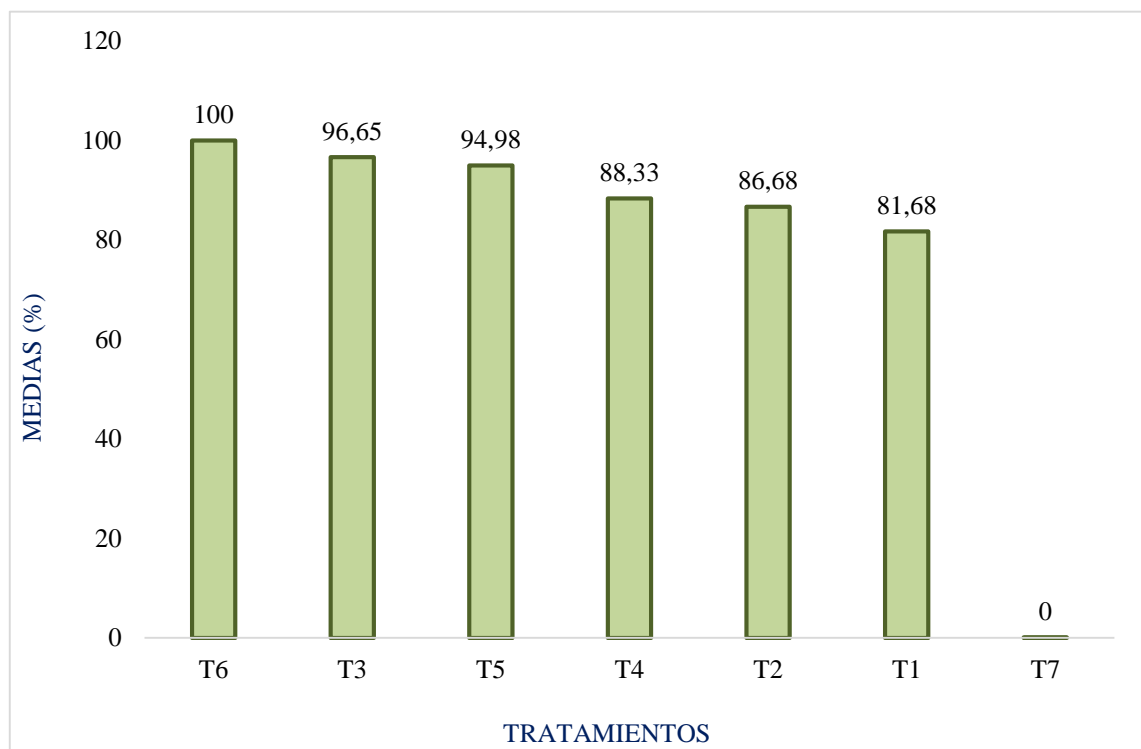
CAPÍTULO IV

11. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

11.1. Análisis de Mortalidad *Euxesta stigmatias*

En las siguientes tablas se presentan los datos de mortalidad de *Euxesta stigmatias* controladas con *Beauveria bassiana* en diferentes concentraciones bajo condiciones controladas.

Gráfico 4. Porcentaje de mortalidad total de los tratamientos



En el gráfico 4, se observa la mortalidad de los tratamientos, siendo el tratamiento 6 que corresponde a la aplicación de *Beauveria bassiana* nativa con la concentración 10^9 esporas/ml, el mejor con 100% de mortalidad de los insectos, seguido del tratamiento 3 con 96,65% de mortalidad en comparación al tratamiento 7 (Adicional) que obtuvo un 0% de mortalidad.

Tabla 9. ADEVA para la variable de porcentaje de mortalidad de *Euxesta stigmatias*

F.V.	SC	GI	CM	F	p-valor
Repeticiones	30,22	3	10,07	0,62	0,6103 n.s
Tratamientos	29594	6	4932	304,16	<0,0001 **
Factor A (<i>Beauveria bassiana</i>)	150,00	1	150,00	8,38	0,0096 *
Factor B (Concentraciones)	801,74	2	400,87	22,4	<0,0001 **
Factor A * Factor B	10,89	2	5,45	0,30	0,7414 n.s
Factorial vs Adicional	28632	1	28632	1766	<0,0001 **
Error	291,9	18	16,22		
Total	29916	27			
CV%					5,14

En la tabla 9, se puede observar que, si existen diferencias altamente significativas para los tratamientos, Factor B (concentraciones), para el factorial vs adicional y el Factor A (*Beauveria bassiana*). En el cual se muestra un coeficiente de variación de 5,14% lo que se interpreta que existió un correcto manejo de las unidades experimentales durante toda la fase de estudio.

Tabla 10. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos en la mortalidad de *Euxesta stigmatias*

Tratamientos	Medias	Rangos
T6 <i>Beauveria b.</i> nativa	C3	100 A
T3 <i>Beauveria b.</i> comercial	C3	96,65 A B
T5 <i>Beauveria b.</i> nativa	C2	94,98 A B C
T4 <i>Beauveria b.</i> nativa	C1	88,33 B C D
T2 <i>Beauveria b.</i> comercial	C2	86,68 C D
T1 <i>Beauveria b.</i> comercial	C1	81,68 D
T7 Adicional	0	E

En la tabla 10, se observa la prueba de Tukey al 5% para los tratamientos donde los resultados muestran cinco rangos de significancia estadística, teniendo al T6 que corresponde

a la aplicación de *Beauveria nativa* con la concentración 10^9 esporas/ml en el rango A con una media de 100% de mortalidad siendo el mayor, estos resultados son iguales con lo observado por (Guitiérrez,2014), quien en su experimento con *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* reveló que estos hongos con una concentración de 10^9 esporas/ml causan de 97 a 100 % de mortalidad. También existe resultados similares obtenidos por (López *et al*, 2014), quien en su experimento controló un insecto del género díptera obteniendo resultados similares (100%) con una aplicación por aspersión a una concentración de 10^9 esporas /ml.

Los resultados obtenidos para el tratamiento T5 que corresponde a la aplicación de *Beauveria bassiana* nativa con la concentración 10^7 esporas /ml, son similares a los datos obtenidos por (Cova *et al*, 2009), en su investigación con *B. bassiana* y *B. brongniartii* a una concentración de 10^7 esporas/ml, que alcanza un 95% de mortalidad. La misma concentración se empleó en la investigación, alcanzando un 94,98% de mortalidad en insectos.

Para la concentración 10^5 esporas/ml de *Beauveria bassiana* nativa (T4) se obtuvo un 88,33% de mortalidad de *Euxesta stigmatias* similar a los resultados obtenidos en una investigación realizada por (Segura y Carbajal, 2014), donde emplean la misma concentración obteniendo un 76% de mortalidad de las moscas.

Las concentraciones 10^5 , 10^7 y 10^9 esporas/ml de *Beauveria bassiana* causan la muerte de la mosca de los estigmas del maíz aumentando la mortalidad conforme aumenta la concentración de aplicación del hongo entomopatógeno empleado.

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

Tabla 11. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A

Factor A		Medias	Rangos
<i>Beauveria b.</i> nativa	B1	93,88	A
<i>Beauveria b.</i> comercial	B2	88,88	B

En la tabla 11, se observa la prueba de Tukey al 5% para el Factor A, donde los resultados muestran dos rangos de significancia estadística donde, la *Beauveria bassiana* nativa se

encuentra en el rango A con una media de 93,88% siendo la mayor, mientras que la *Beauveria bassiana* comercial se ubica en el rango B con una media de 88,88% de mortalidad siendo el menor.

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

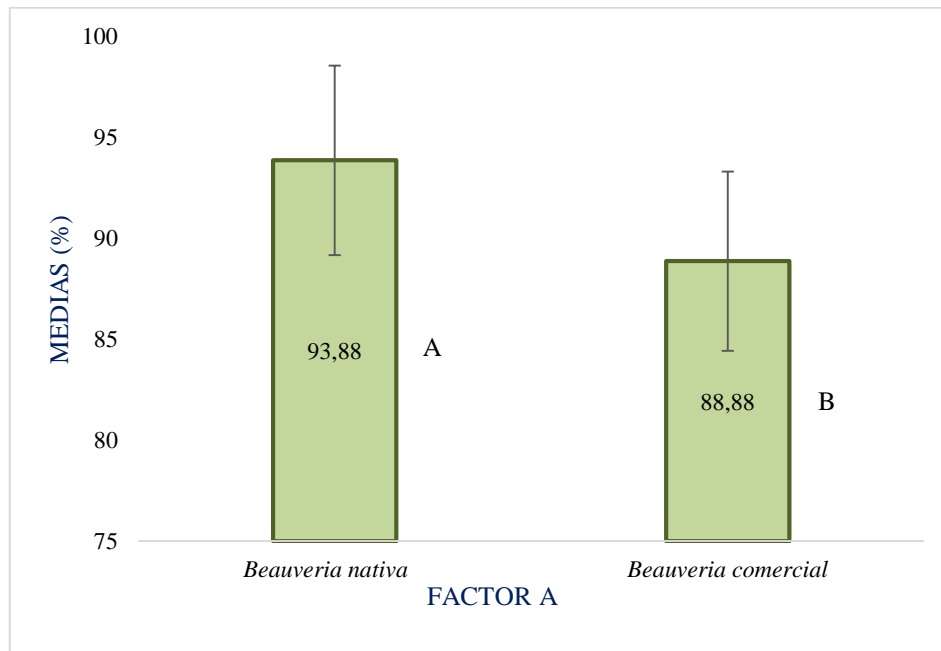
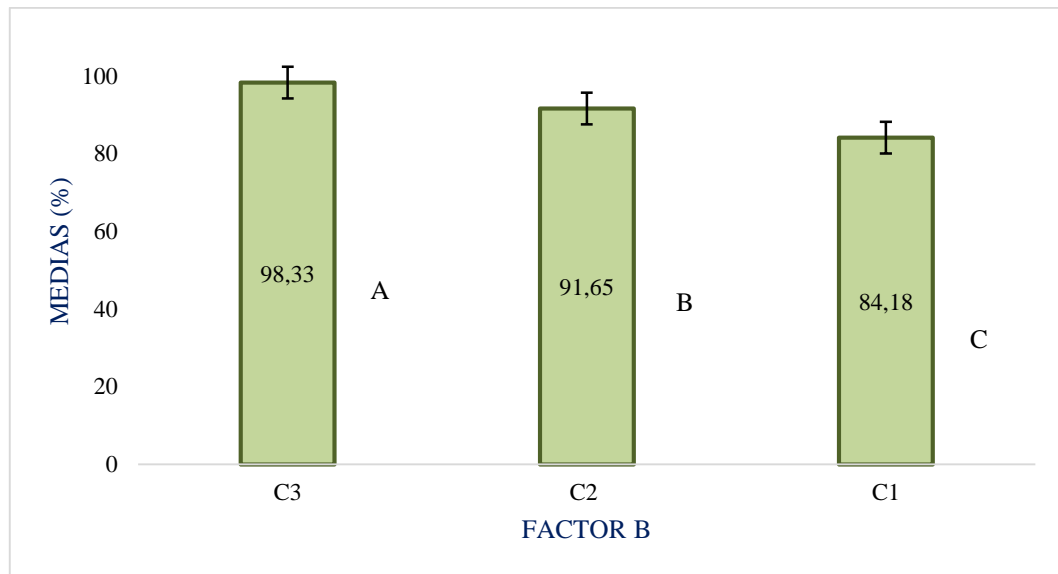


Tabla 12. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor B

Factor B		Medias	Rangos
Concentración 10^9 esporas/ml	C3	98,33	A
Concentración 10^7 esporas/ml	C2	91,65	B
Concentración 10^5 esporas/ml	C1	84,18	C

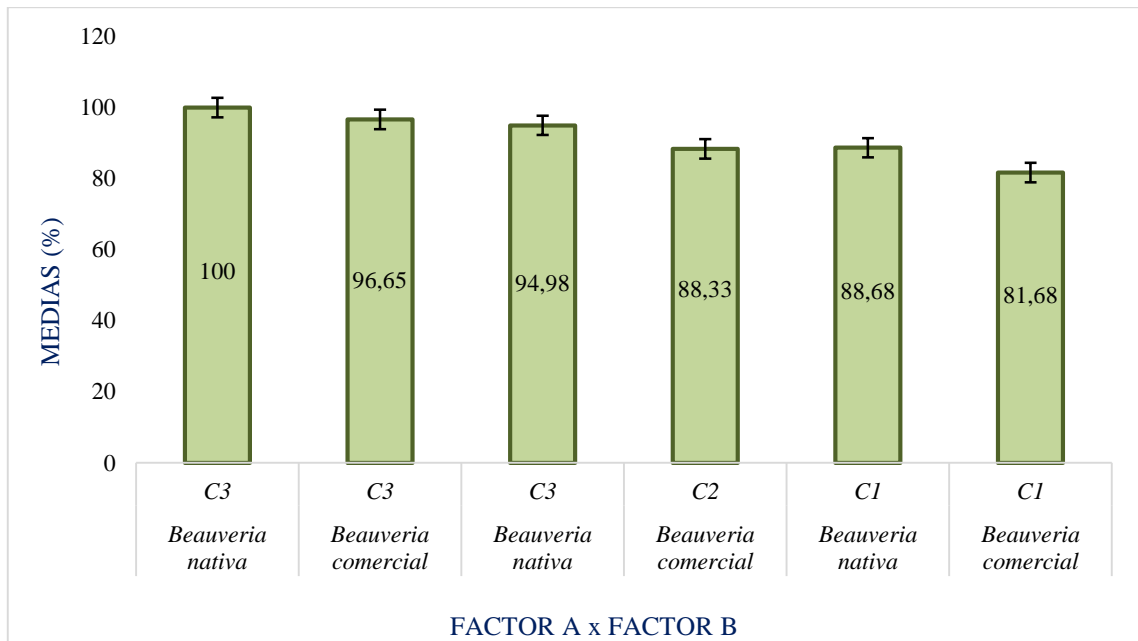
En la tabla 12, se observa la prueba de Tukey al 5% para el Factor B donde los resultados muestran tres rangos de significancia estadística donde, la C3 (Concentración 10^9 esporas/ml) se encuentra en el rango A con una media de 98,33% siendo el mayor, mientras que la C2 (Concentración 10^7 esporas/ml) se ubica dentro del rango B con una media de 91,65% y finalmente la C1 (Concentración 10^5 esporas/ml) con una media de 84,18% siendo el menor.

