



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

CARRERA DE AGRONOMÍA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

“EVALUACIÓN DE CUATRO SUSTRATOS PARA LA PRODUCCIÓN DE *Metarhizium sp.* BAJO CONDICIONES CONTROLADAS EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI”.

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

Autora:
Tello Jiménez Fernanda Monserrath

Tutora:
Arévalo Granda Johanna Valentina

LATACUNGA – ECUADOR

Marzo 2026

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Tello Jiménez Fernanda Monserrath, con cédula de ciudadanía No. 0550030589, declaro ser autora del presente Proyecto de Investigación: **“EVALUACIÓN DE CUATRO SUSTRATOS PARA LA PRODUCCIÓN DE *Metarhizium sp.* BAJO CONDICIONES CONTROLADAS EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI”**, siendo la Ingeniera Mg. Johanna Valentina Arévalo Granda, 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, 23 de febrero del 2026

Fernanda Monserrath Tello Jiménez

C.C: 0550030589

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 **TELLO JIMÉNEZ FERNANDA MONSERRATH**, identificada con cédula de ciudadanía **0550030589** de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA 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. - **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Agronomía, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **“EVALUACIÓN DE CUATRO SUSTRATOS PARA LA PRODUCCIÓN DE *Metarhizium sp.* BAJO CONDICIONES CONTROLADAS EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI”**, 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 2020 – Marzo 2021

Finalización de la carrera: Octubre 2025 – Marzo 2026

Tutora: Ing. Johanna Valentina Arévalo Granda, Mg.

Tema: **“EVALUACIÓN DE CUATRO SUSTRATOS PARA LA PRODUCCIÓN DE *Metarhizium sp.* BAJO CONDICIONES CONTROLADAS EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI”**

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

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

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

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.

e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial

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

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

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

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

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

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

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

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 23 días del mes de febrero del 2026.

Fernanda Monserrath Tello Jiménez

Dra. Idalia Pacheco Tigselema, Ph.D.

LA CEDENTE

LA CESIONARIA

AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

“EVALUACIÓN DE CUATRO SUSTRATOS PARA LA PRODUCCIÓN DE *Metarhizium sp.* BAJO CONDICIONES CONTROLADAS EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI”, de Tello Jiménez Fernanda Monserrath, de la carrera de Agronomía, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la pre-defensa.

Latacunga, 23 de febrero del 2026

Ing. Arévalo Granda Johanna Valentina, Mg.

CC. 1715849582

DOCENTE TUTORA

AVAL DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, la postulante: Tello Jiménez Fernanda Monserrath , con el título del Proyecto de Investigación: **“EVALUACIÓN DE CUATRO SUSTRATOS PARA LA PRODUCCIÓN DE *Metarhizium sp.* BAJO CONDICIONES CONTROLADAS EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI”**, han 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 grabar los archivos correspondientes en un CD, según la normativa institucional.

Latacunga, 24 de febrero del 2026

Ing. Francisco Hernán Chancusig, Mg.

C.C: 0501883920

LECTORA 1 (PRESIDENTE)

Ing. Guadalupe de las Mercedes López
Castillo, Mg.

C.C: 1801902907

LECTOR 2 (MIEMBRO)

Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuete, Mg.

C.C: 0502409725

LECTOR 3 (MIEMBRO)

Agradecimiento

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento, primeramente, a Dios, por darme la sabiduría y fortaleza para seguir adelante y cumplir con mi objetivo, a mis padres, Jenry Tello y Silvia Jiménez, por brindarme su apoyo incondicional, sus consejos diarios los cuales han sido muy importantes para mí, y el esfuerzo que hacen por nosotros, este logro es el reflejo de su amor, de su dedicación, ustedes, que nunca dejaron de creer en mí, les debo todo, a mis herman@s Jenry y Dayana por sus palabras de ánimo y por acompañarme en cada etapa, celebrando mis triunfos y alentándome en los momentos difíciles, su compañía, comprensión y amor han sido una fuente de fortaleza y motivación. A mi familia por siempre estar impulsándome a que siga adelante y sobre todo por creer en mí.

También quiero agradecer a cada uno de los docentes de la carrera de Agronomía que me acompañaron y me apoyaron durante este proceso, de manera especial a la Ing. Tannya Llanos, Ing. Valentina Arévalo y a los Ing. Paolo Chasi, Ing. Francisco Chancusig.

A mi mejor amiga Karen Mosquera (Karencita) la cual forma una parte especial en mi vida por apoyarme y brindarme su cariño sincero, a mis amigas que me acompañaron durante mi formación profesional Melita y Tefita mis compañeras de aventuras y cómplices de travesuras, gracias por su ayuda y consejos en todo momento, y por esa linda amistad que formamos desde el inicio de nuestra carrera.

Fernanda Monserrath Tello Jiménez

Dedicatoria

El presente trabajo de investigación se lo dedico a mi mami Silvia Jiménez por ser esa mujer valiente y siempre estar conmigo con esas palabras de aliento “tú puedes chipi”, a mi papi Jenry Tello por el esfuerzo y sacrificio que hace por su familia, también por ser mi inspiración para culminar mi carrera, a mis herman@s Jenry y Dayana por ser mis cómplices y también mi fortaleza para alcanzar y cumplir mis sueños, a mi familia por demostrarme que soy capaz de todo y por ese apoyo incondicional en todo momento, su ejemplo de vida ha sido el motor que me impulsa a seguir adelante y a no rendirme jamás, mis tí@s (Diana, Cristian, Franklyn, German, Rosa, Agosto), a mis prim@s (Germanico, Liz, Tabito, Azito, Dulce, Jessita, Rolando, Gaby, Jhosue, Cristina, Jhordy, Ariana), a mis abuelit@s (Jenry, Mariana, Enma, Roberto, María) por cada palabra de aliento, por sus consejos llenos de sabiduría y, sobre todo, por darme siempre su bendición, que ha sido mi guía y fortaleza en cada paso que doy.

A mis Padrinos Julia, Orlando, su presencia en mi vida es una bendición, y su amor ha sido un impulso constante para seguir adelante.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi, por brindarme la oportunidad de pertenecer y formarme como profesional en tan honorable institución.

A la Ing. Valentina Arévalo y al Ing. Paolo Chasi, por su tiempo y paciencia que han tenido para poder culminar con mi proyecto de titulación. Sus consejos han sido muy importantes para finalizar esta etapa.

Fernanda Monserrath Tello Jiménez

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “EVALUACIÓN DE CUATRO SUSTRATOS PARA LA PRODUCCIÓN DE *Metarhizium sp.* BAJO CONDICIONES CONTROLADAS EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI”

Autora: Tello Jiménez Fernanda Tello

RESUMEN

Los hongos entomopatógenos se han constituido como una alternativa viable frente al uso frecuente de agroquímicos en la agricultura y se fundamenta en la creciente necesidad de fortalecer alternativas biológicas sostenibles para el manejo integrado de plagas. La presente investigación se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica de Cotopaxi, en donde se evaluaron cuatro sustratos de origen vegetal (arroz, morochillo, trigo y cebada) para la producción del hongo *Metarhizium sp.* bajo condiciones controladas. Para lo cual se implementó un diseño experimental completamente al azar (DCA), con cuatro tratamientos (sustratos) y seis repeticiones por tratamiento. Las variables evaluadas fueron el crecimiento micelial (cm²) y el crecimiento esporular (cm²), los datos fueron tomados durante 20 días después de la inoculación de los sustratos, tomando en cuenta únicamente los datos de los días 10 y 20 para aplicar en la parte estadística. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico ANOVA y posteriormente se aplicó la prueba de comparación múltiple Tukey ($\alpha=0,05$). Los resultados evidenciaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,0001$) entre los sustratos. Se determinó que la Cebada presentó el mejor desempeño general, alcanzando los mayores valores de crecimiento micelial a los 10 días (75 cm²) y esporular a los 20 días (144 cm²), seguido del Morochillo con un crecimiento micelial a los 10 días (39,83 cm²) y esporular a los 20 días (67,32 cm²). El arroz registró valores bajos en las variables evaluadas, mientras que el trigo no presentó crecimiento ni esporulación significativa en las condiciones experimentales establecidas. En la presente investigación se determinó que el sustrato más apto para la producción de *Metarhizium sp.* a nivel del laboratorio fue la cebada debido a su adecuada composición nutricional, especialmente en contenido de fibra soluble que favorece la retención de humedad y proporciona una liberación más sostenida de nutrientes además las características físicas del grano de cebada demuestra mayor porosidad por ende mayor aeración, lo que beneficia la producción de conidias en *Metarhizium* ya que es un hongo aerobio que requiere oxigenación constante, lo que permitió una mayor colonización micelial y una esporulación más abundante del hongo.

Palabras clave: *Metarhizium sp.*; hongos entomopatógenos; control biológico; sustratos vegetales; agricultura sostenible.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI

FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

TITLE: “EVALUATION OF FOUR SUBSTRATES FOR THE PRODUCTION OF *Metarhizium* sp. UNDER CONTROLLED CONDITIONS AT THE TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI”

Author: Fernanda Tello Tello

ABSTRACT

Entomopathogenic fungi have become a viable alternative to the frequent use of agrochemicals in agriculture, based on the growing need to strengthen sustainable biological alternatives for integrated pest management. This research was conducted in the Microbiology Laboratory of the Technical University of Cotopaxi, where four plant-based substrates (rice, morochillo, wheat, and barley) were evaluated for the production of the fungus *Metarhizium* sp. under controlled conditions. A completely randomized design (DCA) was implemented, with four treatments (substrates) and six replicates per treatment. The variables evaluated were mycelial growth (cm²) and sporulation growth (cm²). Data were collected over 20 days after substrate inoculation, considering only the data from days 10 and 20 for statistical analysis. The obtained data were subjected to an ANOVA statistical analysis, followed by Tukey's multiple comparison test ($\alpha = 0.05$). The results showed statistically significant differences ($p < 0.0001$) among the substrates. Barley demonstrated the best overall performance, reaching the highest values of mycelial growth at 10 days (75 cm²) and sporulation at 20 days (144 cm²), followed by morochillo with mycelial growth at 10 days (39.83 cm²) and sporulation at 20 days (67.32 cm²). Rice showed low values in the evaluated variables, while wheat did not exhibit significant growth or sporulation under the established experimental conditions. This study determined that barley was the most suitable substrate for laboratory-scale production of *Metarhizium* sp., due to its adequate nutritional composition, especially its soluble fiber content, which favors moisture retention and provides a more sustained release of nutrients. Additionally, the physical characteristics of barley grain show greater porosity and, therefore, better aeration, which benefits conidia production in *Metarhizium*, as it is an aerobic fungus that requires constant oxygenation. This allowed for greater mycelial colonization and more abundant fungal sporulation.

Keywords: *Metarhizium* sp.; entomopathogenic fungi; biological control; plant-based substrates; sustainable agriculture.

