



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

**Título:**

---

**“EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE *Beauveria bassiana* AISLADO DEL ESTIERCÓL DE CONEJO PARA CONTROL DE GUSANO BLANCO DE LA PAPA (*Premnotrypes vorax*), EN CONDICIONES DE LABORATORIO CAMPUS SALACHE 2021-2022”**

---

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

**Autora:**

Imbaquingo Cachipundo Paulina Mishell

**Tutor:**

Chancusig Espín Edwin Marcelo Ing. Ph.D.

**LATACUNGA-ECUADOR**

**Marzo 2022**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

**Paulina Mishell Imbaquingo Cachipueno**, con cedula de ciudadanía **172767221-2**, declaro ser la autora del presente proyecto de investigación: **“EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE *Beauveria bassiana*, AISLADO DEL ESTIERCÓL DE CONEJO PARA CONTROL DE GUSANO BLANCO DE LA PAPA (*Premnotrypes vorax*), EN CONDICIONES DE LABORATORIO CAMPUS SALACHE 2021-2022”**, siendo el Ingeniero Ph.D. Edwin Marcelo Chancusig Espín. tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

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

Latacunga, 21 de marzo del 2022

**Imbaquingo Cachipueno Paulina Mishell**

Estudiante

CC: 172767221-2

**Ing. Ph. D. Edwin Marcelo Chancusig**

Docente Tutor

CC: 050114883-7

## **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 **IMBAQUINGO CACHIPUENDO PAULINA MISHHELL**, identificada con el número de ciudadanía **172767221-2**, de estado civil soltera y con domicilio en Latacunga, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Ingeniero Ph.D. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

**ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA.** - **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de **Ingeniería Agronómica**, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Evaluación de la eficiencia de *Beauveria bassiana*, aislado de estiércol de conejo para control del gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*), en condiciones de laboratorio campus Salache 2021-2022”, La cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad según las características que a continuación se detallan:

### **Historial académico:**

Inicio de la carrera: Abril 2017 - Agosto 2017

Finalización de la carrera: Octubre 2021 – Marzo 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 7 de enero del 2022

Tutor: Ing. Ph.D. Edwin Marcelo Chancusig Espín

Tema: **“EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE *Beauveria bassiana*, AISLADO DEL ESTIÉRCOL DE CONEJO PARA CONTROL DE GUSANO BLANCO DE LA PAPA (*Premnotrypes vorax*), EN CONDICIONES DE LABORATORIO CAMPUS SALACHE 2021-2022”.**

**CLÁUSULA SEGUNDA.** - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando

profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

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

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

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- f) 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, 21 de marzo del 2022.

Imbaquingo Cachipueno Paulina Mishell

Ing. Ph.D. Cristian Tinajero Jiménez

**LA CEDENTE**

**LA CESIONARIA**

## **AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

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

**“EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE *Beauveria bassiana*, AISLADO DEL ESTIÉRCOL DE CONEJO PARA CONTROL DE GUSANO BLANCO DE LA PAPA (*Premnotrypes vorax*), EN CONDICIONES DE LABORATORIO CAMPUS SALACHE 2021-2022”**, de Imbaquingo Cachipuendo Paulina Mishell, de la carrera de Ingeniería Agronómica, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 10 de marzo del 2022

Ing. Ph.D. Edwin Macelo Chancusig Espín

**DOCENTE TUTOR**

CC: 050114883-7

## **AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, el postulante: Imbaquingo Cachipundo Paulina Mishell, con el título del Proyecto de Investigación: “**EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE *Beauveria bassiana*, AISLADO DEL ESTIÉRCOL DE CONEJO PARA CONTROL DE GUSANO BLANCO DE LA PAPA (*Premnotrypes vorax*), EN CONDICIONES DE LABORATORIO CAMPUS SALACHE 2021-2022**”, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

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

Latacunga, 10 de marzo del 2022

Lector 1 (Presidente)  
Ing. Mg. Diana Toapanta Gallegos  
CC: 100274980-0

Lector 2  
Ing. Mg. Richard Alcides Molina  
CC: 120597462-7

Lector 3  
Ing. Mg. Jorge Fabian Troya  
CC: 050164556-8

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por darme esta gran bendición, a mi familia de manera especial a mis padres por brindarme su comprensión, paciencia, apoyo incondicional y, sobre todo, por la confianza que depositaron en mí, a mi mascota Aslan por la dulcura que me ha brindado.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi y Facultad CAREN por brindarme la oportunidad de formarme académicamente.

A mi tutor el Ing. Edwin Chancusig por su contribución, dedicación, paciencia a lo largo del presente trabajo.

A la Ing. Tannya Llanos por apoyo quien con su conocimiento científico supo guiarme durante toda la fase de laboratorio de mi proyecto de investigación.

A mi persona mágica, por sus palabras y mucho más por su cariño.

**Paulina Mishell Imbaquingo Cachipundo**

## **DEDICATORIA**

A Dios y la virgen María, por cuidarme y guiarme en cada paso que he dado.

A mis padres Rosa Cachipueno y Nelson Imbaquingo por su esfuerzo y sacrificio diario por creer en mí siempre dándome ejemplo de superación, humildad; enseñándome a valorar todo lo que tengo y mucho más por darme la oportunidad de cumplir este sueño tan anhelado, por su amor incondicional en todo momento es que ha contribuido a este logro, por lo que este trabajo de investigación se los dedicó a ustedes.

**Paulina**

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

**TÍTULO:** “Evaluación de la eficiencia de *Beauveria bassiana*, aislado de estiércol de conejo para control del gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*), en condiciones de laboratorio Salache 2021-2022.”