Gráfico 6. Prueba de Tukey, para la comparación de rangos para el Factor B**Tabla 13.** Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y Factor B.

Factor A	Factor B	Medias	Rangos
<i>Beauveria b. nativa</i>	10 ⁹ esporas/ml	100	A
<i>Beauveria b. comercial</i>	10 ⁹ esporas/ml	96,65	A B
<i>Beauveria b. nativa</i>	10 ⁷ esporas/ml	94,98	A B C
<i>Beauveria b. comercial</i>	10 ⁷ esporas/ml	88,33	B C D
<i>Beauveria b. nativa</i>	10 ⁵ esporas/ml	88,68	C D
<i>Beauveria b. comercial</i>	10 ⁵ esporas/ml	81,68	D

En la tabla 13, se observa la prueba de Tukey al 5% para la interacción entre Factor A y Factor B donde los resultados muestran cuatro rangos de significancia estadística donde, la *Beauveria bassiana* nativa con 10⁹ esporas/ml se encuentra en el rango A con una media de 100% siendo el mayor rango, después esta la *Beauveria bassiana* comercial con 10⁹ esporas/ml se ubica en el rango A-B con una media de 96,65% y por último tenemos al rango D con una media de 81,68% con la aplicación de *Beauveria bassiana* comercial con 10⁵ esporas/ml.

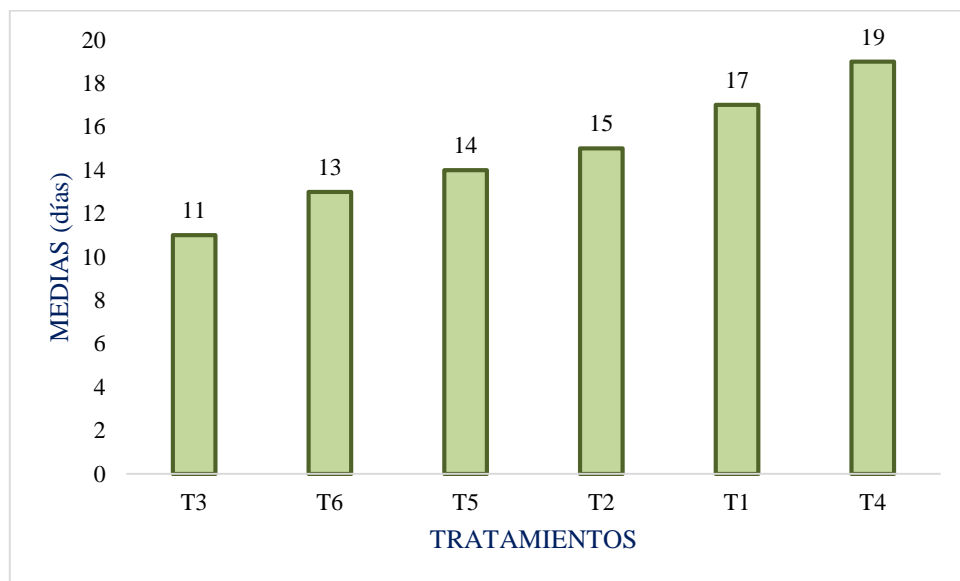
Gráfico 7. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y el Factor B



11.2. Análisis del tiempo para el control de *Euxesta stigmatias*

En las siguientes tablas se presentan los datos de tiempo transcurrido para el control de *Euxesta stigmatias* empleando *Beauveria bassiana* en diferentes concentraciones bajo condiciones controladas.

Gráfico 8. Promedio de tiempo para controlar *Euxesta stigmatias*



En el gráfico 8, se observa el tiempo que se requiere para controlar *Euxesta stigmatias* de los diferentes tratamientos, siendo el tratamiento 3 que corresponde a la aplicación de *Beauveria bassiana* comercial con la concentración 10^9 esporas/ml el mejor con un promedio de 11 días, seguido del tratamiento 6 que corresponde a la aplicación de *Beauveria bassiana* nativa con la concentración 10^9 esporas/ml con 13 días para controlar al insecto, mientras que el tratamiento 4 con la aplicación de *Beauveria bassiana* nativa con 10^5 esporas/ml obtuvo un promedio de 19 días.

Tabla 14. ADEVA para la variable tiempo para controlar *Euxesta stigmatias*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Repeticiones	0,68	3	0,23	0,21	0,8895 n.s
Tratamientos	288,71	6	48,12	44,26	<0,0001 **
Factor A (<i>Beauveria bassiana</i>)	9,38	1	9,38	8,33	0,0098 *
Factor B (Concentraciones)	174,33	2	87,17	77,48	<0,0001 **
Factor A * Factor B	12	2	6	5,33	0,0152 *
Factorial vs Adicional	93,01	1	93,01	85,54	<0,0001 **
Error	19,57	18	1,09		
Total	308,96	27			
CV%					6,71

En la tabla 14, se puede observar que, si existe diferencias altamente significativas para los tratamientos, el Factor B, para el factorial vs adicional, Factor A y Factor A * Factor B. En el cual se muestra un coeficiente de variación de 6,71% lo que se interpreta que existió un correcto manejo de las unidades experimentales durante la fase de estudio.

Tabla 15. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos de promedio de tiempo para controlar *Euxesta stigmatias*

Tratamientos			Medias	Rangos	
T3	<i>Beauveria b.</i> comercial	C3	11	A	
T6	<i>Beauveria b.</i> nativa	C3	13	A	B
T5	<i>Beauveria b.</i> nativa	C2	14	B	
T2	<i>Beauveria b.</i> comercial	C2	15	B	
T1	<i>Beauveria b.</i> comercial	C1	17	C	
T4	<i>Beauveria b.</i> nativa	C1	19	C	D

En la tabla 15, se observa la prueba de Tukey al 5% para los tratamientos, donde los resultados muestran cuatro rangos de significancia estadística, teniendo al tratamiento 3 que corresponde a la aplicación de *Beauveria bassiana* comercial con la concentración 10^9 esporas/ml en el rango A con un promedio de 11 días siendo el mejor, mientras que el tratamiento 6 con la aplicación de *Beauveria bassiana* nativa con la concentración 10^9 esporas/ml se ubica en el rango A-B con un promedio de 13 días y finalmente se encuentra el tratamiento 4 con la aplicación de *Beauveria bassiana* nativa con la concentración 10^5 esporas/ml en el rango C-D con un promedio de 19 días para el control de la mosca de los estigmas.

Los resultados para la concentración 10^9 esporas/ml obtenidos no son similares al resultado obtenido por (Rimachi, 2018), en su ensayo con *Beauveria bassiana* nativa obtuvo un promedio de 11 días para controlar, y al comparar con el resultado obtenido en la presente investigación se puede observar que existe 2 días de diferencia.

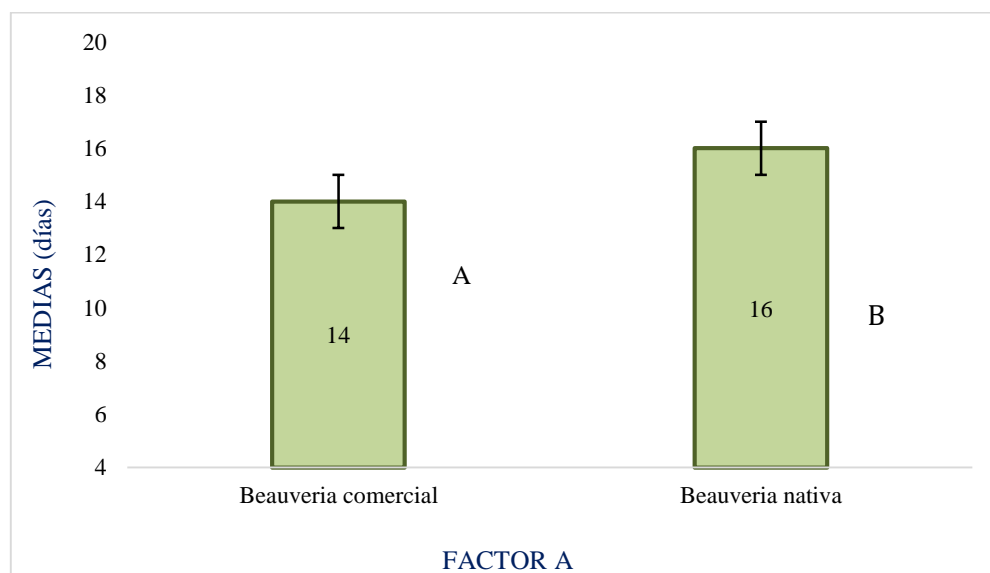
El tiempo para controlar *Euxesta stigmatias* empleando *Beauveria bassiana* nativa con la concentración 10^7 esporas/ml son similares a los resultados obtenidos por (Segura y Carbajal, 2014), en su ensayo con *Beauveria bassiana* nativa, obtuvieron un promedio de 14 días. Además, se observa que en un promedio de 19 días se controla *Euxesta stigmatias* con la aplicación de la concentración 10^5 esporas/ml.

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 tiempo para controlar *Euxesta stigmatias*.

Tabla 16. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A

Factor A		Medias	Rangos
<i>Beauveria bassiana</i> comercial	B2	14	A
<i>Beauveria bassiana</i> nativa	B1	16	B

En la tabla 16, se observa la prueba de Tukey al 5% para el Factor A donde los resultados muestran dos rangos de significancia estadística, donde la *Beauveria bassiana* comercial se encuentra en el rango A con un promedio de 14 días para controlar *Euxesta stigmatias*, mientras que, la *Beauveria bassiana* nativa se ubica en el rango B con un promedio de 16 días para controlar, existiendo una diferencia de dos días.

Gráfico 9. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor A**Tabla 17.** Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor B

Factor B		Medias	Rangos
Concentración 10^9 esporas/ml	C3	12	A
Concentración 10^7 esporas/ml	C2	14	B
Concentración 10^5 esporas/ml	C1	18	C

En la tabla 17, se observa la prueba de Tukey para el Factor B, donde los resultados muestran tres rangos de significancia estadística, donde la C3 (Concentración 10^9 esporas/ml) se

encuentra en el rango A con un promedio de 12 días, mientras que la C2 (Concentración 10^7 esporas/ml) se ubica en el rango B con un promedio de 14 días y por último, tenemos la C1 (Concentración 10^5 esporas/ml) con un promedio de 18 días para controlar *Euxesta stigmatias*.

Gráfico 10. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para el Factor B

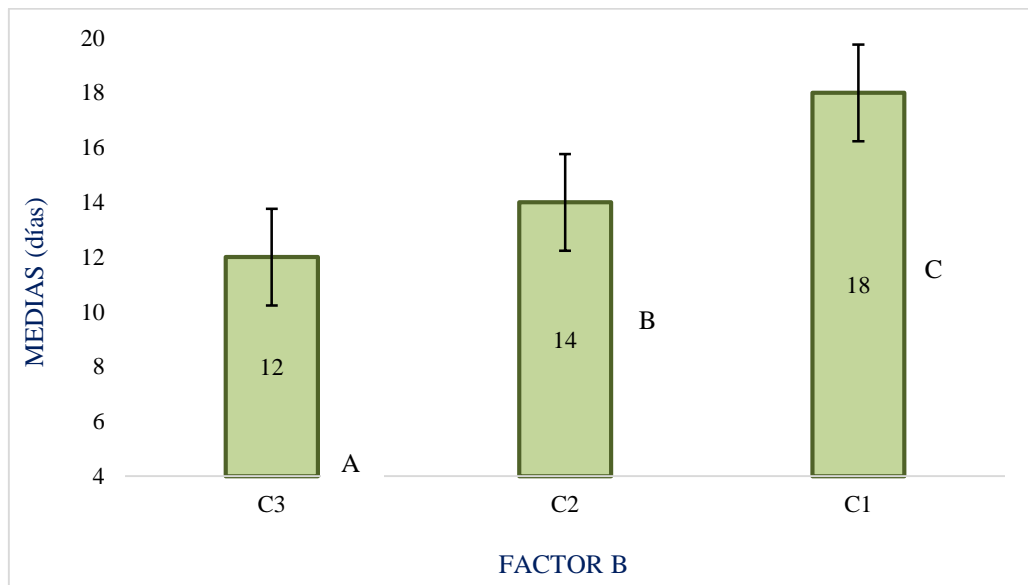


Tabla 18. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y Factor B.