ÍNDICE DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	v
AVAL DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN	vi
Agradecimiento	vii
Dedicatoria.....	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
1 INFORMACIÓN GENERAL	1
2 JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	3
3 BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	4
3.1 Beneficiarios directos	4
3.2 Beneficiarios indirectos	4
4 EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN.....	5
5 OBJETIVOS:.....	6
5.1 General.....	6
5.2 Específicos.....	6
6 ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	7
7 FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA	8
7.1 Microorganismos benéficos para la agricultura.....	8
7.2 Aislamiento de un microorganismo.....	8
7.2.1 Aislamiento de microorganismos de suelo.....	9
7.2.2 Aislamiento de microorganismos de agua.....	9
7.2.3 Aislamiento de microorganismos de aire	9
7.3 Que es <i>Metarhizium</i> sp.....	9

7.3.1	Beneficios de <i>Metarhizium</i>	10
7.4	Ciclo del <i>Metarhizium</i>	10
7.5	Clasificación taxonómica del <i>Metarhizium</i> sp	11
7.6	<i>Metarhizium</i> sp.....	12
7.7	Micelio.....	12
7.8	Esporas	13
7.9	Métodos de infección.....	13
7.9.1	Adhesión.....	13
7.9.2	Germinación	13
7.9.3	Formación del apresorio	14
7.9.4	Penetración	14
7.9.5	Colonización de la hemolinfa.....	15
7.9.6	Extrusión y Esporulación	15
7.10	Métodos de producción	15
7.11	Producción fermentativa sólida	16
7.11.1	Sustrato	16
7.12	Sustrato para la producción	17
7.12.1	Preparación de sustratos	17
7.13	Trigo	18
7.14	Maíz.....	18
7.15	Arroz.....	19
7.16	Cebada	19
8	VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS	20
8.1	Hipótesis	20
9	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	20
9.1	Tipo de investigación	20

9.1.1	Investigación Aplicada	20
9.1.2	Investigación Descriptiva	20
9.1.3	Investigación Cuantitativa	21
9.2	Método de investigación.....	21
9.2.1	Experimental.....	21
9.3	Ubicación de la investigación.....	21
9.4	Materiales y reactivos.....	22
9.4.1	Materiales	22
9.4.2	Reactivos	23
9.5	Equipos utilizados para realizar la investigación	23
9.6	Diseño experimental.....	23
9.7	Diseño completamente al azar.....	24
9.8	Esquema de análisis de varianza	24
9.8.1	VARIABLES EVALUADAS	24
9.9	ADEVA	24
9.10	Preparación del medio de cultivo	25
9.11	Reactivación y purificación de las cepas de <i>Metarhizium sp</i>	25
9.11.1	Resiembra de las cepas de <i>Metarhizium sp</i>	25
9.12	Preparación de <i>Metarhizium sp</i>	26
9.13	Recuento de conidias	26
9.14	Selección y preparación de sustratos	26
9.15	Inoculación del hongo en los sustratos	27
9.16	Toma de datos.....	27
10	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	27
10.1	Crecimiento micelial.....	27
10.1.1	Crecimiento Micelial a los 10 días post inoculación.....	27

10.1.2	Crecimiento Micelial a los 20 días post inoculación.....	30
10.2	Crecimiento esporular.....	31
10.2.1	Crecimiento Esporular a los 10 días post inoculación.....	31
10.2.2	Crecimiento Esporular a los 20 días post inoculación.....	33
11	IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)	35
11.1	Efecto social	35
11.2	Efecto ambiental	35
11.3	Efecto económico	36
12	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	36
12.1	Conclusiones.....	36
12.2	Recomendaciones	36
13	BIBLIOGRAFÍA	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados	7
Tabla 2. Taxonomía del <i>Metarhizium</i> sp.....	11
Tabla 3. Análisis de la Varianza Crecimiento Micelial a los 10 días post inoculación.	27
Tabla 4. Prueba Tukey Crecimiento Micelial a los 10 días post inoculación.....	28
Tabla 5. Análisis de la Varianza Crecimiento Micelial a los 20 días post inoculación.	30
Tabla 6. Prueba Tukey Crecimiento Micelial a los 20 días post inoculación.....	30
Tabla 7. Análisis de la Varianza Crecimiento Esporular a los 10 días post inoculación	31
Tabla 8. Prueba Tukey Crecimiento Esporular a los 10 días post inoculación	32
Tabla 9. Análisis de la Varianza Crecimiento Esporular a los 20 días post inoculación	33
Tabla 10. Prueba Tukey Crecimiento Esporular a los 20 días post inoculación	34

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Prueba Tukey Crecimiento Micelial a los 10 días post inoculación	28
Gráfico 2. Prueba Tukey Crecimiento Micelial a los 20 días post inoculación	30
Gráfico 3. Prueba Tukey Crecimiento Esporular a los 10 días post inoculación	32
Gráfico 4. Prueba Tukey Crecimiento Esporular a los 20 días post inoculación	34

1 INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

“EVALUACIÓN DE CUATRO SUSTRATOS PARA LA PRODUCCIÓN DE *Metarhizium sp.* BAJO CONDICIONES CONTROLADAS EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI”.

Fecha de inicio:

Octubre 2025

Fecha de finalización:

Marzo 2026

Lugar de ejecución:

Salache – Eloy Alfaro – Latacunga – Cotopaxi.

Facultad que auspicia

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia:

Carrera de Ingeniería Agronómica

Equipo de Trabajo:

Tutora: Ing. Johanna Valentina Arévalo Granda Mg.

Lector 1: Ing. Francisco Hernán Chancusig Mg.

Lector 2: Ing. Guadalupe de las Mercedes López Castillo Mg.

Lector 3: Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuete, PhD.

Nombre del investigador: Tello Jiménez Fernanda Monserrath

Teléfonos: 0962644852

Correo electrónico: fernanda.tello0589@utc.edu.ec

Área de Conocimiento:

Agricultura, Silvicultura y Pesca-Producción Agropecuaria

Línea de investigación:

Desarrollo y Seguridad alimentaria

Sublíneas de investigación de la Carrera:

Producción Agrícola Sostenible y Sistemas Agroecológicos.

Grupo de investigación:

Diversidad biológica y conservación del ecosistema

Línea de vinculación:

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

2 JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

La producción masiva de hongos entomopatógenos del género *Metarhizium* representa una alternativa sostenible y ambientalmente responsable frente al uso intensivo de pesticidas químicos en los sistemas agrícolas contemporáneos. Estos microorganismos han demostrado una amplia eficacia contra múltiples insectos plaga y se han integrado progresivamente en estrategias de manejo integrado de plagas (MIP) debido a su especificidad, seguridad ambiental y reducción de residuos tóxicos en los ecosistemas agrícolas (Agale et al., 2018).

La elección y evaluación de sustratos adecuados es un factor crítico en la producción de conidios de *Metarhizium* puesto que influye directamente en parámetros clave como el rendimiento de esporulación, la calidad de los propágulos, la viabilidad (Sorathiya et al., s. f.). La literatura especializada ha identificado diferentes sustratos de origen vegetal principalmente granos como arroz, trigo, cebada y maíz- como soportes potenciales para la fermentación en sustrato sólido, pero con variaciones significativas en la productividad y eficiencia de la producción de conidios (Agale et al., 2018).

La fermentación sólida en sustratos vegetales ha sido estudiada con resultados que demuestran diferencias sustanciales en la producción de esporas dependiendo de la naturaleza del sustrato y sus propiedades fisicoquímicas. Por ejemplo, investigaciones han observado que granos enteros y fracciones de granos presentan variaciones en la cantidad total de esporas producidas, así como en los costos asociados a la producción (Kelwatkar NM, 2018).

En el ámbito ambiental y social, la optimización de la producción de *Metarhizium* sp. contribuirá indirectamente a disminuir el uso de pesticidas sintéticos, mitigando sus efectos negativos sobre suelo, agua, biodiversidad y salud humana. Finalmente, en el plano académico, la investigación fortalecerá la producción científica y la formación investigativa dentro de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

El presente proyecto de investigación se justifica, por tanto, en la necesidad de identificar el sustrato que permita maximizar la producción del hongo biocontrolador *Metarhizium* sp. para el manejo fitosanitario de plagas, a la vez, se genera conocimiento científico local y contextualizado sobre la eficiencia comparativa de sustratos sólidos (trigo, morochillo, arroz y cebada) en la producción bajo condiciones controladas, aportando evidencia que no solo tenga validez académica sino también utilidad práctica para la implementación

de procesos biotecnológicos sostenibles en el país. Este estudio contribuirá directamente al fortalecimiento de sistemas de producción de biocontroladores fúngicos, promoviendo alternativas productivas que reduzcan la dependencia de agroquímicos y favorezcan la agricultura sostenible (da Cunha et al., 2020).

3 BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

3.1 Beneficiarios directos

El presente proyecto de investigación está dirigido a:

- Los 67.800 agricultores, que representan el 28,5% de la población del país, se dedican a la producción orgánica.
- Profesionales como ingenieros agrónomos e ingenieros biotecnólogos que se encuentran vinculados en la rama del estudio de microorganismos.

Que surgen en base a una ideología que se enfoca en la producción orgánica.

3.2 Beneficiarios indirectos

El proyecto sirve también como fuente de conocimiento para la comunidad académica de la Universidad Técnica de Cotopaxi, específicamente en:

- La carrera de Agronomía cuenta con 578 estudiantes y 18 docentes.

Que requieren información sobre el tema para generar nuevos proyectos o impartir conocimientos basados en una metodología ya aplicada.

4 EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

La intensificación agrícola a nivel mundial ha estado acompañada por un incremento sostenido en el uso de plaguicidas sintéticos. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2025), el consumo mundial de plaguicidas supera los 3,5 millones de toneladas anuales, evidenciando una dependencia creciente de insumos químicos en los sistemas productivos. Este modelo productivo ha generado impactos ambientales significativos, entre ellos la contaminación del suelo y del agua, la pérdida de biodiversidad y la alteración de los servicios ecosistémicos (Carvalho, 2017). Desde el punto de vista ambiental, se estima que menos del 1 % del plaguicida aplicado alcanza efectivamente al organismo objetivo, mientras que el resto se dispersa en el ambiente, afectando suelos, fuentes hídricas y organismos no objetivo (Pimentel, 2009). En términos de suelo, la (Dominique Arrouays, 2015) advierte que aproximadamente el 33 % de los suelos del mundo presentan algún grado de degradación, situación vinculada, entre otros factores, al uso excesivo de agroquímicos que afectan la microbiota edáfica y la fertilidad natural.

Según (Publica, 2025) en el año 2024 en el Ecuador se registraron 567 casos de intoxicación por plaguicidas, afectando principalmente a los hombres con un 67% del total y entre el rango de 20 y 49 años de edad. Cotopaxi representa un 6,22% de afecciones, siendo así, 35 casos de intoxicación. Un estudio realizado en la Universidad Técnica Particular de Loja demuestra que los principales factores que afectan a la salud de los agricultores son la cercanía del cultivo a los hogares y la inexistente aplicación de equipos de protección para insecticidas. Causando así enfermedades como el cáncer (Paulina Arevalo, 2024). Estos datos evidencian una problemática estructural global: la dependencia de pesticidas compromete la sostenibilidad ambiental y la salud pública.

Además, el uso continuo de pesticidas favorece la aparición de resistencia en insectos plaga, generando un círculo de dependencia química y aumento de dosis aplicadas (LA Lacey, 2015). Esta situación incrementa costos de producción y agrava los impactos ambientales.

5 OBJETIVOS:

5.1 General

Evaluar cuatro sustratos para la producción de *Metarhizium sp.* bajo condiciones controladas en la Universidad Técnica de Cotopaxi.

5.2 Específicos

- Analizar el crecimiento de *Metarhizium sp.* en cuatro sustratos (trigo, morochillo, arroz, cebada).
- Determinar el mejor sustrato para la producción de *Metarhizium sp.*

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

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

OBJETIVOS	ACTIVIDAD	RESULTADOS	MEDIO DE VERIFICACIÓN
-Analizar el crecimiento de <i>Metarhizium sp.</i> en cuatro sustratos (trigo, morochillo, arroz, cebada).	<ol style="list-style-type: none"> 1.Revisión bibliográfica sobre el crecimiento y requerimientos nutricionales del hongo <i>Metarhizium sp.</i> 2.Preparación del inóculo del hongo en agar PDA. 3. Selección, compra y preparación de sustratos. 4.Inoculación de sustratos bajo condiciones controladas. 5.Medición del crecimiento micelial y esporular. 6.Análisis estadístico de varianza (ANOVA). 	<ol style="list-style-type: none"> 1.Bibliografía de <i>Metarhizium</i>. 2.Cepa pura de <i>Metarhizium sp</i> en cajas Petri con agar PDA. 3.Sustratos limpios, molidos, hidratados y esterilizados. 4.Sustratos inoculados con una concentración determinada de conidios. 5.Crecimiento micelial y esporular en cada sustrato. 6. Establecimiento de diferencias entre tratamientos. 	<ol style="list-style-type: none"> 1.Registro bibliográfico. 2.Registro fotográfico del crecimiento. 3.Datos experimentales. 4. Tabla y gráficas de resultados. 5. Reporte estadístico (ANOVA).

