



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

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**“EVALUACION DE BEAUVERIA SPP COMO HONGO ENDOFITO
EN PLANTAS DE MAIZ (*Zea mays*) EN CONDICIONES
CONTROLADAS”**

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

Autor:

Limachi Maliza Luis Alexander

Tutora:

Toapanta Gallegos Diana Elizabeth

LATACUNGA – ECUADOR

Febrero 2024

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Luis Alexander Limachi Maliza, con cédula de ciudadanía No.1805163076, declaro ser autor del presente proyecto de investigación: **“EVALUACION DE BEAVERIA SPP COMO HONGO ENDOFITO EN PLANTAS DE MAIZ (*Zea mays*) EN CONDICIONES CONTROLADAS”** siendo la Ingeniera Mg. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos, Tutora del presente trabajo y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

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

Latacunga, 21 de agosto del 2024



Limachi Maliza Luis Alexander

C.C. 1805163076

Estudiante

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 **LIMACHI MALIZA LUIS ALEXANDER** identificado con cédula de ciudadanía **1805163076** de estado civil soltero, a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, la Doctora Idalia Eleonora Pacheco Tigselema, en calidad de Rectora, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **EL CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Ingeniería Agronómica titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**EVALUACION DE BEAUVERIA SPP COMO HONGO ENDOFITO EN PLANTAS DE MAIZ (*Zea mays*) EN CONDICIONES CONTROLADAS**”, 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 2017 – Marzo 2018

Finalización de la carrera: Abril 2024 - Agosto 2024

Aprobación en Consejo Directivo: 28 de Noviembre del 2023

Tutora: Ingeniera Mg. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos

Tema: “**EVALUACION DE BEAUVERIA SPP COMO HONGO ENDOFITO EN PLANTAS DE MAIZ (*Zea mays*) EN CONDICIONES CONTROLADAS**”

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

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

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

- 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 **EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

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

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

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

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

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

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

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 15 días del mes de agosto del 2024.



Limachi Maliza Luis Alexander

EL CEDENTE

Dra. Idalia Pacheco Tigselema


LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

“EVALUACION DE BEAUFERIA SPP COMO HONGO ENDOFITO EN PLANTAS DE MAIZ (*Zea mays*) EN CONDICIONES CONTROLADAS”, de Limachi Maliza Luis Alexander, de la carrera de Ingeniería Agronómica, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 15 de agosto del 2023



Ing. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos, Mg.
CC: 1002749800
DOCENTE TUTORA

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, el postulante: Limachi Maliza Luis Alexander, con el título del Proyecto de Investigación: **“EVALUACION DE BEAUVERIA SPP COMO HONGO ENDOFITO EN PLANTAS DE MAIZ (*Zea mays*) EN CONDICIONES CONTROLADAS”**, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

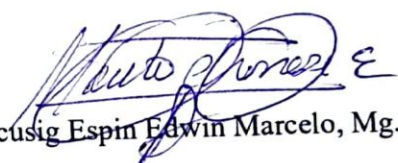
Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 15 de agosto del 2023


Ing. Chasi Vizucete Wilman Paolo, Mg.

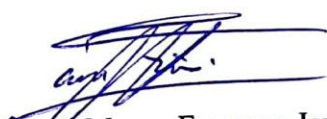
CC: 0502409725

LECTOR 1 (PRESIDENTE)


Ing. Chancusig Espin Edwin Marcelo, Mg. PhD.

CC: 0501148837

LECTOR 2 (MIEMBRO)


Ing. Mg. Jacome Mogro Emerson Javier, PhD.

CC: 0501974703

LECTOR 3 (MIEMBRO)

AGRADECIMIENTO

En este proyecto de titulación quiero agradecer principalmente a dios por todas las bendiciones que me ha dado, quiero agradecer a mis padres por ese esfuerzo y sacrificio que hicieron para que hoy en dia me encuentre donde estoy y mediante este texto quiero que sepan que todo ese esfuerzo valió la pena, desde el fondo de mi corazón muchas gracias.

Quiero agradecer a mis hermanas Mia por todo el apoyo incondicional que me brindo y en especial a Elizabeth porque a pesar de todos los obstáculos siempre confió en mí.

Quiero agradecer a mi tío Ángel que más que un tío lo considero como uno de mis mejores amigos gracias por todo esos consejos y ese apoyo que ha depositado en mí, se logró tío el patuchito lo consiguió.

También quiero extender un agradecimiento especial a mi tutora la ing. Diana Toapanata y la ing. Tania llanos por todo el apoyo brindado en todo este proyecto de todo corazón mis más sinceras gracias.

Y por último, pero no menos importante mis amigos quienes con cada palabra de ánimo cada chiste cada momento divertido hicieron de esta etapa universitaria la mejor de mi vida

Gracias a todos y cada uno de quienes confiaron en mí, estos logros son por ustedes.

Luis Alexander Limachi Maliza

DEDICATORIA

La presente tesis va dedicada a principalmente a dios por darme la bendición de llegar a esta etapa de mi vida

También se la dedico a mi primo Gabriel Agualongo por ser ese ejemplo de que con esfuerzo y sacrificio se logran las cosas, estés donde estés primo este título es por ti

A mis padres por todo el apoyo que me brindaron desde el primer día que inicie mi carrera universitaria, mama y papa un paso más en vida y todo es gracias a ustedes.

A mis hermanas Elizabeth y mía por ese inmenso cariño que me brindaron

A mis amigos por todos los consejos y esas palabras de ánimo que me brindaron en todo momento.

y también quiero dedicar a todas las personas que confiaron y me apoyaron en toda mi carrera universitaria.

Esto es por todo y cada uno de ustedes.

Luis Alexander Limachi Maliza

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “EVALUACION DE BEAUVERIA SPP COMO HONGO ENDOFITO EN PLANTAS DE MAIZ (*Zea mays*) EN CONDICIONES CONTROLADAS”

AUTOR:
Limachi Maliza Luis Alexander

RESUMEN

Beauveria es conocido por su capacidad como biopesticida, sino también por su potencial para mejorar el crecimiento y desarrollo de las plantas al actuar como endófito. Se ha demostrado que este hongo puede aumentar la resistencia de las plantas al estrés abiótico y biótico, mejorar la absorción de nutrientes y promover un crecimiento más vigoroso. El presente trabajo fue evaluar el desempeño de *Beauveria spp.* como hongo endófito en maíz, así como su impacto en la germinación y el crecimiento inicial de las plántulas. Para este estudio se utilizaron dos tipos de *Beauveria spp.* (nativa y comercial) en concentraciones de 1×10^4 , 1×10^6 y 1×10^8 conidios/mL, aplicadas a intervalos de 3, 7 y 15 días. Los resultados de este estudio muestran que las semillas de maíz tratadas con *Beauveria spp.* nativa y comercial, en las concentraciones mencionadas, registraron tasas de germinación similares al testigo, sugiriendo que el hongo no afecta negativamente la capacidad germinativa de las semillas. En el análisis del crecimiento de las plantas, realizado durante un periodo de 42 días (6 semanas), se demostró que las plantas tratadas se desarrollaron más rápidamente que las plantas no tratadas; sin embargo, no mostraron diferencias significativas en comparación con el testigo. Esto sugiere que, aunque *Beauveria spp.* puede tener un efecto positivo en el crecimiento de las plantas, el efecto observado no fue lo suficientemente relevante como para ser considerado significativo en este estudio. Respecto a la colonización endofítica, se detectó que *Beauveria spp.* colonizó significativamente las plantas de maíz cuando se aplicó cada 3 y 7 días a una concentración de 1×10^8 conidios/mL. Estos resultados indicaron que la frecuencia de la aplicación afecta el grado de colonización de los endófitos. Se recomienda seguir investigando con diferentes concentraciones y frecuencias de aplicación de *Beauveria spp.* para mejorar su uso y apoyar prácticas agrícolas más sostenibles.

Palabras clave: Biopesticida, Colonización, Concentración, Frecuencia de aplicación, Germinación.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES

THEME: "EVALUATION OF *Beauveria* spp. AS AN ENDOPHYTIC FUNGUS IN MAIZE (*Zea mays*) UNDER CONTROLLED CONDITIONS."

AUTHOR:
Limachi Maliza Luis Alexander

ABSTRACT

Beauveria is known not only for its ability as a biopesticide but also for its potential to enhance plant growth and development by acting as an endophyte. It has been shown that this fungus can increase plant resistance to abiotic and biotic stress, improve nutrient absorption, and promote more vigorous growth. The present study aimed to evaluate the performance of *Beauveria* spp. as an endophytic fungus in maize, as well as its impact on seed germination and early seedling growth. Two types of *Beauveria* spp. (native and commercial) were used in this study at concentrations of 1×10^4 , 1×10^6 , and 1×10^8 conidia/mL, applied at intervals of 3, 7, and 15 days. The results of this study show that maize seeds treated with *Beauveria* spp., both native and commercial, at the mentioned concentrations, recorded germination rates similar to the control, suggesting that the fungus does not negatively affect the germinative capacity of the seeds. In the analysis of plant growth, conducted over a period of 42 days (6 weeks), it was demonstrated that treated plants developed more rapidly than untreated plants; however, they did not show significant differences compared to the control. This suggests that, although *Beauveria* spp. may have a positive effect on plant growth, the observed effect was not significant enough to be considered relevant in this study. Regarding endophytic colonization, it was found that *Beauveria* spp. significantly colonized maize plants when applied every 3 and 7 days at a concentration of 1×10^8 conidia/mL. These results indicated that the frequency of application affects the degree of endophyte colonization. It is recommended to continue researching different concentrations and application frequencies of *Beauveria* spp. to improve its use and support more sustainable agricultural practices.

Keywords: Biopesticide, Colonization, Concentration, Application frequency, Germination.

INDICE

| | |
|--|------|
| DECLARACIÓN DE AUTORÍA | ii |
| CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR..... | iii |
| AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN..... | v |
| AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN..... | vi |
| AGRADECIMIENTO | vii |
| DEDICATORIA..... | viii |
| RESUMEN | ix |
| ABSTRACT | x |
| INDICE..... | xi |
| INDICE DE FIGURAS | xvi |
| INDICE DE TABLAS..... | xvii |
| 1. INFORMACIÓN GENERAL | 1 |
| 2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO | 2 |
| 3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO | 3 |
| 3.1 Beneficiarios directos: | 3 |
| 3.1 Beneficiarios indirectos: | 3 |
| 4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN: | 3 |
| 5. OBJETIVOS:..... | 4 |
| 5.1 Objetivo general | 4 |
| 5.2 Objetivo específico | 4 |
| 6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS | 5 |
| 7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA | 7 |
| 7.1 El Maíz (<i>Zea mays</i>)..... | 7 |
| 7.1.1 Origen y evolución | 7 |

| | | |
|-------|--|----|
| 7.1.2 | Importancia económica y nutricional | 7 |
| 7.1.3 | Biología y fisiología del maíz..... | 8 |
| 7.1.4 | Características Morfológicas | 9 |
| 7.2 | . Concepto de Endófitos..... | 9 |
| 7.2.1 | Mecanismos de colonización..... | 10 |
| 7.2.2 | Beneficios para las plantas | 10 |
| 7.3 | <i>Beauveria</i> spp. | 10 |
| 7.3.1 | Descripción del hongo | 11 |
| 7.3.2 | Mecanismos de acción..... | 12 |
| 7.3.3 | Uso en biocontrol: Aplicaciones en el control biológico de plagas. | 12 |
| 7.4 | Interacción de <i>Beauveria</i> spp. con plantas. | 13 |
| 7.4.1 | Mecanismos de interacción planta-hongo: Cómo <i>Beauveria</i> spp. coloniza las plantas y los beneficios asociados. | 13 |
| 7.4.2 | Impacto en el crecimiento y salud de la planta: Efectos directos e indirectos en la fisiología vegetal..... | 14 |
| 7.5 | Métodos de Inoculación de <i>Beauveria</i> spp, en plantas..... | 14 |
| 7.5.1 | Técnicas de inoculación: Semillas, suelo, foliar y sus respectivas eficacias..... | 14 |
| 7.5.2 | Condiciones ambientales y de cultivo: Factores que afectan la colonización y rendimiento endófito..... | 15 |
| 7.5.3 | Evaluación de la colonización: Métodos de detección y cuantificación del hongo en tejidos vegetales..... | 16 |
| 7.6 | Efectos del Endofitismo de <i>Beauveria</i> spp, en el Maíz..... | 17 |
| 7.6.1 | Impacto en el rendimiento del maíz: Influencia en el crecimiento, productividad y calidad del grano..... | 17 |
| 7.6.2 | Resistencia a plagas y enfermedades: Efectividad contra plagas específicas del maíz. 17 | |
| 7.6.3 | Tolerancia al estrés abiótico: Respuesta a condiciones de sequía, salinidad, y otros factores ambientales. | 18 |

| | | |
|-------|---|----|
| 7.7 | Casos de Estudio y Experiencias Previas. | 18 |
| 7.7.1 | Revisión de literatura: Estudios previos y resultados sobre el uso de Beauveria spp. en maíz y otros cultivos. | 19 |
| 7.7.2 | Aplicaciones prácticas y comerciales: Éxitos y desafíos en la implementación a nivel de campo. | 19 |
| 7.8 | Perspectivas Futuras y Desafío. | 20 |
| 7.8.1 | Innovaciones en técnicas de inoculación: Desarrollo de nuevas metodologías y tecnologías. | 20 |
| 7.8.2 | Regulación y aceptación del mercado: Normativas y percepción del uso de hongos endófitos en la agricultura. | 21 |
| 7.8.3 | Investigaciones futuras: Áreas de investigación y potenciales aplicaciones emergentes. | 22 |
| 8. | METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL | 22 |
| 8.1 | Área de estudio. | 22 |
| 8.2 | Tipo de investigación. | 23 |
| 8.2.1 | Investigación Experimental | 23 |
| 8.3 | Métodos de Investigación | 23 |
| 8.3.1 | Observación Científica | 23 |
| 8.3.2 | Investigación Cualitativa y Cuantitativa. | 24 |
| 8.3.3 | Inductivo. | 24 |
| 8.4 | Técnicas de Investigación. | 24 |
| 8.4.1 | Observación Directa | 24 |
| 8.4.2 | Fichaje | 24 |
| 8.5 | Materiales y Equipos | 24 |
| 8.5.1 | Materiales de campo. | 24 |
| 8.5.2 | Materiales de laboratorio. | 24 |
| 8.5.3 | Materiales para el ensayo: | 25 |
| 8.5.4 | Equipos de laboratorio: | 25 |

| | | |
|--------|---|----|
| 8.6 | Diseño Experimental | 25 |
| 8.7 | Unidad Experimental..... | 26 |
| 8.8 | Factores en estudio | 26 |
| 8.9 | Análisis de la varianza Anova | 27 |
| 8.9.1 | Esquema Anova..... | 27 |
| 8.10 | Tratamientos en estudio..... | 28 |
| 8.11 | VARIABLES en estudio..... | 28 |
| 8.12 | Metodología del aislamiento. | 29 |
| 8.12.1 | Preparación de medio de cultivo. | 29 |
| 8.12.2 | Método de multiplicación de <i>Beauveria</i> spp. | 30 |
| 8.13 | Método para conteo de UFC (Unidades Formadoras de Colonias)..... | 31 |
| 8.13.1 | Determinación de la concentración de conidios (cuantificación en la cámara de Neubauer) | 32 |
| 8.14 | Preparación de Solución Madre..... | 33 |
| 8.14.1 | Esterilización: | 33 |
| 8.14.2 | Cosecha de Micelios:..... | 33 |
| 8.14.3 | Preparación de Concentraciones:..... | 33 |
| 8.15 | Preparación del medio de cultivo. | 33 |
| 8.16 | Exposición de las semillas al hongo | 33 |
| 8.16.1 | Inmersión | 34 |
| 8.16.2 | Aspersión | 34 |
| 8.17 | Datos Evaluados | 34 |
| 8.17.1 | Viabilidad y germinación de conidios: | 34 |
| 8.17.2 | Crecimiento del Maíz | 34 |
| 8.17.3 | Colonización como endófito:..... | 34 |
| 9. | ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 35 |
| 9.1 | Análisis de la Tasa de Germinación de Semillas..... | 35 |

| | | |
|-------|--|----|
| 9.2 | Análisis del crecimiento del maíz por semanas..... | 36 |
| 9.3 | Criterio de selección | 37 |
| 9.3.1 | Test de Tukey. | 38 |
| 9.4 | Establecimiento del Método de Colonización | 44 |
| 9.5 | Discusión General..... | 46 |
| 9.6 | Impactos Técnicos: | 46 |
| 9.6.1 | Avance en Técnicas de Inoculación. | 46 |
| 9.6.2 | Conocimiento Ampliado sobre Endofitos. | 46 |
| 9.7 | Impactos Sociales | 47 |
| 9.7.1 | Promoción de Prácticas Agrícolas Sostenibles..... | 47 |
| 9.7.2 | Educación y Conciencia sobre Biopesticidas | 47 |
| 9.8 | Impactos Ambientales. | 47 |
| 9.8.1 | Reducción del Uso de Productos Químicos. | 47 |
| 9.8.2 | Contribución a la Sostenibilidad Agrícola..... | 47 |
| 9.9 | Impactos Económicos..... | 48 |
| 9.9.1 | Evaluación del Costo-Beneficio. | 48 |
| 9.9.2 | Oportunidades en el Mercado de Biopesticidas. | 48 |
| 10. | CONCLUSIONES..... | 48 |
| 11. | RECOMENDACIONES | 49 |
| 12. | BIBLIOGRAFÍA | 50 |