**AUTORA:** Imbaquingo Cachipundo Paulina Mishell

**RESUMEN**

La presente investigación evaluó la eficiencia de *Beauveria bassiana*, aislado del estiércol de conejo para control de gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*), en condiciones de laboratorio. Se obtuvo *Beauveria bassiana* utilizando estiércol de conejo como sustrato, también se determinó la mejor concentración para la aplicación de *Beauveria bassiana* para el control del gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*), posteriormente se determinó el mejor tipo de aplicación para el control de gusano blanco de la papa, y finalmente se identificó la presencia de *Beauveria bassiana* en individuos muertos. La investigación consto de algunas fases: la primera se basó, en recolectar del estiércol de conejo hongos entomopatógenos, consecutivamente se realizó el aislamiento, re-aislamiento, la identificación para determinar el género y especie del hongo y la multiplicación del hongo aislado; la segunda fase radicó en la elaboración de la solución madre de *Beauveria bassiana* y el conteo de conidios para determinar las concentraciones; y la última fase consistió en la aplicación de la solución de *Beauveria bassiana* en los bioensayos planteados en el diseño experimental. En la parte experimental se aplicó un diseño experimental DBCA (Diseño de bloques completamente al azar) con un arreglo factorial de AxB+1 con 7 tratamientos incluyendo el testigo, cinco repeticiones, en donde el factor A corresponde a concentración de conidios ( $10^4$ ,  $10^6$ ,  $10^8$ ) el factor B corresponde a tipos de aplicación (aspersión, inmersión), la variable en estudio fue el porcentaje de mortalidad. Para los resultados se utilizó el programa InfoStat y tras obtener el ADEVA con resultados estadísticamente significativos, se aplicó la prueba de Tukey al 5% para la obtención de los diferentes rangos de significancia. En donde se determinó que El T6 (concentración  $10^8$  x aspersión) promovió el mayor número de larvas muertas a lo largo de la investigación con un promedio de 96 % seguido del T5 (concentración  $10^8$  x inmersión) con un promedio de 82% en comparación con el testigo (T7) en el que no se evidenció insectos muertos.

**Palabras claves:** Concentración, *Beauveria bassiana*, efectividad, aplicación, mortalidad.

# TECHINICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI

## FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

**TITLE:** “Efficiency evaluation of *Beauveria bassiana*, isolated from rabbit manure for andean potato weevil control (*Premnotrypes vorax*), in laboratory conditions Salache campus 2021-2022.”

**Author:** Imbaquingo Cachipueno Paulina Mishell

### ABSTRACT

This research study evaluated the efficiency of *Beauveria bassiana*, isolated from rabbit manure to control the Andean potato weevil (*Premnotrypes vorax*), in laboratory conditions. *Beauveria bassiana* was obtained using rabbit manure as substrate, the best concentration for the application of *Beauveria bassiana* for Andean potato weevil control (*Premnotrypes vorax*) was also determined. The best type of application for the control of Andean potato weevil was then determined, and finally, the presence of *Beauveria bassiana* in dead individuals was identified. The research study consisted of some phases: the first was based on collecting entomopathogenic fungi from rabbit manure. Isolation, re-isolation, identification to determine the genus and species of the fungus, and the multiplication of the isolated fungus were carried out consecutively. The second phase consisted of the preparation of the stock solution of *Beauveria bassiana* and the counting of conidia to determine the concentrations, and the last phase consisted of the application of the *Beauveria bassiana* solution in the bioassays proposed in the experimental design. In the experimental part, a DBCA experimental design (Completely Random Block Design) was applied with a factorial arrangement of  $A \times B + 1$  with 7 treatments including the control, five replications, where factor A corresponds to conidia concentration (10<sup>4</sup>, 10<sup>6</sup>, 10<sup>8</sup>) and factor B corresponds to types of application (spraying, immersion), the variable under study was the percentage of mortality. For the results, the InfoStat program was used and after obtaining the ADEVA with statistically significant results, the Tukey test at 5% was applied to obtain the different ranges of significance. It was determined that T6 (concentration 10<sup>8</sup> x spray) promoted the highest number of dead larvae throughout the research with an average of 96% followed by T5 (concentration 10<sup>8</sup> x immersion) with an average of 82% compared to the control (T7) in which no dead insects were observed.

**Keywords:** Concentration, *Beauveria bassiana*, effectiveness, application, mortality.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....	vi
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....	vii
AGRADECIMIENTO.....	viii
DEDICATORIA.....	ix
RESUMEN.....	x
CAPITULO I.....	21
1. INFORMACIÓN GENERAL.....	21
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO .....	23
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO .....	24
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	25
4.1. Beneficiarios Directos .....	25
4.2. Beneficiarios Indirectos .....	25
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	26
5.1. Formulación del problema .....	27
6. Objetivos .....	27
6.1. Objetivo general.....	27
6.2. Objetivos Específicos .....	27
7. ACTIVIDADES Y SISTEMAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS .....	28
CAPITULO II.....	31
8. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA .....	31
8.1. Eficacia.....	31
8.2. Gusano blanco ( <i>Premnotrypes vorax.</i> ) .....	31
8.3. Importancia económica .....	31
8.4. Taxonomía de la plaga.....	31