Factor A	Factor B	Medias	Rangos
<i>Beauveria b. comercial</i>	10^9 esporas/ml	11	A
<i>Beauveria b. nativa</i>	10^9 esporas/ml	13	A B
<i>Beauveria b. nativa</i>	10^7 esporas/ml	14	B
<i>Beauveria b. comercial</i>	10^7 esporas/ml	15	B
<i>Beauveria b. comercial</i>	10^5 esporas/ml	17	C
<i>Beauveria b. nativa</i>	10^5 esporas/ml	19	C

En la tabla 18, se observa la prueba de Tukey para la interacción entre el Factor A y el Factor B donde los resultados muestran tres rangos de significancia estadística, teniendo a *Beauveria bassiana* comercial con 10^9 esporas/ml se encuentra en el rango A con un promedio de 11 días siendo el mejor, posteriormente la *Beauveria bassiana* nativa con 10^9 esporas/ml se ubica en el rango A-B con un promedio de 13 días y finalmente el rango C con

un promedio de 19 días con la aplicación de la *Beauveria bassiana* comercial con 10^5 esporas/ml.

Gráfico 11. Prueba de Tukey 5%, para la comparación de rangos para la interacción entre el Factor A y el Factor B

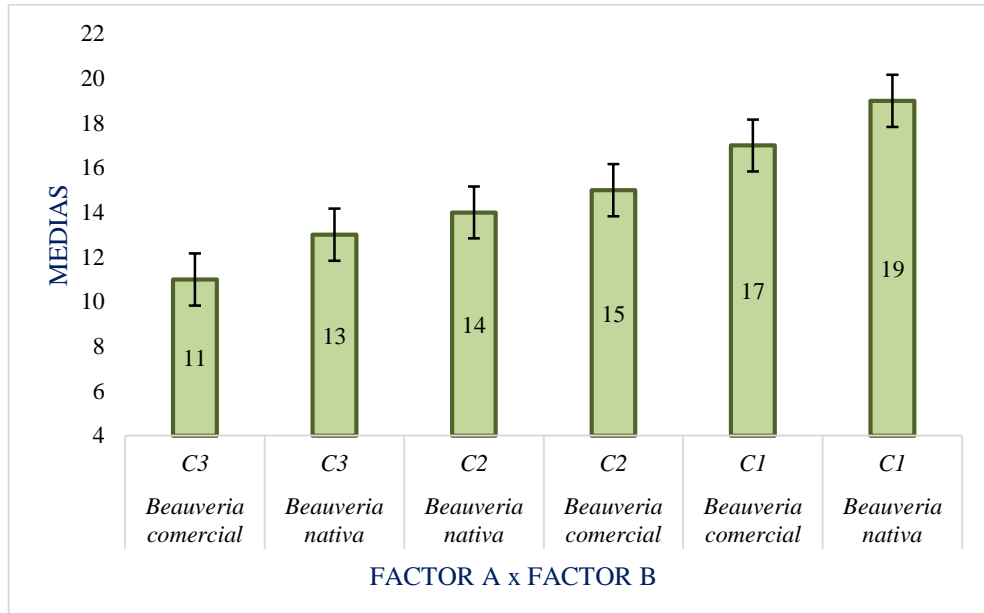
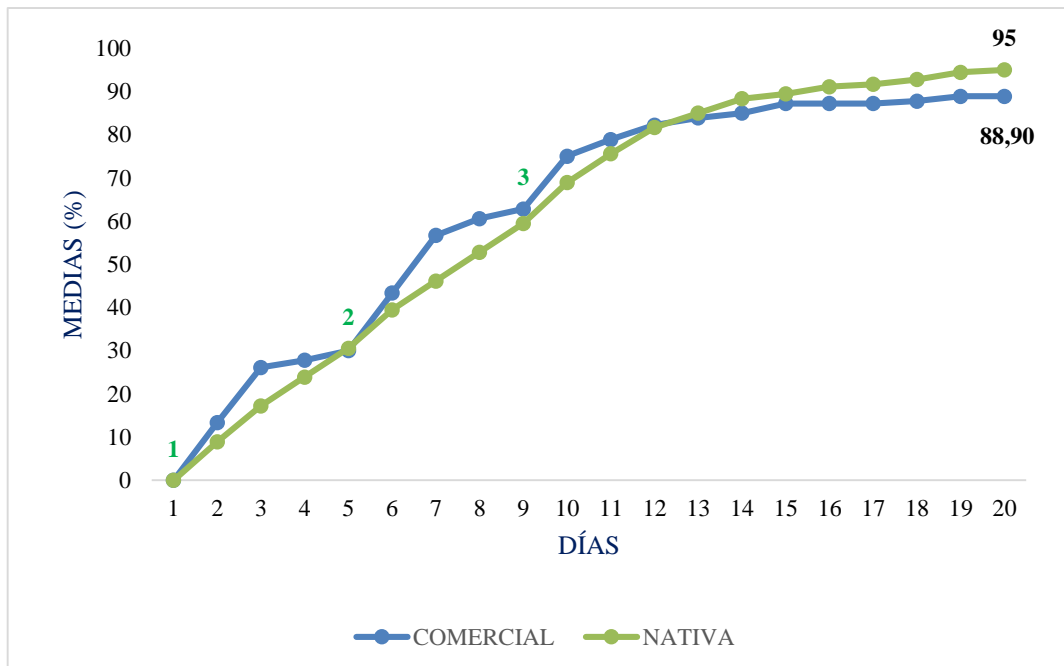


Gráfico 12. Comportamiento de la *Beauveria bassiana* (nativa y comercial) durante la investigación



En el gráfico 12, se observa el comportamiento de *B. bassiana* nativa y *B. bassiana* comercial durante los días de control para *Euxesta stigmatias* con tres aplicaciones en un intervalo de cuatro días observando que, sus comportamientos se asimilan, lo que se puede interpretar que la *Beauveria bassiana* que se mantiene en el Laboratorio de Agronomía es competitiva con la comercial para controlar *Euxesta stigmatias*.

Hentz y Nuessly, (2007), realizaron un ensayo con adultos de *Euxesta stigmatias*, donde con una aplicación de cuatro diferentes insecticidas de síntesis química (organofosforados) obtuvieron una mortalidad de 30% de los insectos. Otra investigación realizada por (Arenillo, 2017), con dos aplicaciones en un intervalo de 3 días, de los mismos grupos de insecticidas empleados en el ensayo anterior obtuvo un 58,86% de mortalidad, el mismo autor menciona que, para el control de la mosca de los estigmas del maíz se debe realizar tres aplicaciones durante los primeros 15 días para llegar a un control de 90 – 100% de mortalidad de *Euxesta stigmatias*.

Para esta investigación se empleó tres aplicaciones con intervalos de 4 días obteniendo un 95% de mortalidad con *Beauveria bassiana* nativa y un 88,90% de mortalidad con *Beauveria Bassiana* comercial.

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

12.1. Impactos Técnicos

La utilización de *Beauveria bassiana* para controlar plagas como la mosca de los estigmas (*Euxesta stigmatias*) es considerado una biotecnología, con esta investigación y con sus resultados se puede transmitir a los agricultores con el propósito que les beneficie; además a los estudiantes de la carrera de agronomía un conocimiento en la reactivación, multiplicación y aplicación del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*.

12.2. Impactos Sociales

Con este proyecto de investigación tenemos un impacto social positivo debido a los resultados obtenidos con los cuales se podrá hacer conciencia en los docentes de la carrera de agronomía, estudiantes a realizar investigaciones nuevas para el control de plagas de diferentes cultivos, a los agricultores que se dedican a la producción de maíz para optar por

un control biológico respetando el ambiente que nos rodea, así como también a los consumidores.

12.3. Impactos Ambientales

Con el desarrollo de esta investigación se contribuye en el cuidado del medio ambiente al proporcionar una alternativa de control de plagas. Con el uso del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, permitirá contrarrestar los efectos arrasadores de productos tóxicos para el medio ambiente, alimentos sanos, saludables y sin contaminates.

12.4. Impactos Económicos

Al utilizar el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* se está amparando la integridad del cultivo a ser cosechado, lo que beneficiaría directamente al agricultor al contrarrestar pérdidas económicas al presentarse *Euxesta stigmatias*. Además, se reduciría los costos de producción con respecto a la compra de los insecticidas de síntesis químico.

CAPITULO V

13. CONCLUSIONES

- Se identificó que el mejor tipo fue *Beauveria bassiana* nativa para el control de la mosca de los estigmas (*Euxesta stigmatias*), en estadio adulto.
- Se determinó que la mejor concentración fue 10^9 esporas/ml para el control de la mosca de los estigmas (*Euxesta stigmatias*), en estadio adulto.
- El tratamiento seis fue el mejor con la aplicación de *Beauveria bassiana* nativa con la concentración 10^9 esporas/ml, obteniendo un 100% de mortalidad de los insectos.

14. RECOMENDACIONES

- Establecer métodos de conservación de hongos con potencial biocontroladores para futuras investigaciones.
- Realizar una investigación bajo condiciones controladas con la concentración 10^9 esporas/ml de *Beauveria bassiana* para determinar una adecuada dosificación para el control de *Euxesta stigmatias*.
- Realizar un ensayo en campo empleando la concentración 10^9 esporas/ml de *Beauveria bassiana*, para comparar si los resultados obtenidos bajo condiciones controladas se asimilan o su eficiencia disminuye.

15. BIBLIOGRAFÍA

- Albarracín, V. G. (2007). Producción de *Spalangia sp.* (hymenóptera: pteromalidae), para el control biológico de moscas. Obtenido de <https://www.engormix.com/avicultura/articulos/produccion-spalangia-hymenoptera-pteromalidae-t26986.htm>
- Arenillo, R. (2017). Evaluación de daños producidos por *Euxesta spp.* (Díptera:Ulidiidae), en la mazorca de maíz suave, en dos localidades de Pichincha - Ecuador. Obtenido de <file:///D:/TESIS/T-IASA%20I-005359.pdf>
- Arenillo, R. (2017). Evaluación de daños producidos por *Euxesta spp.* (Diptera: Ulidiidae) en la mazorca de maíz suave, en dos localidades de Pichincha - Ecuador. Obtenido de <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/13585/1/T-IASA%20I-005359.pdf>
- Barraza, E. (2008). La mosca de los estigmas, la nueva plaga de la mazorca. Obtenido de <https://www.laestrella.com.pa/cafe-estrella/planeta/180204/mosca-nueva-plaga-mazorca-estigmas>
- Caballero, W. d. (2014). Producción y aplicación del hongo *Beauveria bassiana* en el Laboratorio de control biológico del ITZM. Obtenido de http://www.itzonamaya.edu.mx/web_biblio/archivos/res_prof/for/for-2014-5.pdf
- Chiriboga, H., Gómez, G., & Garcés, K. (2015). Protocolos para formulación y aplicación del bioinsumo. *Beauveria bassiana*, hongo entomopatógeno para el control biológico de hormigas cortadoras.
- Cova, L. J. (2009). Efecto de *Beauveria bassiana* y *Beauveria brongniartii* en el control de moscas (*Musca domestica*) en condiciones de laboratorio y en galpones avícolas. Obtenido de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482009000100012
- Delgado, N. (Mayo de 2014). Evaluación de la eficacia de un insecticida biológico mediante análisis Probit. http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Zoologia_Agricola/Manejo_Integrado/Competencia3/Metodos_para_realizar_Analisis_Probit_-_GU%C3%8DA.pdf.
- Earth, G. (2022). Mapa de la Universidad Técnica de Cotopaxi Campus Salache. Obtenido de <https://earth.google.com/web/search/Universidad+T%c3%a9cnica+de+Cotopaxi,+Ca>

mpus+Salache/@-0.9994491,-

78.6191374,2704.12372296a,1056.36232403d,35y,0h,45t,0r/data=CpsBGnESawolM
Hg5MWQ0NjI1NjNhMzVhYTk5OjB4YTNhMDU5YWRRhZTkWZmE2MxlDiNCtfP
vvvyHALnyn6dTwCowVW5pd

FAO. (2022). Introducción al maíz y su importancia. Obtenido de <https://www.fao.org/3/x7650s/x7650s02.htm>.