INDICE DE FIGURAS

| | | |
|------------------|---------------------------------------|----|
| Figura 1. | Área de estudio | 23 |
| Figura 2. | Morfología <i>Beauveria</i> spp. | 30 |
| Figura 3. | Reglilla de Neubauer. | 32 |
| Figura 4. | Tasa de Germinación de Semillas | 35 |
| Figura 5. | Crecimiento semanal | 37 |
| Figura 6. | Grafica de Tukey | 43 |
| Figura 7. | Tratamiento 3 y 6..... | 45 |

INDICE DE TABLAS

| | | |
|------------------|---|----|
| Tabla 1. | Tabla de actividades. | 5 |
| Tabla 2. | Esquema del ANOVA | 27 |
| Tabla 3. | Tratamiento y simbología. | 28 |
| Tabla 4. | VARIABLES A EVALUAR. | 28 |
| Tabla 5. | Tasa de Germinación de Semillas. | 35 |
| Tabla 6. | Análisis de varianzd..... | 37 |
| Tabla 7. | Variable Concentracon. | 38 |
| Tabla 8. | Variable Beauveria. | 39 |
| Tabla 9. | Variable Frecuencia..... | 39 |
| Tabla 10. | Variable Concentración vs Beauveria | 40 |
| Tabla 11. | Variable Concentración vs Frecuencia..... | 40 |
| Tabla 12. | Variable Beauveria vs Frecuencia. | 41 |
| Tabla 13. | Variable Concentración vs Beauveria vs Frecuencia | 42 |
| Tabla 14. | Colonización de Beauveria spp. en tejido vegetal obtenido de plantas de maíz. . | 44 |

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

“EVALUACION DE BEAUVERIA SPP COMO HONGO ENDOFITO EN PLANTAS DE MAIZ (*Zea mays*) EN CONDICIONES CONTROLADAS”

Fecha de inicio:

Octubre del 2021

Fecha de finalización:

Agosto 2024

Lugar de ejecución:

Barrio-parroquia-cantón-provincia-zona 3 e institución

Facultad que auspicia:

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia:

Carrera de Ingeniería Agronómica

Proyecto de Investigación vinculado Proyecto de Desarrollo Local

Equipo de Trabajo:

Tutor: Ing. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos, Mg.

Lector 1: Ing. Chasi Vizuite Wilman Paolo, Mg

Lector 2: Ing. Mg. Chancusig Espin Edwin Marcelo, PhD.

Lector 3: Ing. Mg. Jacome Mogro Emerson Javier, PhD.

Coordinador del Proyecto:

Nombre: Luis Alexander Limachi Maliza

Teléfono: 0995002620

Correo electrónico: luis.limachi3076@utc.edu.ec

Área de Conocimiento:

Agricultura- Silvicultura, Silvicultura y Pesca-Agricultura

Línea de investigación:

Producción agrícola sostenible

Línea de vinculación de la carrera:

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

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

La presente investigación se llevó a cabo para abordar los desafíos que enfrenta la agricultura moderna y cubrir la necesidad de aumentar la producción de alimentos de manera sostenible, controlar las plagas y enfermedades que afectan los cultivos. El maíz, fundamental para la alimentación humana y animal, está constantemente amenazado por diversas plagas y enfermedades que pueden reducir significativamente su rendimiento.

La aplicación de pesticidas químicos es una práctica común para controlar estos problemas, sin embargo, su uso intensivo tiene consecuencias negativas como la contaminación ambiental, la resistencia de plagas a los pesticidas y los efectos adversos en la salud del ser humano. En respuesta a esto se establecen nuevos métodos orgánicos para el control de plagas en el maíz, alternativas más sostenibles y amigables con el medio ambiente. En este contexto, los hongos entomopatógenos, como *Beauveria spp.*, han surgido como una opción prometedora (Santafé 2023).

La *Beauveria spp.* es un hongo conocido por su capacidad de infectar y matar una diversa gama de insectos plaga, este hongo también puede establecerse como endófito en varias plantas, incluyendo el maíz. Los endófitos son microorganismos que viven dentro de las plantas sin causarles daño y pueden atribuir múltiples beneficios, como el aumento de la resistencia a plagas y enfermedades, la mejora del crecimiento y el rendimiento, y una mayor tolerancia a condiciones de estrés (Peteira et al. 2011).

Los bioplaguicidas no solo disminuyen la dependencia de los pesticidas, estos también fomentan una agricultura sostenible y saludable. La inoculación de cultivos mejora la resistencia de las plantas a las plagas. Lo cual resulta en alimentos más seguros para el consumo humano y animal, dentro de los diversos bioplaguicidas se encuentran diferentes especies de hongos entomopatógenos, especialmente *Beauveria spp.* la cual es un hongo conocido por su capacidad para controlar diversas plagas agrícolas. Sin embargo, su potencial como agente de control biológico endófito en cultivos de maíz aún no se ha explorado completamente (Liu 2021).

Debido al crecimiento continuo de la población actual y futura, es crucial garantizar una alimentación más saludable al mismo tiempo que se reducen costos agrícolas. El uso de insecticidas químicos, son efectivos, sin embargo, son, a corto plazo estos conllevan altos costos económicos, ambientales y de salud.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

3.1 Beneficiarios directos:

Los beneficiados directos de la presente investigación son: los agricultores, los investigadores agrícolas y las empresas agrícolas, ya que los resultados podrían ser aplicados en el desarrollo de prácticas agrícolas más sostenibles y eficientes, incluyendo a *Beauveria spp.*, como un biocontrolador natural. La inoculación de *Beauveria spp.*, ha demostrado ser rentable y eficiente, lo que podría facilitar el desarrollo y la comercialización de productos basados en esta cepa de hongo para la protección de cultivos. Además, se espera que el uso de *Beauveria spp.*, incremente el rendimiento de los cultivos de maíz, lo cual se traduciría en una mayor producción por unidad de área cultivada.

3.1 Beneficiarios indirectos:

Los beneficiarios indirectos de la presente investigación son: consumidores, medio ambiente y salud pública, beneficia a los consumidores al mejorar la calidad del producto y mantener los costos de alimentos como cereales, harina de maíz y otros productos derivados, también hay que tomar en cuenta que el uso de la *Beauveria spp.* como biocontrolador podría reducir la dependencia de los agricultores a los pesticidas químicos, esto reduciría la contaminación del suelo y el agua, además el beneficio para la salud pública al disminuir la exposición de los seres humana y animal a las sustancias químicas potencialmente dañinas.

4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:

En la agricultura moderna, la gestión de las enfermedades y plagas, así como también el mantenimiento de la productividad de los cultivos son desafíos significativos para el desarrollo de la población en constante crecimiento, ya que el uso excesivo de los pesticidas químicos tiene un impacto negativo en el medio ambiente, así como también en la salud de los seres humanos.

A esto se le suma, la constante exposición de los cultivos a los tratamientos químicos, lo cual ha ocasionado un incremento en la resistencia de las plagas a los plaguicidas, una alternativa para estos desafíos es el uso de agentes de control biológico. *Beauveria spp.*, utilizada como endófito en plantas es una esta alternativa que busca no solo controlar las enfermedades y plagas de los cultivos, sino también mejorar su salud y rendimiento de manera sostenible.

El estudio de la inoculación de *Beauveria spp.* en plantas de maíz tiene implicaciones significativas para la agricultura sostenible y la seguridad alimentaria. Los hongos del género

Beauveria son conocidos por sus propiedades como agentes de biocontrol, específicamente contra una amplia gama de insectos plaga. *Beauveria* spp, una de las especies más estudiadas, infecta a los insectos mediante esporas que se adhieren a su cutícula, germinan y penetran en su cuerpo, lo que lleva a la muerte del insecto y a una reducción de la población de plagas (Noboa y Quelal 2015).

Según (Bautista, Mesa, y Gómez Alvarez 2018). La inoculación de *Beauveria* spp. no solo controla las plagas, sino que también mejora la resistencia de los cultivos a enfermedades al inducir respuestas de defensa en las plantas, haciéndolas más resistentes a patógenos y estrés. Esto es crucial en el contexto del cambio climático, donde los cultivos enfrentan condiciones adversas. Además, la aplicación de *Beauveria* spp. contribuye a la sostenibilidad agrícola al mejorar la salud del suelo. Estos hongos interactúan con otros microorganismos, promoviendo un ecosistema equilibrado y saludable. Un suelo sano mejora la disponibilidad de nutrientes y la estructura del suelo, facilitando el crecimiento de las raíces y la absorción de agua, lo que es fundamental para la productividad agrícola a largo plazo.

5. OBJETIVOS:

5.1 Objetivo general

- Inocular *Beauveria* spp. en plantas de maíz para determinar su rendimiento como hongo endófito.

5.2 Objetivo específico

- Determinar la influencia de *Beauveria* en la tasa de germinación de semillas de maíz.
- Evaluar la influencia de *Beauveria* en el crecimiento de plantas de maíz.
- Identificar a *Beauveria* spp. en material vegetal inoculado con el hongo en plántulas de maíz.

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

Tabla 1. *Tabla de actividades.*

| OBJETIVOS | ACTIVIDAD | METODOLOGÍA | RESULTADOS |
|---|---|---|--|
| Determinar la influencia de <i>Beauveria</i> en la tasa de germinación de semillas de maíz. | <ul style="list-style-type: none"> Preparación de la suspensión de esporas. Preparación del suelo y las semillas. Inoculación de las semillas. | <ul style="list-style-type: none"> Preparación de suspensiones de <i>Beauveria</i> spp. en concentraciones de 1×10^4, 1×10^6 y 1×10^8 conidios/mL. Desinfección del suelo y semillas. Inoculación de semillas y establecimiento de un grupo control. | <ul style="list-style-type: none"> Producción adecuada de conidios. Tratamiento del suelo y semillas conforme a protocolos. Establecimiento de grupos experimentales y controles. |
| Evaluar la influencia de <i>Beauveria</i> en el crecimiento de plantas de maíz. | <ul style="list-style-type: none"> Condiciones de germinación. Seguimiento y registro de la germinación. Análisis estadístico. | <ul style="list-style-type: none"> Las plantas germinadas fueron rociadas con <i>Beauveria</i> spp. nativa y comercial respectivamente en las tres concentraciones respectivamente en frecuencias de cada 3, 7 y 15 días. Monitoreo diario del número de semillas germinadas, definiendo la | <ul style="list-style-type: none"> Se observó y registró la tasa de germinación diaria. Las semillas tratadas mostraron diferencias significativas en comparación con el grupo control. |

| | | | |
|---|---|--|---|
| <p>Identificar a <i>Beauveria</i> spp. en material vegetal inoculado con el hongo en plántulas de maíz.</p> | <ul style="list-style-type: none"> • Identificación de <i>Beauveria</i> en hojas de maíz a los días postinoculación. | <p>germinación como la emergencia de la radícula. Registro de datos para cada grupo.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aplicación de pruebas estadísticas para comparar la tasa de germinación entre semillas tratadas con <i>Beauveria</i> spp. y el grupo control. Evaluación de significancia. • Toma de muestras de hojas de cada tratamiento, maceta • Desinfección de las hojas. • Corte de las hojas en pequeños cuadrados. • Siembra de segmentos de tejido vegetal de 3-4 mm de longitud. • Desarrollo de 4 días, verificar la presencia de <i>Beauveria</i> spp. como endófito. | <ul style="list-style-type: none"> • Identificación de la presencia de <i>Beauveria</i> spp. como endófito en las plantas de maíz tratadas mediante el análisis de las muestras. |
|---|---|--|---|

Nota. Elaborado por Luis L.

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

7.1 El Maíz (*Zea mays*)

7.1.1 Origen y evolución

El maíz es originario del centro de México y es una fusión de teosinte y otras plantas silvestres. Perteneciente a la familia Poaceae o Grass, es uno de los alimentos más antiguos que se conocen, totalmente domesticado y dependiente del cultivo humano. Se estima que fue cultivado hace unos 10.000 años, y la evidencia más antigua se encontró hace 6.250 años en la cueva de Guila Naquitz en Oaxaca. Su nombre científico es *Zea mays*, los nahuas lo llamaban “centli”, y en América y Europa ha recibido diversos nombres como choclo, jojoto, maíz, milho, elote y maíz. México es el país con la variedad más rica de maíz, con más de 60 variedades, entre ellas maíz blanco, azul, dulce y amarillo, utilizadas para alimentación y alimentación animal.

La domesticación de las plantas de maíz, es una parte central de la civilización e implica una interdependencia compleja entre humanos y cultivos, lo que resulta en cambios importantes conocidos como síndrome de domesticación. Charles Darwin estudió este proceso y desarrolló su teoría de la evolución, enfatizando la importancia de mantener separadas las variedades de maíz. La evidencia arqueológica muestra que el maíz se utilizó en Mesoamérica durante el Holoceno, durante miles de años, los primeros americanos modificaron genéticamente el maíz para aumentar el tamaño de las mazorcas y los granos, transformando el teosinte en maíz moderno. Este proceso de desarrollo continúa brindando información valiosa para nuestro futuro (Divulgación-CIMMYT 2021).

7.1.2 Importancia económica y nutricional

El maíz es un alimento básico a nivel mundial, cultivado en 125 países y ocupando alrededor de 100 millones de hectáreas, con una producción y demanda en aumento hacia 2025. Perteneciente al orden Poales, familia *Poaceae*, dentro de la tribu *Andropogoneae*, que incluye el género *Zea*. Hace 10,000 años, la domesticación de animales y plantas comenzó, seleccionando los mejores rasgos para mejorar la producción (Vanegas 2018).

Los granos de maíz convencionales están compuestos por un 70-75% de almidón, un 8-10% de proteína y un 4-5% de aceite distribuido en el germen, el endospermo y el pericarpio. Los gérmenes constituyen del 10 al 12% del peso seco y contienen la mayoría de los lípidos y

proteínas. El endospermo constituye el 80% del peso seco y contiene la mayor parte del almidón y las proteínas. La corteza es rica en fibras vegetales y constituye entre el 5 y el 6% del peso seco. La molienda húmeda, que separa estos componentes en el ambiente acuoso, ha sido una industria importante en desde 1928, consumiendo alrededor de 1 millón de toneladas de maíz cada año, o el 15% del consumo del país (*ilsa maizar*, 2006).

Cada día se descubren nuevos usos industriales para el maíz. En los países desarrollados, se están fabricando papeles a base de maíz y plásticos biodegradables a partir de almidón de maíz, los cuales son más ecológicos que los plásticos derivados del petróleo. Estos plásticos se utilizan para producir telas de secado rápido para deportistas, CDs, computadoras, teléfonos celulares, frazadas, alfombras y envases de alimentos, entre otros. Se estima que ya existen más de 4,000 aplicaciones diferentes para los productos derivados del maíz (Doebley, Gaut, y Smith 2006).

7.1.3 Biología y fisiología del maíz

El maíz (*Zea mays*) es una planta anual de la familia Gramineae de alto valor agronómico y versatilidad. Su desarrollo se puede dividir en varias etapas claramente definidas, cada una de las cuales tiene características morfológicas específicas (Bennetzen y Hake 2009).

7.1.3.1 Germinación y emergencia:

La germinación del maíz comienza con la absorción de agua por parte de las semillas, seguida del alargamiento de la radícula (raíz primaria) y el coleoptilo (funda protectora de las yemas), este proceso suele tener lugar entre los primeros 3 a 5 días después de la siembra. Características morfológicas: Las semillas erupcionadas y los coleoptilos jóvenes son los primeros signos visibles de crecimiento (Nannas y Dawe 2015).