8.5.	Ciclo de vida del gusano blanco .....	32
8.5.1.	Huevos .....	32
8.5.2.	Larva .....	33
8.5.3.	Prepupa .....	33
8.5.4.	Pupa .....	33
8.5.5.	Adulto .....	33
8.6.	Hábitos y daños .....	33
8.7.	Manejo integrado de <i>Premnotrypes vorax</i> .....	34
8.8.	Métodos culturales .....	34
8.8.1.	Preparación del suelo .....	34
8.8.2.	Fechas de siembra .....	34
8.8.3.	Cosecha .....	34
8.8.4.	Rotación de cultivos .....	34
8.8.5.	Métodos mecánicos.....	35
8.8.6.	Trampas.....	35
8.8.7.	Plantas cebo .....	35
8.9.	Control biológico .....	35
8.10.	Hongos entomopatógenos .....	36
8.11.	Etapas de infección de hongos entomopatógenos .....	36
8.12.	Factores que influyen en el desarrollo .....	37
8.13.	Antecedentes .....	37
8.14.	Clasificación taxonómica .....	37
8.15.	Características Morfológicas .....	38
8.16.	Modo de acción .....	38
8.17.	PAPA ( <i>Solanum tuberosum</i> ).....	39
8.17.1.	Taxonomía y morfología .....	39
8.18.	Cosecha .....	39

8.19. Rendimiento .....	39
CAPITULO III .....	40
9. HIPÓTESIS .....	40
9.1. Hipótesis Nula = H0.....	40
9.2. Hipótesis Alternativa = H1 .....	40
10. METODOLOGIA Y DISEÑO EXPERIMENTAL .....	40
10.1. Localización del ensayo .....	40
10.1.1. Ubicación geográfica del ensayo .....	40
10.2. Tipo de investigación. ....	41
10.2.1. Experimental .....	41
10.2.2. Cualitativa.....	41
10.3. Modalidad básica de investigación.....	41
10.3.1. De Campo .....	41
10.3.2. De laboratorio.....	41
10.3.3. Bibliográfica.....	41
10.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos.....	41
10.4.1. Observación de Campo .....	41
10.4.2. Registro De datos.....	42
10.4.3. Análisis estadístico .....	42
10.5. MATERIALES Y EQUIPOS .....	42
10.5.1. Material biológico:.....	42
10.5.2. Materiales de campo .....	42
10.5.3. Materiales de oficina .....	42
10.5.4. Materiales de laboratorio.....	43
10.5.5. Insumos y reactivos.....	44
10.5.6. Equipos .....	44
10.6. Diseño Experimental.....	44

10.6.1. Unidad Experimental .....	44
10.7. Factores de estudio .....	45
10.8.1. Distribución del ensayo.....	46
10.9. ADEVA.....	46
10.10. Operacionalización de variables.....	47
10.11. Manejo específico del experimento.....	47
10.11.1. Fase de campo: .....	47
10.11.1.1. Fase de recolección de muestras.....	47
10.11.1.2. Fase de recolección de larvas de gusano blanco de la papa.....	48
10.11.2 Fase de laboratorio .....	49
10.11.2.1. Preparación medio de cultivo.....	49
10.11.2.2. Método de aislamiento: .....	50
10.11.2.3. Método de identificación: .....	51
10.11.2.4. Método de re- aislamiento: .....	51
10.11.2.5. Método de multiplicación: .....	53
10.11.2.6. Método para conteo de UFC (Unidad formadora de colonias) .....	53
10.11.2.7. Determinación de la concentración de conidios (cuantificación en la cámara Neubauer) 54	
10.11.2.8. Método elaboración de la solución madre.....	55
10.12. Implementación del diseño experimental.....	56
10.12.1. Desinfección de las larvas .....	56
10.12.2. Desinfección de los sustratos .....	57
10.12.3. Rotulación de las bandejas plásticas.....	57
10.12.4. Acondicionamiento del gusano blanco de la papa.....	57
10.13. Aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> .....	58
10.13.1. Método de aplicación por aspersión .....	58
10.13.2. Método de aplicación por inmersión .....	58

10.14. Datos a evaluar .....	59
10.14.1. Mortalidad de larvas.....	59
10.15. Análisis estadístico.....	59
10.16. Fórmula de Poison .....	59
CAPÍTULO IV .....	60
11. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	60
CAPITULO V.....	75
12. CONCLUSIONES.....	75
13. RECOMENDACIONES.....	75
14. PRESUPUESTO .....	76
15. BIBLIOGRAFÍA.....	79
16. ANEXOS.....	84

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos. ....	28
<b>Tabla 2:</b> Taxonomía del gusano blanco.....	31
<b>Tabla 3:</b> Condiciones de crecimiento de <i>Beauveria bassiana</i> .....	37
<b>Tabla 4:</b> Taxonomía de <i>Beauveria bassiana</i> .....	37
<b>Tabla 5:</b> Tratamientos, códigos, descripción. ....	45
<b>Tabla 6:</b> Diseño de Bloques Completamente al azar.....	46
<b>Tabla 7:</b> Esquema del ADEVA .....	46
<b>Tabla 8:</b> Definición de variables e indicadores.....	47
<b>Tabla 9:</b> Datos geográficos de recolección de muestras de heces de conejo.....	48
<b>Tabla 10:</b> Datos geográficos de colección de gorgojo de los Andes. ....	49

## INDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1:</b> Ciclo fenológico del gusano blanco de la papa ( <i>Premnotrypes vorax</i> ) .....	32
<b>Gráfico 2:</b> Croquis de ubicación del proyecto. ....	40
<b>Gráfico 3:</b> Ubicación geográfica de lugar de recolecta de las muestras.....	47
<b>Gráfico 4:</b> Ubicación geográfica de lugar de recolecta de las muestras.....	48
<b>Gráfico 5:</b> Interacción de factores.....	62
<b>Gráfico 6:</b> Contrastes de testigo vs tratamientos.....	64
<b>Gráfico 7:</b> Prueba de Tukey al 5% para el Factor A (Concentración de conidios) .....	66
<b>Gráfico 8:</b> Prueba de Tukey al 5% para el Factor B (Tipos de aplicación).....	68
<b>Gráfico 9:</b> Prueba de Tukey al 5% para el Factor A*B (concentración de conidios x tipos de aplicación) .....	69
<b>Gráfico 10:</b> Porcentaje semanal de Mortalidad de larvas. ....	70
<b>Gráfico 11:</b> Porcentaje semanal de Mortalidad de larvas aplicada la fórmula de Poison....	71
<b>Gráfico 12:</b> Total del porcentaje de mortalidad. ....	72