<p>- Determinar el mejor sustrato para la producción de <i>Metarhizium sp.</i></p>	<p>1.Cuantificación de conidios. 2.Aplicación de la prueba Tukey ($\alpha = 0,05$).</p>	<p>1.Determinación del mejor sustrato que maximiza la producción de conidios.</p>	<p>1.Tabla de datos del recuento de conidios. 2.Reporte de la prueba Tukey. 3.Interpretación de los resultados.</p>
--	--	---	---

7 FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

7.1 Microorganismos benéficos para la agricultura

El uso de microorganismos benéficos (MB) como hongos, bacterias o virus, constituye una herramienta básica y de gran utilidad para el desarrollo de una agricultura limpia y amigable con el entorno productivo. Se han realizado muchos estudios científicos que han justificado los beneficios de los MB en distintos cultivos de seguridad alimentaria como papa, arroz, maíz, entre otros, y cultivos perennes, como frutales que poseen cualidades nutraceuticas por lo cual son muy apreciados (Viera-Arroyo, 2020).

Por muchos años, los microbiólogos del suelo y ambientales han tendido a diferenciar los microorganismos del suelo entre benéficos y dañinos, acorde a sus funciones y a su efecto en la calidad del suelo, crecimiento, productividad y sanidad de las plantas. Entre los microorganismos benéficos están aquellos que fijan nitrógeno atmosférico, descomponen desechos y residuos orgánicos, desintoxican el suelo de pesticidas, suprimen enfermedades de plantas y patógenos del suelo, incrementan el reciclaje de nutrientes y producen componentes bioactivos como vitaminas, hormonas y enzimas que estimulan el crecimiento de las plantas. Los microorganismos dañinos son aquellos que pueden inducir enfermedades en las plantas, estimular los patógenos del suelo, inmovilizar nutrientes y producir toxinas y sustancias pútridas que afectan adversamente el crecimiento y salud de las plantas (Higa, s. f.).

7.2 Aislamiento de un microorganismo

La preparación de un cultivo puro implica no solo el aislamiento de un determinado microorganismo, sino su mantenimiento y el de su descendencia. Es importante

determinar los diferentes medios de cultivo y condiciones de incubación óptimas para cada uno de ellos y así lograr la formación de colonias visibles aisladas.

Es posible utilizar diferentes estrategias para el aislamiento e identificación de microorganismos: Separación física mediante diluciones seriadas y siembra en; utilización de medios de cultivo selectivos y diferenciales y aprovechamiento de características particulares de los microorganismos.

7.2.1 Aislamiento de microorganismos de suelo

Se pesó 1 g de tierra la cual fue recolectada en un terreno en el cual no se han utilizado agroquímicos, y se diluyó en 9 ml de agua peptona estéril (10-1), se homogenizó y se dejó reposar un momento para que los sólidos decantaran. A partir de esta solución se realizaron dos diluciones más (10-2 y 10-3) en agua peptona estéril. Para la siembra se tomó 1 ml de cada dilución y se sembró cada una en agar nutritivo con ayuda de un asa. Finalmente se incubaron las placas a temperatura ambiente por 7 días y se evaluó su crecimiento.

7.2.2 Aislamiento de microorganismos de agua

Se tomó una muestra de agua de charco y se depositó en una botella plástica; luego se tomó 1 ml de la muestra, se suspendió en 9 ml de agua peptona (10-1) y se homogeneizó. A partir de esta solución se realizaron dos diluciones más (10-2 y 10-3) en agua peptona estéril. Para la siembra se tomó 1 ml de cada dilución y se sembró cada muestra en agar nutritivo con ayuda de un asa de Drigalsky. Finalmente se incubaron las placas a temperatura ambiente por 7 días y se evaluó su crecimiento.

7.2.3 Aislamiento de microorganismos de aire

Se tomó una caja de PDA y se expuso al aire libre por 15 minutos. Luego se llevó a la incubadora por 7 días y se evaluó su crecimiento. (Álvarez María del Mar, 2017).

7.3 Que es *Metarhizium* sp

Metarhizium es un género de hongos entomopatógenos, es decir, organismos fúngicos que infectan y matan insectos y otros artrópodos. Estos hongos viven de forma natural en suelos de todo el mundo y son estudiados intensamente por su potencial como agentes de control biológico de plagas en agricultura.

Metarhizium fue observado por primera vez hace más de 140 años y desde entonces ha sido utilizado como una alternativa sostenible a los pesticidas químicos tradicionales (Emily Mesquita, 2023)

7.3.1 Beneficios de *Metarhizium*

Metarhizium transfiere nitrógeno derivado de insectos a la planta, además de producir ácido indol-3-acético que estimula el desarrollo de los pelos radiculares y el crecimiento de las radículas laterales que proporcionan una superficie de raíz para la colonización de *Metarhizium*. La asociación simbiótica de raíces con *Metarhizium* beneficia tanto a plantas monocotiledóneas como dicotiledóneas. (Eder Santiago Gutiérrez Jasso, 2024)

7.4 Ciclo del *Metarhizium*

1. Inoculación (0 horas)

Se deposita un disco de micelio (≈ 5 mm) o una suspensión de conidios sobre la superficie del PDA estéril.

El medio PDA aporta carbohidratos simples (dextrosa) y nutrientes derivados de la papa, favoreciendo el crecimiento vegetativo inicial.

Se incuba la placa invertida para evitar condensación.

2. Germinación (12–24 horas)

Los conidios absorben agua y se hinchan.

Se forma un tubo germinativo.

Comienza la síntesis activa de enzimas y estructuras celulares.

En esta etapa aún no hay esporulación visible.

3. Crecimiento micelial primario (24–72 horas)

El tubo germinativo se ramifica formando hifas septadas.

Se desarrolla el micelio blanco algodonoso.

El crecimiento es radial y puede medirse diariamente.

El PDA favorece principalmente el crecimiento vegetativo en esta fase.

4. Maduración del micelio (3–5 días)

El micelio cubre gran parte de la superficie del medio.

Se inicia la diferenciación celular.

Se activan genes relacionados con la conidiogénesis cuando:

- Disminuyen nutrientes disponibles.
- Aumenta la densidad micelial.
- Se produce estrés fisiológico leve (limitación de carbono o nitrógeno).

5. Inicio de la conidiogénesis (4–7 días)

Se forman conidióforos (estructuras aéreas especializadas).

Aparecen filamentos que producen cadenas de conidios.

La colonia comienza a cambiar de blanco a verde claro.

Esta etapa marca el inicio visible de la esporulación.

6. Esporulación abundante (7–14 días)

Producción masiva de conidios verdes.

La superficie de la colonia adquiere textura pulverulenta.

Se alcanza la máxima concentración conidial.

En condiciones óptimas, la producción máxima suele observarse alrededor del día 10.

7.5 Clasificación taxonómica del *Metarhizium* sp

Tabla 2. Taxonomía del *Metarhizium* sp

Dominio	Eucariota
Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Clavicipitaceae
Subfamilia	Tillandsioideae
Genero	<i>Metarhizium</i>

Fuente. (Gutiérrez et al., 2016)

7.6 *Metarhizium* sp

Los hongos del género *Metarhizium* se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, habitan el suelo, en la rizósfera de plantas o en cadáveres de artrópodos como saprófitos; pueden parasitar una amplia gama de insectos y garrapatas. Además, son considerados microorganismos entomopatógenos que crecen vegetativamente como hifas, producen micelios y conidios que son los propágulos infectivos en hospederos artrópodos. Se ha evidenciado que crecen también a nivel de laboratorio en medios de cultivo generales. Aunque el rango de huéspedes de *Metarhizium* es amplio, las cepas individuales pueden dirigirse solo a huéspedes particulares (Augusto Schrank, 2010).

Estos hongos son particularmente adecuados para el desarrollo de biopesticidas debido a que infectan a los insectos por penetración directa de la cutícula. Es decir, logran degradar, penetrar y asimilar la cutícula del insecto utilizando una combinación de enzimas degradadoras de la cutícula y presión mecánica, al tiempo que superan cualquier estrés encontrado en el camino. Al llegar al hemocele (cavidad corporal de algunos artrópodos), los hongos se multiplican compitiendo con éxito por los nutrientes y evitando las proteínas antimicrobianas y las células circulantes como los hemocitos (células similares a las células sanguíneas), capaces de fagocitar (alimentarse del insecto) y encapsular a los microorganismos invasores. Una vez muerto el hospedador, el hongo rompe la cutícula desde adentro hacia afuera, permitiendo la formación de esporas conidiales que, al disiparse, inician nuevas infecciones. Por lo tanto, la transmisión posterior de *Metarhizium* requiere la muerte del hospedador (St. Leger & Wang, 2020).

El grupo más importante de hongos entomopatógenos, con fines prácticos de manejo, está constituido por *Metarhizium anisopliae*, debido a que es un patógeno que ataca naturalmente a más de 300 especies de insectos de diferentes órdenes, entre los cuales se encuentran el saltahojas, *Perkinsiella saccharicida*, y diversas especies de salivazo que afectan la caña de azúcar (Pereira & Mora, 2004).

7.7 Micelio

El micelio de *Metarhizium* está constituido por hifas septadas, hialinas a ligeramente pigmentadas, con un diámetro que varía entre 1,5 y 4,0 μm . Las hifas exhiben un crecimiento apical típico de los hongos filamentosos y pueden formar estructuras especializadas como pinzas para la penetración en el huésped. En medios de cultivo, las colonias presentan inicialmente una coloración blanca a crema, desarrollando

posteriormente la pigmentación verde oliva característica que facilita su identificación (Rocheli Wachholz, 2025).

7.8 Esporas

Las esporas son estructuras erectas, simples o ramificadas que surgen directamente del micelio y pueden alcanzar hasta 200 μm de longitud. Las esporas, que son los propágulos infecciosos, tienen forma cilíndrica a ovoide con dimensiones aproximadas de $3\text{-}9 \times 2\text{-}4 \mu\text{m}$. Estas esporas asexuales tienen una pared lisa y una coloración verde oliva característica, y se producen en largas cadenas en los extremos de los conidióforos a través de un proceso fialídico (Rocheli Wachholz, 2025).

7.9 Métodos de infección

El modo general de infección de *Metarhizium* spp. comprende seis etapas en el siguiente orden: adhesión, germinación, formación del apresorio, penetración, colonización de la hemolinfa y extrusión y esporulación (Aw & Hue, 2017).

7.9.1 Adhesión

Es la etapa más crucial para infectar con éxito al huésped. Los conidios de *Metarhizium* sp., se adhieren a la epicutícula cerosa de su huésped a través de una combinación de fuerzas hidrofóbicas pasivas, fuerzas electrostáticas e interacciones proteicas entre los conidios y la epicutícula. La capa externa de células en los conidios, también conocida como rodlets (contiene fibras hidrofóbicas que facilitan la adhesión de los conidios a la epicutícula). La unión de los conidios a la cutícula se ve afectada por factores como la topografía y la composición química de la cutícula del huésped, la hidrofobicidad de la superficie del huésped, los hábitos alimenticios del huésped y las condiciones ambientales (Aw & Hue, 2017).

7.9.2 Germinación

La germinación de los conidios inicia por la presencia de fuentes exógenas de carbono y nitrógeno, donde este último se utiliza preferentemente. La trehalosa se encuentra comúnmente en la hemolinfa del huésped. Este par de glucosas que forman la trehalosa contribuyen con la producción de energía. Después de la germinación, las esporas se hinchan, produciendo tubos germinativos que se diferencian en apresorio. Las hidrofobinas son reemplazadas por adhesinas, a saber, *Mad1* y *Mad2*, específicas de *M.*

anisopliae y unen más firmemente el hongo a la cutícula, lo que permite la germinación de los conidios y, posteriormente, la formación del apresorio (Aw & Hue, 2017).