Fassio, A., & Carriquiry, A. (2008). Aspectos sobre fenología del maíz. Obtenido de <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/2844/1/111219240807135855.pdf>

García, C., & Camacho, J. (2010). Mosca de los estigmas del maíz: comportamiento y control biológico. Obtenido de <file:///C:/Users/pao%20caiza/Downloads/Mosca%20de%20los%20estigmas%20del%20maiz,%20comportamiento%20y%20control%20biologico.pdf>

García, M. R. (Abril de 2002). Desarrollo de formulados asperjarles de *Beauveria bassiana* utilizando diversos polimeros. Obtenido de <http://eprints.uanl.mx/7235/1/1080087092.PDF>

Giles, F. (mayo de 2014). Control de la Mosca de los estigmas del maíz durante las últimas etapas del ciclo de cultivo. Obtenido de <https://www.hortalizas.com/proteccion-de-cultivos/control-de-la-mosca-de-los-estigmas-del-maiz-durante-las-ultimas-etapas-del-ciclo-de-cultivo/#:~:text=La%20Moscas%20de%20los%20estigmas,una%20p%C3%A9rdida%20de%20rendimiento%20total>.

Gomez, H. (1992). Programa Nacional de Control Biológico con hongos entomopatógenos. 15-16. Obtenido de <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/1069/T-UTB-FACIAG-AGR-000207.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Grande, C., & Orozco, B. (2012). Producción y procesamiento del maíz en Colombia. 97 - 110.

Guitiérrez, D. C. (2014). Control biológico de la mosca de los estigmas del maíz. Obtenido de <https://mail-attachment.googleusercontent.com/attachment/u/2/?ui=2&ik=699574fe46&attid=0.2&permmsgid=msg-f:1738729985102380144&th=182135b59258fc70&view=att&disp=inline&saddbat=>

- ANGjdJ85rQIj8TL-ukLshxdL2-
bKIzbXtRx_Tec1Ob6cqtrRUvSuji9SBvJhTt5auzVAeGgQTmAUYXR
- Hernández, J. (2019). Situación del cultivo de maíz en Ecuador. 2-3. Obtenido de <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5457/1/iniapeppdf62.pdf>
- Hidalgo, M. (2018). Evaluación morfológica y fisiológica de arquetipos de maíz. 3-11. Obtenido de <https://www.biopasos.com/biblioteca/Evaluacion-morfologica-fisiologica-maiz-tesis.pdf>
- Huepe, S., & Vargas, H. (1986). Estudio morfológico y ecológico de *Euxesta* en cultivares de maíz. Obtenido de http://www.insectachile.cl/rchen/pdfs/1986v14/Huepe_et_al_1986.pdf
- INIAP. (1974). Periodo de la emisión de estigmas de cuatro variedades de maíz y susceptibilidad de las mismas al ataque de *Helicoverpa sp.* y *Euxesta eluta* Loewe. Obtenido de <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/4964>
- INIAP. (2021). Guía para la producción sustentable de maíz en la Sierra ecuatoriana. 71- 73.
- López, P. A. (2014). Efecto de *Beauveria bassiana* sobre la mosca *Anastrepha sp.* y larvas del cogollero *Spodoptera frugiperda* en condiciones de laboratorio. Obtenido de [file:///C:/Users/pao%20caiza/Desktop/Downloads/644-Texto%20del%20art%20C3%ADculo-1491-1-10-20140829%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/pao%20caiza/Desktop/Downloads/644-Texto%20del%20art%20C3%ADculo-1491-1-10-20140829%20(2).pdf)
- Merino, G. (2003). Identificación científica, Investigaciones y observaciones sobre algunos insectos del Ecuador. Quito. Obtenido de <repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5138/1/iniapsc364.pdf>
- Noboa, G., & Quelal, A. (2015). Este hongo fue descrito por primera vez por Jean Beauverie en 1911 con el nombre de *Botrytis bassiana*. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9400/1/UPS-QT07115.pdf>
- Nuessly, G., & Hentz, B. (2007). Resistencia de *Spodoptera frugiperda* y *Euxesta stigmatias* en maíz dulce a diferentes insecticidas de síntesis química. Florida.
- Ortega, I. S. (2014). Aspectos botánicos y taxonómicos del maíz. 152-153. Obtenido de <https://eprints.ucm.es/id/eprint/27974/1/MAIZ%20I.pdf>
- Ortiz, C. (2009). Producción artesanal de un bioinsecticida a base del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*. 16.
- Otegui, F. (2004). Origen del maíz (*Zea mays*).

- Ramírez, H., Granja, A., Aguila, E., & Cantoral, M. (2014). Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos. 6. Obtenido de <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2017/09/Manual-de-Producci%C3%B3n-y-Uso-de-Hongos-Entomopat%C3%B3genos.pdf>
- Reyes, C. (Febrero de 2015). Mosquita pinta - *Euxesta stigmatias*. Obtenido de <https://panorama-agro.com/?p=543>
- Rimachi, M. (2018). Virulencia de una cepa nativa de *Beauveria bassiana* sobre un crisomérido fitófago (*Syphrea sp.*) del cultivo de sacha inchi (*Plukenetia volubilis L.*). Obtenido de <https://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/3025>
- Segura, S., & Carbajal, A. (2014). Efecto de tres concentraciones de *Beauveria bassiana* (balsamo) vuillemin sobre el desarrollo de larvas de *Stegasta sp.* (chambers), en condiciones de laboratorio. Obtenido de <file:///C:/Users/pao%20caiza/Desktop/Downloads/1806-Texto%20del%20art%C3%ADculo-5239-1-10-20180424.pdf>
- Téllez, J., & Cruz, R. (2009). Mecanismos de Acción y Respuesta en la Relación de Hongos Entomopatógenos e Insectos. *Revista Mexicana de Micología*.
- Uriarte, J. (Marzo de 2019). Características del maíz. Obtenido de <https://www.caracteristicas.co/maiz/#ixzz7Z2EjiFTI>
- Valladares, C. A. (Julio de 2010). Taxonomía y Botánica de los Cultivos de grano. Obtenido de <https://curlacavunah.files.wordpress.com/2010/04/unidad-ii-taxonomia-botanica-y-fisiologia-de-los-cultivos-de-grano-agosto-2010.pdf>
- Yusmaira, E., & Yaracelis, H. (Febrero de 2011). Morfología de la planta de maíz. Obtenido de <http://elmaizdelzulia.blogspot.com/2011/02/morfologia-de-la-planta-de-maiz.html>

16. ANEXOS

Anexo 1. Hoja de vida del Tutor



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.

Anexo 2. Hoja de vida del Lector 1**INFORMACION PERSONAL****Nombres:** Edwin Marcelo Chancusig Espín**Fecha de nacimiento:** 10/02/1962**Cédula de ciudadanía:** 0501148837**Estado civil:** Casado**Número telefónico:** 0997391825**Tipo de discapacidad:** Ninguna**# De carnet CONADIS:** Ninguna**E-mail:** edwin.chancusig@utc.edu.ec**FORMACIÓN ACADÉMICA****Ingeniero Agrónomo** UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**Magister en Desarrollo Humano y Sostenible** UNIVERSIDAD BOLIVARIANA**Magister en Gestión En Desarrollo Rural Y Agricultura Sustentable**

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA-TINGO MARIA- PERÚ

HISTORIAL PROFESIONAL**Facultad Académica en la que labora:** Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales (CAREN)**AREA DEL CONOCIMIENTO EN LA CUAL SE DESEMPEÑA:**

Docente de las Asignaturas de: Agroecología y Agricultura Orgánica y MIC, Seminario de Agroforestería.

Anexo 3. Hoja de vida del Lector 2**INFORMACIÓN PERSONAL****Nombres:** Cristian Santiago Jiménez Jácome**Fecha de nacimiento:** 05/06/1980**Cédula de ciudadanía:** 050194626-3**Estado civil:** Casado**Número telefónico:** 32723689**Tipo de discapacidad:** Ninguna**# De carnet CONADIS:** Ninguna**E-mail:** santiago.jimenez@utc.edu.ec**FORMACIÓN ACADÉMICA****TERCER NIVEL:** Universidad Técnica de Cotopaxi: Ing. Agronomo: Agricultura: Ecuador.**4TO NIVEL – Diplomado:** Universidad Tecnológica Equinoccial: Diploma Superior en Investigación y Proyectos: Investigación: Ecuador.**HISTORIAL PROFESIONAL**

Facultad Académica en la que labora: Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

AREA DEL CONOCIMIENTO EN LA CUAL SE DESEMPEÑA:

Agricultura- investigación.

Anexo 4. Hoja de vida del Lector 3**INFORMACIÓN PERSONAL****Nombres:** Emerson Javier Jácome Mogro**Fecha de nacimiento:** 11/06/1974**Cédula de ciudadanía:** 050197470-3**Estado civil:** Casado**Número telefónico:** 0987061020**Tipo de discapacidad:** Ninguna**# De carnet CONADIS:** Ninguna**E-mail:** emerson.jacome@utc.edu.ec**FORMACIÓN ACADÉMICA****TERCER NIVEL:** U. Central del Ecuador: Ingeniero Agrónomo: Agricultura:Ecuador.**4TO NIVEL:**Maestría: U. Técnica de Cotopaxi: Magister en Gstión de la Producción.

Diplomado en educación intercultural y desarrollo sustentable.

HISTORIAL PROFESIONAL

Facultad Academica en la que labora: Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

AREA DEL CONOCIMIENTO EN LA CUAL SE DESEMPEÑA:

Agricultura-Investigacion

Anexo 5. Ficha técnica del producto Ento – Bass

ENTO-BASS Controlador Biológico de Insectos Patógenos



FICHA TÉCNICA

ENTO-BASS es un insecticida biológico de uso agrícola compuesto por esporas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en una concentración mayor a 1×10^8 UFC/ml. Este producto **no** es un organismo genéticamente modificado.

COMPOSICION

Beauveria bassiana $\geq 1 \times 10^8$ UFC/ml

CARACTERISTICAS GENERALES

ENTO-BASS es un bioinsecticida que actúa por contacto, mediante acción mecánica destruyendo la cutícula de los insectos, provocando su deshidratación y absorbiendo los nutrientes del interior de sus células.

Beauveria bassiana es un hongo capaz de infectar a más de 200 especies de insectos. Es de apariencia polvosa, de color blanco algodonoso o amarillento cremoso. El ciclo de vida de este hongo consta de dos fases: la patogénica y la saprofitica. A diferencia de bacterias y virus, *B. bassiana* puede infectar al insecto, no sólo a través del intestino, sino también por los espiráculos y aberturas naturales, especialmente en forma directa por penetración del integumento, lo que le permite infestar a los huéspedes (insectos) independientemente de sus hábitos alimenticios.

El desarrollo del hongo se puede dividir en varias etapas:

- **Adhesión:** contacto entre el hongo y el insecto cuando la espora es depositada en la superficie del insecto.
- **Germinación:** inicia el desarrollo de su tubo germinativo y un órgano sujetador (llamado apresorio), que le permite fijarse a la superficie del insecto.
- **Penetración:** mediante mecanismos físicos (acción de presión sobre la superficie de contacto) y químicos (acción de enzimas: proteasas, lipasas y quitinasas), el hongo ingresa en el insecto a través de las partes blandas.
- **Producción de toxinas:** el hongo ramifica sus estructuras y coloniza las cavidades de hospedante. Produce la toxina llamada Beauvericina que ayuda a destruir el sistema inmunológico del patógeno, lo que facilita la invasión del hongo a todos los tejidos. Otras toxinas que secreta son beauveridín, beauverolides, bassianolide, isarolides, ácido oxálico y los pigmentos tenellina y bassianina que han mostrado cierta actividad insecticida.
- **Muerte del insecto:** Muerte del patógeno, fin de la fase parasítica, dando así inicio a la fase saprofitica.
- **Multiplicación y crecimiento:** el hongo multiplica sus unidades infectivas (hifas) y estas de manera simultánea crecen, terminando por invadir todos los tejidos del insecto y haciéndose resistente a la descomposición, aparentemente por los antibióticos segregados por el hongo.
- **Penetración del interior hacia el exterior:** Solo si las condiciones ambientales lo permiten el hongo penetra las partes blandas del insecto y emerge hacia el exterior.
- **Producción de nuevas unidades reproductivas:** Al contar con las condiciones para su desarrollo inicia la producción de nuevas unidades reproductivas o conidios.

PRESENTACION

ENTO-BASS es una formulación líquida de suspensión concentrada ($\geq 1 \times 10^8$ UFC/ml) disponible en envases de 1, 10 y 20 litros.