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1:</b> Análisis de la Varianza para la variable mortalidad .....	63
<b>Cuadro 2:</b> Contrastes Ortogonales.....	63
<b>Cuadro 3:</b> Contraste del Factor A.....	64
<b>Cuadro 4:</b> Contraste del Factor B.....	65
<b>Cuadro 5:</b> Contraste Factor A * B.....	65
<b>Cuadro 6:</b> Prueba de Tukey al 5% para el Factor A (concentración de conidios).....	66
<b>Cuadro 7:</b> Prueba de Tukey al 5% para el Factor B (tipos de aplicación). ....	67
<b>Cuadro 8:</b> Prueba de Tukey al 5% para el Factor A+B (concentración de conidios x tipos de aplicación). ....	68

## INDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1:</b> Resultado del análisis taxonómico. ....	84
<b>Anexo 2:</b> Recolección y separación de estiércol de conejo con más presencia de micelios.	85
<b>Anexo 3:</b> Medio de cultivo para el aislamiento del hongo <i>Beauveria bassiana</i> en el laboratorio. .....	86
<b>Anexo 4:</b> <i>Beauveria bassiana</i> aislada después de 15 días.....	87
<b>Anexo 5:</b> Identificación del hongo <i>Beauveria bassiana</i> en el laboratorio con la ayuda del microscopio. ....	87
<b>Anexo 6:</b> Esterilización de herramientas para cultivos monospóricos en el laboratorio. ....	87
<b>Anexo 7:</b> Realizar los cultivos monospóricos en la cámara laminar.....	88
<b>Anexo 8:</b> Cosecha de micelios en el microscopio. ....	88
<b>Anexo 9:</b> Medios de cultivo para siembra de <i>Beauveria bassiana</i> en el laboratorio.....	89
<b>Anexo 10:</b> Purificación de <i>Beauveria bassiana</i> en el laboratorio.....	89
<b>Anexo 11:</b> Multiplicación del hongo <i>Beauveria bassiana</i> .....	90
<b>Anexo 12:</b> Elaboración de la solución madre de <i>Beauveria bassiana</i> para aplicación. ....	90
<b>Anexo 13:</b> Conteo de conidios para la determinación de la concentración a usar en el ensayo. .....	90
<b>Anexo 14:</b> Implementación del ensayo experimental. ....	91
<b>Anexo 15:</b> Implementación de unidades experimental. ....	92
<b>Anexo 16:</b> Aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> en las unidades experimentales. ....	92
<b>Anexo 17:</b> Registro de la mortalidad de gusano blanco de la papa ( <i>Premnotrypes vorax</i> ). 93	
<b>Anexo 18:</b> Mortalidad de larvas de gusano blanco de la papa ( <i>Premnotrypes vorax</i> ). ....	93
<b>Anexo 19:</b> Insectos muertos infestados de <i>Beauveria bassiana</i> .....	94
<b>Anexo 20:</b> Protocolo de producción de <i>Beauveria bassiana</i> .....	94

## CAPITULO I

### 1. INFORMACIÓN GENERAL

**Título:**

“EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE *Beauveria bassiana*, AISLADO DEL ESTIERCÓL DE CONEJO PARA CONTROL DE GUSANO BLANCO DE LA PAPA (*Premnotrypes vorax*), EN CONDICIONES DE LABORATORIO CAMPUS SALACHE 2021-2022”

**Fecha de inicio:**

Noviembre del 2021.

**Fecha de finalización:**

Febrero del 2022.

**Lugar de ejecución:**

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

**Facultad que auspicia**

Facultad De Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

**Carrera que auspicia:**

Ingeniería Agronómica.

**Proyecto de investigación vinculado:**

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

**Proyecto:****Equipo de Trabajo:**

Tutor: Ing. Ph.D. Edwin Chancusig

Autor: Paulina Mishell Imbaquingo Cachipuendo

Lector 1: Ing. Diana Elizabeth Gallegos Toapanta

CC. 100274980-0

Lector 2: Ing. Richard Alcides Molina Álvarez

CC. 120597462-7

Lector 3: Ing. Troya Sarzosa Jorge Fabián

CC. 050164556-8

**Coordinador del Proyecto:**

Nombre: Paulina Mishell Imbaquingo Cachipundo

Teléfonos: 0979213324

Correo electrónico: [paulina.imbaquingo2212@utc.edu.ec](mailto:paulina.imbaquingo2212@utc.edu.ec)

**Área de Conocimiento:**

Agricultura - Agricultura, silvicultura y pesca - producción agropecuaria

**Línea de investigación:**

Análisis, conservación y aprovechamiento de la biodiversidad local

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

**Sub líneas de investigación de la Carrera:**

Caracterización de la biodiversidad

**Línea de vinculación**

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

## 2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

La Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad “Técnica de Cotopaxi” es el lugar propicio en el cual se realizó la presente investigación con relación a la Evaluación de la eficiencia de *Beauveria bassiana*, aislado del estiércol de conejo para control del gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*), en condiciones de laboratorio campus Salache 2021-2022; con la razón de comprender los beneficios de este hongo entomopatógenos *Beauveria bassiana* en el control de plagas que afectan gravemente al sector económico de los agricultores en este caso refiriéndose el estudio a productores del cultivo de papa.