7.9.3 Formación del apresorio

Se demostró que el gen ODC1 y el gen Mpl1 específicos de *M. anisopliae* son responsables de la formación del apresorio. El gen ODC1, que codifica para la ornitina descarboxilasa, se reguló positivamente durante la germinación de los conidios y la diferenciación del tubo germinativo para formar el apresorio, mientras que el gen Mpl1, que codifica para MPL1, regula la homeostasis lipídica y la diferenciación del apresorio. Además, se demostró que la proteína quinasa A está involucrada en la biosíntesis de ergosterol, que regula la permeabilidad del glicerol en condiciones hipoosomóticas además de mantener la presión de turgencia en el apresorio. Esta presión de turgencia genera la presión mecánica requerida para la penetración de la cutícula del huésped. El apresorio también secreta una fina capa de mucílago para consolidar la fijación del hongo a la cutícula (Aw & Hue, 2017).

7.9.4 Penetración

La etapa de penetración implica la secreción de proteínas como subtilisinas, tripsinas, quimotripsinas y carboxipeptidasas, que digieren la procutícula rica en proteínas de los artrópodos. Se ha descubierto que los tipos y la cantidad de proteínas producidas por *M. anisopliae* son específicos de cada huésped, lo que explica su capacidad de infectar a muchos huéspedes diferentes. Las tripsinas son específicas del huésped, ya que se descubrió que se producen solo en ciertos huéspedes, como cucarachas y escarabajos. Las proteasas de subtilisina, como Pr1, son enzimas degradadoras de la cutícula que penetran en la cutícula hidrolizando las proteínas cuticulares durante condiciones de privación de nutrientes. En presencia de fuentes exógenas de carbono y nitrógeno, su producción se reprime. Las quitinasas, funcionan sinérgicamente con las proteasas para digerir las cutículas del huésped. En diferentes hospedadores, se producen diferentes isoformas de quitinasas. Las lipasas, presentes en la superficie de los conidios, también mejoran la adhesión de los conidios al hospedador al mejorar las interacciones hidrofóbicas entre los conidios y el hospedador a través de la liberación de ácidos grasos libres mediante su actividad lipolítica. Colectivamente, las quitinasas, proteasas y lipasas degradan la cutícula, respectivamente, para permitir la penetración y utilización exitosa de nutrientes en el hemocele del hospedador para una infección eficaz (Aw & Hue, 2017).

7.9.5 Colonización de la hemolinfa

Las destruxinas, especialmente las destruxinas A y E, enzimas insecticidas, se sintetizan para reprimir la respuesta inmunitaria celular y humoral del hospedero. Esto se logra cuando las esporas *de Metarhizium* que se encuentran encapsuladas por los hemocitos del hospedero logran escapar. También se producen proteínas de evasión como *MclI* para permitir que el hongo evada el sistema inmunitario del huésped.

Para proteger los conidios contra las especies reactivas de oxígeno formadas por la radiación ultravioleta y el calor en el ambiente, también están presentes catalasas y peroxidasas en la superficie de los conidios. Las proteínas *MadI* inician la expresión de genes involucrados en el ciclo celular, lo que permite la rápida multiplicación y diferenciación de las hifas en la hemolinfa del huésped. Estas proteínas orientan el citoesqueleto y regulan la citocinesis en el ciclo celular (Aw & Hue, 2017).

7.9.6 Extrusión y Esporulación

Durante la esporulación, las hifas expulsan la cutícula del hospedador al exterior. *M. anisopliae* forma una red más densa y esporas verdes en el cadáver del hospedador infectado. Se observó que el crecimiento filamentoso y la conidiosación de *Metarhizium* estaban regulados por la subunidad catalítica A de la calcineurina, una proteína fosfatasa serina-treonina dependiente de Ca. Esta subunidad catalítica también regula la síntesis de quitina y β -1,3-glucano, que son componentes principales de la pared celular de *Metarhizium*. La β -1,3-glucano sintasa codificada por el gen *MaFKS* es responsable del crecimiento del micelio y la producción de conidios durante la etapa de esporulación, además regula la tolerancia a la presión hiperosmótica, lo que contribuye a la integridad de la pared celular del hongo (Aw & Hue, 2017).

7.10 Métodos de producción

Los hongos entomopatógenos (HEP) tienen la gran ventaja sobre otros organismos empleados para su producción en el ámbito microbiano de ser producidos sobre diferentes sustratos, lo que les permite su sobrevivencia en el ambiente como saprófitos (Clemencia Oderay Merino Peñafiel, 2016). Habitualmente, los sustratos sólidos más empleados en la producción a escala semicomercial de los HEP son granos de cereales, siendo el arroz el más utilizado. Al momento de la recolección de conidias se debe asegurar su mayor desprendimiento desde la superficie del grano, esto asegura una alta concentración de los mismos.

7.11 Producción fermentativa sólida

Se denomina FES a cualquier proceso fermentativo ejecutado sobre un medio no sumergido, en ausencia de agua libre, donde se usan sustratos naturales que sirven como fuente de nutrientes y son a su vez el soporte físico para los microorganismos. El bajo contenido de humedad define que solo un determinado grupo de microorganismos puede desarrollarse, principalmente levaduras y hongos que tienen capacidad de crecer con menor disponibilidad de agua. La FES se produce en varias etapas:

1. Selección y la esterilización del sustrato, mediante procesos mecánicos, químicos o bioquímicos para que los nutrientes ligados estén disponibles para la hidrólisis y la fermentación.
2. Preparación del medio y del inóculo microbiano.
3. Incubación de los microorganismos en el sustrato, donde se controlan las diferentes condiciones (pH, temperatura, humedad).
4. Hidrólisis del sustrato pretratado.
5. Fermentación para obtener el metabolito microbiano deseado.
6. Extracción del producto: se realiza una purificación que consiste en la centrifugación, filtración y ultrafiltración del producto para obtener el producto final.

7.11.1 Sustrato

Para llevar a cabo un proceso de FES pueden utilizarse matrices biológicas, es decir, sustratos naturales, o soportes inertes, estos son sustratos sintéticos impregnados. La elección de uno u otro tipo de soporte dependerá de las particularidades del proceso y del tipo de producto que se quiere obtener. Los residuos agroindustriales presentan características fisicoquímicas adecuadas para utilizarse como sustratos. En los últimos años, se han obtenido diferentes sustratos naturales que provienen de procesos agroindustriales y que mayormente son subproductos sin valor económico. Además, la elección de los residuos agroindustriales para su uso también depende de su composición, ya que contienen azúcares, almidón, proteínas, contenido celulósico (35-50%), hemicelulósico (25-30%) o lignocelulósico (15-25%). Esto sugiere que la distinción en la composición del sustrato es fundamental para el éxito del proceso de fermentación.

En general tienen un alto contenido de almidón y polisacáridos de glucosa, esto es de suma importancia para que actúen como fuente de carbono para el crecimiento de los

microorganismos. Sin embargo, la presencia de lignina limita la disponibilidad y el aprovechamiento de las fuentes de carbono por parte de algunos organismos. Para superar este obstáculo, una alternativa es disminuir el tamaño de partícula del sustrato sólido, de esa forma se aumenta el área superficial disponible para los microorganismos, facilitando los procesos de degradación mediante el metabolismo enzimático y aumentando, por lo tanto, la disponibilidad de las fuentes de carbono (Regional, 2025).

7.12 Sustrato para la producción

La producción de hongos entomopatógenos se basa en la multiplicación masiva de sus estructuras reproductivas en un sustrato natural. Se han evaluado diferentes sustratos naturales, principalmente arroz, trigo y maíz (Ocampos et al., s. f.), los cuales conforman medios de cultivo que permiten el desarrollo de microorganismos. Todos los medios de cultivo deben contener los nutrientes suficientes para asegurar el desarrollo de los hongos. Las diferentes características de los sustratos naturales hacen que la incidencia sobre el desarrollo y esporulación de los hongos entomopatógenos sea diferenciada. La porosidad, el volumen y el contenido de nutrientes son las principales características que benefician el desarrollo de los entomopatógenos. Para que un determinado sustrato sea considerado adecuado debe cumplir varias características como: de bajo costo, su preparación debe ser sencilla y debe ser eficiente en cuanto al desarrollo y esporulación de los entomopatógenos (Ocampos et al., s. f.).

7.12.1 Preparación de sustratos

En la producción de conidios se utilizaron cuatro sustratos sólidos: arroz, millo, soya y maíz partido. Cada uno de estos sustratos se lavó por separado tres veces con agua común para eliminar la mayor cantidad posible de impurezas. Posteriormente se vertieron por separado en un recipiente que contenía agua común y se dejaron en remojo durante 1 h. Luego se dejaron escurrir durante 30 min y después, se colocaron 100 g de cada uno en bolsas de polipropileno, las cuales se sellaron y se esterilizaron en autoclave, a 121 °C por 20 min. Las bolsas se inocularon con 5 mL de una suspensión de conidios, preparada con un tubo de cultivo puro del hongo, con una concentración de $2,5 \times 10^8$ conidios mL⁻¹ y se incubaron a 25 ± 1 °C. Luego de 14 días de incubación, el contenido de las bolsas se colocó sobre bandejas para su secado, lo cual se realizó en un local con deshumidificador y aire acondicionado, logrando un contenido de agua o humedad del

sustrato colonizado inferior al 15 %, valor que se determinó con una balanza infrarroja Sartorius. (Irma García Cruz, 2019).

7.13 Trigo

El grano de trigo se compone principalmente de carbohidratos (70-75%), principalmente en forma de almidón, seguido de proteínas (10-15%), grasas (1-2%), vitaminas (como las vitaminas B), minerales (como hierro y magnesio), fibra (2-3%) y agua (10-15%). Aunque tiene mayor proteína, su gluten puede compactar el sustrato y limitar la aireación.(Alomari et al., 2023).

El trigo posee endospermo más compacto, menor tamaño de grano en comparación con el arroz y mayor tendencia a la aglomeración tras hidratación. Además, cuando el trigo se hidrata, puede compactarse con mayor facilidad y reduce la aireación.

Mayor contenido proteico del trigo puede favorecer al crecimiento de bacterias contaminantes, aumenta el riesgo de competencia microbiana. En sistemas de FES donde la esterilidad no es perfecta, esto puede reducir la eficiencia productiva (Jaronski, 2014).

7.14 Maíz

El maíz tiene varias propiedades morfológicas y nutricionales importantes, como el período de maduración, las características de la mazorca, la estructura del grano, el color del grano, la resistencia a plagas y enfermedades, al frío y al calor, el rendimiento y la composición nutricional (almidón, proteínas, grasas y minerales). Mayor contenido lipídico, lo que puede afectar la estabilidad del sustrato y la oxigenación, dificulta la colonización homogénea del micelio (Ciftci et al., 2025).

Propiedades físicas favorables para FES: el sustrato debe permitir buena aireación (hongo aerobio), retención de humedad sin compactación y estabilidad estructural tras hidratación/esterilización.

El grano de maíz, por su tamaño y dureza, mantiene espacios intergranulares que facilitan el intercambio gaseoso y la respiración fúngica, condición clave para la esporulación de *Metarhizium* (Faria, 2007).

Mayor contenido lipídico sobre la estabilidad del sustrato puede formar películas alrededor del grano tras hidratación, reducen la penetración uniforme de agua.

En FES, el equilibrio humedad–aireación es crítico. Un exceso relativo de lípidos puede favorecer la compactación parcial del sustrato, disminuir porosidad intergranular y reducir la difusión de oxígeno.

El mayor contenido lipídico puede tener efectos mixtos:

Reducción de crecimiento micelial si hay limitación de oxígeno

Disminución de esporulación por estrés respiratorio

Algunos lípidos pueden actuar como fuentes secundarias de carbono y estimular ciertos procesos metabólicos relacionados con la formación de conidios (Faria, 2007).

7.15 Arroz

El arroz es rico en nutrientes, exhibiendo los niveles más altos de ácidos fenólicos, flavonoides, actividad antioxidante, aminoácidos esenciales y nutrientes clave que incluyen cenizas, proteínas, grasas y fibra. Alto en almidón, pero bajo en fibra y nitrógeno disponible. El almidón actúa como fuente primaria de carbono, esencial para: crecimiento micelial, producción de biomasa, formación de conidios (Bunyatratchata et al., 2025).