DOSIS RECOMENDADA

Mantenimiento:

2 - 4 litros/hectárea cada 15 días

Infecciones/Infestaciones:

6 - 8 litros / hectárea cada 7 días

MODO DE EMPLEO

Agitar el producto antes de usar. Diluir la dosis de aplicación en 100-200 litros de agua para una hectárea.

PRECAUCIONES

Usar ropa de protección, protector facial y guantes durante la aplicación del producto. Evitar el contacto con la piel y ojos. No ingerir alimentos, fumar o beber durante el manejo del producto.

ENTO-BASS

Controlador Biológico de Insectos Patógenos



RECOMENDACIONES DE USO

Evaluar el nivel de infestación de la población de la plaga en el cultivo, antes de la aplicación de **ENTO-BASS**. La programación de aplicación no debe coincidir con aplicaciones de fungicidas o azufrados. Utilizar agua potable, de río o de pozo (las aguas turbias, de río o de pozo, se deben dejar reposar por lo menos 30 minutos antes de utilizarla). Para obtener mejores resultados, la aplicación debe hacerse en horas de la tarde cuando la radiación solar no es muy fuerte. Se utilizan equipos (mochilas) convencionales, que no deben tener desgaste ni daños en el orificio de la boquilla de tal manera que se obtenga una aplicación uniforme. Los equipos deberán ser nuevos o limpios, libres de residuos químicos, los cuales inhiben la viabilidad de las conidias. Al ser un insecticida de contacto, se debe asegurar que cubra de forma homogénea la planta, sobre todo en las partes donde está la plaga. Se recomiendan boquillas de alta presión para que se forme una niebla y gotas finas. El mejor momento de aplicación es al inicio de la infestación. Tener en cuenta la velocidad del viento al momento de aplicar, viento suave o sin ella favorece la aplicación. En caso de contacto prolongado con la piel, lavarse con agua y jabón. No es irritante. Después de la aplicación, báñese con abundante agua y jabón y cámbiese la ropa antes de consumir agua o alimentos. Lave la ropa y los zapatos antes de volver a usarlos. En caso de contacto con los ojos, lavar inmediatamente los ojos con abundante agua, por lo menos durante 15 minutos, manteniendo los párpados abiertos y recibir atención médica si es necesaria. En caso de ingestión, tomar abundante agua, y consulte al médico si es necesario y muestre la etiqueta del producto.

COMPATIBILIDAD

ENTO-BASS es un producto amigable con el ambiente, es inofensivo para la planta, humanos y animales.

Es compatible con insecticidas, fertilizantes foliares, bactericidas y productos biológicos a base de bacterias y hongos. El producto no debe ser mezclado con fungicidas ni productos químicos alcalinos.

ALMACENAMIENTO

Almacenar **ENTO-BASS** en un lugar fresco, ventilado y que no este expuesto a la luz directa del sol.

CLASIFICACION TOXICOLOGICA: Grupo IV. Ligeramente tóxico.

REGISTO AGROCALIDAD: en trámite

ELABORADO Y COMERCIALIZADO POR:



CONTACTOS:

Ventas

ventas@groenruna.com

Telf. 0988771614

gerencia@groenruna.com

Telf. 0987273132

 @groenruna

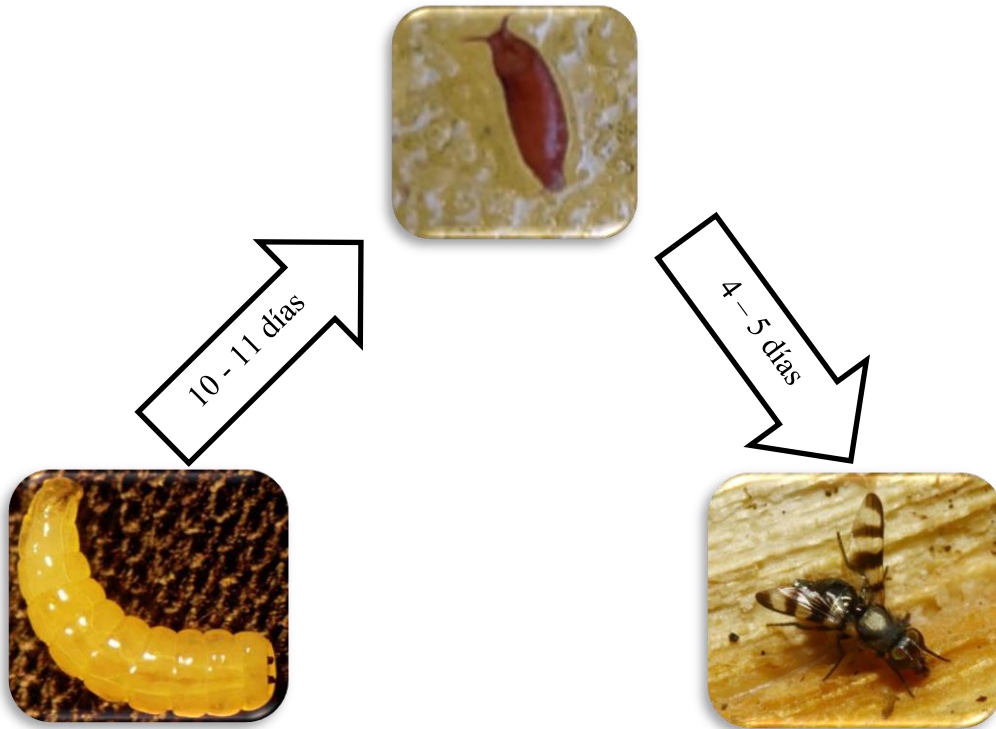
 @groenruna

www.groenruna.com

Quito - Ecuador

Anexo 6. Ciclo biológico de *Euxesta stigmatias* adaptada a condiciones de Laboratorio

En la investigación realizada también se logró identificar el tiempo de cada estadio de plaga *Euxesta stigmatias* adaptada a las condiciones del Laboratorio de Agronomía.



Anexo 7. Reactivación de una cepa de *Beauveria bassiana*

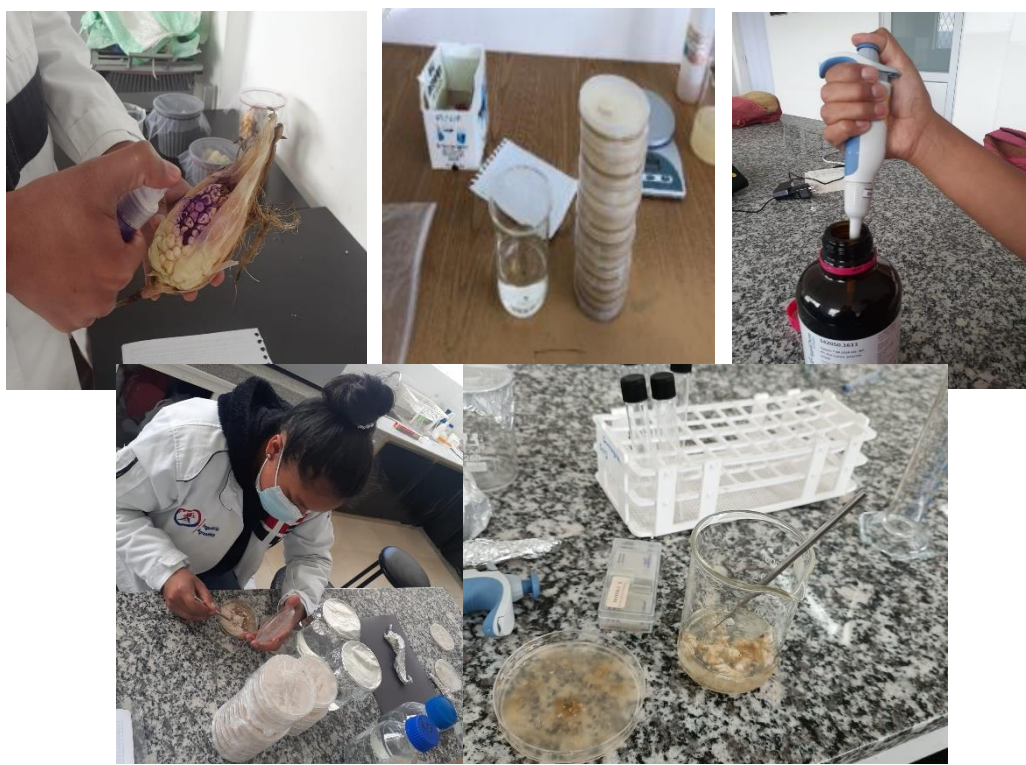




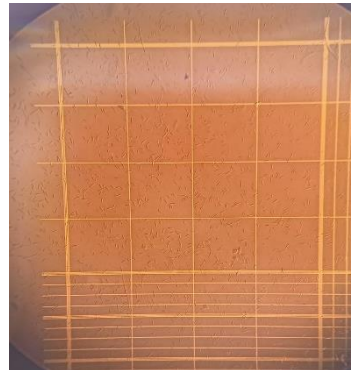
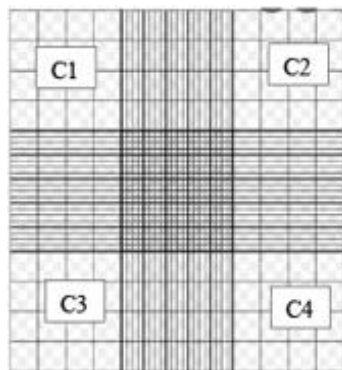
Anexo 8. Multiplicación de la cepa activa de *Beauveria bassiana*



Anexo 9. Elaboración de la Suspensión madre



Anexo 10. Conteo de esporas



Anexo 11. Elaboración de suspensiones a



diferentes concentraciones

Anexo 12. Colecta y Alimentación de la plaga



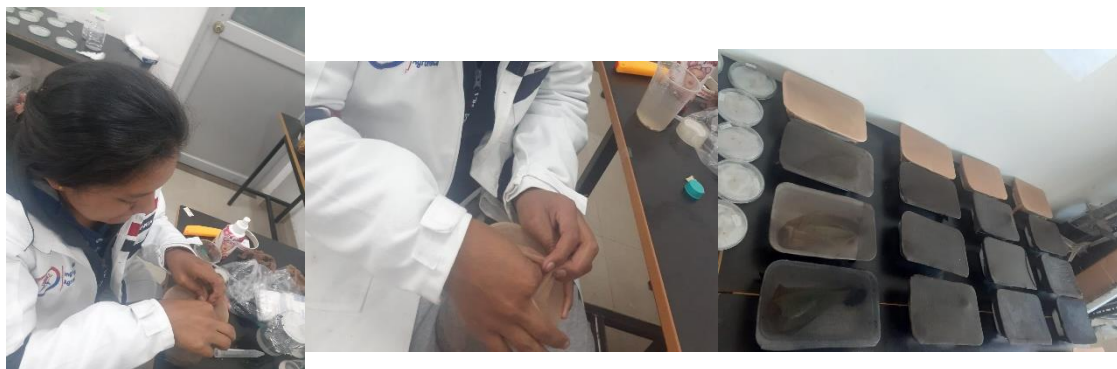
Anexo 13. Unidad Experimental



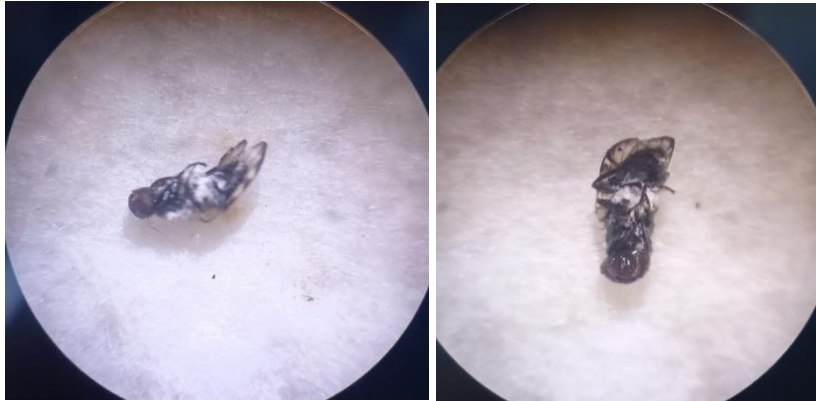
Anexo 14. Implementación del bioensayo y Aplicación de *Beauveria bassiana*



Anexo 15. Introducción de la plaga a cada Unidad Experimental (15 insectos plaga)