El hongo *Beauveria bassiana* crece de forma natural en los suelos, actúa como insecticida biológico que controla un gran número de plagas, estos se desarrollan bien en lugares frescos, húmedos y con poco sol, atacando el hongo con la enfermedad muscardina que la empieza a cubrir por una capa de color blanquecino-amarillento con aspecto de algodón a la plaga.

Además, *Beauveria bassiana* al ser un hongo entomopatógenos no causa daño a los cultivos, suelo, no es tóxico en seres humanos u animales, por lo que algunos productores han venido trabajando como una alternativa para el control de plagas, además de evitar la contaminación al medio ambiente y la salud a los agricultores que son los más afectados por daños a su salud y gastos económicos muy altos por la compra de productos químicos para controlar las plagas que afectan a sus cultivos.

En la investigación se identificó de las heces de conejo el hongo *Beauveria bassiana* para controlar al gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*) con el fin de determinar la eficacia del hongo sobre la plaga. El fin de este proyecto es determinar si el hongo *Beauveria bassiana* es eficiente en el control del gusano blanco (*Premnotrypes vorax*) en localidades donde las condiciones sean favorables para la plaga.

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología de la carrera de Agronomía con un diseño de bloques completos al azar con cinco repeticiones en donde la variable a evaluar fue la mortalidad.

### 3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

La papa es uno de los cultivos con alto nivel de consumo y de mayor producción en el Ecuador y a nivel mundial, la producción global es de aproximadamente 341 millones de toneladas en una superficie de 20 millones de hectáreas, entre los países más productores se encuentra China y produce entre 66y 71 millones de toneladas otros productores grandes son Rusia, La India, Polonia, EEUU, Ucrania, Alemania, entre otros. (YARA, 2022)

En Ecuador, la producción nacional de papa en el año 2020 fue de 408313 ton, con una superficie cosechada de 24882 ha y un rendimiento promedio de 14 t ha<sup>-1</sup>.(Memorias, 2021) La mayor producción de papa seda en las provincias de Carchi, Chimborazo y Tungurahua con una superficie cosechada de 56.7% del total de la superficie y en producción la provincia de Carchi es la de mayor participación con un 46% de la producción.(Memorias, 2021)

En Cotopaxi cuenta con 5 mil hectáreas dedicadas a la producción de papa, así como en varios sectores de la provincia de Latacunga, la papa es afectada por plagas que reducen la producción y afectan la calidad del producto.(Yesserie, 2015)

El gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*) es considerado, plaga de mayor importancia en este cultivo, debido a que ocasiona daño en el tubérculo disminuyendo su calidad. (INIAP, 1997)

Conscientes de esta realidad varios centros de investigación, han mostrado la necesidad de optar por nuevas estrategias para manejar las plagas como el control biológico del insecto mediante el uso del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* el cual representa una alternativa ecológica sostenible para el control de gusano blanco. (*Iniapsc365.Pdf*, n.d.)

La utilización de los hongos entomopatógenos en la agricultura ha ido en aumento en los últimos años debido al gran potencial que tienen en el manejo de plagas, representando una alternativa eficiente al uso de insecticidas químicos, considerados altamente nocivos para la salud del hombre y los ecosistemas. (*Iniapsc365.Pdf*, n.d.)

Este estudio de investigación plantea una alternativa de control que permite reducir el uso excesivo de insecticidas para obtener tubérculos sanos, partiendo del asilamiento del hongo *Beauveria bassiana* en muestras de heces de conejo, y comprobar su efectividad en el control del gusano blanco de la papa.

#### **4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

Los beneficiarios de este proyecto de investigación serán todas las personas que se encuentren interesados en el tema de investigación.

**41. Beneficiarios Directos** En el ámbito académico y bibliográfico a la Universidad de Cotopaxi, a los estudiantes de la Carrera de Ingeniería Agronómica quienes realizan continuamente su trabajo practico dentro del proyecto institucional, investigadores que podrán basarse en la información obtenida para su posterior investigación así mismo se beneficiarán los productores agrícolas del sector Salache.

**42. Beneficiarios Indirectos** Sirve de información referencial para instituciones públicas como privadas que desarrollan sus actividades en el ámbito de biocontroladores, puesto que la investigación está siendo de interés para proyectos posteriores de ejecución, productores agrícolas, agricultores.

## 5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se estima que, de la producción mundial, las plagas de los cultivos causan 30% de pérdidas antes de la cosecha y 10% en post cosecha, insectos, hongos, bacterias y otros organismos se consideran responsables de este daño.(Estado, 2019)

El 100% de los agricultores mencionan que el gusano blanco de la papa es la principal plaga que afecta al cultivo de papa durante todos los años, señalan que, el precio del producto puede disminuir hasta en un 50% si los daños se encuentran entre el 10 y 30%; porcentajes mayores de daño impiden la comercialización del producto, como control, los agricultores defolían el cultivo antes que éste alcance su madurez normal, estimándose una reducción de rendimiento de 10 a 40%.(Peñal & Bolaños, 2014)

En la Región de la Sierra del Ecuador el daño causado por el daño del gusano blanco (*Premnotrypes vorax*) al mismo cultivo es de 87.2%, de acuerdo al INIAP, Ecuador en Cañar, Carchi, Chimborazo y Cotopaxi, las pérdidas comerciales de tubérculo oscilan entre el 20 y 50%.(Devaux et al., 2011)