7.1.3.2 Etapa Vegetativa:

Esta fase incluye el crecimiento de hojas y tallos a medida que la planta desarrolla un sistema de raíces más amplio y produce más hojas. Las etapas vegetativas a menudo se identifican como V1, V2, V3, etc., y los números indican la cantidad de hojas con collares visibles. Características morfológicas: Desarrolla hojas alternas y un tallo principal grueso. Las hojas son largas y estrechas con venas pronunciadas (Bennetzen y Hake 2009).

7.1.3.3 Etapa Reproductiva:

El inicio de la etapa reproductiva se marca por la aparición de la inflorescencia masculina (espiga o panícula) en la parte superior de la planta y la inflorescencia femenina (mazorca) en las axilas de las hojas. Características Morfológicas: Las espigas producen polen, mientras que las mazorcas desarrollan sedas que capturan el polen para la fertilización (Tollenaar y Lee 2006).

7.1.3.4 Polinización y Fecundación:

La polinización en el maíz es principalmente anemófila (por el viento). El polen de las espigas fertiliza las sedas de las mazorcas, lo que lleva a la formación de granos de maíz. Características Morfológicas: Las sedas se alargan y emergen de las mazorcas, cada una conectada a un óvulo que, una vez fertilizado, se convierte en un grano (Hoeft et al. 2000).

7.1.3.5 Llenado del Grano y Madurez:

Durante esta etapa, los granos de maíz se llenan de nutrientes y crecen hasta alcanzar su tamaño completo. La planta sigue acumulando biomasa y los granos maduran. Características Morfológicas: Los granos se vuelven más grandes y duros, adquiriendo el color característico de la variedad de maíz cultivada (National Academies of Sciences et al. 2016).

7.1.4 Características Morfológicas

Raíces: Sistema radicular fibroso que se extiende lateralmente y en profundidad, proporcionando soporte y absorción de nutrientes. Tallo: Erecto y robusto, con nudos y entrenudos visibles. Los entrenudos se alargan a medida que la planta crece. Hojas: Alternas y largas, con una vaina que envuelve el tallo. Cada hoja tiene una lámina y una lígula distintiva. Inflorescencia Masculina (Espiga): Ubicada en la cima del tallo principal, produce y libera polen. Inflorescencia Femenina (Mazorcas): Crecen en las axilas de las hojas, con sedas que emergen para capturar el polen (Shiferaw et al. 2011).

7.2 . Concepto de Endófitos

El término endófito hace referencia a microorganismos, como bacterias o hongos, que residen dentro de los tejidos de una planta durante parte o todo su ciclo de vida sin provocar síntomas evidentes de enfermedad en el huésped. Esta simbiosis puede beneficiar a la planta al mejorar su resistencia a enfermedades, aumentar su tolerancia al estrés, promover su crecimiento y producir compuestos secundarios beneficiosos. Los endófitos pueden habitar varios tejidos de

la planta, como las raíces, el tallo, las hojas e incluso las semillas. Esta relación entre planta y endófito ha generado gran interés en la agricultura y la biotecnología debido a su potencial para mejorar la salud de las plantas y aumentar la productividad agrícola de manera sostenible y respetuosa con el medio ambiente (Rodríguez et al. 2009).

7.2.1 Mecanismos de colonización

Los endofitos, tanto bacterianos como fúngicos, emplean una variedad de estrategias para colonizar las plantas y establecer una simbiosis, en el caso de los endofitos fúngicos colonizan las plantas mediante esporas que germinan en las raíces o las hojas, produciendo estructuras especializadas para penetrar la epidermis y extenderse por los tejidos internos. Estos procesos de colonización son influenciados por factores genéticos y ambientales, y comprenderlos es crucial para aprovechar el potencial agronómico de los endofitos en aplicaciones como el biocontrol y el mejoramiento vegetal (Ryan et al. 2008).

7.2.2 Beneficios para las plantas

Los endofitos, tanto bacterianos como fúngicos, ofrecen una variedad de ventajas a las plantas, como mejorar su crecimiento, resistencia a enfermedades y capacidad para soportar condiciones adversas, estos microorganismos pueden estimular el desarrollo vegetal al facilitar la absorción de nutrientes, producir hormonas vegetales y competir con patógenos por recursos. Además, pueden ayudar a las plantas a enfrentar situaciones de estrés, como sequías o salinidad, mediante la producción de compuestos protectores y la regulación de respuestas fisiológicas. La comprensión de esta compleja interacción es esencial para aprovechar al máximo el potencial de los endofitos en la agricultura y la conservación (Rosa Sánchez et al. 2013).

7.3 *Beauveria* spp.

Beauveria spp. es un hongo entomopatógeno que se utiliza actualmente como un insecticida biológico eficaz contra numerosas plagas en una amplia gama de cultivos importantes, incluyendo frutales, cítricos y hortalizas. Este hongo puede combatir diversas plagas de insectos, como trips, mosca blanca, pulgones, psila y ácaros, entre otros (Almudena 2022).

7.3.1 Descripción del hongo ///

7.3.1.1 Taxonomía

Súper Reino: Eucariota

Reino: Fungi

División: Amastigomicotina

Subdivisión: Deuteromycotina

Clase: Hyphomycete

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: *Beauveria* Especie: spp. (Iriarte R 2006).

7.3.1.2 Morfología.

Beauveria spp. es un hongo entomopatógeno conocido por su apariencia polvosa. Cuando se cultiva en medios de laboratorio, su colonia es algodonosa y puede presentar colores que van del blanco puro al amarillento cremoso. La textura de las colonias suele ser densa y vellosa debido a la producción abundante de esporas (Guedez 2014).

7.3.1.3 Ciclo de vida.

Adhesión y Germinación: Cuando un conidio aterriza en la superficie de un insecto, germina y forma un tubo germinativo que se desarrolla en un apresorio, una estructura que facilita la adhesión firme a la cutícula del insecto.

Penetración: El hongo penetra la cutícula del insecto utilizando enzimas degradativas y presión mecánica. A partir del apresorio, se desarrolla una hifa que invade los tejidos del insecto.

Colonización Interna: Dentro del insecto, las hifas se ramifican y producen toxinas que ayudan a superar las defensas del hospedador. Esta fase culmina con la muerte del insecto.

Sporulación: Después de la muerte del insecto, el hongo emerge de los restos del hospedador y forma conidióforos en la superficie, iniciando nuevamente el ciclo de producción de conidios (Pavone 2021).

7.3.2 *Mecanismos de acción.*

Beauveria spp., un hongo entomopatógeno ampliamente utilizado en el control biológico de plagas de insectos, ejerce su efecto letal a través de varios procesos:

Adhesión y penetración: Las esporas de *Beauveria spp.* se adhieren a la superficie del insecto y germinan, formando estructuras de penetración que perforan la cutícula del huésped.

Colonización interna: Una vez dentro del insecto, el hongo crece y se desarrolla, colonizando los tejidos y compitiendo por los nutrientes disponibles.

Producción de toxinas y enzimas: *Beauveria spp.* produce una gama de toxinas y enzimas que contribuyen a su virulencia. Estas sustancias pueden dañar el sistema digestivo y nervioso del insecto, así como degradar sus tejidos, incluyendo proteínas, quitina y lípidos.

Inmunosupresión: El hongo también tiene la capacidad de suprimir la respuesta inmune del insecto huésped, lo que impide su capacidad para combatir la infección fúngica, facilitando así una infección más grave (Téllez-Jurado et al. 2009).

7.3.3 *Uso en biocontrol: Aplicaciones en el control biológico de plagas.*

El uso de hongos entomopatógenos en el control biológico de plagas es una estrategia efectiva y amigable con el medio ambiente. Estos hongos son organismos que infectan a insectos y otros artrópodos, provocándoles enfermedades y eventualmente la muerte. Ejemplos comunes de estos hongos incluyen *Beauveria spp.*, *Metarhizium anisopliae* y *Lecanicillium lecanii* (Pacheco Hernández et al. 2019).

Su aplicación puede realizarse de varias formas, como la pulverización sobre las plantas, la aplicación en el suelo o como cebo. Una vez que entran en contacto con el insecto objetivo, los hongos penetran su cuerpo y se reproducen, ocasionando enfermedades que conducen a su muerte. Además de su efectividad en el control de plagas, estos hongos son seguros para el medio ambiente y no representan riesgos para humanos, animales domésticos o la vida silvestre. Además, no generan resistencia en las poblaciones de plagas (Pucheta Díaz et al. 2006).

El uso de hongos entomopatógenos se ha vuelto crucial en la gestión integrada de plagas, ya que contribuye a reducir la dependencia de pesticidas químicos y promueve prácticas agrícolas sostenibles. Sin embargo, es importante considerar que el éxito de esta técnica puede verse influenciado por diversos factores, como las condiciones ambientales y la especie de plaga a

controlar. Por lo tanto, es esencial realizar una evaluación exhaustiva del sistema antes de implementar este método de control de plagas (Barajas-Méndez et al. 2022)..

7.4 Interacción de *Beauveria* spp. con plantas.

La relación entre *Beauveria* spp. y las plantas puede ser multifacética, influenciada por diversos factores como el tipo de planta, la cepa las condiciones ambientales y otros organismos presentes en el suelo.

Inicialmente la *Beauveria* spp. puede actuar como endofito en las plantas, colonizando sus tejidos internos sin causar daño visible. Esta colonización puede beneficiar a las plantas al ayudarlas a resistir el estrés biótico y abiótico, fortaleciendo su crecimiento y desarrollo, además, ciertas cepas de *Beauveria* spp. tienen la capacidad de promover el crecimiento de las plantas al estimular la producción de hormonas vegetales y mejorar la absorción de nutrientes del suelo, contribuyendo así a su salud general (Namesny 2022).

En el aspecto de control de enfermedades, la *Beauveria* spp. puede ayudar a reducir la incidencia de patógenos del suelo al competir por recursos, actuando como un agente de biocontrol tanto para plagas de insectos como para enfermedades fúngicas que afectan a las plantas. en algunos casos la *Beauveria* spp. puede interactuar directamente con las plantas, produciendo metabolitos secundarios que pueden tener efectos beneficiosos o perjudiciales, dependiendo del contexto ambiental y de la salud de la planta (Humber 2017).

7.4.1 Mecanismos de interacción planta-hongo: Cómo *Beauveria* spp. coloniza las plantas y los beneficios asociados.

Beauveria spp. es un hongo entomopatógeno que coloniza diversos hospedadores, incluyendo insectos y plantas. Aunque tradicionalmente se ha estudiado por su capacidad para controlar plagas de insectos, también se ha observado que puede interactuar con plantas de manera beneficiosa (Agropal 2016).

Una de las formas en que la *Beauveria* spp. beneficia a las plantas es a través del endofitismo. Este hongo puede establecer una relación endofítica con las plantas, colonizando los tejidos internos sin causar daño aparente. Esta asociación puede conferir a las plantas resistencia a patógenos y aumentar su tolerancia al estrés abiótico, además la *Beauveria* spp. produce una variedad de metabolitos secundarios que pueden promover el crecimiento vegetal y la resistencia a enfermedades. La producción de sideróforos por parte del hongo, por ejemplo,

puede ayudar a las plantas a adquirir hierro en suelos deficientes (Aragón y Beltrán-Acosta 2014).

La presencia de la *Beauveria spp.* en las raíces de las plantas puede desencadenar respuestas de defensa sistémica en la planta, aumentando su capacidad para defenderse contra patógenos e insectos herbívoros. Esta inducción de respuestas de defensa puede ser beneficiosa para la salud general de la planta, además, se ha observado que la colonización de *B. spp.* en las raíces de las plantas puede promover el crecimiento de las mismas, posiblemente mediante la mejora de la absorción de nutrientes y la producción de fitohormonas por parte del hongo (Bucarei 2020).

7.4.2 Impacto en el crecimiento y salud de la planta: Efectos directos e indirectos en la fisiología vegetal.

En cuanto a los efectos directos, la presencia de este hongo puede estimular directamente el crecimiento vegetal al colonizar las raíces y promover la producción de fitohormonas, lo que resulta en un aumento en la absorción de nutrientes y una mejora en el desarrollo general de la planta. Además, *Beauveria spp.* puede producir metabolitos secundarios que actúan como bioestimulantes, favoreciendo la floración y la producción de frutos, mientras que simultáneamente protege a la planta contra patógenos al competir por recursos o producir compuestos antimicrobianos (Andrade et al. 2023).

Por otro lado, los efectos indirectos de *Beauveria spp.* incluyen la inducción de respuestas de defensa sistémica en la planta, lo que la prepara para combatir futuras infecciones por patógenos o ataques de insectos. Además, la presencia del hongo puede mejorar la nutrición de la planta al aumentar la disponibilidad de nutrientes en el suelo o al estimular el crecimiento radicular, y también puede aumentar su capacidad para tolerar condiciones de estrés abiótico al regular genes relacionados con el estrés y sintetizar compuestos protectores (Jimenez 2021).

7.5 Métodos de Inoculación de *Beauveria spp.* en plantas.

7.5.1 Técnicas de inoculación: Semillas, suelo, foliar y sus respectivas eficacias.

Existen varias técnicas de inoculación de *Beauveria spp.* en plantas, cada una con sus propias ventajas y eficacias. Aquí se describen las técnicas de inoculación más comunes: la inoculación de semillas, la inoculación del suelo y la inoculación foliar, junto con sus respectivas eficacias.

La inoculación de semillas implica la aplicación del hongo directamente a las semillas antes de la siembra. Esta técnica permite que el hongo colonice las raíces de las plantas desde el principio, proporcionando una protección temprana contra patógenos del suelo y contribuyendo al crecimiento inicial de la planta. Sin embargo, la eficacia de esta técnica puede verse limitada por la supervivencia y competencia del hongo en el suelo después de la germinación de las semillas (Cardarell 2017).

La inoculación del suelo implica la aplicación de *Beauveria spp.* al suelo alrededor de las raíces de las plantas establecidas. Esta técnica permite que el hongo colonice el suelo y las raíces de las plantas de forma natural, proporcionando una protección continua contra patógenos del suelo y promoviendo el crecimiento saludable de las plantas a lo largo de su ciclo de vida. Además, la inoculación del suelo puede ser más práctica y rentable en cultivos a gran escala que la inoculación de semillas (Ureña y Poleth 2022).

La inoculación foliar implica la pulverización directa de las hojas y tallos de las plantas con una suspensión de esporas de *Beauveria spp.*. Esta técnica se utiliza principalmente para el control de plagas foliares, ya que permite que el hongo entre en contacto directo con los insectos que se alimentan de las hojas. Sin embargo, la eficacia de la inoculación foliar puede verse afectada por factores como la cobertura y la adhesión de las esporas a la superficie de las hojas, así como por las condiciones ambientales que afectan la supervivencia y la actividad del hongo (Allegrucci et al. 2020).

7.5.2 Condiciones ambientales y de cultivo: Factores que afectan la colonización y rendimiento endófito.

Las condiciones ambientales y de cultivo juegan un papel esencial en la colonización y el rendimiento endófito de *Beauveria spp.* en las plantas, la temperatura es un factor crítico que influye en la actividad y eficacia de *Beauveria spp.* como endófito. Este hongo tiene una temperatura óptima para su crecimiento y colonización, y condiciones extremas pueden limitar su establecimiento en las plantas. la humedad también es crucial. *Beauveria spp.* requiere condiciones de humedad adecuadas para multiplicarse eficazmente en los tejidos de la planta. La disponibilidad de agua en el suelo y en los tejidos vegetales puede afectar su colonización exitosa (Allegrucci et al. 2020).

El pH del suelo es otro factor relevante. El hongo puede tener preferencias específicas de pH para su crecimiento y actividad, y condiciones inadecuadas pueden afectar su capacidad para colonizar las raíces y otros tejidos, la disponibilidad de nutrientes en el suelo también influye.

Beauveria spp. necesita nutrientes adecuados para su crecimiento y desarrollo. La deficiencia o el exceso de ciertos nutrientes pueden afectar su capacidad de establecerse como endófito, además, la susceptibilidad de diferentes especies de plantas y variedades de cultivo a la colonización endofítica de *Beauveria spp.* spp. puede variar considerablemente. Algunas plantas pueden ser más receptivas que otras, y ciertas variedades pueden mostrar mayor tolerancia o resistencia a la presencia del hongo (Agropal 2016).

7.5.3 Evaluación de la colonización: Métodos de detección y cuantificación del hongo en tejidos vegetales.

La evaluación de la colonización de *Beauveria spp.* en tejidos vegetales es esencial para comprender su interacción con las plantas y su efectividad como endófito. Aquí se presentan algunos métodos comunes utilizados para detectar y cuantificar la colonización del hongo en tejidos vegetales.