El nitrógeno es indispensable para la síntesis de los aminoácidos y proteínas estructurales, enzimas metabólicas, ácidos nucleicos. Cuando el nitrógeno es limitado se reduce la producción de biomasa, disminuye la tasa de crecimiento micelial y se prolonga el tiempo de colonización del sustrato (Jackson, 2010) señala que la disponibilidad de nitrógeno es uno de los factores determinantes en la producción masiva de hongos entomopatógenos, ya que afecta directamente la acumulación de biomasa.

En fermentación en estado sólido (FES), un exceso de carbono con bajo nitrógeno aumenta la relación C:N, lo que puede limitar la síntesis proteica, reducir la eficiencia metabólica y disminuir el rendimiento total. (Faria, 2007) Indica que la composición nutricional del sustrato influye directamente en la productividad y calidad de los conidios.

7.16 Cebada

El grano entero de cebada se compone de aproximadamente un 65-68 % de almidón, un 10-17 % de proteínas, un 4-9 % de β -glucano, un 2-3 % de lípidos libres y un 1,5-2,5 % de minerales. La fibra dietética total oscila entre el 11 % y el 34 % y la fibra dietética soluble entre el 3 % y el 20 %. El grano de cebada descascarillado contiene entre un 11 % y un 20 % de fibra dietética total, entre un 11 % y un 14 % de fibra dietética insoluble y entre un 3 % y un 10 % de fibra dietética soluble. Los β -glucanos pueden favorecer la

retención de humedad y proporcionar una liberación más sostenida de nutrientes, equilibrio agua-oxígeno (Baik & Ullrich, 2008).

El alto contenido de carbohidratos proporciona una fuente de carbono fácilmente asimilable, esencial para la síntesis de biomasa y conidios en *Metarhizium*. Las proteínas aportan nitrógeno necesario para la producción de enzimas y metabolitos secundarios (Jackson, 2010).

La cebada presenta estructura física y porosidad adecuada: tamaño de grano uniforme, superficie rugosa que facilita la adhesión del micelio y buena porosidad intergranular. La porosidad permite adecuada aireación, fundamental para hongos aerobios como *Metarhizium*, favoreciendo la respiración y la esporulación en fermentación sólida (Faria, 2007).

8 VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS

8.1 Hipótesis

No existen diferencias estadísticamente significativas en el crecimiento micelial ni en la producción de esporas de *Metarhizium sp.* entre los sustratos trigo, morochillo, arroz y cebada.

Existen diferencias estadísticamente significativas en el crecimiento micelial y en la producción de esporas de *Metarhizium sp.* entre los sustratos trigo, morochillo, arroz y cebada.

9 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

9.1 Tipo de investigación

9.1.1 Investigación Aplicada

La investigación fue de tipo aplicada, ya que, a través de la identificación del sustrato más apto para la producción de *Metarhizium sp.*, se buscó optimizar las condiciones de cultivo con el fin de obtener conidios viables. Este enfoque facilitó la implementación de procesos estandarizados de producción a nivel de laboratorio.

9.1.2 Investigación Descriptiva

Según el alcance de la investigación, el presente trabajo fue de tipo descriptivo, debido a que se registró y analizó el crecimiento micelial, el crecimiento esporular y la producción

de conidios de *Metarhizium* sp. en cada uno de los sustratos evaluados, proporcionando información detallada sobre su desempeño productivo y su comportamiento en condiciones controladas.

9.1.3 Investigación Cuantitativa

Según el enfoque metodológico, la investigación fue de carácter cuantitativo, debido a que se midió el crecimiento micelial y esporular de *Metarhizium* sp. en los diferentes sustratos. En la presente investigación también se integraron análisis estadísticos para comparar el crecimiento del hongo en cuatro sustratos diferentes y para determinar el mejor sustrato para su producción. Estos análisis estadísticos se realizaron en el software InfoStat, aplicando un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación de medias de Tukey al 5 % de significancia.

9.2 Método de investigación

9.2.1 Experimental

Esta investigación presenta un enfoque experimental, debido a que se realizó la manipulación de la variable independiente, representada por los diferentes sustratos agrícolas, con el objetivo de evaluar su efecto sobre el crecimiento micelial, el crecimiento esporular y la producción de conidios de *Metarhizium* sp. En la presente investigación se evaluaron cuatro tratamientos con seis repeticiones cada uno, bajo condiciones controladas, permitiendo obtener resultados confiables y reproducibles.

9.3 Ubicación de la investigación

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica de Cotopaxi campus Salache, está dentro del perímetro rural del cantón Latacunga, ubicada al suroeste de la cabecera cantonal, junto a la E35 en el km 7,53 vía Salache a 2,870 msnm. Su temperatura media es de 20°C.



9.4 Materiales y reactivos

9.4.1 Materiales

- Cajas Petri (50 unidades)
- Papel absorbente (3 rollo)
- Papel aluminio (4 rollos)
- Mechero (3 unidades)
- Jeringuilla de 10 ml (4 unidades)
- Agua destilada (50 litros)
- Guantes quirúrgicos (100 unidades)
- Papel film (30 metros)
- Puntas de micropipeta (100-200 μ L)
- Parafilm (1 rollo)
- Alcohol (70 - 96%)
- Tubos de ensayo
- Cámara de Neubauer
- Fundas de celofán (100 unidades)
- Papel kraff (10 pliegos)
- Cinta masking (2 rollos)
- Cofias (100 unidades)
- Mascarillas (100 unidades)
- Cinta scotch
- Regla 30cm
- Molino

- Tamices (1-3mm)
- Rotuladores adhesivos
- Sustratos 2 kg (trigo, morochillo, arroz, cebada)
- Baldes (4 unidades)
- Balanza digital
- Bandeja plástica de pesar (4 unidades)
- Pinzas (4 unidades)
- Fosforera
- Tijera
- Palillos (100 unidades)
- Bisturí (10 unidades)

9.4.2 Reactivos

- PDA
- Alcohol al 96% (10 litros)
- Agua destilada (5 litros)
- Etanol (70%-96%)

9.5 Equipos utilizados para realizar la investigación

- Autoclave (TUTTNAVER, 2540M)
- Incubadora (Binder BD56)
- Cámara de flujo laminar (BIOBASE, BBS-DDS / BBS-H1300)
- Microscopio (ZEISS Axiolab 5)
- Vórtex (VORTEXGENEIE2, SI-A236)
- Micropipetas (BOECO, M-200 y 100 μ L)
- Balanza (BOECO BLC600)
- Computadora (Lenovo PF5DRC6K)

9.6 Diseño experimental

Es la estructura metodológica mediante la cual el investigador planifica, organiza y controla las condiciones de un experimento, con el propósito de evaluar el efecto de una o más variables independientes sobre una variable dependiente, minimizando la

influencia de factores externos y permitiendo obtener resultados válidos y confiables (Montgomery, 2022).

9.7 Diseño completamente al azar

El diseño completamente al azar es una prueba basada en el análisis de varianza, en donde la varianza total se descompone en la “varianza de los tratamientos” y la “varianza del error”. El objetivo es determinar si existe una diferencia significativa entre los tratamientos, para lo cual se compara si la “varianza del tratamiento” contra la “varianza del error” y se determina si la primera es lo suficientemente alta según la distribución F. La distribución debe ser normal, los errores deben ser independientes, los efectos deben ser aditivos, los tratamientos se asignan aleatoriamente (Bosque, 2020).

9.8 Esquema de análisis de varianza

En la presente investigación se utilizó un diseño de bloques completamente al azar (DBCA), con cuatro tratamientos (sustratos) y seis repeticiones. Este modelo considera el campo experimental dividido en cuatro grupos de seis unidades experimentales (UE) cada uno.

Fuente de variación	Formula	Grados de libertad
Repeticiones	(R-1)	5
Tratamientos	(S-1)	3
Error	(S-1)(R-1)	15
Total		23

Cuadro 1. Grados de libertad

Elaborado por: Tello (2026)

9.8.1 Variables evaluadas

Crecimiento micelial y esporular del hongo *Metarhizium* en cm^2 .

9.9 ADEVA

Se aplicó la prueba de análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existen diferencias significativas entre las medias de los cuatro tratamientos, en caso de existir diferencias significativas, se aplicó la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 5%. El análisis estadístico se realizó en el software InfoStat.

9.10 Preparación del medio de cultivo

Se prepararon 100 mL de medio de PDA (Agar Papa Dextrosa) para calcular la cantidad de agar que se utilizará. Se aplicó la siguiente fórmula, tomando un volumen de 20 mL aproximadamente por caja Petri:

$$x = \frac{100 \text{ mL} * 39 \text{ g}}{1000 \text{ mL}} = 3.9 \text{ g}$$

Se pesaron 3,9 g de agar PDA y se añadieron 100 mL de agua destilada. Después se mezcló todo uniformemente y luego se llevó a autoclavar. Asimismo, se esterilizaron por 45 minutos pinzas, palillos y cajas Petri a una temperatura de 121 °C. Se retiraron los materiales del autoclave y se esperó a que se enfriaran. La cámara de flujo laminar fue limpiada y desinfectada con etanol al 70%, se colocaron todos los materiales en el interior de la misma y se encendió la luz UV por 15 minutos. Finalmente, se distribuyó el medio de cultivo en las cajas Petri y se dejó solidificar.

9.11 Reactivación y purificación de las cepas de *Metarhizium sp*

9.11.1 Resiembra de las cepas de *Metarhizium sp*

La cepa de *Metarhizium sp.* fue previamente aislada de una muestra de suelo obtenida del barrio Llano Largo, parroquia El Chaupi. Se realizaron varios pases del hongo en agar PDA hasta obtener una cepa pura.

Para la resiembra de *Metarhizium sp.*, se utilizó el protocolo de (Troya, s. f.), en donde se realizaron los siguientes pasos:

Se preparó la cámara de siembra y el mesón de trabajo. Se prepararon los materiales necesarios para realizar la siembra como vaso de precipitado con alcohol de 90 % (para la desinfección de herramientas), tapa de una caja Petri de vidrio para apoyar las herramientas (bisturí), caja Petri con medio de cultivo PDA. Todo material que se ingresó al área de trabajo fue desinfectado (rociado) con alcohol de 90%. Se ingresó también el material biológico a ser utilizado (cepa). Retiró el film de la caja de Petri que contiene la cepa y se flamearon los bordes de la caja Petri. Con ayuda de un bisturí (flameado y enfriado), se cortó un cuadrado pequeño 0.5 x 0.5 cm en el medio de cultivo que contenía la cepa *Metarhizium sp.* Se colocó el inóculo (cuadrado) obtenido, en la caja Petri con el medio PDA nuevo. Una vez realizada la siembra, se tapó la caja Petri, se flameó nuevamente el borde y se selló la caja con film. Finalmente se incubó a 28°C durante 5 días.

9.12 Preparación de *Metarhizium sp*

Se esterilizó mediante autoclave 50 mL de agua destilada. Posteriormente, se llevó el agua destilada a la cámara de flujo laminar y se esperó hasta que se enfríe. Se tomaron tres cajas Petri con cultivo de *Metarhizium sp.* y con la ayuda de un bisturí se raspó la superficie de cada una para obtener las conidias. Las conidias fueron transferidas al frasco con el agua destilada esterilizada, se agitó la suspensión vórtex, agitamos durante 15 minutos. Con la ayuda de una micropipeta se tomó 50 uL de la suspensión y se la colocó en la cámara de Neubauer para realizar el recuento de conidias.

9.13 Recuento de conidias

Para el recuento de conidias se empleó la metodología de (Patricia E. Vélez A, 1997), la cual utiliza la cámara de Neubauer o hemocitómetro. La cámara de Nebauer presenta 2 retículos y cada uno se subdivide en 9 cuadrados de 1mm^2 , o sea, cada retículo tiene una superficie total de 9mm^2 . El cuadrado central se encuentra subdividido en 25 cuadrantes y estos en 16 cuadrantes más pequeños.

Para el recuento de conidias se escogieron 5 de los 25 cuadrantes y se contó la cantidad total de conidias tomando como regla el recuento de las conidias que topen el filo izquierdo y el filo superior, aquellas conidias que tocaron el filo derecho y el filo inferior no fueron contadas.