Las pérdidas en rendimiento ocasionadas por las larvas del gusano blanco oscilan entre 5 y 50% dependiendo del nivel de población y del manejo del cultivo, cuando el ataque de esta plaga es severo puede ocasionar la pérdida total. (Croplife, 2012)

Actualmente, la papa es el cultivo en el que se aplica la mayor cantidad de pesticidas en el mundo. El CIP estima que anualmente los agricultores gastan más de 300 millones de dólares en pesticidas para proteger este cultivo.(Peñal & Bolaños, 2014)Por lo que los agricultores optan por el control químico debido a limitaciones en conocimiento de estrategias biológicas que se pueden usar para el control, como son los microorganismos entomopatógenos que se encuentran en el mismo ambiente, además de la deficiencia en conocimiento sobre la fisiología y comportamiento del insecto lo que conduce a resultados poco satisfactorios, al momento de aplicar los químicos provocando la adquisición de más productos que no solo afectan la salud de los agricultores sino que también afecta la composición física, química y biológica de los suelos; dando como consecuencia la pérdida de nutrientes en el suelo causado por la erosión que provoca, así como también el uso desmedido de estos productos provoca la resistencia en la plaga o a su vez el surgimiento de nuevas plagas al tratar de eliminar otras.

En consideración del trabajo expuesto se evaluó el control del gusano blanco de la papa mediante el uso del hongo *Beauveria bassiana*, como una alternativa eficaz y económica para el beneficio del sector productivo y el ecosistema en general; se recurrió a los aislamientos de hongos entomopatógenos regionales en este caso de las heces de conejo.

### **5.1. Formulación del problema**

¿Es posible controlar al gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*) mediante la presencia de hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana*?

## **6. Objetivos**

### **6.1. Objetivo general**

Evaluar la eficiencia de *Beauveria bassiana*, aislado de estiércol de conejo para control del gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*).

### **6.2. Objetivos Específicos**

- Obtener *Beauveria bassiana* utilizando estiércol de conejo como sustrato.
- Determinar el mejor tipo de aplicación para el control de gusano blanco de la papa.
- Determinar la mejor concentración para la aplicación de *Beauveria bassiana* en el control del gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*).
- Identificar la presencia de *Beauveria bassiana* en individuos muertos.

## 7. ACTIVIDADES Y SISTEMAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS

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

OBEJTIVO	ACTIVIDAD	RESULTADO	MEDIO DE VERIFICACION
1.- Obtener <i>Beauveria bassiana</i> de estiércol de conejo.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Recolección de estiércol de conejo.</li> </ul>	Acopio de muestras de estiércol de conejo.	Fotografías. Muestras.
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Cultivo de microorganismos identificados en las muestras de estiércol de conejo.</li> </ul>	Manifestación de estructuras de <i>Beauveria bassiana</i> y otros microorganismos.	Fotografías.
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aislamiento e identificación de <i>Beauveria bassiana</i> en el laboratorio de Agronomía.</li> </ul>	Vista morfológica macroscópica y microscópica de hongo <i>Beauveria bassiana</i> .  Aislado de <i>Beauveria bassiana</i> puro libre de contaminación.	Fotografías. Cajas Petri con <i>Beauveria bassiana</i> .

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Multiplicación y adecuación en la incubadora para la proliferación de <i>Beauveria bassiana</i>.</li> </ul>	Cajas con el hongo entomopatógenos <i>Beauveria bassiana</i> .	Fotografías.
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Elaboración de cultivos monospóricos partiendo de las cajas aisladas de <i>Beauveria bassiana</i>.</li> </ul>	Aislado puro de <i>Beauveria bassiana</i> .	Fotografías. Cajas Petri con cepas puras de <i>Beauveria bassiana</i> .
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Realización del examen taxonómico de <i>Beauveria Bassiana</i>.</li> </ul>	Documentación de resultados que respaldan el género y especie del hongo aislado.	Copia del examen de laboratorio.
2.- Determinar la mejor concentración para la aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> para el control del gusano blanco de la papa ( <i>Premnotrypes vorax</i> ).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Implementación de diseño experimental en el laboratorio de Agronomía.</li> </ul>	Unidades experimentales por tratamientos.	Fotografías.
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Práctica en laboratorio de Conteo UFC (Unidades Formadoras de Colonias) de <i>Beauveria bassiana</i>.</li> </ul>	Número de cajas Petri exactas de <i>Beauveria bassiana</i> haciendo referencia la concentración de conidios requeridas para	Fotografías.

		realizar la solución madre.	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Realizar la solución madre de <i>Beauveria bassiana</i>.</li> </ul>	Soluciones de concentraciones de conidios ( $10^4$ , $10^6$ , $10^8$ ).	Fotografías. Libro de campo.
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aplicación de la solución madre sobre los bioensayos implementados.</li> </ul>	Capacidad de control de la solución madre de <i>Beauveria bassiana</i> sobre la plaga.	Fotografías. Libro de campo.
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Registro de datos cada 8 días después de la aplicación de <i>Beauveria bassiana</i>.</li> </ul>	Datos registrados para análisis, interpretación y discusión de los resultados.	Libreta de datos. Libro de Excel.
3.- Identificar la presencia de <i>Beauveria bassiana</i> en individuos muertos.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Recolección de larvas muertas infestadas de <i>Beauveria bassiana</i>.</li> </ul>	Medios de cultivos con larvas infestadas de <i>Beauveria bassiana</i> .	Fotografías. Cajas Petri con <i>Beauveria bassiana</i> .
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Identificación de <i>Beauveria Bassiana</i> en larvas muertas.</li> </ul>	Vista microscópica de <i>Beauveria bassiana</i> .	Fotografías.