Uno de los métodos más tradicionales es el aislamiento en placas de cultivo. Esto implica extraer tejidos vegetales, como raíces o tallos, y luego cultivar en medios de cultivo selectivos. Las colonias de hongos que crecen en las placas pueden ser contadas y cuantificadas para determinar su presencia y abundancia en los tejidos vegetales.

La PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) es una técnica molecular ampliamente utilizada para detectar la presencia de secuencias específicas de ADN, como las asociadas con *B. spp.*. Se diseñan cebadores específicos para el ADN del hongo, y luego se amplifica y detecta el ADN extraído de los tejidos vegetales mediante PCR en tiempo real o convencional.

La microscopía proporciona una evaluación visual de la colonización de *Beauveria spp.* en los tejidos vegetales. Se pueden utilizar tinciones específicas para resaltar la presencia del hongo, como la tinción con azul de lactofenol, para evaluar su abundancia y distribución en los tejidos (Pucheta Díaz et al. 2006).

Los ensayos de actividad enzimática pueden servir como un indicador indirecto de la colonización del hongo en los tejidos vegetales. *Beauveria spp.* produce enzimas específicas que pueden ser detectadas y cuantificadas en los tejidos mediante ensayos enzimáticos.

Finalmente, técnicas de biología molecular avanzada, como la secuenciación de próxima generación (NGS) y la transcriptómica, pueden proporcionar información detallada sobre la expresión génica de *Beauveria spp.* en los tejidos vegetales y su interacción con la planta a nivel molecular. Estos métodos proporcionan herramientas valiosas para estudiar la

colonización de *B. spp.* en tejidos vegetales, lo que ayuda a comprender mejor su papel como endófito y su potencial para el control de plagas y enfermedades en la agricultura (Angarita Merchán, Torres Caicedo, y Díaz Torres 2017).

7.6 Efectos del Endofitismo de *Beauveria spp.*, en el Maíz

El endofitismo de *Beauveria spp.* en el maíz ofrece una serie de beneficios, incluyendo protección contra enfermedades mediante la competencia con patógenos, estimulación del crecimiento vegetal al aumentar la absorción de nutrientes, mejora de la tolerancia al estrés abiótico y reducción del uso de agroquímicos. Estos efectos hacen de *Beauveria spp.* una herramienta prometedora para la agricultura sostenible y el manejo integrado de plagas en los cultivos de maíz (Shiferaw et al. 2011).

7.6.1 Impacto en el rendimiento del maíz: Influencia en el crecimiento, productividad y calidad del grano.

El impacto del endofitismo de *Beauveria spp.* en el rendimiento del maíz se refleja en varios aspectos clave, incluyendo su influencia en el crecimiento, productividad y calidad del grano. La presencia de *Beauveria spp.* como endofito puede promover un crecimiento vegetal más vigoroso al mejorar la absorción de nutrientes y estimular la producción de fitohormonas, lo que conduce a tallos más robustos y hojas más grandes. Esta mejora en el crecimiento puede traducirse en un aumento en la productividad del cultivo, con un mayor rendimiento de grano por unidad de superficie. Además, *Beauveria spp.* puede contribuir a la calidad del grano al proteger la planta contra enfermedades y estrés abiótico, lo que resulta en granos de maíz más sanos y de mejor calidad nutricional. En resumen, el endofitismo de *Beauveria spp.* puede tener un impacto positivo en el rendimiento del maíz al promover un crecimiento más saludable, una mayor productividad y una mejor calidad del grano (Pacheco Hernández et al. 2019).

7.6.2 Resistencia a plagas y enfermedades: Efectividad contra plagas específicas del maíz.

La resistencia a plagas y enfermedades es una ventaja importante del endofitismo de *Beauveria spp.* en el maíz, ya que este hongo actúa como un agente de control biológico natural. Es efectivo contra varias plagas específicas del maíz, incluyendo gusanos del tallo, gusanos cogolleros, escarabajos y hongos patógenos del suelo. *Beauveria spp.* puede controlar las poblaciones de estas plagas al infectar y reducir su número, lo que disminuye los daños en los cultivos de maíz. Esto proporciona una protección natural y reduce la dependencia de los agricultores en el uso de productos químicos para el control de plagas, promoviendo así

prácticas agrícolas más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente (Sandoval y Mur 2018).

7.6.3 Tolerancia al estrés abiótico: Respuesta a condiciones de sequía, salinidad, y otros factores ambientales.

El endofitismo de *Beauveria spp.* en el maíz puede mejorar la tolerancia de la planta al estrés abiótico, como la sequía, la salinidad y otros factores ambientales adversos. Este hongo puede activar respuestas de defensa en la planta, induciendo la síntesis de compuestos protectores como osmolitos y antioxidantes, que ayudan a la planta a mantener su vitalidad bajo estrés. Además, puede promover el crecimiento radicular y aumentar la eficiencia de absorción de agua y nutrientes, lo que ayuda a mantener un adecuado estado hídrico y nutricional. La presencia de *Beauveria spp.* también puede proteger a las plantas contra patógenos oportunistas, fortaleciendo su sistema inmunológico y compitiendo con los patógenos por recursos en el suelo. En resumen, el endofitismo de *Beauveria spp.* contribuye a la resiliencia y supervivencia de los cultivos de maíz en condiciones ambientales desafiantes (Barajas-Méndez et al. 2022).

7.7 Casos de Estudio y Experiencias Previas.

En la investigación sobre el endofitismo de *Beauveria spp.* en el maíz, se han realizado varios casos de estudio y se han documentado experiencias previas que destacan su efectividad y beneficios potenciales. Estos casos de estudio y experiencias previas han proporcionado información valiosa sobre cómo *Beauveria spp.* puede mejorar el crecimiento, proteger contra plagas y enfermedades, y aumentar la tolerancia al estrés en los cultivos de maíz (Agricultura (IICA) 2015).

Algunos casos de estudio han demostrado cómo la presencia de *Beauveria spp.* como endofito puede aumentar la resistencia del maíz a plagas específicas, como los gusanos del tallo y los gusanos cogolleros, reduciendo así la necesidad de aplicar pesticidas químicos. Además, se han observado mejoras en el crecimiento y rendimiento del maíz en condiciones de estrés abiótico, como sequía o salinidad, cuando las plantas están colonizadas por *Beauveria spp.* (Chiriboga, Gomez, y Garces 2015).

Experiencias previas en campo también han demostrado la viabilidad y eficacia del uso de *Beauveria spp.* como un enfoque de control biológico para el maíz. Agricultores y investigadores han observado una reducción en los daños causados por plagas y enfermedades,

así como una mejora en la salud y calidad de los cultivos de maíz, al integrar el endofitismo de *Beauveria spp.* en sus prácticas agrícolas (Rojas 2019).

7.7.1 Revisión de literatura: Estudios previos y resultados sobre el uso de *Beauveria spp.* en maíz y otros cultivos.

La revisión de literatura sobre el uso de *Beauveria spp.* en maíz y otros cultivos proporciona una visión amplia de los estudios previos y los resultados obtenidos en este campo. Numerosos estudios han explorado el potencial de *Beauveria spp.* como un agente de control biológico para mejorar el rendimiento y la salud de los cultivos. En el contexto del maíz, se han documentado investigaciones que destacan la capacidad de *Beauveria spp.* para controlar plagas específicas, como gusanos del tallo y cogolleros, reduciendo así la necesidad de pesticidas químicos y minimizando los daños en los cultivos. Además, se han observado efectos positivos en el crecimiento del maíz y su tolerancia al estrés abiótico, como la sequía y la salinidad, cuando las plantas están colonizadas por *Beauveria spp.*. Además del maíz, estudios en otros cultivos agrícolas también han demostrado el potencial de *Beauveria spp.* como un agente de control biológico efectivo contra una variedad de plagas y enfermedades. Estos hallazgos respaldan la viabilidad y la promesa del uso de *Beauveria spp.* en la agricultura como una alternativa sostenible y respetuosa con el medio ambiente para el control de plagas y la mejora del rendimiento de los cultivos (Molina y Espinal 2006).

7.7.2 Aplicaciones prácticas y comerciales: Éxitos y desafíos en la implementación a nivel de campo.

Las aplicaciones prácticas y comerciales de *Beauveria spp.* en la agricultura han experimentado tanto éxitos como desafíos en su implementación a nivel de campo. Por un lado, se han observado numerosos éxitos en el uso de *Beauveria spp.* como un agente de control biológico efectivo en diferentes cultivos, incluido el maíz. Se ha demostrado su capacidad para controlar plagas específicas, reducir el uso de pesticidas químicos y mejorar el rendimiento de los cultivos. Además, se han desarrollado formulaciones y métodos de aplicación que permiten una fácil integración de *Beauveria spp.* en prácticas agrícolas existentes (Martínez y Ponce 2012).

Sin embargo, también existen desafíos significativos en la implementación a nivel de campo. Uno de los principales desafíos es la estandarización y optimización de las prácticas de aplicación para garantizar una distribución uniforme y una efectividad consistente de *Beauveria spp.* en el control de plagas. Además, la aceptación y adopción por parte de los

agricultores pueden ser variables, especialmente en regiones donde el uso de productos químicos es predominante y la conciencia sobre alternativas biológicas es limitada (Delgado y Murcia-Ordoñez 2011).

Otros desafíos incluyen la viabilidad económica y la escalabilidad de la producción de *Beauveria spp.* a gran escala, así como la regulación y el registro de productos biológicos en diferentes jurisdicciones. Además, la investigación continua es necesaria para abordar cuestiones como la estabilidad de las formulaciones, la compatibilidad con otros métodos de control de plagas y la evaluación a largo plazo de los impactos ambientales y la seguridad para la salud humana (Botero, Marín, y Machado 2009a).

A pesar de estos desafíos, las aplicaciones prácticas y comerciales de *Beauveria spp.* en la agricultura representan una oportunidad prometedora para mejorar la sostenibilidad y la eficacia de los sistemas de producción de alimentos. Con un enfoque continuo en la investigación, la colaboración entre industria, academia y agricultores, y el apoyo político adecuado, es posible superar estos desafíos y avanzar hacia un uso más amplio y efectivo de *Beauveria spp.* en la agricultura a nivel mundial (Inglese et al. 2018).

7.8 Perspectivas Futuras y Desafío.

Las perspectivas futuras para el uso de *Beauveria spp.* en la agricultura son prometedoras, pero enfrentan desafíos importantes. Se espera que la investigación avance en el desarrollo de cepas más eficaces y específicas del hongo para el control de plagas en cultivos como el maíz, así como en la optimización de formulaciones y métodos de aplicación. Sin embargo, la resistencia de las plagas a los biopesticidas, la necesidad de educación y concienciación de los agricultores, y las preocupaciones sobre seguridad y impacto ambiental son desafíos que deben abordarse. Con un enfoque colaborativo y comprometido, es posible aprovechar el potencial de *Beauveria spp.* para mejorar la sostenibilidad y eficacia de la producción agrícola (Sánchez et al., 2022).

7.8.1 Innovaciones en técnicas de inoculación: Desarrollo de nuevas metodologías y tecnologías

Las innovaciones en técnicas de inoculación de *Beauveria spp.* están en constante desarrollo, buscando mejorar la eficacia y la conveniencia de su aplicación en la agricultura. Se están explorando nuevas metodologías y tecnologías para optimizar la distribución y el establecimiento del hongo en los cultivos. Esto incluye el desarrollo de formulaciones más estables y efectivas, como microencapsulación y nanopartículas, que protegen al hongo durante

el almacenamiento y aumentan su supervivencia y actividad en el campo. Además, se están investigando métodos de aplicación más precisos y dirigidos, como sistemas de liberación controlada y aplicación aérea mediante drones, que permiten una distribución uniforme y eficiente de *B. spp.* en áreas agrícolas extensas. Estas innovaciones tienen el potencial de mejorar la eficacia del control biológico de plagas y enfermedades en la agricultura, contribuyendo así a una producción de alimentos más sostenible y respetuosa con el medio ambiente. Sin embargo, es necesario continuar con la investigación y la evaluación de estas nuevas tecnologías para garantizar su viabilidad y seguridad en el campo (Ejido y Quintana 2014).

7.8.2 Regulación y aceptación del mercado: Normativas y percepción del uso de hongos endófitos en la agricultura.

La regulación y la aceptación del mercado son aspectos fundamentales para el uso exitoso de hongos endófitos como *Beauveria spp.* en la agricultura. Las normativas y políticas regulatorias relacionadas con biopesticidas varían según la región y pueden influir en la disponibilidad y el uso de estos productos. La aceptación del mercado también depende en gran medida de la percepción de los agricultores, los consumidores y los responsables de la toma de decisiones sobre la eficacia, seguridad y beneficios ambientales de los hongos endófitos en comparación con los pesticidas químicos tradicional (Ramírez, 2018) .

Para promover la regulación y la aceptación del mercado de los hongos endófitos en la agricultura, es importante abogar por estándares regulatorios claros y consistentes que garanticen la seguridad y la eficacia de estos productos. Esto incluye la realización de estudios científicos rigurosos para evaluar su impacto en la salud humana y el medio ambiente, así como el desarrollo de protocolos de aplicación y etiquetado claros para guiar su uso seguro y efectivo en el campo (Chi Chi 2015).

Además, es crucial educar a los agricultores, los consumidores y los responsables de la toma de decisiones sobre los beneficios de los hongos endófitos en términos de control de plagas, mejora del rendimiento del cultivo y reducción del impacto ambiental. Esto puede implicar campañas de sensibilización, programas de capacitación y demostraciones en campo para mostrar los resultados positivos y fomentar la adopción de prácticas agrícolas más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente (Rengifo 2019).

7.8.3 Investigaciones futuras: Áreas de investigación y potenciales aplicaciones emergentes.

Las investigaciones futuras en torno a *Beauveria spp.* abarcan una variedad de campos y prometen desbloquear potenciales aplicaciones innovadoras tanto en la agricultura como en otros sectores. Estas investigaciones se centran en comprender más profundamente la variabilidad genética de este hongo y en cómo podría aprovecharse para desarrollar cepas mejoradas con características específicas. Además, se están explorando las complejas interacciones entre *Beauveria spp.* y las plantas hospederas, con el objetivo de desarrollar estrategias de control de plagas más integradas y eficaces (Chiriboga 2015).

Por otro lado, los científicos están investigando nuevas formulaciones y métodos de aplicación que puedan mejorar la estabilidad y la eficacia de *Beauveria spp.* en condiciones reales de campo. Esto podría incluir el desarrollo de tecnologías de microencapsulación o nanopartículas, así como sistemas de liberación controlada que permitan una dispersión más precisa del hongo en el medio ambiente agrícola (Auquilla 2017).

Además, se están llevando a cabo estudios sobre la capacidad de *Beauveria spp.* para controlar plagas y enfermedades emergentes, así como su eficacia frente a la resistencia que algunas plagas pueden desarrollar a los pesticidas químicos convencionales. Al mismo tiempo, se están evaluando los posibles impactos ambientales y los riesgos para la seguridad asociados con su uso, con el fin de garantizar que su aplicación sea segura tanto para el medio ambiente como para la salud humana.

En última instancia, estas investigaciones podrían allanar el camino para la implementación de prácticas agrícolas más sostenibles y resistentes en el futuro, ofreciendo soluciones efectivas y respetuosas con el medio ambiente para el control de plagas y enfermedades en la agricultura (Nussenbaum, 2014).

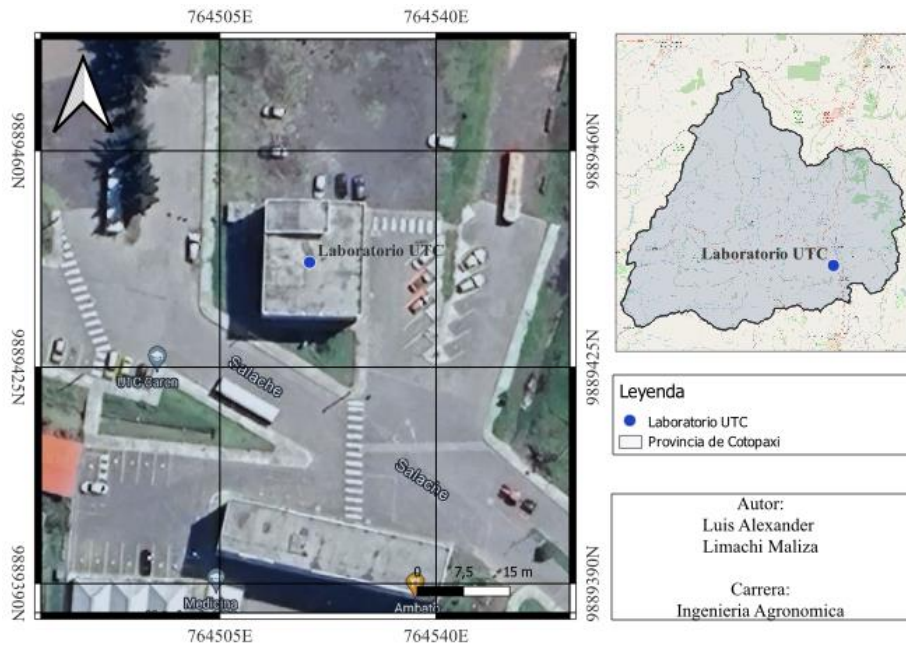
8. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

8.1 Área de estudio.