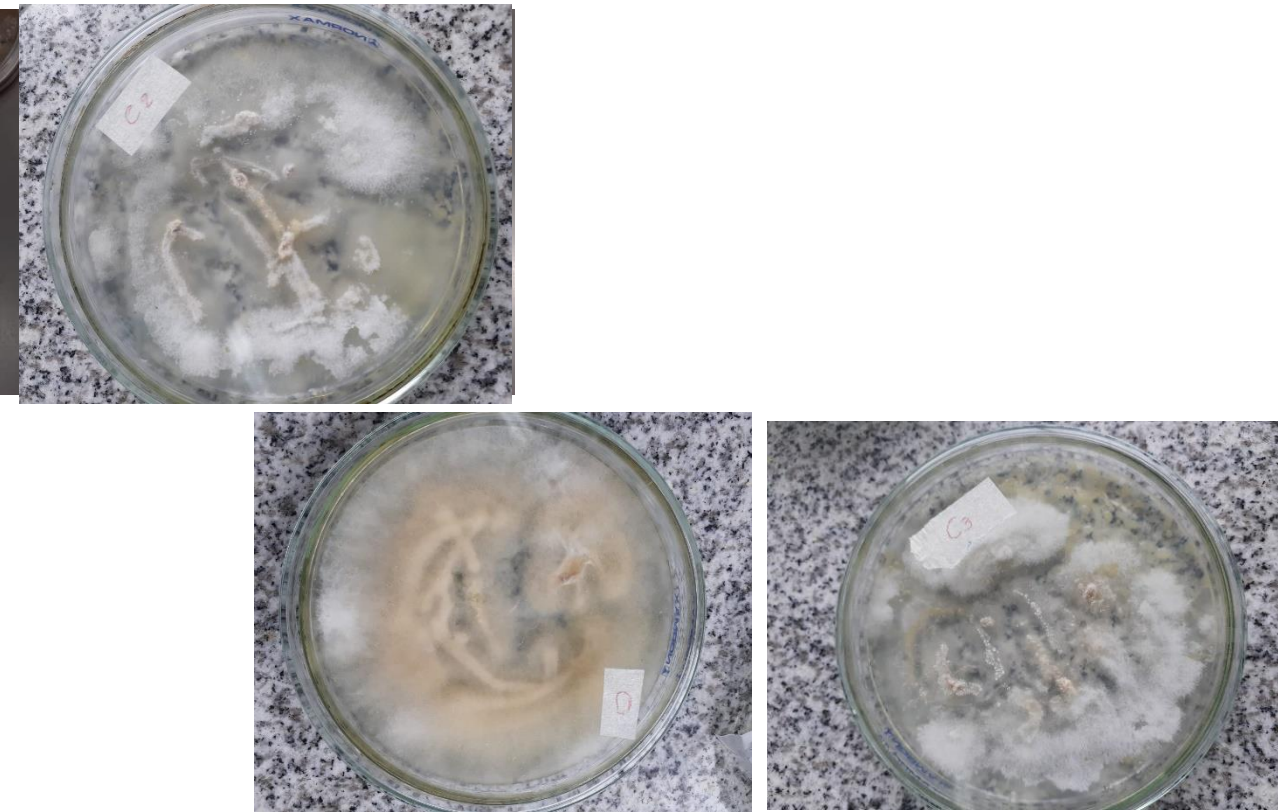


Anexo 16. Insectos muertos por la infestación de *Beauveria bassiana*



Anexo 17. Comprobación de mortalidad por *Beauveria bassiana*





Anexo 18. Presupuesto general

Método de Reactivación del hongo				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Agar PDA	Envase de 500g	1	\$ 76,16	\$ 76,16
Papel Parafilm	Rollo	1	\$ 70,73	\$ 70,73

Plástico film	Rollo 30m	1	\$ 1,50	\$ 1,50
Cajas Petri	Vidrio	5	\$ 2,50	\$ 12,50
Cajas Petri	Plástico	10	\$ 0,30	\$ 3,00
Porta bisturí	Metálico	1	\$ 2,50	\$ 2,50
Bisturís	Hoja n° 14	2	\$ 0,25	\$ 0,50
Pinza	Metálica	1	\$ 2,50	\$ 2,50
Alcohol 96%	Envase de 1lt	1	\$ 3,00	\$ 3,00
Alcohol	Envase de 300ml	1	\$ 1,00	\$ 1,00
Papel aluminio	Rollo 7m	1	\$ 2,00	\$ 2,00
Papel absorbente	Rollo 50m	1	\$ 4,50	\$ 4,50
Marcador	Tinta indeleble	1	\$ 2,25	\$ 2,25
Tijera	Plástico	1	\$ 0,45	\$ 0,45
SUBTOTAL				\$ 182,59
Método de multiplicación del hongo				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Alcohol 96%	Envase de 1lt	2	\$ 3,00	\$ 6,00
Alcohol	Envase de 300ml	2	\$ 1,00	\$ 2,00
Cloro	Sachet de 400ml	1	\$ 0,50	\$ 0,50
Antibiótico	Gentamax 280	3	\$ 1,00	\$ 3,00
Cajas Petri	Plásticas	70	\$ 0,30	\$ 21,00
Asa de cien	Metálica	1	\$ 2,50	\$ 2,50
Bisturís	Hoja n° 14	5	\$ 0,25	\$ 1,25
Papel aluminio	Rollo 7m	2	\$ 2,00	\$ 4,00
Plástico film	Rollo 30m	2	\$ 1,50	\$ 3,00
SUBTOTAL				\$ 45,25
Elaboración de las suspensiones a diferentes concentraciones y conteo de esporas.				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Tubos de ensayo	De vidrio	10	\$ 1,10	\$ 11,00
Agua destilada	Envase de 5lt	1	\$ 3,50	\$ 3,50
<i>Beauveria b.</i> comercial	Envase de 1lt	1	\$ 15,00	\$ 15,00
Adhesivos	Papel	1	\$ 1,00	\$ 1,00
SUBTOTAL				\$ 30,50
Colecta y alimentación en los diferentes estadios				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Tarrinas de plástico	Paquete de 25 unidades	1	\$ 2,00	\$ 2,00
Vasos cervceros	Paquete de 50 unidades	1	\$ 3,75	\$ 3,75
Medias nylon	Unidades	5	\$ 1,30	\$ 6,50
Cordón elástico	Metros	5	\$ 0,20	\$ 1,00
Miel	Envase de 1lt	2	\$ 2,50	\$ 5,00
Vitamina A	Cápsula líquida	2	\$ 0,30	\$ 0,60

Vitamina E	Cápsula líquida	2	\$ 0,75	\$ 1,50
Rociador	Plástico	1	\$ 0,50	\$ 0,50
Agua purificada	Envase de 1lt	1	\$ 0,60	\$ 0,60
Jeringuilla	De 10ml	1	\$ 0,50	\$ 0,50
Algodón	Paquete	1	\$ 2,00	\$ 2,00
Azúcar	Libras	1	\$ 0,60	\$ 0,60
Caja	Acrílico	1	\$ 15,00	\$ 15,00
SUBTOTAL				\$ 39,55
Implementación del bioensayo				
Rubro general	Detalle	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Mazorcas de maíz	½ quintal	1	\$ 4,00	\$ 4,00
Tarrinas de plástico	Paquete de 25 unidades	2	\$ 3,80	\$ 7,60
Medias nylon	Unidades	7	\$ 1,30	\$ 9,10
Cordón elástico	Metros	3	\$ 0,20	\$ 0,60
Rociadores	Plástico	2	\$ 0,50	\$ 1,00
Algodón	Paquetes	2	\$ 2,00	\$ 4,00
Agua purificada	Envase de 1lt	3	\$ 0,60	\$ 1,80
Cinta doble faz	Rollo	4	\$ 1,50	\$ 1,50
Estilete	Unidad	1	\$ 1,00	\$ 1,00
SUBTOTAL				\$ 30,60
Total				\$ 328,49

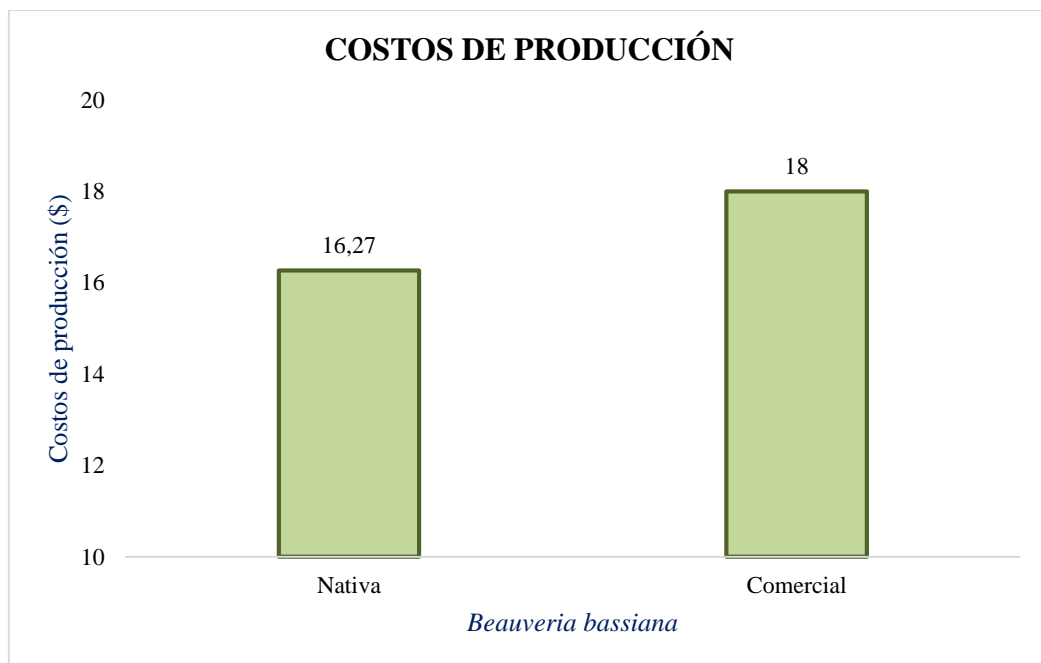
Anexo 19. Costos de producción de *Beauveria bassiana*

A continuación, se muestra los costos de producción de *Beauveria bassiana* nativa para la concentración 10^9 esporas/ml

COSTOS DE PRODUCCIÓN DE *Beauveria bassiana* NATIVA (1lt)

MATERIALES	VALOR (\$)
39g de PDA	5,30
1m de Papel Parafilm	1,20
1 antibiótico	1,00
45 cajas Petri	8,77
TOTAL	16,27

El precio de 1 litro de *Beauveria bassiana* comercial (Ento- Bass) es de \$18, adquirida para el uso en la investigación.



En la tabla se observa los costos de producción de *Beauveria bassiana* nativa y comercial para obtener un litro a una concentración de 10^9 esporas/ml, donde los resultados muestran que la *Beauveria bassiana* comercial tiene un mayor costo (\$18), mientras la *Beauveria bassiana* nativa tienen un costo de \$16,27, lo que nos confirma que *Beauveria bassiana* nativa es la mejor en comparación con el producto Ento – Bass.

Anexo 20. Protocolo de manejo en Laboratorio de *Beauveria bassiana* y Alimentación de *Euxesta stigmatias*



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES
AGRONOMÍA

**PROTOCOLO DE LABORATORIO PARA EL MANEJO DEL
HONGO ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana* Y
ALIMENTACIÓN DE LA MOSCA DE LOS ESTIGMAS (*Euxesta
stigmatias*)**

Autora:
Caiza Chiguano Carina Fernanda

Tutora:
Toapanta Gallegos Diana Elizabeth

LATACUNGA – ECUADOR

Agosto 2022

INDICE DE CONTENIDO

- 1. PROTOCOLO DE MANEJO EN LABORATORIO DE *Beauveria bassiana*70**

	68
1.1. Protocolo de reactivación de <i>B. bassiana</i> en un medio de Agar - Insecto.....	70
1.2. Protocolo de multiplicación del hongo	71
1.3. Protocolo para la Elaboración de la suspensión madre y Conteo de esporas	73
1.3.1. Suspensión madre	73
1.3.2. Conteo de esporas	75
1.4. Protocolo para la elaboración de suspensiones a diferentes las concentraciones	76
2. PROTOCOLO PARA COLECTA Y ALIMENTACIÓN DE PLAGAS EN SUS ESTADIOS DE LARVA, PUPA Y ADULTO	77
2.1. Protocolo para la colecta de la plaga <i>Euxesta stigmatias</i>	77
2.2. Alimentación de la plaga en sus diferentes estadíos	78
2.2.1. Alimentación para la plaga en estadío larval.....	78
2.2.2. Mantenimiento para la plaga en estadío de pupa.....	78
2.2.3. Alimentación de la plaga en estadío adulto	79
3. BIBLIOGRAFÍA	79

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. A) Desinfección; B) Elaboración del Extracto; C) Glucosa y Agar – Agar; D) Mezcla homogénea; E) Esterilización; F) Siembra del hongo; G) Cepa activa.	71
Figura 2. A) Preparación del medio de cultivo; B) Desinfección Cámara de Neubauer; C) Antibiótico; D) Siembra; E) Incubación; F) Cajas Petri con el hongo	73
Figura 3. A) Conteo de rociadas; B) Selección de las mejores muestras; C) Uso del Tween 80; D) Raspado del hongo; E) Suspensión madre	75
Figura 4. Cámara de Neubauer	75
Figura 5. A) Suspensión agitándose; B) Uso de la Cámara de Neubauer; C) Conteo en el microscopio; D) Observación en un cuadrante de la Cámara de Neubauer	76
Figura 6. A) Diluciones en tubos de ensayo; B) Tubos agitándose; C) Conteo de esporas; D) Suspensiones a diferentes concentraciones.	77
Figura 7. Colecta de la plaga	78
Figura 8. A) Alimentación en estadio larval; B) Mantenimiento en estadio de pupa; C) Alimentación en estadio adulto.	79

1. PROTOCOLO DE MANEJO EN LABORATORIO DE *Beauveria bassiana*

1.1. Protocolo de reactivación de *B. bassiana* en un medio de Agar - Insecto

Para la reactivación del hongo entomopatógeno se utilizó la metodología empleada por (Chiriboga, Gómez, y Garcés, 2015) donde indica que se debe considerar para este método insectos vivos y activos al momento de ser recolectados. Para esta investigación empleamos la gallina ciega (*Phyllophaga spp.*).