**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

## CAPITULO II

### 8. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

#### 8.1.Eficacia

Capacidad de lograr el efecto que se desea o se espera. Capacidad de una organización para lograr los objetivos, incluyendo la eficiencia y factores del entorno.(Rojas et al., 2018)

#### 8.2. Gusano blanco (*Premnotrypes vorax*.)

El gusano blanco de la papa es un insecto coleóptero, cuyo nombre científico es *Premnotrypes vorax*; y se le asigna algunos nombres como “el gorgojo de los andes” “cusca” o “cucarrón de la papa”. (Herrera, 1997)

#### 8.3.Importancia económica

Señala (Calvache, 1991) se considera al gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*) como una de las plagas más importantes del cultivo de papa causando daños al follaje, el insecto se alimenta de las hojas y de malezas, pero el daño más severo es ocasionado por las larvas las cuales atacan al tubérculo reduciendo el valor comercial de la cosecha además que su presencia en los campos de papa provoca altas pérdidas económicas entre 30 % a 42% en precio a la venta del cultivo; cuando el ataque de esta plaga es severo puede ocasionar pérdidas entre 20 % y 50 % e incluso la pérdida total del cultivo.

Para reducir los niveles de daño, los productores utilizan altas dosis de insecticidas que contribuyen a la contaminación del medio ambiente, del suelo de las aguas y del ecosistema en general.

#### 8.4. Taxonomía de la plaga

Da a conocer la taxonomía del insecto:

**Tabla 2:** Taxonomía del gusano blanco.

<b>Orden:</b>	Coleóptera
<b>Suborden:</b>	Polyphaga

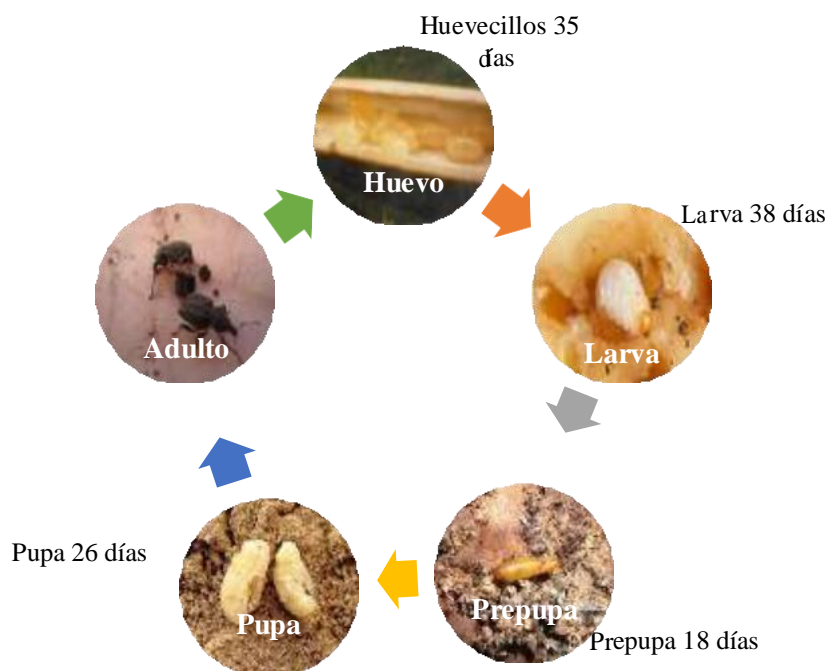
<b>Superfamilia:</b>	Curculionoidea
<b>Familia:</b>	Curculionidae
<b>Género:</b>	<i>Premnotrypes</i>
<b>Especie:</b>	<i>vorax</i>

**Fuente:**(Guapi, 2012)

### 8.5. Ciclo de vida del gusano blanco

Menciona (Gallegos et al., 1997) la duración de cada estado a una temperatura promedio de 16 °C se muestra en el gráfico, pero puede cambiar en las localidades más frías, este tiempo puede aumentar.

**Gráfico 1:** Ciclo fenológico del gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*).



**Fuente:**(*Iniapsc365.Pdf*, n.d.)

#### 8.5.1. Huevos

Los huevos son cilíndricos, ovalados, miden entre 1,12 y 1,25 mm de longitud, de coloración blanca que se torna amarillenta y se encuentran recubiertos por una sustancia blanda, eclosionan en 20 y 30 días.(*Iniapsc365.Pdf*, n.d.)

### 8.5.2. Larva

La larva es de color blanco cremoso y presenta la cabeza diferenciada, tiene forma de “C” y carece de patas, pero posee movimiento, presenta entre 5 a 6 instares larvales, el primero mide 1,12 mm de longitud y el ultimo entre 11 y 13 mm de longitud en este estadio el daño que ocasiona la larva deja inservibles los tubérculos tanto para alimentación como para semilla.(*Iniapsc365.Pdf*, n.d.)

### 8.5.3. Prepupa

Las larvas entran en estado de pre pupa, en el cual no son capaces de producir daño alguno, preparan una celda de tierra para pasar al estado de pupa, permaneciendo en este estado por 20 días, aproximadamente.(*Iniapsc365.Pdf*, n.d.)

### 8.5.4. Pupa

Las pupas son de color blanco y se desarrollan en una celda formada de tierra; en este estado viven 20 a 32 días, en esta etapa corren el riesgo de ser parasitados por el hongo *Beauveria bassiana*, debido a que el insecto pasa por un periodo de melanización (mecanismo de defensa de los insectos frente a organismos invasores), en el cual cambia de un color amarillento a pardo oscuro.(*Iniapsc365.Pdf*, n.d.)