El volumen total (V) en mm^3 de los 25 cuadrantes determinado por la siguiente fórmula:

$$\text{Volumen} = \text{largo} \times \text{ancho} \times \text{profundidad}$$

$$V = 1\text{mm} \times 1\text{mm} \times 0,1\text{mm} = 0,1\text{mm}^3$$

Para estimar la concentración de conidias por mililitro se utilizó la siguiente fórmula:

$$C = \frac{\sum \text{conidias}}{5 \text{ cuadrantes}} \times \frac{25 \text{ cuadrantes}}{1 \text{ cuadrado}} \times \frac{1 \text{ cuadrado}}{0,3 \text{ mm}^3} \times \frac{1000\text{mm}^3}{1\text{cm}^3} \times \frac{1\text{cm}^3}{1\text{mL}} \times FD$$

$$C = 3,695 \times 10^7 \frac{\text{Conidios}}{\text{mL}}$$

9.14 Selección y preparación de sustratos

Para la preparación de los sustratos, se siguieron las metodologías de (Cruz, 2019) (Gómez Ramírez Hilda, 2014), con ciertas modificaciones:

Se seleccionaron cuatro sustratos (trigo, morochillo, arroz y cebada). Se trituraron 2 kg de cada sustrato utilizando un molino manual. Se tamizaron los sustratos con tamices de 1-mm y 3-mm con el fin de conseguir partículas homogéneas. Cada sustrato fue lavado tres veces para remover el exceso de almidón y las impurezas que pudieran tener. Ya lavado

el sustrato, se dejó en remojo por una hora para mantener la humedad. Cuando se obtuvo el sustrato preparado, se pesaron 100 gramos de cada uno de los sustratos y se los en fundas de celofán de 12 cm x 18 cm. Se prepararon 6 fundas por cada sustrato y finalmente se las selló con cinta scotch. Las fundas se envolvieron con papel kraff y se las llevó a autoclavar por 45 minutos a 121 °C.

9.15 Inoculación del hongo en los sustratos

Finalizado el tiempo de esterilización, se colocaron los sustratos en la cámara de flujo laminar y se esperó hasta a que se enfríen. Con la ayuda de una jeringa de 10 mL se realizó un pequeño agujero en el centro de cada funda de cada sustrato, posteriormente con una micropipeta se inoculó 541,27 uL de la solución de conidias con el objetivo de inocular en cada funda una concentración inicial de conidias de 2×10^7 conidias/mL. Después de aplicar la solución que contiene las cepas de *Metarhizium*, se procedió a sellar el orificio del sustrato con cinta scotch. Se rotularon todos los tratamientos y sus repeticiones y finalmente se colocaron en una repisa permaneciendo inmóviles por 20 días.

9.16 Toma de datos

Los datos fueron tomados durante 20 días de estudio para lo cual se utilizó una cuadrícula dibujada en un acetato áreas por cuadrante de 1 cm^2 . La cuadrícula fue ubicada sobre cada funda de sustrato y se realizó el conteo del área micelial y esporular, tomando en cuenta que la principal característica para identificar un micelio es observar un color blanco y de apariencia algodonosa mientras que para la toma de datos de crecimiento esporular se verificó que el sustrato presenta una coloración verde olivo propia de las esporas del hongo *Metarhizium*.

10 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

10.1 Crecimiento micelial

10.1.1 Crecimiento Micelial a los 10 días post inoculación

Tabla 3. Análisis de la Varianza Crecimiento Micelial a los 10 días post inoculación

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
SUSTRATO	20976,83	3	6992,28	978,7	0,0001**
REPETICIÓN	32,5	5	6,5	0,91	0,5005 ns
Error	107,17	15	7,14		
Total	21116,5	23			

CV% 8.69

Elaborado por: Tello, (2026).

El análisis de varianza realizado para evaluar el crecimiento micelial a los 10 días post inoculación evidenció diferencias altamente significativas entre los sustratos evaluados. Ya que presentó un valor de $F = 978,7$ con un p -valor $< 0,0001$, lo que indica diferencias estadísticas altamente significativas ($\alpha = 0,05$). Esto demuestra que el tipo de sustrato influye de manera determinante en el crecimiento micelial. Rechazando así de esta manera la tesis nula anteriormente planteada.

Tabla 4. Prueba Tukey Crecimiento Micelial a los 10 días post inoculación

SUSTRATO	Medias	n	E.E.			
4	75	6	1,09	A		
2	39,83	6	1,09		B	
3	8,17	6	1,09			C
1	0	6	1,09			D

Elaborado por: Tello, (2026).

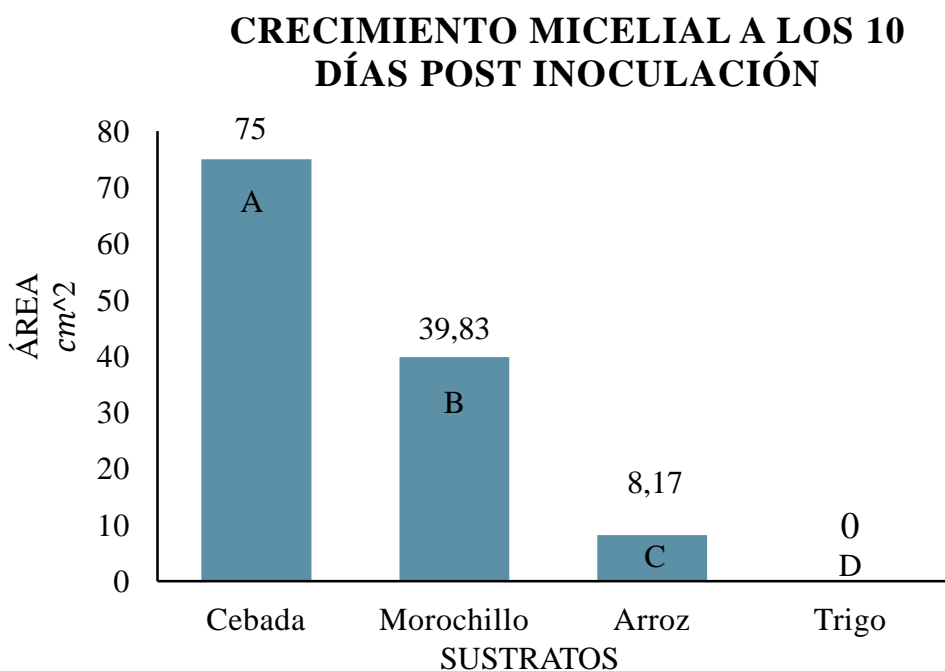


Gráfico 1. Prueba Tukey Crecimiento Micelial a los 10 días post inoculación

Elaborado por: Tello, (2026).

Las diferencias significativas atribuibles al sustrato pueden explicarse por variaciones en la relación carbono/nitrógeno, las propiedades físicas del medio, como la porosidad y la retención de humedad. Sustratos con una estructura adecuada favorecen la aireación y el

intercambio gaseoso, aspectos fundamentales para la colonización micelial y la formación de conidios viables en *Metarhizium* sp. (Gabriel Moura Mascarín, 2016).

La Cebada, con una media de 75 cm^2 , se ubicó en el grupo estadístico A, mostrando un rendimiento significativamente superior respecto a los demás tratamientos. Esta elevada respuesta productiva puede atribuirse a una mayor disponibilidad de nutrientes fácilmente asimilables, particularmente carbohidratos complejos y una relación carbono:nitrógeno favorable, condiciones que han sido ampliamente descritas como determinantes para la esporulación y el crecimiento micelial de *Metarhizium* sp. en sistemas de fermentación sólida (Francisco Hernández-Rosas, 2019). Diversos autores reportan que sustratos con alto contenido de almidón y adecuada estructura física favorecen la colonización homogénea del micelio y la formación de conidios viables (Nina E. Jenkins, 1998).

El Morochillo, con una media de $39,83 \text{ cm}^2$, conformó el grupo B, mostrando un rendimiento intermedio pero estadísticamente inferior a la cebada. Este comportamiento sugiere que, si bien el sustrato posee condiciones nutricionales aceptables para el desarrollo del hongo, estas no resultan óptimas para maximizar la producción. Estudios previos indican que deficiencias relativas de nitrógeno o limitaciones en la accesibilidad del carbono pueden reducir significativamente la tasa de esporulación en *Metarhizium*, aun cuando el crecimiento micelial sea adecuado (Carrillo-Rayas, 2009).

Por otra parte, el Arroz, con una media de $8,17 \text{ cm}^2$, se ubicó en el grupo C, evidenciando una producción considerablemente menor. Este bajo rendimiento podría estar asociado a una menor concentración de nutrientes esenciales o a características físicas desfavorables, como baja retención de humedad o compactación excesiva del sustrato, factores que limitan la aireación y el metabolismo fúngico.

Finalmente, el Trigo, con una media de 0, conformó el grupo D, reflejando la ausencia total de producción del hongo. Este resultado indica que dicho sustrato no proporciona las condiciones mínimas necesarias para el crecimiento o esporulación de *Metarhizium* sp., ya sea por deficiencias nutricionales severas, presencia de compuestos inhibidores o una estructura física incompatible con el desarrollo fúngico. Resultados similares han sido reportados cuando se emplean sustratos pobres en carbono disponible o con desequilibrios extremos en la relación carbono:nitrogeno, lo que conduce a la inhibición total del crecimiento del hongo (Faria, 2007); (Seguí, 2006).

10.1.2 Crecimiento Micelial a los 20 días post inoculación

Tabla 5. Análisis de la Varianza Crecimiento Micelial a los 20 días post inoculación

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
SUSTRATO	170,33	3	56,78	17,32	0,0001**
REPETICIÓN	18,5	5	3,7	1,13	0,3873 ns
Error	49,17	15	3,28		
Total	238	23			

CV% 40,23

Elaborado por: Tello, (2026).

El análisis de varianza evidenció que el factor SUSTRATO tuvo un efecto altamente significativo sobre el crecimiento micelial a los 20 días ($F = 17,32$; $p < 0,0001$). Dado que el valor de p es menor a 0,05, se rechaza la hipótesis nula de igualdad de medias entre tratamientos, lo que indica que el crecimiento micelial varió significativamente según el tipo de sustrato evaluado.

Tabla 6. Prueba Tukey Crecimiento Micelial a los 20 días post inoculación

SUSTRATO	Medias	n	E.E.	
4	6,83	6	0,74	A
2	6	6	0,74	A
3	5,17	6	0,74	A
1	0	6	0,74	B

Elaborado por. Tello, (2026)

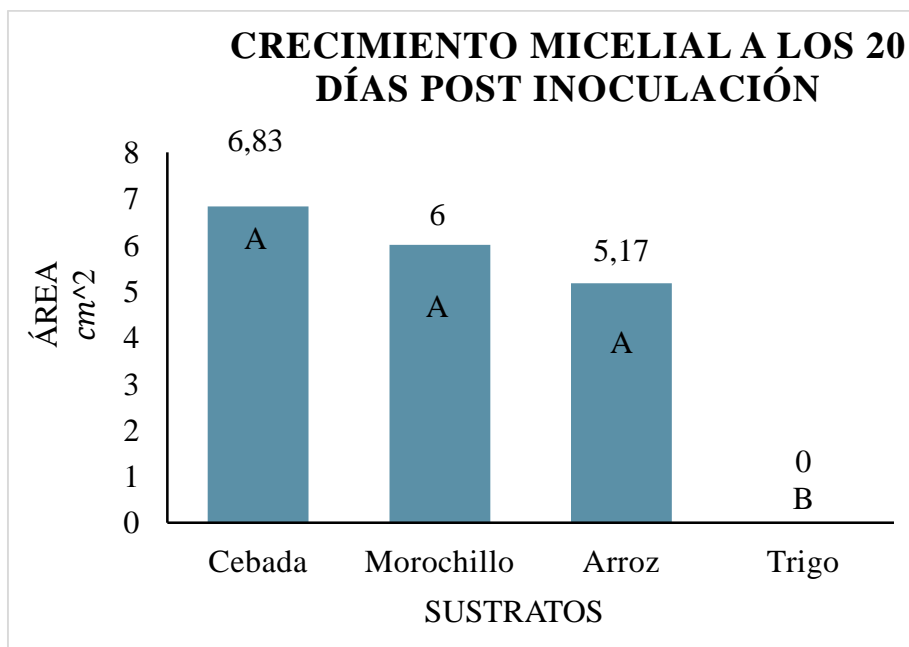


Gráfico 2. Prueba Tukey Crecimiento Micelial a los 20 días post inoculación

Elaborado por: Tello, (2026).