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi, ubicado en el campus Salache. Este se encuentra en el área rural del cantón Latacunga, al suroeste de la cabecera cantonal, junto a la carretera E35, en el kilómetro 7.53, en el barrio Salache Eloy Alfaro. La localización geográfica del lugar es a una altitud de 2720

metros sobre el nivel del mar, con coordenadas de $78^{\circ}37'23''$ de longitud oeste y $0^{\circ}59'58''$ de latitud sur.

Figura 1. Área de estudio



Nota. Elaborado por Luis L.

8.2 Tipo de investigación

8.2.1 Investigación Experimental

Para la realización de esta investigación, se diseñó un conjunto de actividades metodológicas, incluyendo el estudio de variables y la formulación de hipótesis, así como diversas técnicas que facilitaron la recopilación de información y datos esenciales. Estas actividades metodológicas se estructuraron de manera que permitieran una evaluación precisa y rigurosa del rendimiento endófito de *Beauveria spp.* en plantas de maíz.

8.3 Métodos de Investigación

8.3.1 Observación Científica

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

8.3.2 Investigación Cualitativa y Cuantitativa

Esta investigación posee un enfoque mixto, cualitativo y cuantitativo. En su aspecto cualitativo, se describe el comportamiento y los sucesos complejos del *Beauveria spp.* en su medio natural, observando cómo interactúa con las plantas de maíz en un entorno controlado. Este enfoque permite una comprensión profunda de los procesos y fenómenos biológicos involucrados.

8.3.3 Inductivo

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

8.4 Técnicas de Investigación

8.4.1 Observación Directa

Se permitió la observación de desarrollo de la planta de maíz al ser inoculado con diferentes dosis de *Beauveria spp.*.

8.4.2 Fichaje

Se registraron datos obtenidos mediante fichas elaboradas y ordenadas, conteniendo la mayor cantidad de información posible obtenida durante la investigación.

8.5 Materiales y Equipos

8.5.1 Materiales de campo.

Azadón

Pala

Gas

Chamuscador

8.5.2 Materiales de laboratorio.

Agar Papa Dextrosa (PDA)

Agua destilada

Cajas Petri

Antibiótico (Gentamax 280) presentación de ampolla

Pinzas metálicas

Agujas de disección

Bisturí

Porta y cubre objetos

8.5.3 Materiales para el ensayo:

Granos de maíz

Vasos de 14 onzas

Lienzo o Tela Tul

Ligas plásticas

Papel aluminio

8.5.4 Equipos de laboratorio:

Microscopio

Autoclave

Cámara de Flujo Laminar

Cámara de Incubación

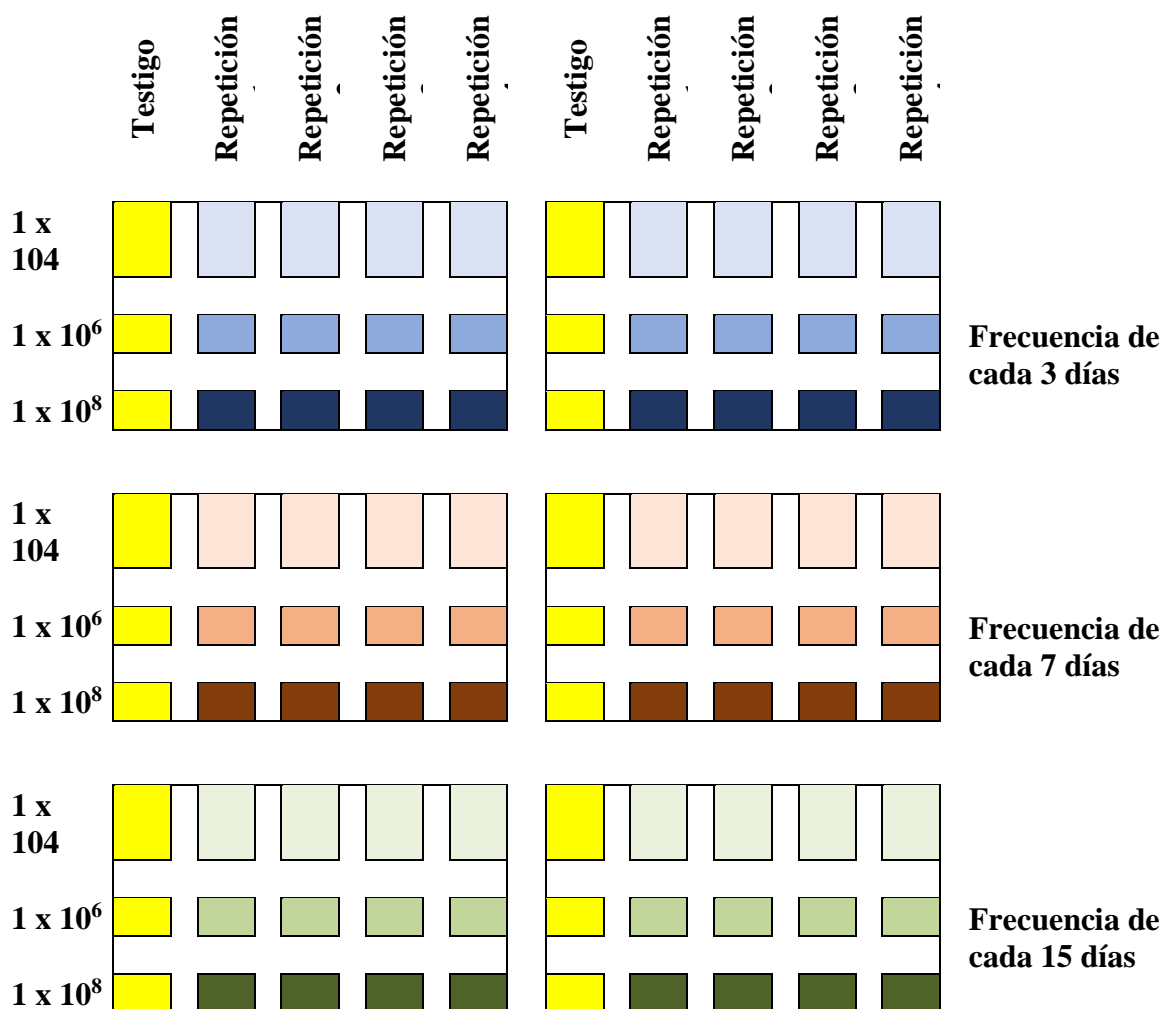
Cámara de Neubauer

8.6 Diseño Experimental

Se realizó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA), con un arreglo factorial $A \times B \times C + 1$; donde se presentó el Factor (A) como *Beauveria spp.* (nativa y comercial), el Factor (B) concentración y el Factor (C) frecuencia. Este diseño contó con un testigo. Se realizaron cuatro repeticiones por cada concentración y tipo de *Beauveria ssp*, dando un total de 90 unidades experimentales.

Beauveria spp. nativa

Beauveria spp. comercial



8.7 Unidad Experimental

La unidad experimental en este ensayo consto de 3 granos de maíz por maceta, sometida a un tratamiento específico con diferentes concentraciones y tipos de *Beauveria spp.* Cada tratamiento se replicó en varias macetas para asegurar la validez de los resultados.

8.8 Factores en estudio

El presente ensayo constó de tres factores en estudio:

Factor A: *Beauveria spp.*

B_n = *Beauveria spp.*, nativa

B_c = *Beauveria spp.*, comercial

Factor B: Concentración

C_1 = 1×10^4

$$C_2 = 1 \times 10^6$$

$$C_3 = 1 \times 10^8$$

Factor C: Frecuencia

F1= Cada 3 días

F2 = Cada 7 días

F3 = Cada 15 días

8.9 Análisis de la varianza Anova

Para realizar el análisis de la varianza entre los datos obtenidos en el estudio respecto al crecimiento de las plantas al aplicar tratamientos específicos, es necesario considerar el método denominado ANOVA, la cual sirve como una técnica estadística para comprar la media entre 3 o más grupos y por ende identificar si existe una diferencia importante entre dichos datos, ante ello es posible determinar si existe una diferencia significativa o los datos simplemente están dados al azar. Para poder comprobar aquello se debe tener en cuenta 2 hipótesis:

H₀: no hay diferencia significativa entre las alturas al aplicar los tratamientos.

H₁: existe diferencia significativa entre las alturas al aplicar los tratamientos.

8.9.1 Esquema Anova

Tabla 2. *Esquema del ANOVA*

| Esquema del ANOVA | |
|--------------------------------|-----------------------------|
| FUENTES DE VARIACION | FUENTES DE VARIACION |
| Tratamientos | 18 |
| Repeticion | 3 |
| Factor A: (beauveria) | 1 |
| Factor B: (concentraciones) | 2 |
| Factor C: (frecuencia) | 2 |
| Factor A x Factor B | 2 |
| Factor B x Factor C | 4 |
| Factor A x Factor C | 2 |
| Factor A x Factor B X Factor C | 4 |
| Error | 51 |
| Total | 71 |

8.10 Tratamientos en estudio

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

Tabla 3. *Tratamiento y simbología.*

| Tratamientos | Concentraciones | BEAUVERI A SPP. | Frecuencia | Simbología |
|---------------------|------------------------|----------------------------|-------------------|-------------------|
| T1 | C1 | Bn | F3 | C1BnF3 |
| T2 | C2 | Bn | F3 | C2BnF3 |
| T3 | C3 | Bn | F3 | C3BnF3 |
| T4 | C1 | Bn | F7 | C1BnF7 |
| T5 | C2 | Bn | F7 | C2BnF7 |
| T6 | C3 | Bn | F7 | C3BnF7 |
| T7 | C1 | Bn | F15 | C1BnF15 |
| T8 | C2 | Bn | F15 | C2BnF15 |
| T9 | C3 | Bn | F15 | C3BnF15 |
| T10 | C1 | Bc | F3 | C1BcF3 |
| T11 | C2 | Bc | F3 | C2BcF3 |
| T12 | C3 | Bc | F3 | C3BcF3 |
| T13 | C1 | Bc | F7 | C1BcF7 |
| T14 | C2 | Bc | F7 | C2BcF7 |
| T15 | C3 | Bc | F7 | C3BcF7 |
| T16 | C1 | Bc | F15 | C1BcF15 |
| T17 | C2 | Bc | F15 | C2BcF15 |
| T18 | C3 | Bc | F15 | C3BcF15 |

Nota. Elaborado por Luis L.

8.11 Variables en estudio.

Posteriormente, se presentan las variables en estudio a evaluar dentro de la investigación.

Tabla 4. *Variables a evaluar.*

| Tipo de Variable | Nombre | Indicador | Índice |
|------------------|----------------------------|--|---|
| DEPENDIENTE | Granos germinados. | Cantidad de granos germinados | % de germinación. |
| | Crecimiento de las plantas | Crecimiento de las plantas semanalmente | Altura en cm de las plantas. |
| | Colonización del hongo | Crecimiento de la colonización del hongo. | Radio crecimiento del hongo. |
| INDEPENDIENTE | <i>Beauveria spp</i> | Concentración de conidios 1 x 10 ⁴ 1 x 10 ⁶ 1 x 10 ⁸ | Suspensión de 10 ml por unidad experimental |

Nota. Elaborado por Luis L.

8.12 Metodología del aislamiento.

8.12.1 Preparación de medio de cultivo.

Se empleó la metodología descrita por (Gómez et al. 2014) para la preparación del medio de cultivo PDA, siguiendo estos pasos:

8.12.1.1 Preparación del Medio de Cultivo:

- En un recipiente de precipitación esterilizado, se midieron 400 ml de agua destilada.
- Se pesaron 15,6 gramos de agar nutritivo sólido en una balanza analítica y se agregaron al agua destilada.
- La mezcla se agitó hasta lograr una homogeneidad completa.
- Se esterilizó la mezcla en autoclave a 35°C por 35 minutos.
- Después de la esterilización, se añadió una ampolla de antibiótico (Genta Max de 280) para evitar la contaminación bacteriana.
- Este proceso se llevó a cabo en una cámara laminar, después de que la disolución se enfrió durante 15 minutos.

- La disolución se distribuyó en cajas Petri de plástico y se dejó reposar aproximadamente 10 minutos para que solidificara.

8.12.1.2 Incubación:

- Las cajas Petri preparadas se colocaron en una incubadora.
- La temperatura del medio de cultivo se mantuvo entre 25 y 37°C.
- Se incubaron las cajas Petri durante 8 días en estas condiciones controladas.

8.12.1.3 Observación de Morfología:

- Después del período de incubación, se observó la morfología de las colonias formadas.
- El micelio se caracterizó por ser blanco, algodonoso y polvoriento.
- Los conidios fueron descritos como hialinos, redondeados y unicelulares, con una base apiculada de tamaño entre 2,5 y 4,5 μm .
- Los conidióforos fueron alargados y solitarios, con una base subglobosa de dimensiones que oscilaron entre 3 y 20 μm de largo por 1,3 a 4 μm de ancho, formando racimos compactos.

Figura 2. *Morfología Beauveria spp.*



Nota. La imagen muestra una placa de cultivo después del período de incubación

8.12.2 Método de multiplicación de *Beauveria spp.*

En esta fase, se siguió el protocolo de (Greenfield et al. 2016), utilizando el método de cultivos monospóricos para la multiplicación del hongo *Beauveria spp.* A continuación, se describen los pasos:

- Se preparó medio de cultivo con agar papa dextrosa (PDA).
- El medio de cultivo se llevó a la autoclave para su esterilización. Luego, se dejó enfriar a temperatura ambiente en una cámara de flujo laminar y se añadió el antibiótico “Gentamax 280”.
- Se seleccionó una caja Petri con el aislamiento de *Beauveria spp*, y se realizó un raspado en la parte con mayor presencia de micelios utilizando una asa de siembra. El cual se colocó en una nueva caja Petri.
- La caja Petri se cerró y selló con cinta Parafilm, se rotuló y se colocó en una incubadora a 25°C.
- Después de 7 días, la caja Petri estaba cubierta con *Beauveria spp*, considerado como el primer subcultivo del aislamiento madre (insecto).
- Con el primer subcultivo limpio y sin contaminación, se preparó nuevamente medio de cultivo suplementado con el antibiótico.
- Se realizaron el raspado del subcultivo de *Beauveria spp*. con el asa de siembra y cada raspado se colocó en una nueva caja Petri, se selló con cinta Parafilm y se identificó.
- Finalmente, las cajas se envolvieron en papel film y se colocaron en la cámara de incubación. Después de 5 a 7 días, las nuevas cajas estaban cubiertas con *Beauveria spp*.

8.13 Método para conteo de UFC (Unidades Formadoras de Colonias)

En esta fase, se siguió el protocolo descrito por (Greenfield et al. 2016) que consiste en realizar diluciones seriadas 1:10 y extender 0.1 mL de cada dilución en una placa; las placas se incuban hasta que las colonias son visibles para su recuento.

- Seleccionar las cajas Petri que contienen *Beauveria spp* para realizar el conteo.
- Añadir agua destilada en una de las cajas Petri con el hongo *Beauveria spp*.
- Obtener las conidas de la superficie del micelio en crecimiento.
- Colocar las conidas de la superficie del micelio en un vaso de precipitación.
- Añadir 9 mL de la solución madre en cuatro tubos de ensayo.
- Agitar el tubo de ensayo con la solución madre en un agitador Vortex durante 4 minutos.
- Extraer 1 mL de la solución madre con una pipeta y transferirlo al siguiente tubo de ensayo.

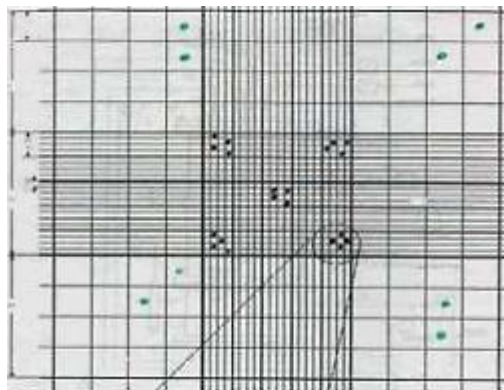
- Agitar nuevamente el tubo de ensayo en el agitador Vortex.
- Repetir el procedimiento hasta llegar al último tubo de ensayo, del cual se tomará la muestra para el conteo.
- Con una micropipeta, tomar 1 mL de la última solución mezclada en el agitador Vortex.
- Transferir la muestra a la cámara de Neubauer y cubrirla.
- Colocar la cámara en el microscopio y enfocar la muestra.
- Observar los cuadrantes en la cámara de Neubauer y contar los conidios presentes.