A continuación, se enumera los materiales y el procedimiento cabe mencionar que esta metodología se modificó en el laboratorio de Agronomía.

Materiales

- 70 gr de Insectos
- 18 gr de AGAR – AGAR
- 15 gr de Glucosa
- 1000 ml de Agua destilada
- Cajas Petri
- Papel Parafilm
- Bisturí
- Cepa a ser activada

Procedimiento

1. Se desinfecta los insectos con hipoclorito de sodio al 0,5 % en agua destilada, sumergiéndoles durante 5 a 10 minutos. Luego se procede a lavar en agua destilada para retirar el exceso de hipoclorito.
2. Los insectos desinfectados se proceden a realizar un extracto (licuado) con 500 ml de agua destilada.
3. Los 500 ml restantes colocar en un vaso de precipitación de 1000 ml, en eso depositar los 18 gr de Agar – Agar, los 15 gr de Glucosa y diluir totalmente.
4. En el mismo vaso de 1000 ml colar el extracto de los insectos y realizamos una mezcla homogénea.
5. Finalmente depositar en frascos graduados para ser esterilizados en el autoclave por 45 minutos para obtener el medio de cultivo Agar – Insecto, donde se debe sembrar la cepa del hongo *Beauveria bassiana* a ser reactivada.

6. La siembra del hongo se debe realizar en cortes de 5mm con ayuda de un bisturí posterior se debe dejar en la incubadora (T° promedio de 24°C) al transcurrir de 7 – 8 días se obtendrá la cepa del hongo *Beauveria bassiana* activa.

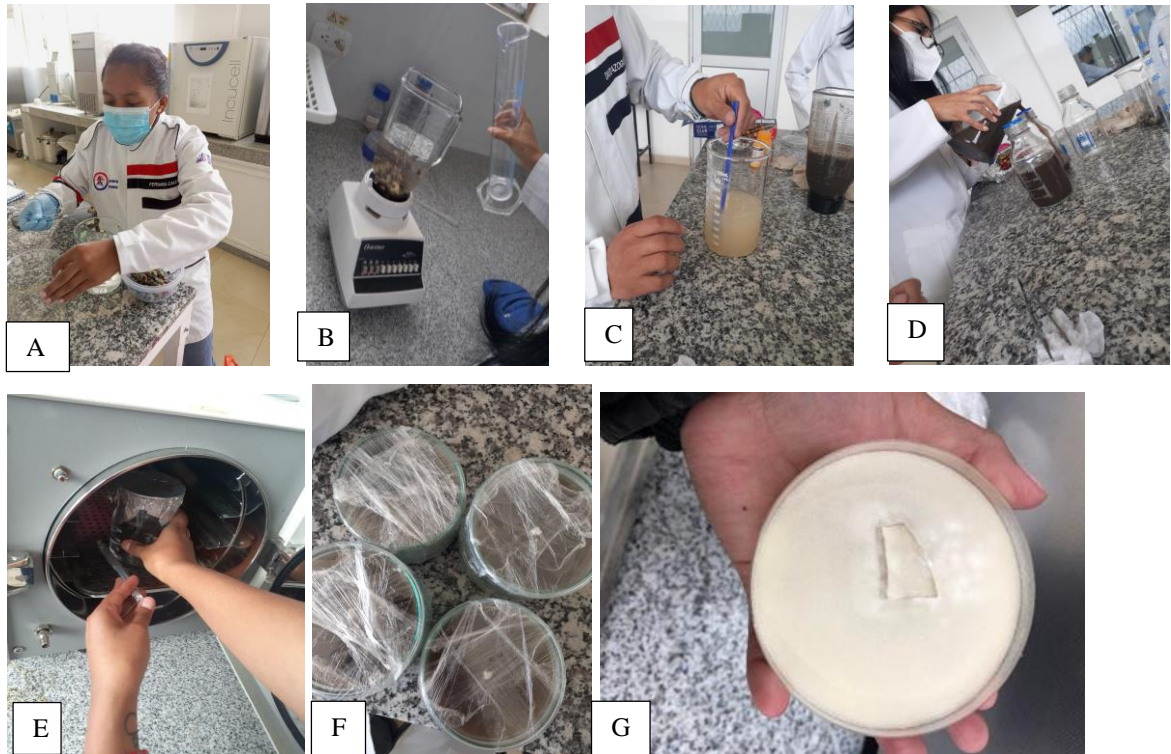


Figura 1. A) Desinfección; B) Elaboración del Extracto; C) Glucosa y Agar – Agar; D) Mezcla homogénea; E) Esterilización; F) Siembra del hongo; G) Cepa activa.

1.2. Protocolo de multiplicación del hongo

La multiplicación del hongo entomopatógeno se basó en la metodología utilizada por (Caballero, 2014), quien menciona que existen diversos métodos de multiplicación de hongos en medios de cultivos, para esta investigación se utilizó el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA).

A continuación, se enumera los materiales y el procedimiento:

Materiales

- 39 gr de PDA
- 1000 ml de agua destilada
- Cajas Petri
- Pinzas metálicas
- Asas de cien
- Papel Parafilm

- Alcohol
- Bisturís
- Plástico film
- Papel aluminio
- Antibiótico (Gentamax 180 ampolla)

Procedimiento

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

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.

Cantidad para el antibiótico: 50 μ L a razón de 200 ml de medio de cultivo

2.- Se esteriliza en la autoclave el medio de cultivo junto con los demás materiales y cajas Petri en el caso que sean de vidrio envueltos en papel aluminio, en un período de tiempo de 45 minutos.

3.- Mientras tanto se debe desinfectar la cámara de flujo de laminar con cloro y luego con alcohol, una vez que el medio y los materiales se esterilicen totalmente se debe colocar en la cámara dejándolos enfriar hasta tener una temperatura ambiente y se procede a colocar el antibiótico, en este caso se ocupó el medicamento “Gentamax 280” en su presentación de ampolleta, el mismo que se debe mezclar con el medio de cultivo y posteriormente el medio se lo deposita en cada caja Petri.

4.- De la caja Petri que contenga los cultivos del hongo activado, se debe realizar un frotis con el asa de la parte que contenga mayor proporción del micelio y sembrar en la caja Petri realizando movimientos en zigzag sobre el medio, seguidamente se debe sellar con una cinta Parafilm y se debe identificar la caja Petri, finalmente colocar en la cámara de incubación a una temperatura promedio de 24°C.

5.- Al transcurso de 7 días se observará la caja Petri cubierta con *B. bassiana*. La misma que será considerada como la primera cepa madre activada.

6.- Al obtenerse la primera cepa madre activada limpia y sin contaminación, se prepara nuevamente medio de cultivo suplementado con el antibiótico.

7.- De la cepa madre activada de *B. bassiana* se realiza cortes de 5 mm con el bisturí y cada corte se coloca en una caja Petri respectivamente, seguidamente se debe sellar con la cinta Parafilm y realizar su respectiva identificación.

8.- Finalmente se debe envolver en plástico film para evitar su contaminación y se coloca las cajas en la cámara de incubación y al transcurso de 5 – 7 días se observará que las nuevas cajas se encuentran cubiertas con *B. bassiana*.

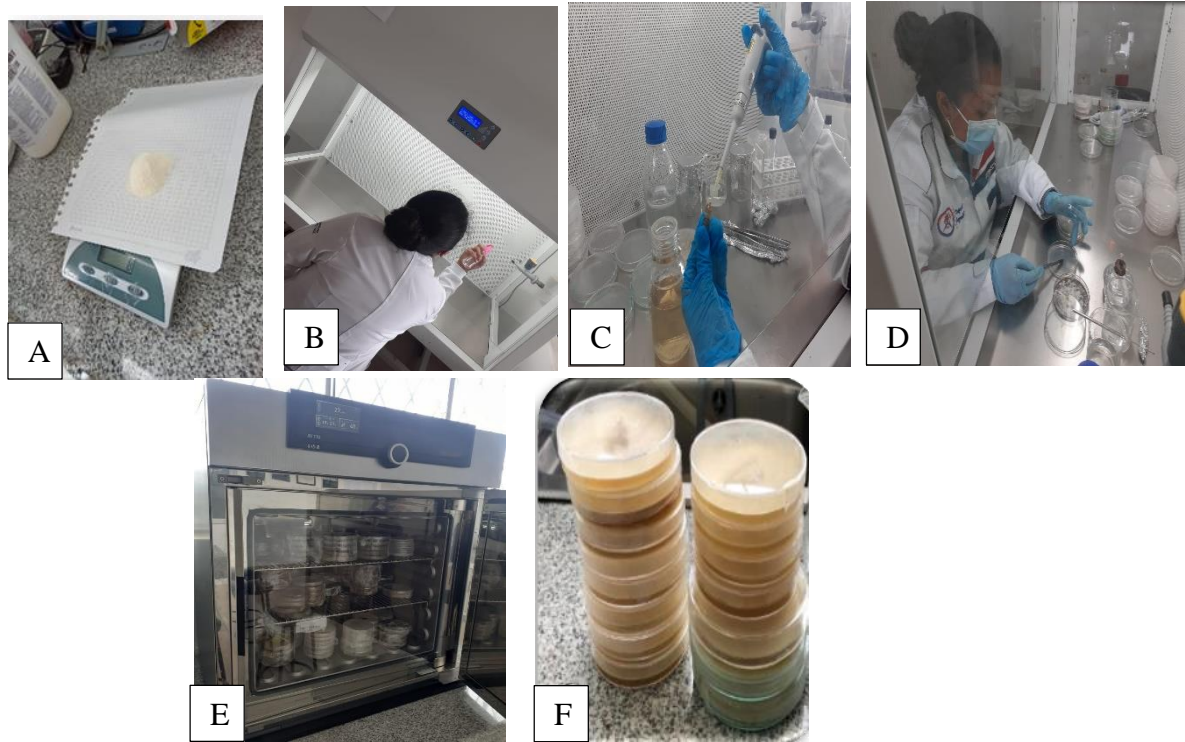


Figura 2. A) Preparación del medio de cultivo; B) Desinfección Cámara de Neubauer; C) Antibiótico; D) Siembra; E) Incubación; F) Cajas Petri con el hongo

1.3. Protocolo para la Elaboración de la suspensión madre y Conteo de esporas

Antes de realizar la aplicación en las unidades experimentales, se debe realizar una prueba del número de rociadas que podría alcanzar en toda el área de una mazorca o la unidad experimental a ser aplicada.

1.3.1. Suspensión madre

En la ejecución de esta fase se adaptó la metodología utilizada por (García, 2002), mencionando en primera instancia la preparación de la suspensión madre con un volumen de Agua Destilada Estéril de 120 ml que a partir de la cual se realiza las respectivas diluciones del hongo *Beauveria bassiana*.

1.3.1.1. Uso de Tween 80

Utilizar Tween 80 nos ayudara a un mejor conteo de esporas. Utilizando la siguiente fórmula se obtiene la cantidad adecuada

$$C1V1 = C2V2$$

Donde:

C1 = la concentración de la solución inicial (80%)

V1 = volumen que debemos utilizar en la dilución

C2 = concentración que deseamos (0,05%)

V2 = volumen final de dilución (120 ml)

La cantidad de Tween 80 se extrae con una micropipeta y se deposita en el vaso de precipitación donde se va a realizar la suspensión madre, posteriormente se debe disolver correctamente con la ayuda del agitador.

Materiales

- Cajas Petri con el hongo entomopatígeno
- Asas de cien
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitación
- Agua destilada estéril
- Tween 80
- Pipetas
- Gradilla
- Micropipeta
- Cámara de Neubauer
- Agitador
- Microscopio

Procedimiento:

1. Se debe seleccionar 5 cajas Petri que presenten las mejores características del hongo como su coloración, esporulación y libre de contaminación.
2. En cada caja Petri se coloca agua destilada estéril para realizar un raspado con la asa de cien del contenido micelial.
3. El agua destilada estéril con los restos del hongo se debe depositar en un vaso de precipitación hasta alcanzar los 120 ml (suspensión deseada).