Desde el punto de vista biotecnológico, la similitud estadística entre los sustratos del grupo A sugiere que estos materiales poseen características nutricionales y físicas adecuadas para sostener el crecimiento micelial y la esporulación de *Metarhizium*. En sistemas de fermentación sólida, este género requiere fuentes disponibles de carbono (almidones y azúcares complejos), nitrógeno orgánico y una estructura física que permita adecuada aireación y retención de humedad (Gabriel Moura Mascarín, 2016). Cuando los sustratos presentan composiciones relativamente similares en estos componentes, es común observar rendimientos estadísticamente equivalentes, aun cuando existan diferencias numéricas en las medias.

El mayor valor promedio registrado en la cebada podría estar asociado a una relación carbono/nitrógeno más favorable o a mejores propiedades estructurales (porosidad, tamaño de partícula, capacidad de retención hídrica). Estos factores influyen directamente en la tasa de colonización micelial y en la diferenciación conidial, procesos fisiológicos clave en la producción masiva de hongos entomopatógenos (Jackson, 2010).

Por otro lado, el comportamiento del Trigo sugiere condiciones inadecuadas para el crecimiento del hongo, relacionadas con baja disponibilidad de nutrientes, presencia de compuestos inhibidores o características físicas desfavorables como compactación excesiva o baja porosidad. Según (Jaronski, 2014), la estructura del sustrato influye directamente en la oxigenación y en la distribución del micelio, factores críticos para la esporulación eficiente en hongos entomopatógenos.

10.2 Crecimiento esporular

10.2.1 Crecimiento Esporular a los 10 días post inoculación

Tabla 7. *Análisis de la Varianza Crecimiento Esporular a los 10 días post inoculación*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
SUSTRATO	12538,13	3	4179,38	2063,89	0,0001**
REPETICIÓN	10,13	5	2,03	1	0,4509 ns
Error	30,38	15	2,03		
Total	12578,63	23			

CV% 6,58

Elaborado por: Tello, (2026).

El análisis de varianza mostró que el factor SUSTRATO tuvo un efecto altamente significativo sobre el crecimiento esporular a los 10 días post inoculación ($F = 2063,89$; $p < 0,0001$). Dado que el p-valor es menor a 0,05, lo que indica que existen diferencias altamente significativas en la producción de esporas entre los sustratos evaluados. El

elevado valor de F evidencia que la variabilidad explicada por el tratamiento es considerablemente mayor que la variabilidad experimental.

Tabla 8. Prueba Tukey Crecimiento Esporular a los 10 días post inoculación

SUSTRATO	Medias	n	E.E.			
4	57	6	0,58	A		
2	26,5	6	0,58		B	
3	3	6	0,58			C
1	0	6	0,58			D

Elaborado por: Tello, (2026)

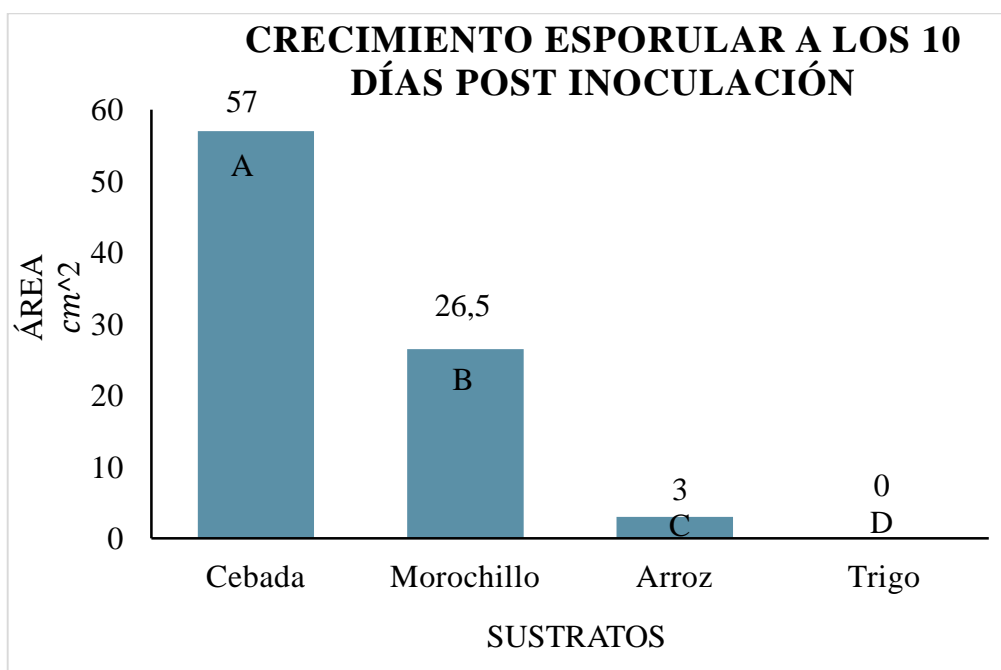


Gráfico 3. Prueba Tukey Crecimiento Esporular a los 10 días post inoculación

Elaborado por: Tello, (2026).

La Cebada, con una media de 57 cm^2 , se ubicó en el grupo estadístico A, mostrando un desempeño productivo significativamente superior al resto de los tratamientos. Este resultado sugiere que dicho sustrato ofrece condiciones nutricionales y físicas óptimas para el crecimiento micelial y la esporulación de *Metarhizium sp.* Estudios previos han demostrado que sustratos con elevado contenido de carbohidratos disponibles y una adecuada relación carbono:nitrógeno favorecen la síntesis de biomasa y la producción de conidios viables en hongos entomopatógenos (Francisco Hernández-Rosas, 2019).

El Morochillo, con una media de $26,5 \text{ cm}^2$, integró el grupo B, presentando un rendimiento intermedio, pero significativamente inferior a la cebada. Este comportamiento indica que, si bien el sustrato permite el desarrollo del hongo, sus características nutricionales o físicas no son óptimas para maximizar la producción.

Resultados similares han sido reportados por (Carrillo-Rayas, 2009), quienes señalan que mayor contenido lipídico, lo que puede afectar la estabilidad del sustrato y la oxigenación, dificulta la colonización homogénea del micelio

El Arroz, con una media de 3 cm^2 , se ubicó en el grupo C, evidenciando una producción muy reducida. Este bajo rendimiento podría atribuirse a deficiencias nutricionales marcadas, baja disponibilidad de carbono asimilable o condiciones físicas desfavorables, como compactación excesiva o escasa retención de humedad, factores que restringen la actividad metabólica de *Metarhizium sp.* (Nina E. Jenkins, 1998).

Finalmente, el Trigo, con una media de 0, conformó el grupo D, reflejando la ausencia total de producción. Este resultado indica que el sustrato no proporcionó las condiciones mínimas necesarias para el crecimiento o la esporulación del hongo, lo cual puede deberse a una composición nutricional inadecuada, una relación C:N desfavorable o incluso la presencia de compuestos inhibidores. (Faria, 2007) Señalan que sustratos pobres en carbono disponible o con desequilibrios extremos en nutrientes pueden inhibir completamente el desarrollo de hongos entomopatógenos.

10.2.2 Crecimiento Esporular a los 20 días post inoculación

Tabla 9. Análisis de la Varianza Crecimiento Esporular a los 20 días post inoculación

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
SUSTRATO	70210,65	3	23403,55	1819,62	0,0001**
REPETICIÓN	22,24	5	4,45	0,35	0,877 ns
Error	192,93	15	12,86		
Total	70425,82	23			

CV% 5,98

Elaborado por: Tello, (2026).

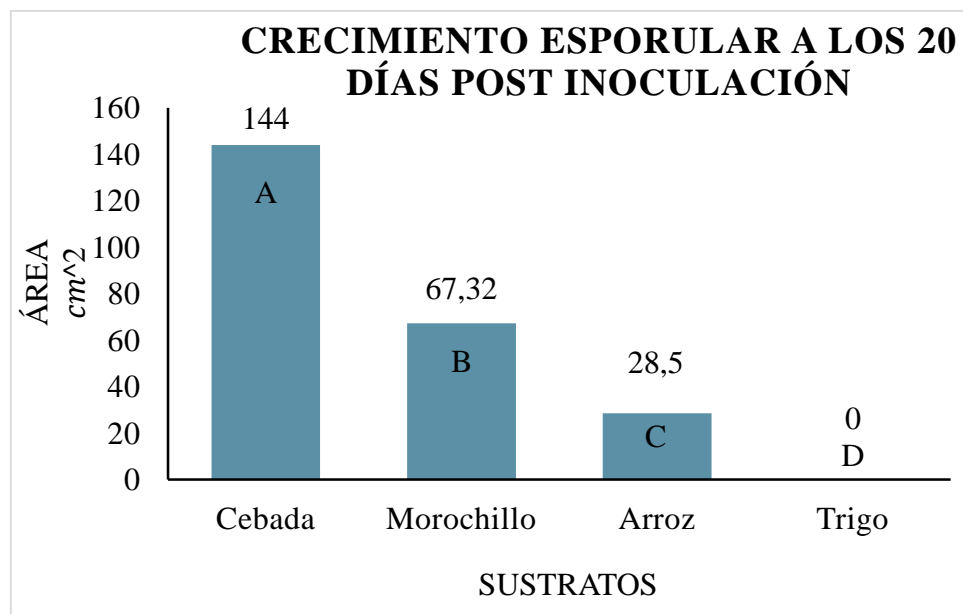
El análisis de varianza indica que el modelo general fue altamente significativo ($F = 682,58$; $p < 0,0001$), lo que demuestra que los factores incluidos explican una proporción considerable de la variabilidad observada en el crecimiento esporular.

De manera específica, el factor SUSTRATO presentó un efecto altamente significativo ($F = 1819,62$; $p < 0,0001$), evidenciando diferencias estadísticas muy marcadas en la producción de esporas entre los tratamientos evaluados. El elevado valor de F indica que la variabilidad atribuible a los sustratos es ampliamente superior a la variabilidad experimental, confirmando que el tipo de sustrato es un factor determinante en la esporulación a los 20 días.

Tabla 10. Prueba Tukey Crecimiento Esporular a los 20 días post inoculación

SUSTRATO	Medias	n	E.E.	
4	144	6	1,46	A
2	67,32	6	1,46	B
3	28,5	6	1,46	C
1	0	6	1,46	D

Elaborado por. Tello, (2026)

**Gráfico 4.** Prueba Tukey Crecimiento Esporular a los 20 días post inoculación

Elaborado por: Tello, (2026).

La Cebada, con una media de 144 cm^2 , se ubicó en el grupo estadístico A, mostrando un rendimiento significativamente superior respecto a los demás tratamientos. Este comportamiento sugiere que dicho sustrato proporcionó condiciones físicas altamente favorables para el crecimiento micelial y la esporulación de *Metarhizium sp.* Investigaciones previas han demostrado que sustratos con alto contenido de carbohidratos disponibles, adecuada proporción de almidón y una relación carbono:nitrógeno equilibrada promueven una mayor producción de conidios en hongos entomopatógenos, particularmente en sistemas de fermentación sólida (Francisco Hernández-Rosas, 2019). El Morochillo, con una media de $67,32 \text{ cm}^2$, conformó el grupo B, evidenciando un rendimiento intermedio, pero estadísticamente inferior a la cebada. Este resultado indica que, aunque el sustrato fue capaz de sostener el desarrollo de *Metarhizium sp.*, sus características estructurales no fueron óptimas para maximizar la producción. (Carrillo-Rayas, 2009) Señalan que limitaciones parciales en la disponibilidad de nitrógeno o en la

accesibilidad del carbono pueden reducir significativamente la esporulación, aun cuando el crecimiento micelial no se vea completamente inhibido.