8.13.1 Determinación de la concentración de conidios (cuantificación en la cámara de Neubauer)

Procedimiento adaptado de (Arredondo-Vega y Voltolina 2007). Con una micropipeta de 100 μ L, extraer la solución de la muestra.

1. Transferir la muestra a la cámara de Neubauer, llenando un lado de la cámara por capilaridad.
2. Colocar la cámara en el microscopio y observar con el mejor lente, enfocando el primer cuadrante (superior derecho).
3. Cuantificar los conidios presentes en el cuadrante central según se indica en la figura

Figura 3. *Reglilla de Neubauer.*



Fuente: (Arredondo-Vega y Voltolina 2007).

8.14 Preparación de Solución Madre

8.14.1 Esterilización:

Se introdujeron pinzas, tijeras, puntas de micropipetas, vasos, asas, probetas y agua destilada en papel aluminio en autoclave para esterilización.

8.14.2 Cosecha de Micelios:

- Se extrajeron las cajas Petri con micelios visibles y se raspó el medio de cultivo con un asa bacteriológica para liberar todas las esporas.
- Esta suspensión se diluyó en 300 ml de agua destilada purificada para alcanzar una concentración aproximada de 10^8 conidios/ml.
- Se agitó la solución durante 10 minutos para asegurar la dispersión uniforme de las partículas.

8.14.3 Preparación de Concentraciones:

- Se dispensaron 10 ml de la solución madre en un tubo de ensayo y se agitó durante 50 segundos.
- Se tomó 1 ml de la solución madre con una micropipeta y se transfirió al primer tubo de ensayo que contenía 9 ml de agua purificada, completando así 10 ml. Se agitó nuevamente durante 50 segundos en un vórtex.
- Este proceso se repitió sucesivamente en cada tubo de ensayo para obtener las siguientes concentraciones: 1×10^4 conidios/ml, 1×10^6 conidios/ml y finalmente 1×10^8 conidios/ml.

8.15 Preparación del medio de cultivo.

- Se selecciona la tierra más adecuada para el cultivo de maíz.
- En una canche de sementó se colocó la tierra esparcida de manera uniforme la tierra.
- con ayuda de una pala, un azadón, un tanque de gas y un chamuscador se procedió a esterilizar la tierra

8.16 Exposición de las semillas al hongo

Esta fase consistió en la inoculación de las semillas de maíz con la cepa reactivada de *Beauveria spp*, nativa y comercial utilizando dos métodos de exposición:

8.16.1 Inmersión

- Las semillas de maíz, correspondientes a cada concentración 1×10^4 , 1×10^6 y 1×10^8 , se colocaron en un recipiente plástico que contenía 10 mL de solución de *Beauveria spp.*, nativa y comercial y se sumergieron durante 2 minutos.
- Después de la inoculación, las semillas de maíz se colocaron en un lugar fresco para posteriormente su siembra, y así dar el seguimiento de la investigación.

8.16.2 Aspersión

Una vez brotado la planta se asperjaron con la suspensión del hongo, en la frecuencia de cada 3 días, cada 7 días y cada 15 días con las concentraciones de concentración 1×10^4 , 1×10^6 y 1×10^8 para *Beauveria spp.*, comercial y nativa.

8.17 Datos Evaluados

8.17.1 Viabilidad y germinación de conidios:

- Tasa de germinación de semillas de maíz tratadas con *Beauveria spp.* nativa y comercial.
- Comparación de la germinación en diferentes concentraciones de conidios (1×10^4 , 1×10^6 y 1×10^8 conidios/mL) y un grupo control.

8.17.2 Crecimiento del Maíz

- Medición semanal de la altura de las plantas durante dos meses.
- Conteo semanal del número de hojas en cada planta durante dos meses.

8.17.3 Colonización como endófito:

- Análisis de muestras de hojas de maíz para verificar la presencia y colonización de *Beauveria spp.* como endófito.

9. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

9.1 Análisis de la Tasa de Germinación de Semillas

Se evaluó la tasa de germinación de las semillas tratadas con *Beauveria spp.* comercial y *Beauveria spp.* nativa a tres diferentes concentraciones. De acuerdo al análisis de medias, no se encontraron diferencias significativas en la tasa de germinación entre las semillas tratadas y las no tratadas, independientemente de la concentración aplicada.

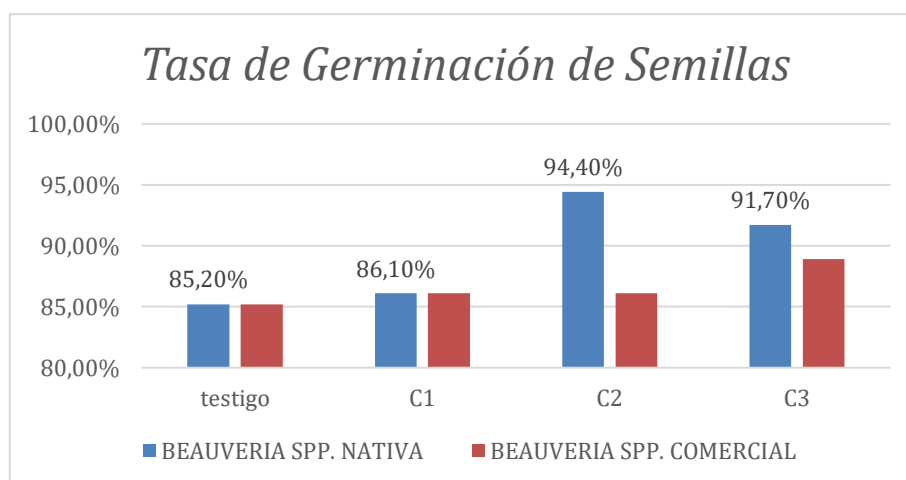
Tabla 5. Tasa de Germinación de Semillas.

| | | testigo | C1 | C2 | C3 |
|----------------------------|-------------|---------|--------|--------|--------|
| BEAUSERIA NATIVA | SPP. | 85,2 % | 86,1 % | 94,4 % | 91,7 % |
| BEAUSERIA COMERCIAL | SPP. | 85,2 % | 86,1 % | 86,1 % | 88,9 % |

Nota. Elaborado por Luis L.

Este hallazgo, es congruente con los resultados de (Sánchez et al., 2022), quienes reportaron mejoras en la tasa de germinación de semillas de maíz tratadas con *Beauveria spp.*, atribuyendo este efecto a las propiedades promotoras de crecimiento del hongo.

Figura 4. Tasa de Germinación de Semillas



Nota. Elaborado por Luis L.

Según la gráfica no se ha observado diferencias en la germinación entre el testigo y las concentraciones de *Beauveria spp*, los estudios como el de (Botero et al., 2009) aún sugieren que *Beauveria spp*, podría inducir cambios fisiológicos positivos. Quizás esos efectos podrían manifestarse en otras fases del desarrollo de las plantas o a través de diferentes mecanismos que no se reflejan directamente en la tasa de germinación.

9.2 Análisis del crecimiento del maíz por semanas

El crecimiento semanal de las plantas de maíz tratadas con *Beauveria spp*, nativa y comercial se evaluó en términos de altura de planta. Durante las primeras semanas, se observó un crecimiento inicial en todas las plantas de 4,14cm 4,2cm 4,59cm 4,78cm de crecimiento entre las tratadas y las no tratadas *Beauveria spp*, nativa y comercia respectivamente. En la segunda semana, no se notó una diferencia destacable en la altura y el número de hojas. En la tercera semana, las plantas tratadas mostraron un leve aumento en altura, aunque la diferencia con el testigo no fue estadísticamente significativa. Para la cuarta semana, las plantas tratadas presentaron un desarrollo más robusto, aunque el margen de diferencia respecto al testigo seguía siendo modesto. En la quinta semana, las plantas tratadas a concentraciones de, 1×10^6 y 1×10^8 conidios/mL y con aplicaciones más frecuentes mostraron un crecimiento algo superior, pero la diferencia respecto a las plantas no tratadas no fue considerablemente notable.

Figura 5. *Crecimiento semanal*



Nota. Elaborado por Luis L.

Estos resultados coinciden en parte con los hallazgos de (Martínez y Ponce 2012), quienes también reportaron incremento en el crecimiento y desarrollo de plantas de maíz tratadas con *Beauveria spp*, aunque en su estudio las diferencias eran más marcadas. Además, las investigaciones de (García et al. 2020), sugieren que *Beauveria spp*. podría mejorar la absorción de nutrientes y la resistencia al estrés hídrico, lo que podría haber influido en el rendimiento observado, aunque los efectos no fueron tan pronunciados en este estudio.

9.3 Criterio de selección

Para poder seleccionar la hipótesis que se cumple en base al análisis de la varianza Anova se toma en cuenta 2 criterios:

Si $p > 0,05$ se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alternativa

Si $p < 0,05$ se acepta la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis nula

Tabla 6. *Análisis de varianzd*

| F.V. | SC | Gl18 | CM | F | p-valor |
|--------------|------|------|----|------|-----------------|
| Tratamientos | 47,4 | | | 2,37 | 4461,31 <0,0001 |

| | | | | | |
|--------------------------------|----------|----|----------|----------|---------|
| Repetición | 2,00E-03 | 3 | 6,70E-04 | 1,26 | 0,2981 |
| Factor A: (beauveria) | 1,07 | 1 | 1,07 | 2007,1 | <0,0001 |
| Factor B: (concentraciones) | 19,02 | 2 | 9,51 | 17906,84 | <0,0001 |
| Factor C: (frecuencia) | 17,39 | 2 | 8,7 | 16369,7 | <0,0001 |
| Factor A x Factor B | 4,64 | 2 | 2,32 | 4368,05 | <0,0001 |
| Factor B x Factor C | 1,14 | 4 | 0,28 | 535,33 | <0,0001 |
| Factor A x Factor C | 0,45 | 2 | 0,22 | 419,51 | <0,0001 |
| Factor A x Factor B x Factor C | | | | | |
| Factor C | 3,69 | 4 | 0,92 | 1736,44 | <0,0001 |
| Error | 0,03 | 51 | 5,30E-04 | | |
| Total | 47,43 | 71 | | | |

Nota. Elaborado por Luis L.

El análisis de varianza (ANOVA) indicó que el modelo es altamente significativo ($p < 0,0001$), lo que evidencia diferencias importantes entre los tratamientos evaluados. Específicamente, el tipo de Beauveria (Factor A), las concentraciones (Factor B), y la frecuencia de aplicación (Factor C) mostraron efectos significativos con p-valores menores a 0,0001. Esto sugiere que cada uno de estos factores influye de manera significativa en la variable dependiente, lo que se alinea con estudios previos de (García et al. 2020) encontraron que la concentración y la frecuencia de aplicación de Beauveria son determinantes en la efectividad del hongo como endófito, especialmente en condiciones agrícolas. Además, la interacción entre factores (como A x B y B x C) también fue significativa, lo que indica que los efectos combinados de estos factores son cruciales para entender las variaciones en los resultados. La media más alta se observó en la concentración C3 (20,49), lo que sugiere que concentraciones más altas aumentan la eficacia del hongo

9.3.1 Test de Tukey.

Tabla 7. Variable Concentración.

| Concentraciones | Medias | n | E.E. | |
|-----------------|--------|----|------|---|
| C3 | 20,49 | 24 | 0,01 | A |
| C2 | 19,95 | 24 | 0,01 | B |
| C1 | 19,24 | 24 | 0,01 | C |

Nota. Elaborado por Luis L.

El análisis de las concentraciones revela diferencias significativas en las medias de la variable dependiente entre los distintos niveles de concentración. La concentración más alta (C3) presenta la mayor media (20,49), mientras que la más baja (C1) tiene la menor media (19,24). Estas diferencias, clasificadas en grupos distintos según el test de Tukey, indican que un mayor nivel de concentración se asocia con un aumento significativo en la variable medida. (Iriarte R 2006) mostró que mayores concentraciones de agentes biológicos como *Beauveria spp.* están asociadas con un incremento en el rendimiento de crecimiento de las plantas debido a la mayor disponibilidad del agente para colonizar el entorno y fomentar la salud de las plantas.

Tabla 8. Variable *Beauveria*.

| BEAUVERIA SPP. | Medias | n | E.E. | |
|----------------|--------|----|----------|---|
| Bn | 20,02 | 36 | 4,80E-03 | A |
| Bc | 19,77 | 36 | 4,80E-03 | B |

Nota. Elaborado por Luis L.

El análisis de las medias de *Beauveria spp.* revela una diferencia significativa entre los dos tipos evaluados. El tipo Bn muestra una media mayor (20,02) en comparación con Bc (19,77), según el test de Tukey. Esta diferencia sugiere que Bn tiene un impacto más positivo en la variable dependiente, con un rendimiento superior al de Bc, lo que indica que el tipo de *Beauveria spp.* utilizado afecta significativamente los resultados. Otro estudio relevante es el de (Martínez y Ponce 2012), que también identificó diferencias significativas en el rendimiento entre cepas nativas y comerciales de *Beauveria*, destacando que las cepas nativas pueden ofrecer un mejor rendimiento debido a su adaptación específica al entorno local.

Tabla 9. Variable *Frecuencia*.

| Frecuencia | Medias | n | E.E. | |
|------------|--------|----|------|---|
| F3 | 20,46 | 24 | 0,01 | A |
| F7 | 19,96 | 24 | 0,01 | B |
| F15 | 19,26 | 24 | 0,01 | C |

Nota. Elaborado por Luis L.

El análisis de las frecuencias de aplicación revela diferencias significativas en las medias de la variable dependiente entre las frecuencias evaluadas. La frecuencia F3, con una media de 20,46, muestra el mayor impacto positivo, mientras que la frecuencia F15, con una media de 19,26, presenta el menor impacto. La frecuencia F7, con una media de 19,96, se encuentra en un punto intermedio. Las medias se clasifican en distintos grupos, con F3 en el grupo A, F7 en

el grupo B, y F15 en el grupo C, lo que indica que la frecuencia de aplicación tiene una influencia significativa en la variable medida, siendo las aplicaciones más frecuentes (F3) las más efectivas. (Molina y Espinal 2006) sugieren que una mayor frecuencia de aplicación de agentes biológicos como *Beauveria spp.* puede mejorar el crecimiento y desarrollo de las plantas debido a una mayor presencia del agente en el entorno de la planta, lo que optimiza su efecto beneficioso.

Tabla 10. Variable Concentración vs *Beauveria*

| BEAUVERIA | | | | | |
|-----------------|------|--------|----|------|---|
| Concentraciones | SPP. | Medias | n | E.E. | |
| C3 | Bn | 20,95 | 12 | 0,01 | A |
| C3 | Bc | 20,04 | 12 | 0,01 | B |
| C2 | Bn | 20,03 | 12 | 0,01 | B |
| C2 | Bc | 19,88 | 12 | 0,01 | C |
| C1 | Bc | 19,4 | 12 | 0,01 | D |
| C1 | Bn | 19,08 | 12 | 0,01 | E |

Nota. Elaborado por Luis L.

El análisis de las concentraciones de *Beauveria spp.* revela que la mayor media se encuentra en el tratamiento con la concentración más alta (C3) de *Beauveria* nativa (20,95), seguida por la misma concentración de *Beauveria* comercial (20,04). Las concentraciones intermedias (C2) tienen medias ligeramente menores, con 20,03 para *Beauveria* nativa y 19,88 para *Beauveria* comercial. Las concentraciones más bajas (C1) presentan las medias más bajas, siendo 19,40 para *Beauveria* comercial y 19,08 para *Beauveria* nativa. Las diferencias entre las medias son estadísticamente significativas, con una notación de A para el tratamiento con la mayor media y E para la menor, indicando un descenso en el rendimiento a medida que se reduce la concentración de *Beauveria spp.* en los tratamientos. Los estudios de (Tollenaar y Lee 2006) resalta que la concentración de esporas y la frecuencia de aplicación son factores críticos en la eficacia de *Beauveria spp.* La investigación demuestra que concentraciones más altas proporcionan una mayor cantidad de esporas disponibles para la colonización, lo que mejora el crecimiento de las plantas y la protección contra plagas.