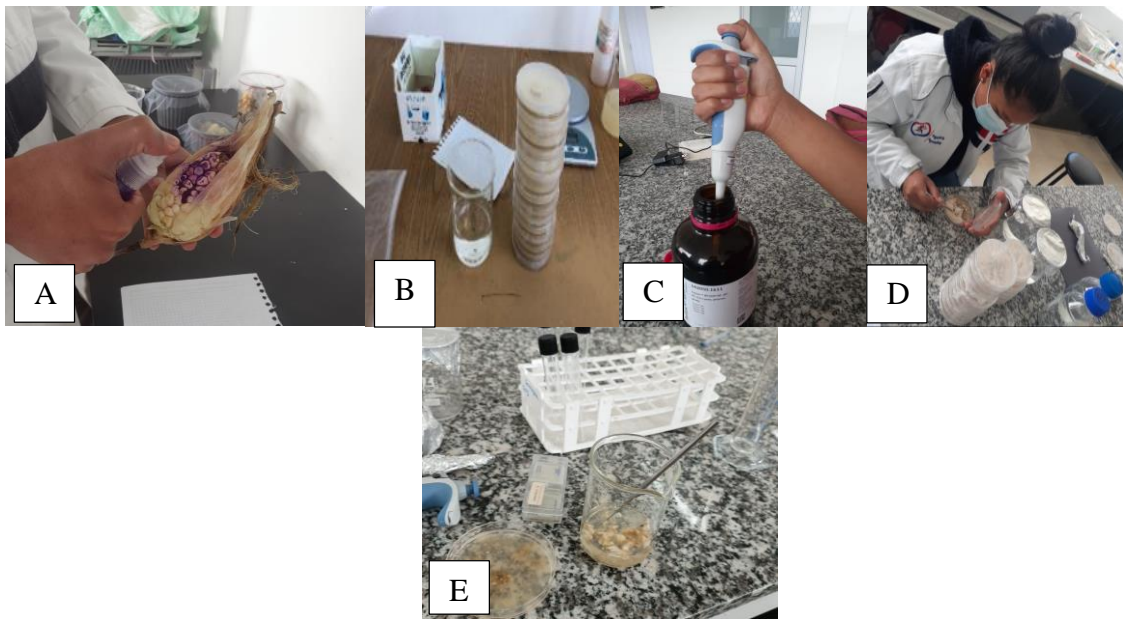


Figura 3. A) Conteo de rociadas; B) Selección de las mejores muestras; C) Uso del Tween 80; D) Raspado del hongo; E) Suspensión madre

1.3.2. Conteo de esporas

El conteo de esporas de cepas del hongo *B. Bassiana*, se debe realizar de la siguiente manera:

1. La suspensión madre se agita por 4 minutos en el agitador electrónico a 300 rpm (revoluciones por minuto) para obtener una muestra homogénea.
2. Se debe extraer con la micropipeta 60 μ l (microlitro) y depositar en la Cámara de Neubauer finalmente se coloca un cubre objeto y posteriormente se observa en el microscopio enfocando a 10X.
3. Para facilitar el proceso de conteo de esporas se sugiere dividir la Cámara de Neubauer como indica la figura.

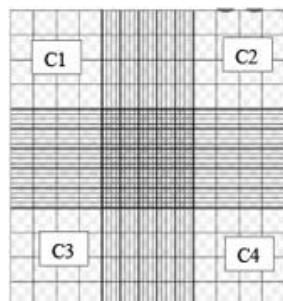


Figura 4. Cámara de Neubauer

4. El conteo se puede realizar de varias formas en nuestra investigación 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.

Finalmente se aplica la siguiente formula:

$$\text{Conteo de esporas} = \frac{\# \text{ total de esporas}}{\# \text{ de cuadrantes contabilizados}} \times \frac{10.000}{\# \text{ de subcuadrantes contabilizados}}$$

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

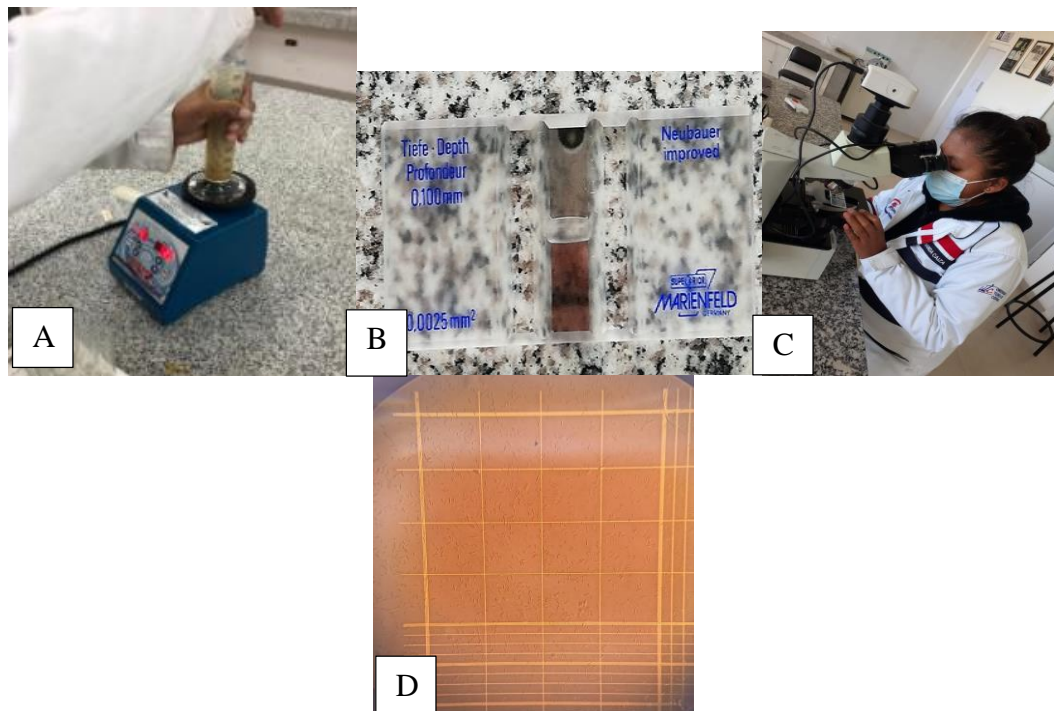


Figura 5. A) Suspensión agitándose; B) Uso de la Cámara de Neubauer; C) Conteo en el microscopio; D) Observación en un cuadrante de la Cámara de Neubauer

1.4. Protocolo para la elaboración de suspensiones a diferentes las concentraciones

Una vez determinada la concentración de la suspensión madre se debe realizar diluciones para obtener las suspensiones a diferentes concentraciones de esporas requeridas.

Materiales

- Suspensión madre
- Agua destilada
- Tubos de ensayo
- Vórtex
- Gradilla

- Cámara de Neubauer
- Vasos de precipitación
- Microscopio

1. En tubos de ensayo enumerados se coloca 9 ml de agua destilada en cada uno.
2. Se debe realizar diluciones con la ayuda de una pipeta, extraer 1 ml de la suspensión madre y colocar en el tubo de ensayo #1, posteriormente de la dilución #1 se extrae 1 ml y es depositado en el tubo de ensayo #2, después se extrae 1 ml de la dilución #2 y es depositado en tubo de ensayo #3 de esta manera se continua la secuencia hasta obtener el número de diluciones requeridas. Cada dilución debe ser agitada en el vórtex durante 2 - 4 minutos con el propósito de obtener una muestra homogénea.



Figura 6. A) Diluciones en tubos de ensayo; B) Tubos agitándose; C) Conteo de esporas; D) Suspensiones a diferentes concentraciones.

2. PROTOCOLO PARA COLECTA Y ALIMENTACIÓN DE PLAGAS EN SUS ESTADIOS DE LARVA, PUPA Y ADULTO

2.1. Protocolo para la colecta de *Euxesta stigmatias*

Para la colecta de la plaga se tomó en cuenta el estadio a evaluarse (adulto) en la investigación, la plaga fue alimentada desde su estado larval hasta adulto en el laboratorio. A continuación, se describe el proceso y los materiales para la colecta de la plaga:

Materiales:

- Mazorcas infestadas con larvas de la mosca de los estigmas
- Tarrinas de plástico en diferente tamaño
- Vasos cervecedores
- Caja acrílica
- Medias nylon
- Elástico

Procedimiento:

1. Se debe colocar en los vasos cervecedores seguidamente se cubre con un trozo de media nylon y se sujeta firmemente con el elástico.
2. Los vasos deben ser trasladados inmediatamente al laboratorio donde se realizará el estudio.



Figura 7. Colecta de la plaga

2.2. Alimentación de la plaga en sus diferentes estadios

Para su alimentación se empleó la metodología utilizada por (Cipriano *et al*, 2010) donde menciona que, las larvas y adultos se alimentaron con miel de abeja, azúcar, vitaminas y agua.

2.2.1. Alimentación para la plaga en estadio larval

Los insumos a utilizar para la alimentación en este estadio son:

- Miel de abeja 25%
- Azúcar 25%
- Vitaminas A y E 15ml por cada una a razón de 300 ml
- Agua 50%

La plaga debe ser alimentada tres veces por semana con un rociador sobre las mazorcas recolectadas.

2.2.2. Mantenimiento para la plaga en estadio de pupa

Para el mantenimiento en ese estadio de la plaga se requiere:

La plaga en estadio de pupa debe ser trasladada a una cámara húmeda hasta que llegue a su estadio adulto.

2.2.3. Alimentación de la plaga en estadio adulto

Las moscas deben ser alimentadas con la dieta empleada en el estadio larval.

El insecto plaga al llegar a su estadio de mosca debe ser trasladada de la cámara húmeda a tarrinas plásticas donde debe contener estigmas de maíz para asimilar su territorio en el campo, durante 10 días se les tiene en adaptación.

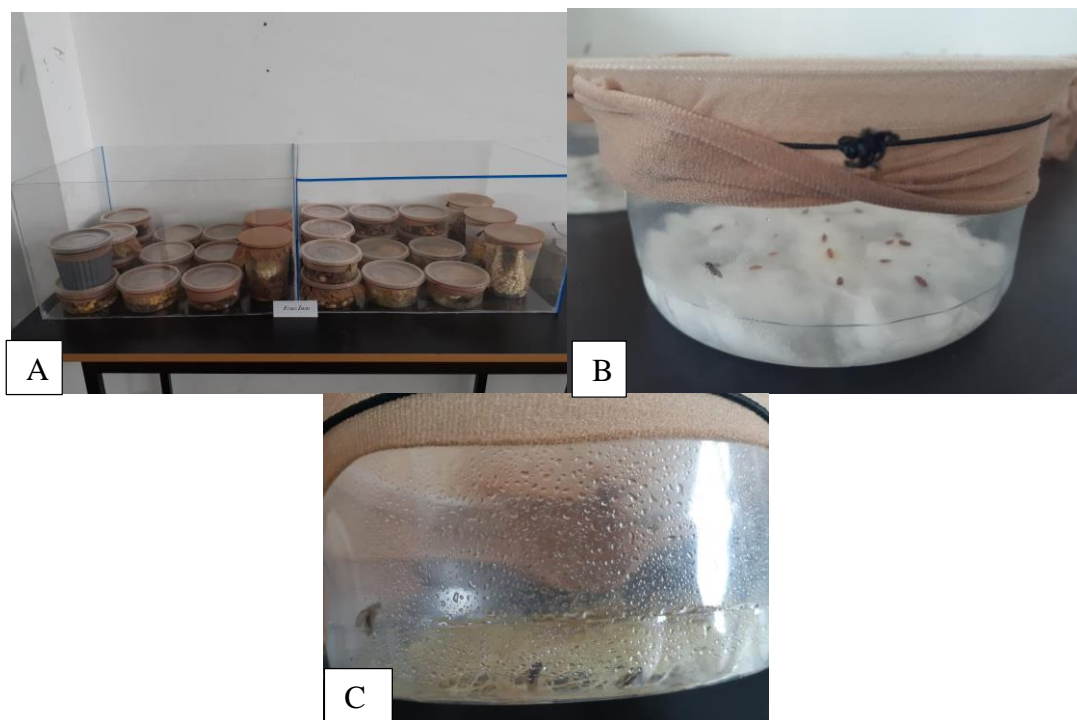


Figura 8. A) Alimentación en estadio larval; B) Mantenimiento en estadio de pupa; C) Alimentación en estadio adulto.

3. BIBLIOGRAFÍA

Caballero, W. d. (Diciembre de 2014). Producción y aplicación del hongo *Beauveria bassiana* en el laboratorio de control biológico del ITZM. Obtenido de http://www.itzonamaya.edu.mx/web_biblio/archivos/res_prof/for/for-2014-5.pdf

Chiriboga, 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.

Anexo 21. Aval de Traducción