El Arroz, con una media de $28,5 \text{ cm}^2$, se ubicó en el grupo C, reflejando una producción considerablemente menor. Este bajo rendimiento podría asociarse a condiciones físicas desfavorables, como menor porosidad o retención de humedad, factores que afectan negativamente el metabolismo fúngico y la formación de conidios en *Metarhizium sp.* (Nina E. Jenkins, 1998).

Finalmente, el Trigo, con una media de 0, se agrupó en el grupo D, indicando la ausencia total de producción del hongo. Este resultado sugiere que dicho sustrato no proporcionó las condiciones mínimas necesarias para el crecimiento o esporulación de *Metarhizium sp.*, una relación C:N desfavorable o la presencia de compuestos inhibidores. Destacan que sustratos pobres en carbono disponible o con desequilibrios extremos en nutrientes pueden inhibir completamente el desarrollo de hongos entomopatógenos. Además, cuando el trigo se hidrata, puede compactarse con mayor facilidad y reduce la aireación. (Faria, 2007)

11 IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)

Los efectos producidos en los sectores sociales, ambientales y económicos son los siguientes:

11.1 Efecto social

El desarrollo de esta investigación contribuye a la formación académica y científica de los estudiantes de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Cotopaxi, fortaleciendo sus competencias en biotecnología agrícola y manejo sostenible de plagas. Asimismo, los resultados generados podrán ser transferidos a proyectos de vinculación con la comunidad, beneficiando indirectamente a productores agrícolas mediante el acceso a alternativas de control biológico más seguras y eficientes.

11.2 Efecto ambiental

El uso de *Metarhizium sp.* como biocontrolador reduce la aplicación de pesticidas químicos, disminuyendo la contaminación ambiental y preservando la biodiversidad de los agroecosistemas. La implementación de sustratos eficientes para su producción favorece el desarrollo de insumos biológicos compatibles con la agricultura sostenible y la conservación de los recursos naturales.

11.3 Efecto económico

La identificación de sustratos agrícolas de bajo costo y alta eficiencia productiva permite reducir los costos asociados a la producción de biocontroladores fúngicos, incrementando su viabilidad económica y facilitando su adopción por pequeños y medianos productores. Esto contribuye a mejorar la rentabilidad de los sistemas agrícolas y a disminuir la dependencia de insumos químicos importados.

12 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

12.1 Conclusiones

- El análisis del crecimiento de *Metarhizium sp.* en los cuatro sustratos evaluados (trigo, morochillo, arroz y cebada) demostró que el tipo de sustrato influye significativamente en el desarrollo micelial y esporular del hongo bajo condiciones controladas de laboratorio. Los resultados del ANOVA y la prueba Tukey ($\alpha=0,05$) confirmaron diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0,0001$) entre tratamientos, evidenciando que la composición nutricional y las propiedades físicas de los sustratos determinan el rendimiento productivo del microorganismo.
- De los cuatro sustratos evaluados, la cebada presentó el mejor desempeño en términos de crecimiento micelial y producción de esporas, ubicándose en el grupo estadístico superior en las evaluaciones realizadas a los 10 y 20 días. En consecuencia, se determina que la cebada es el sustrato más adecuado para la producción de *Metarhizium sp.* a nivel de laboratorio.

12.2 Recomendaciones

- Se recomienda profundizar en la evaluación del crecimiento de *Metarhizium sp.* incorporando variables complementarias como viabilidad, porcentaje de germinación y concentración de conidias (conidias/mL), así como el control de factores ambientales (humedad, temperatura y aireación), con el fin de optimizar las condiciones de producción y obtener protocolos estandarizados para laboratorio.
- Se sugiere utilizar la cebada como sustrato base para futuros ensayos de producción y realizar estudios de escalamiento a nivel semi-comercial, incluyendo análisis de costos y pruebas de eficacia biológica en campo, para validar su

potencial como alternativa viable en la producción masiva de *Metarhizium sp.* y fortalecer su aplicación en programas de manejo integrado de plagas en la región.

13 BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez María del Mar, B. L. (2017). Aislamiento de Microorganismos en diferentes ambientes (Suelo, Agua y Aire). *Unilibre* , 11.
- AT, C. (2021). Production of conidia using different culture media modifies the virulence of the . *National Library of Medicine* , 346-351.
- Augusto Schrank, M. H. (2010). *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *ELSEVIER*, 8.
- Bosque, D. J. (2020). Diseño completamente al azar. *Alma Terra Mater*, 7.
- Carrillo-Rayas, M. T.-L. (2009). Potencial y Algunos de los Mecanismos de Acción de los Hongos Entomopatógenos para el Control de Insectos Plaga. *Acta Universitaria*, 50.
- Carvalho, F. P. (2017). Pesticidas, medio ambiente y seguridad . *Food and Energy Security*, 13.
- Clemencia Oderay Merino Peñafiel, O. R. (2016). Evaluation on nutritional supplements for solid substrates mass production. *Instituto de Investigacion RIIGEO*, 8.
- Dominique Arrouays, R. B. (2015). Status of the Worlds Soil Resources. *FAO*, 28.
- Eder Santiago Gutiérrez Jasso, M. A. (2024). Efecto de la delección de potenciales factores de virulencia en el ciclo de vida de *Metarhizium*. *Verano de la Ciencia XXIX*, 10.
- Emily Mesquita, S. H. (2023). Utilization of *Metarhizium* as an insect biocontrol agent and a plant bioinoculant with special reference to Brazil. *Frontiers in Fungal Biology Fungi-Plant Interactions*, 10.
- FAO. (2025). Pesticides use and trade. 1990–2023. *FAO*, 13.
- Faria, M. &. (2007). Mycoinsecticides and mycoacaricides. *A comprehensive list Biological Control.* , 237_256.

- Francisco Hernández-Rosas, L. A. (2019). Análisis de las investigaciones sobre *Metarhizium anisopliae* en los últimos 40 años. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12.
- Gabriel Moura Mascarín, S. T. (2016). The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World journal of microbiology & biotechnology*, 177.
- Gómez Ramírez Hilda, Z. G. (2014). MANUAL DE PRODUCCIÓN Y USO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS. *SENASA*, 37.
- Irma García Cruz, E. M. (2019). Producción y conservación de conidios del aislado Ma-005 de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. *Revista Centro Agrícola*, 8 .
- Jackson, M. A. (2010). Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens. . *BioControl*, 129-145.
- Jaronski, S. T. (2014). Mass production of entomopathogenic fungi. *Current Opinion in Insect Science* 3, 63-69.
- Kelwatkar NM, K. M. (2018). Identification and evaluation of economic. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6.
- LA Lacey, D. G.-I. (2015). Patógenos de insectos como agentes de control biológico: Regreso al futuro. *Revista de patología de invertebrados*, 41.
- Lucas Portilho da Cunha, F. P. (2020). *Metarhizium anisopliae* conidia production in packed-bed bioreactor using rice as substrate in successive cultivations. *Process Biochemistry*, 104-111.
- Méndez-González, F., Loera-Corral, O., Saucedo-Castañeda, G., & Favela Torres, E. (2020). La aireación forzada promueve una alta producción y productividad de conidios infecciosos de *Metarhizium robertsii* en la fermentación en estado sólido. *Revista de Ingeniería Bioquímica*, 15.
- Montgomery, D. &. (2022). *Design and Analysis of Experiments*. EEUU: John Wiley & Sons, Inc.
- Nina E. Jenkins, G. H. (1998). Development of mass production technology. *BiocontrolNews and Information*, 12.
- Patricia E. Vélez A, F. J. (1997). *Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos* . Colombia: Cenicafé.

- Paulina Arevalo, P. O. (26 de Abril de 2024). *Investigacion sobre agroquimicos y su afeccion en la salud*. Obtenido de UTPL: <https://noticias.utpl.edu.ec/investigacion-sobre-agroquimicos-y-su-afectacion-en-la-salud>
- Pimentel, D. (2009). Environmental and Economic Costs. *Springer Science+Business Media* , 23.
- Publica, M. d. (2025). EFTX INTOXICACION POR PLAGUICIDAS . *MINISTERIO DE SALUD PUBLICA* , 4.
- Regional, D. N. (2025). Tecnologías para la Industria Alimentaria – Fermentación en. *Alimentos argentinos* , 20.
- Rocheli Wachholz, N. G. (2025). *Metarhikium anisopliae*. *Cultivar*, 3.
- Seguí, E. M. (2006). Fitosanitarios a base de microorganismos. *Dianlet*, 42.
- Agale, S. V., Gopalakrishnan, S., Ambhure, K. G., Chandravanshi, H., Gupta, R., & Wani, S. P. (2018). Mass Production of Entomopathogenic Fungi (*Metarhizium anisopliae*) using Different Grains as a Substrate. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(1), 2227-2232. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.701.268>
- Alomari, D. Z., Schierenbeck, M., Alqudah, A. M., Alqahtani, M. D., Wagner, S., Rolletschek, H., Borisjuk, L., & Röder, M. S. (2023). Wheat Grains as a Sustainable Source of Protein for Health. *Nutrients*, 15(20), 4398. <https://doi.org/10.3390/nu15204398>
- Aw, K. M. S., & Hue, S. M. (2017). Mode of Infection of *Metarhizium* spp. Fungus and Their Potential as Biological Control Agents. *Journal of Fungi*, 3(2), 30. <https://doi.org/10.3390/jof3020030>
- Baik, B.-K., & Ullrich, S. E. (2008). Barley for food: Characteristics, improvement, and renewed interest. *Journal of Cereal Science*, 48(2), 233-242. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.02.002>
- Bunyatratchata, A., Chumroenphat, T., Taesuk, N., & Siriamornpun, S. (2025). Nutritional composition and bioactive profiles of green rice and its milling

- fractions: Potential ingredients for functional food development. *LWT*, 236, 118661. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.118661>
- Ciftci, B., Varol, I. S., Kaymaz, E., Saylak, S., & Kaplan, M. (2025). Assessment of Biochemical Composition, Mineral Content, and Fatty Acid Profile in Maize (*Zea mays*) Cultivars Under Water Stress and Excessive Water Using Biplot Analysis. *Foods*, 14(8), 1432. <https://doi.org/10.3390/foods14081432>
- Cruz, I. G. (2019). *Producción y conservación de conidios del aislado Ma-005 de Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorokin*.
- da Cunha, L. P., Casciatori, F. P., Vicente, I. V., Garcia, R. L., & Thoméo, J. C. (2020). *Producción de conidios de Metarhizium anisopliae en un biorreactor de lecho empacado utilizando arroz como sustrato en cultivos sucesivos*. *Process Biochemistry*, 97, 104-111. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.07.002>
- Gutiérrez, M. E. M., Cárdenas, Y. G., & Lequerque, A. (2016). *El género Metarhizium Sorokin y su aplicación en el control de insectos plagas / Metarhizium Sorokin genus and the microbial control of pests insects*. 5.
- Higa, T. (s. f.). *MICROORGANISMOS BENÉFICOS Y EFECTIVOS PARA UNA AGRICULTURA Y MEDIO AMBIENTE SOSTENIBLE*.
- Ocampos, C. J. G., Fuente, A. L. O., & Bonzon, A. D. S. (s. f.). *EFICIENCIA DE SUSTRATOS SOBRE LA ESPORULACIÓN DE HONGOS*.
- Pereira, P. G., & Mora, J. M. (2004). *GUIA PARA LA PRODUCCIÓN DE Metarhizium anisopliae*.
- Sorathiya, K., Kalariya, S., & Patel, L. (s. f.). *Metarhizium anisopliae as an Entomopathogenic fungi: Optimization of mass production with diverse grain substrates*.
- St. Leger, R. J., & Wang, J. B. (2020). *Metarhizium: Jack of all trades, master of many*. *Open Biology*, 10(12), 200307. <https://doi.org/10.1098/rsob.200307>
- Troya, I. C. (s. f.). *COOPERACIÓN ENTRE LOS PLANTSPHERE LABORATORIES Y LOS LABORATORIOS ARTESANALES IMPLEMENTADOS POR EL MAGAP EN 13 PROVINCIAS DEL ECUADOR*.

Viera-Arroyo, W. F. (2020). *Rol de los microorganismos benéficos en la Agricultura Sustentable.*