Tabla 11. Variable Concentración vs Frecuencia.

| Concentraciones | Frecuencia | Medias | n | E.E. | |
|-----------------|------------|--------|---|------|---|
| C3 | F3 | 21,1 | 8 | 0,01 | A |

| | | | | | |
|----|-----|-------|---|------|---|
| C3 | F7 | 20,44 | 8 | 0,01 | B |
| C2 | F3 | 20,39 | 8 | 0,01 | C |
| C2 | F7 | 20,26 | 8 | 0,01 | D |
| C3 | F15 | 19,94 | 8 | 0,01 | E |
| C1 | F3 | 19,9 | 8 | 0,01 | E |
| C2 | F15 | 19,21 | 8 | 0,01 | F |
| C1 | F7 | 19,16 | 8 | 0,01 | G |
| C1 | F15 | 18,65 | 8 | 0,01 | H |

Nota. Elaborado por Luis L.

El análisis de medias muestra que a medida que disminuyen la concentración y la frecuencia de aplicación de *Beauveria* spp., también lo hacen las medias obtenidas. La concentración más alta (C3) combinada con la frecuencia más alta (F3) produce la mayor media (21,10), mientras que la misma concentración con frecuencia cada 15 días (F15) da la media más baja (19,94). En concentraciones intermedias (C2), la frecuencia cada 3 días (F3) obtiene una media de 20,39, y la frecuencia cada 7 días (F7) una media de 20,26. Para las concentraciones más bajas (C1), las medias disminuyen más con la frecuencia: 19,90 para F3, 19,16 para F7, y 18,65 para F15. Las diferencias en las medias son estadísticamente significativas, indicando que una mayor concentración y frecuencia de aplicación mejoran el rendimiento de *Beauveria* spp., mientras que menores concentraciones y frecuencias reducen su efectividad. En su estudio sobre el efecto de diferentes concentraciones y frecuencias de aplicación de hongos entomopatógenos en cultivos (National Academies of Sciences et al. 2016), encontró que tanto la concentración del agente biológico como la frecuencia de aplicación afectan significativamente su eficacia. Ellos observaron que concentraciones más altas y aplicaciones más frecuentes optimizan el rendimiento del hongo, similar a lo que se ha observado en tu estudio. Su investigación destaca la importancia de ajustar estos factores para maximizar la efectividad de los hongos en el control biológico de plagas.

Tabla 12. *Variable Beauveria vs Frecuencia.*

| BEAUVERIA SPP. | Frecuencia | Medias | n | E.E. | |
|----------------|------------|--------|----|------|---|
| Bn | F3 | 20,66 | 12 | 0,01 | A |
| Bc | F3 | 20,27 | 12 | 0,01 | B |
| Bn | F7 | 20,11 | 12 | 0,01 | C |
| Bc | F7 | 19,8 | 12 | 0,01 | D |

| | | | | | |
|----|-----|-------|----|------|---|
| Bn | F15 | 19,28 | 12 | 0,01 | E |
| Bc | F15 | 19,25 | 12 | 0,01 | E |

Nota. Elaborado por Luis L.

El análisis de medias muestra que, en función de la frecuencia de aplicación, *Beauveria* nativa (Bn) presenta un rendimiento superior al de *Beauveria* comercial (Bc). Con una frecuencia de cada 3 días (F3), *Beauveria* nativa alcanza una media de 20,66, significativamente mayor que la de *Beauveria* comercial, que es 20,27. A cada 7 días (F7), la media para *Beauveria* nativa es 20,11 frente a 19,8 para *Beauveria* comercial. Sin embargo, a cada 15 días (F15), las medias para ambos tipos de *Beauveria* son similares (19,28 para nativa y 19,25 para comercial). Las diferencias son estadísticamente significativas, indicando que *Beauveria* nativa es más efectiva, especialmente con aplicaciones más frecuentes. Según (Ureña y Poleth 2022) en su estudio sobre la eficacia de diferentes cepas de *Beauveria bassiana* y las estrategias de aplicación, Huang y Feng encontraron que las cepas nativas de *Beauveria* tienden a ser más efectivas que las comerciales, especialmente cuando se aplican con mayor frecuencia. Ellos demostraron que la eficacia del hongo puede variar significativamente dependiendo de la cepa y la frecuencia de aplicación, alineándose con tus observaciones sobre el rendimiento superior de *Beauveria nativa* con aplicaciones más frecuentes.

Tabla 13. Variable Concentración vs *Beauveria* vs Frecuencia

| Tratamiento | Concentraciones | <i>Beauveria</i> Spp. | Frecuencia | Medias | n | E.E. | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|-----------------|-----------------------|------------|--------|---|------|---|--|--|---|---|---|---|--|--|--|--|--|--|--|
| T3 | C3 | Bn | F3 | 22 | 4 | 0,01 | A | | | | | | | | | | | | | |
| T6 | C3 | Bn | F7 | 20,88 | 4 | 0,01 | B | | | | | | | | | | | | | |
| T2 | C2 | Bn | F3 | 20,48 | 4 | 0,01 | C | | | | | | | | | | | | | |
| T14 | C2 | Bc | F7 | 20,3 | 4 | 0,01 | | | | D | | | | | | | | | | |
| T10 | C1 | Bc | F3 | 20,3 | 4 | 0,01 | | | | D | | | | | | | | | | |
| T11 | C2 | Bc | F3 | 20,3 | 4 | 0,01 | | | | D | | | | | | | | | | |
| T5 | C2 | Bn | F7 | 20,23 | 4 | 0,01 | | | | | E | | | | | | | | | |
| T12 | C3 | Bc | F3 | 20,2 | 4 | 0,01 | | | | | E | | | | | | | | | |
| T15 | C3 | Bc | F7 | 20 | 4 | 0,01 | | | | | | F | | | | | | | | |
| T9 | C3 | Bn | F15 | 19,96 | 4 | 0,01 | | | | | | F | G | | | | | | | |
| T18 | C3 | Bc | F15 | 19,92 | 4 | 0,01 | | | | | | | G | | | | | | | |

Nota. Elaborado por Luis L.

Para los tratamientos (filas), el p-valor obtenido fue 0.0075, que es menor que el nivel de significancia de 0.05. Esto indica que se rechaza la hipótesis nula, sugiriendo que existen diferencias significativas entre al menos algunos de los tratamientos aplicados. De manera similar, para el factor de frecuencia (columnas), el p-valor fue 0.0052, también menor que 0.05, lo que lleva a rechazar la hipótesis nula en este caso. Esto demuestra que la frecuencia de aplicación tiene un efecto significativo en la variable dependiente. En conclusión, tanto los tratamientos como las frecuencias aplicadas muestran diferencias estadísticamente significativas, implicando que ambos factores influyen de manera relevante en los resultados del estudio. (Ryan et al. 2008) En su investigación sobre el impacto de la concentración y la frecuencia de aplicación en la eficacia de hongos entomopatógenos, St. Leger y colegas demostraron que tanto la concentración de esporas como la frecuencia de aplicación influyen significativamente en el rendimiento del hongo. En su estudio, observaron que concentraciones más altas y aplicaciones más frecuentes mejoran la efectividad del hongo, corroborando la tendencia que has observado en tu investigación..

9.4 Establecimiento del Método de Colonización

La colonización de *Beauveria* en plantas de maíz se determinó con la inoculación de material en medio de cultivo y posterior desarrollo y crecimiento del hongo endófito. Los resultados muestran que la colonización endofítica fue más efectiva a concentración de 1×10^8 conidios/mL, con una frecuencia de aplicación cada 3 y 7 días. Esto sugiere una colonización del tejido interno del vegetal y se comprueba su capacidad de colonizar el tejido como un endófito.

Tabla 14. *Colonización de Beauveria spp. en tejido vegetal obtenido de plantas de maíz.*

| Tratamientos | Concentraciones | <i>Beauveria spp.</i> | Frecuencia | Simbología | Promedio |
|--------------|-----------------|-----------------------|------------|------------|----------|
| T1 | C1 | Bn | F1 | C1BnF1 | 0 |
| T2 | C2 | Bn | F1 | C2BnF1 | 0 |
| T3 | C3 | Bn | F1 | C3BnF1. | 1,399 |
| T4 | C1 | Bn | F2 | C1BnF2 | 0 |
| T5 | C2 | Bn | F2 | C2BnF2 | 0 |
| T6 | C3 | Bn | F2 | C3BnF2 | 0,5303 |
| T7 | C1 | Bn | F3 | C1BnF3 | 0 |
| T8 | C2 | Bn | F3 | C2BnF3 | 0 |
| T9 | C3 | Bn | F3 | C3BnF3 | 0 |
| T10 | C1 | Bc | F1 | C1BcF1 | 0 |

| | | | | | |
|-----|----|----|----|--------|---|
| T11 | C2 | Bc | F1 | C2BcF1 | 0 |
| T12 | C3 | Bc | F1 | C3BcF1 | 0 |
| T13 | C1 | Bc | F2 | C1BcF2 | 0 |
| T14 | C2 | Bc | F2 | C2BcF2 | 0 |
| T15 | C3 | Bc | F2 | C3BcF2 | 0 |
| T16 | C1 | Bc | F3 | C1BcF3 | 0 |

Nota. El crecimiento del micelio se determinó con el radio de colonización de Beauveria spp. en las frecuencias de aplicación cada 3 y 7 días a la concentración de 1×10^8 conidios/mL. Elaborado por Luis L.

En el estudio, se logró aislar *Beauveria* spp. nativa del tejido vegetal de maíz en dos de los seis tratamientos. Aunque este aislamiento no se obtuvo en todos los casos, el resultado es significativo, ya que confirma que *Beauveria* spp. nativa puede establecerse como endófito en ciertas condiciones.

Figura 7. Tratamiento 3 y 6



Crecimiento del hongo en los tratamientos 3 y 6.

Este hallazgo apoya los estudios de (García et al. 2020), quienes demostraron que *Beauveria* spp. puede colonizar eficazmente las plantas y actuar como un endófito beneficioso, mejorando el rendimiento y la resistencia de las plantas al estrés biótico y abiótico. Adicionalmente, los estudios de (Hugo et al. 2018) indicaron que la colonización endofítica por *Beauveria* spp.

puede inducir cambios en la expresión génica de la planta, lo que potencialmente mejora su capacidad de defensa y crecimiento.

9.5 Discusión General

La inoculación de *Beauveria* spp. mostró mejoras significativas en la viabilidad y el crecimiento del hongo, así como en la tasa de germinación de las semillas y el desarrollo de las plantas de maíz. Estos hallazgos sugieren que *Beauveria* spp. puede ser utilizado eficazmente como un endófito beneficioso en cultivos de maíz, mejorando su germinación y crecimiento. Las posibles limitaciones del estudio incluyen el tamaño de la muestra y las condiciones controladas del experimento, que pueden no reflejar las condiciones del campo. Para futuras investigaciones, se recomienda realizar estudios a mayor escala y en condiciones de campo para confirmar estos hallazgos y explorar otras posibles aplicaciones de *Beauveria* spp. Además, sería útil investigar el impacto a largo plazo de la inoculación de *Beauveria* spp. en el rendimiento del maíz y su interacción con otros microorganismos presentes en el suelo.

11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)

9.6 Impactos Técnicos:

9.6.1 Avance en Técnicas de Inoculación.

La investigación ha ofrecido valiosos datos sobre la inoculación de *Beauveria* spp. en cultivos de maíz, aunque las diferencias observadas no fueron significativamente notables. Estos datos proporcionan una base técnica sólida para la optimización de métodos de inoculación en investigaciones futuras. Los resultados permiten ajustar las técnicas de aplicación y concentración del hongo, y desarrollar protocolos más eficaces para maximizar su impacto.

9.6.2 Conocimiento Ampliado sobre Endófitos.

Esta investigación ha contribuido a un entendimiento más profundo del papel de *Beauveria* spp. como endófito en plantas de maíz. Aunque los resultados actuales no muestran mejoras evidentes, este conocimiento técnico es crucial para futuros estudios que podrían investigar otras cepas de *Beauveria* spp. o diferentes condiciones de aplicación. El conocimiento obtenido sobre la interacción entre *Beauveria* spp. y maíz abre la puerta a nuevas investigaciones en la biología de hongos endófitos y su potencial uso en cultivos agrícolas.

9.7 Impactos Sociales

9.7.1 Promoción de Prácticas Agrícolas Sostenibles

Aunque la investigación no mostró resultados concluyentes, la posibilidad de utilizar *Beauveria spp.* como biopesticida podría fomentar la adopción de prácticas agrícolas más sostenibles. La reducción de dependencia en pesticidas químicos y fertilizantes sintéticos beneficia a los agricultores al proporcionar alternativas más ecológicas y potencialmente más seguras para el medio ambiente y la salud humana.

9.7.2 Educación y Conciencia sobre Biopesticidas

El estudio ayuda a aumentar la conciencia sobre los biopesticidas y su potencial en la agricultura moderna. La promoción de técnicas basadas en microorganismos beneficiosos como *Beauveria spp.* puede generar un cambio positivo en las prácticas agrícolas, educando a los agricultores sobre las ventajas y el manejo de soluciones biológicas frente a productos químicos tradicionales.

9.8 Impactos Ambientales.

9.8.1 Reducción del Uso de Productos Químicos.

Si *Beauveria spp.* demuestra ser efectivo en investigaciones futuras, su implementación podría disminuir la necesidad de pesticidas químicos en el cultivo de maíz. Esto reduciría el impacto ambiental negativo asociado con el uso intensivo de químicos, como la contaminación del agua y la degradación del suelo.

9.8.2 Contribución a la Sostenibilidad Agrícola.

La investigación resalta el potencial de los microorganismos beneficiosos para mejorar la sostenibilidad de los sistemas agrícolas. Un uso efectivo de *Beauveria spp.* podría promover prácticas agrícolas que mejoren la salud del suelo, aumenten la resistencia de las plantas a enfermedades y reduzcan la necesidad de tratamientos químicos, contribuyendo así a un manejo agrícola más sostenible y respetuoso con el medio ambiente.

9.9 Impactos Económicos.

9.9.1 Evaluación del Costo-Beneficio.

Aunque los resultados actuales no muestran una mejora significativa, el potencial económico del uso de *Beauveria spp.* como biopesticida debería ser evaluado a través de estudios económicos detallados. La comparación de costos entre la aplicación de *Beauveria spp.* y el uso de pesticidas químicos permitirá a los agricultores tomar decisiones informadas sobre la viabilidad económica de implementar esta tecnología en comparación con las prácticas agrícolas convencionales.

9.9.2 Oportunidades en el Mercado de Biopesticidas.

La posible eficacia de *Beauveria spp.* en futuros estudios podría abrir nuevas oportunidades de mercado para productos basados en biopesticidas. Empresas que desarrollan y comercializan soluciones biológicas para la agricultura podrían beneficiarse del aumento en la demanda de alternativas sostenibles a los productos químicos. Esto podría estimular la innovación en el sector de los biopesticidas y promover el desarrollo de nuevas soluciones para el control de plagas y enfermedades en cultivos agrícolas.

10. CONCLUSIONES

- Las semillas de maíz tratadas con *Beauveria spp.*, tanto nativa como comercial, mostraron tasas de germinación similares a las del testigo. Esto sugiere que el tratamiento con *Beauveria spp.* no afecta negativamente la capacidad germinativa de las semillas.
- Las plantas de maíz tratadas con *Beauveria spp.* mostraron un crecimiento superior en términos de altura en comparación con las plantas no tratadas, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Esto indica que, aunque *Beauveria spp.* puede influir positivamente en el desarrollo de las plantas, el efecto observado no es suficientemente fuerte para ser considerado significativo en este estudio.
- *Beauveria spp.* se estableció como endófito en plantas de maíz cuando se aplicó cada 3 días a una concentración de 1×10^8 conidios/mL, con una colonización observable con un radio de 1.40 cm. También se estableció como endófito con una frecuencia de aplicación cada 7 días a la misma concentración, mostrando una colonización con un

radio de 0.52 cm. Estos resultados indican que la frecuencia de aplicación influye en la extensión de la colonización endofítica.

11. RECOMENDACIONES

- Continuar utilizando *Beauveria spp.* en el tratamiento de semillas de maíz, ya que no afecta negativamente la germinación. Asegúrate de seguir los protocolos de aplicación recomendados para maximizar los beneficios potenciales en el desarrollo de las plantas.
- Aunque los resultados no fueron estadísticamente significativos, considera seguir aplicando *Beauveria spp.* en diferentes concentraciones y frecuencias para explorar posibles beneficios. Realiza estudios adicionales para confirmar y aclarar cualquier posible efecto positivo del hongo sobre el desarrollo de las plantas de maíz.
- Se recomienda aplicar *Beauveria spp.* con frecuencia regular para promover la colonización endofítica en las plantas de maíz. Realiza estudios adicionales para determinar las mejores prácticas y condiciones para asegurar la presencia efectiva de *Beauveria spp.* como endófito.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Agricultura (IICA), Instituto Interamericano de Cooperación para la. 2015. «Protocolos para formulación y aplicación del bio-insumo *Trichoderma* spp. para el control biológico de enfermedades».
- Agropal. 2016. «[:es]El pH del suelo en la agricultura[:fr]Le pH du sol[:]». *Agropal*. Recuperado 19 de junio de 2024 (<https://agropal.com/es/el-ph-del-suelo/>).
- Allegrucci, Natalia, Maria-Silvana Velazquez, María-Leticia Russo, Maria-Florencia Vianna, Camila Abarca, y Ana-Clara Scorsetti. 2020. «Establecimiento del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* como endófito en *Capsicum annuum* y sus efectos sobre la plaga del áfido *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae)». *Revista de Biología Tropical* 68(4):1084-94. doi: 10.15517/rbt.v68i4.41218.
- Almudena. 2022. «*Beauveria bassiana*: Todo lo que necesitas saber». *Certis Belchim*. Recuperado 31 de mayo de 2024 (<https://certisbelchim.es/beauveria-bassiana-todo-lo-que-necesitas-saber/>).
- Andrade, Petra, Mally Rivera, Nadia Landero, Hilda Silva, Saira Martínez, y Omar Romero. 2023. «Beneficios ecológicos y biológicos del hongo cosmopolita *Trichoderma* spp. en la agricultura: una perspectiva en el campo mexicano». Recuperado 19 de junio de 2024 (<http://www.elsevier.es/es-revista-revista-argentina-microbiologia-372-avance-resumen-beneficios-ecologicos-biologicos-del-hongo-S0325754123000603>).
- Angarita Merchán, Maritza, María Inés Torres Caicedo, y Andrea Katherine Díaz Torres. 2017. «Técnicas de Biología Molecular en el desarrollo de la investigación. Revisión de la literatura». *Revista Habanera de Ciencias Médicas* 16(5):796-807.
- Anón. s. f. «*ilsi maizar.pdf*».
- Aragón, Sandra M., y Camilo Beltrán-Acosta. 2014. «Endophytic fungi in biological control of phytopathogens and insect pests». . . (854).
- Arredondo-Vega, Bertha, y Domenico Voltolina. 2007. «CONCENTRACIÓN, RECUESTO CELULAR Y TASA DE CRECIMIENTO».
- Aquilla, Andrea Patricia Guapi. 2017. «EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DEL BIOFORMULADO DE *Beauveria bassiana*., Y TIPOS DE APLICACIÓN PARA EL CONTROL DEL GUSANO BLANCO DE LA PAPA (*Premnotrypes vorax*), EN DOS LOCALIDADES DE LA».
- Barajas-Méndez, Kenia Nayeli, Felipe Abelardo Toscano-Verduzco, Cristian Iván Delgado-Salas, Wilberth Chan-Cupul, Juan Carlos Sánchez-Rangel, Marco Tulio Buenrostro-Nava, Gilberto Manzo-Sánchez, Kenia Nayeli Barajas-Méndez, Felipe Abelardo Toscano-Verduzco, Cristian Iván Delgado-Salas, Wilberth Chan-Cupul, Juan Carlos Sánchez-Rangel, Marco Tulio Buenrostro-Nava, y Gilberto Manzo-Sánchez. 2022. «Emergencia, crecimiento y calidad de planta de dos genotipos de papaya (*Carica papaya* L.) inoculadas con hongos entomopatógenos». *Scientia Agropecuaria* 13(4):411-21. doi: 10.17268/sci.agropecu.2022.037.

- Bautista, Eddy J., Leyanis Mesa, y Martha Isabel Gómez Alvarez. 2018. «Alternativas de producción de bioplaguicidas microbianos a base de hongos: el caso de América Latina y El Caribe». *Scientia Agropecuaria* 9(4):585-604. doi: 10.17268/sci.agropecu.2018.04.15.
- Bennetzen, Jeff L., y Sarah C. Hake, eds. 2009. *Handbook of Maize: Its Biology*. New York, NY: Springer New York.
- Botero, Carmenza E. Góngora, Patricia Marín Marín, y Pablo Benavides Machado. 2009a. «CLAVES PARA EL ÉXITO DEL HONGO *Beauveria bassiana* COMO CONTROLADOR BIOLÓGICO».
- Botero, Carmenza E. Góngora, Patricia Marín Marín, y Pablo Benavides Machado. 2009b. «CLAVES PARA EL ÉXITO DEL HONGO *Beauveria bassiana* COMO CONTROLADOR BIOLÓGICO».
- Bucarei, Lorena Maria Barra. 2020. «*Beauveria bassiana* endófito: Agente de promoción de crecimiento vegetal y de biocontrol en tomate».
- Cardarell, Mariateresa. 2017. «Tratamientos de semillas con microorganismos y sus efectos beneficiosos en los cultivos». *Bioestimulante.com*. Recuperado 19 de junio de 2024 (<https://www.biostimulant.com/es/seed-treatments-with-microorganisms-and-their-beneficial-effects-on-crops/>).
- Chi Chi, Lucia. 2015. «Para promover la regulación y la aceptación del mercado de los hongos endófitos en la agricultura, es importante abogar por estándares regulatorios claros y consistentes que garanticen la seguridad y la eficacia de estos productos». Recuperado 20 de junio de 2024 (https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/1655/1/PCB_M_Tesis_2020_Lucia_Chi_Chi.pdf).
- Chiriboga, Hernán. 2015. «BVE17038724e.pdf». Recuperado 20 de junio de 2024 (<https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2646/BVE17038724e.pdf>).
- Chiriboga, Hernan, Graciela Gomez, y Carla Garces. 2015. «BEAVERIA BASSIANA, HONGO ENTOMOPATÓGENO PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE HORMIGAS CORTADORAS (YSAÚ)». Recuperado 20 de junio de 2024 (<https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2646/BVE17038724e.pdf>).
- Delgado, Pablo Andrés Motta, y Betselene Murcia-Ordoñez. 2011. «Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas». *Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science* 6(2):77-90. doi: 10.4136/ambi-agua.187.
- Divulgación-CIMMYT. 2021. «La domesticación del maíz y su contribución a la Teoría de la Evolución – CIMMYT | IDP». Recuperado 29 de mayo de 2024 (<https://idp.cimmyt.org/la-domesticacion-del-maiz-y-su-contribucion-a-la-teoria-de-la-evolucion/>).
- Doebley, John F., Brandon S. Gaut, y Bruce D. Smith. 2006. «The Molecular Genetics of Crop Domestication». *Cell* 127(7):1309-21. doi: 10.1016/j.cell.2006.12.006.

- Ejido, Juan, y Roo Quintana. 2014. «“PRODUCCIÓN Y APLICACIÓN DEL HONGO *Beauveria bassiana* EN EL LABORATORIO DE CONTROL BIOLÓGICO DEL ITZM”». Recuperado 20 de junio de 2024 (http://www.itzonamaya.edu.mx/web_biblio/archivos/res_prof/for/for-2014-5.pdf).
- García, Andrés Díaz, Martha Isabel Gómez Álvarez, Erika Paola Grijalba Bernal, Adriana Marcela Santos Diaz, Fredy Mauricio Cruz Barrera, Diana Marcela León Moreno, Erika Andrea Alarcón Torres, y Alba Marina Cotes. 2020. «Development and scaling of biopesticides».
- Gómez, H., A. Zapata, E. Torres, y M. Tenorio. 2014. «Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos». *Laboratorio de entomopatógenos SCB, Servicio Nacional de Sanidad Agraria-SENASA, Lima. Perú* 37.
- Greenfield, Melinda, María I. Gómez-Jiménez, Viviana Ortiz, Fernando E. Vega, Matthew Kramer, y Soroush Parsa. 2016. «*Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* endophytically colonize cassava roots following soil drench inoculation». *Biological Control* 95:40-48. doi: 10.1016/j.biocontrol.2016.01.002.
- Guedez, Clemencia. 2014. «CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE BEAUVERIA BASSIANA, AISLADA DE DIFERENTES INSECTOS EN TRUJILLO-VENEZUELA». *Revista academia XV*:275-81.
- Hoefl, Robert G., Samuel R. Aldrich, Emerson D. Nafziger, y Richard R. Johnson. 2000. *Modern Corn and Soybean Production*. 1st ed. Champaign, Ill.: MCSP Publications.
- Hugo, Marín, Silvia Rodríguez-Navarro, Esteban Florido, Roberto Sierra, y David Tovar. 2018. «Metabolitos y Conidios de *Beauveria bassiana* Como Control de Mosco Negro fungoso, Bajo Condiciones de Invernadero». *Southwestern Entomologist* 43:691-703. doi: 10.3958/059.043.0315.
- Humber, Richard A. 2017. «*Microbial Control of Insect and Mite Pests: From Theory to Practice* . Edited by Lawrence A. Lacey. Academic Press. Amsterdam (The Netherlands) and Boston (Massachusetts): Elsevier. \$125.00 (Paper). Xix + 461 p.; Ill.; Index. ISBN: 978-0-12-803527-6. 2017.» *The Quarterly Review of Biology* 92(1):108-9. doi: 10.1086/690890.
- Inglese, Paolo, Dr Candelario Mondragon Jacobo, Makiko Taguchi, Harinder Makkar, Mounir Louhaichi, Ruth Duffy, y Davide Moretti. 2018. «Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal».
- Iriarte R, María M. 2006. «Interpretación de resultados de análisis microbiológicos en alimentos: Planes de atributos». *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel* 37(2):35-42.
- Jimenez, Eduardo. 2021. «Métodos de control de plagas». *SlideShare*. Recuperado 19 de junio de 2024 (<https://es.slideshare.net/slideshow/mtodos-de-control-de-plagas/250164384>).
- Liu, Jane. 2021. «Agricultura ecológica | Alternativas a los pesticidas». Recuperado 11 de julio de 2024 (<https://www.foodunfolded.com/es/articulo/agricultura-ecologica-alternativas-a-los-pesticidas>).

- Martínez, Manuel Enrique Pérez, y Neidy Clavijo Ponce. 2012. «Experiencias y enfoques de procesos participativos de innovación en agricultura».
- Molina, Juan Diego, y José Raúl Espinal. 2006. «Evaluación de *Beauveria bassiana* para el combate de insectos plaga en maíz almacenado.» *Agronomía Mesoamericana* 11(2):15. doi: 10.15517/am.v11i2.17301.
- Namesny, Alicia. 2022. «*Beauveria Bassiana*: Utilizado Como Bioinsecticida, También Promueve El Crecimiento de Las Plantas». *Tecnología Hortícola*. Recuperado 10 de junio de 2024 (<https://www.tecnologiahorticola.com/beauveria-bassiana-bioinsecticida-biofertilizante-plantas/>).
- Nannas, Natalie, y Kelly Dawe. 2015. «(PDF) Genetic and Genomic Toolbox of *Zea mays*». Recuperado 31 de mayo de 2024 (https://www.researchgate.net/publication/273148960_Genetic_and_Genomic_Toolbox_of_Zea_mays).
- National Academies of Sciences, Engineering, Division on Earth and Life Studies, Board on Agriculture and Natural Resources, y Committee on Genetically Engineered Crops: Past Experience and Future Prospects. 2016. «Agronomic and Environmental Effects of Genetically Engineered Crops». en *Genetically Engineered Crops: Experiences and Prospects*. National Academies Press (US).
- Noboa, Gissela, y Alex Quelal. 2015. «DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE UN PROTOCOLO PARA MEJORAR LA PRODUCCIÓN Y CONSERVACIÓN DE *Beauveria bassiana* Y *Trichoderma harzianum* COMO APOORTE A LOS PRODUCTORES DE CAFÉ ORGÁNICO DE LA ASOCIACIÓN “RÍO INTAG”, CANTÓN COTACACHI.» Recuperado 25 de julio de 2024 (<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9400/1/UPS-QT07115.pdf>).
- Nussenbaum, Laura. 2014. «tesis_n5511_Nussenbaum.pdf». Recuperado 20 de junio de 2024 (https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n5511_Nussenbaum.pdf).
- Pacheco Hernández, Ma de Lourdes, J. Francisco Reséndiz Martínez, Víctor J. Arriola Padilla, Ma de Lourdes Pacheco Hernández, J. Francisco Reséndiz Martínez, y Víctor J. Arriola Padilla. 2019. «Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México: una revisión». *Revista mexicana de ciencias forestales* 10(56):4-32. doi: 10.29298/rmcf.v10i56.496.
- Pavone, Domenico. 2021. «*Beauveria bassiana*». *TECNOVITA*. Recuperado 5 de junio de 2024 (<https://tecnovitaca.com/beauveria-bassiana/>).
- Peteira, Belkis, Ivonne González, Yailen Arias, A. Fernández Turro, Ileana Miranda, y B. Martínez. 2011. «CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE SEIS AISLAMIENTOS DE *Beauveria bassiana* (BALSAMO) VUILLEMIN». *Revista de Protección Vegetal* 26(1):16-22.
- Pucheta Díaz, Micaela, Antonio Flores Macías, Silvia Rodríguez Navarro, y Mayra de la Torre. 2006. «Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos». *Interciencia* 31(12):856-60.

- Ramires, Manuel. 2018. «LIBRO DE MEMORIAS CIBB2018.pdf». Recuperado 20 de junio de 2024 (<http://www.cibb.espol.edu.ec/sites/cibb.espol.edu.ec/files/archivos/LIBRO%20DE%20MEMORIAS%20CIBB2018.pdf>).
- Rengifo, Alberto. 2019. «Revista-Nuestra-Ciencia-21.pdf». Recuperado 20 de junio de 2024 (<https://www.puce.edu.ec/wp-content/uploads/2021/04/Revista-Nuestra-Ciencia-21.pdf>).
- Rodriguez, R. J., J. F. White Jr, A. E. Arnold, y R. S. Redman. 2009. «Fungal Endophytes: Diversity and Functional Roles». *New Phytologist* 182(2):314-30. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x.
- Rojas, Rafael Alejandro Bustamante. 2019. «Evaluación de Beauveria bassiana en el control biológico de larvas de la polilla Oidaematophorus espeletiae».
- Rosa Sánchez, Brenda Sánchez, Monserrat Yunueth, Álvaro, Beatriz Guillén, Marbella García, Claudia Méndez, y Martha Macías. 2013. «Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina». Recuperado 31 de mayo de 2024 (https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2013000200006).
- Ryan, Robert P., Kieran Germaine, Ashley Franks, David J. Ryan, y David N. Dowling. 2008. «Bacterial Endophytes: Recent Developments and Applications». *FEMS Microbiology Letters* 278(1):1-9. doi: 10.1111/j.1574-6968.2007.00918.x.
- Sandoval, Jesica Fula, y Norida Dayani Vasquez Mur. 2018. «REVISIÓN DOCUMENTAL SOBRE Beauveria bassiana Y Bacillus Thuringensis, EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE LEPIDÓPTEROS EN FORRAJES GANADEROS».
- Santafé, Marta. 2023. «Deriva Cero: Hacia el uso sostenible de los productos fitosanitarios». *iAgua*. Recuperado 24 de julio de 2024 (<https://www.iagua.es/blogs/marta-santafe/deriva-cero-uso-sostenible-productos-fitosanitarios>).
- Shiferaw, Bekele, Boddupalli M. Prasanna, Jonathan Hellin, y Marianne Bänziger. 2011. «Crops That Feed the World 6. Past Successes and Future Challenges to the Role Played by Maize in Global Food Security». *Food Security* 3(3):307-27. doi: 10.1007/s12571-011-0140-5.
- Téllez-Jurado, Alejandro, María Guadalupe Cruz Ramírez, Yuridia Mercado Flores, Alí Asaff Torres, y Ainhoa Arana-Cuenca. 2009. «Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos». *Revista mexicana de micología* 30:73-80.
- Tollenaar, Matthijs, y Elizabeth Lee. 2006. «Physiological dissection of grain yield in maize by examining genetic improvement and heterosis». *Maydica* 51:399.
- Ureña, Bermeo, y Domenica Poleth. 2022. «“Determinación de la actividad entomopatógena del hongo Beauveria Bassiana (Bals.) Vuill. sobre el gusano blanco de la papa (Premnotrypes Vorax H.)”».

Vanegas, Walter Lenín Espinoza. 2018. «Los cereales como fuente de alimentación primaria para la humanidad». *Revista Multi-Ensayos* 4(7):47-54. doi: 10.5377/multiensayos.v4i7.9493.