### 8.5.5. Adulto

El adulto es un insecto de aproximadamente 7 mm de largo y 4 mm de ancho, de color gris y se camufla fácilmente en el suelo siendo difícil de detectar, no pueden volar porque sus alas anteriores están soldadas entre sí, y las posteriores son atrofiadas, sin embargo, son muy hábiles para caminar. La hembra es más grande que el macho de aspecto redondeado con una línea amarilla.(*Iniapsc365.Pdf*, n.d.)

## 8.6. Hábitos y daños

Describe (Gallegos et al., 1997) “ El hábito del insecto adulto indica que prefiere movilizarse en la noche en busca de fuentes de alimento, busca refugio en sitios oscuros y húmedos, especialmente bajo terrones y plantas, no puede volar y su desplazamiento es a nivel del suelo puede recorrer 12m en una noche, y se dice que hasta 1 km en 6 meses.”

La hembra es un poco más grande que el macho, luego de ser fecundada por el macho, pone sus huevecillos a partir de la primera semana de vida como adulto libre, y deposita cada 3 a 5

días entre 13 y 21 huevos y alcanza a poner un total de 260 huevecillos entre los 90 y 165 días de edad, el adulto puede llegar a sobre- vivir 280 días.(Gallegos et al., 1997)

En una población de gusano blanco, la proporción de sexos es aproximadamente 1 macho por cada 1,4 hembras, se caracteriza por multiplicarse muy rápido y por consiguiente causan grave daño forman túneles en el tubérculo en los que depositan sus excrementos, dejando agujeros cuando abandonan el tubérculo.(Gallegos et al., 1997)

### **8.7. Manejo integrado de *Premnotrypes vorax***

Plantea (Peñal & Bolaños, 2014) que el mejor control del gusano blanco se basa en la aplicación secuencial de un conjunto de medidas de manera que cada una de ellas contribuya a una mayor sanidad de los tubérculos.

### **8.8. Métodos culturales**

Refleja la manipulación de factores ambientales, basado en el conocimiento de la plaga y su relación con el cultivo ofreciendo alternativas de manejo ecológico.(Peñal & Bolaños, 2014)

#### **8.8.1. Preparación del suelo**

Al laborear el suelo se exponen a las larvas al sol, y a animales u pájaros que pueden comérselas, los insectos adultos que se encuentran en el interior del suelo quedan libres y pueden ser eliminados mediante trampas y plantas cebo.(*Iniapsc365.Pdf*, n.d.)

#### **8.8.2. Fechas de siembra**

Es recomendable retrasar la fecha de siembra con relación a la preparación del suelo y eliminar a los insectos adultos antes de la siembra, ya que el insecto ha adaptado su ciclo de vida a las diferentes etapas del cultivo, la eliminación de las plantas deja sin alimento a las larvas, entonces disminuye su población.(*Iniapsc365.Pdf*, n.d.)

#### **8.8.3. Cosecha**

El agricultor debe evitar dejar papas sin cosechar en el terreno, pues éstas servirían de alimento al gusano.(*Iniapsc365.Pdf*, n.d.)

#### **8.8.4. Rotación de cultivos**

Se considera un método altamente efectivo para evitar daños serios de la plaga, por el incremento de su población, y se recomienda que la rotación incluya cultivos por un tiempo de 3 años o más, ejemplo, haba, pasto, cereales por lo tanto se logra reducir los daños en un 30%.(*Iniapsc365.Pdf*, n.d.)

La aplicación de esta práctica permite romper su ciclo biológico y por lo tanto reduce su población; al cambiar de cultivo el gusano no tiene de qué alimentarse y puede morir, el deshierbe es otra actividad recomendada ya que eliminará otras plantas, conocidas como las plantas hospederas, donde se esconde el adulto.(*Iniapsc365.Pdf*, n.d.)

#### **8.8.5. Métodos mecánicos**

El agricultor puede usar varias formas de matar directamente a la plaga, como recoger manualmente en las primeras horas de la mañana adultos de gusano blanco de las trampas.(*Iniapsc365.Pdf*, n.d.)

#### **8.8.6. Trampas**

La trampa para el adulto de gusano blanco se realiza durante el día debido que atrae al insecto, consiste en sembrar 20 días antes 2 o 3 surcos alrededor del cultivo principal, estos surcos actúan como barrera se hace dos aplicaciones de carbofuran la primera en la germinación del cultivo y la segunda antes del aporque dirigiendo a la base de la planta ahorrando el 90% de su costo además de disminuir el impacto en contaminación.(*Iniapsc365.Pdf*, n.d.)

#### **8.8.7. Plantas cebo**

Plantas trasplantadas traídas de otra parcela sembradas con un mes de anticipación a la siembra definitiva del cultivo de papa un buen momento para el trasplante es después de la segunda cruzada, los adultos de gusano blanco salen en busca de comida por la noche, esta trampa consiste en atraer a los adultos para alimentarse de ellas.(Valencia, 2016)

Después del trasplante aplicamos los mismos productos y dosis indicados en la trampa; debemos repetir la aplicación del insecticida al follaje cada 15 o 20 días hasta la emergencia del cultivo.(Valencia, 2016)

### **8.9. Control biológico**

Este método se refiere a la reducción de la plaga mediante enemigos naturales que la destruyen o enferman, ocasionando su muerte, ejemplo hongos, bacterias o virus entre ellos se encuentra el hongo blanco (*Beauveria sp.*) y el hongo verde (*Metarhizium sp.*) y los hongos constituyen una de las enfermedades más importantes que afectan a los catzos de gusano blanco.(Rivera & Pinto, 2001)

El éxito de un programa de control integrado de plagas se basa en un conocimiento completo de la plaga, por ejemplo: dónde se reproduce, cómo se alimenta y crece, cómo se dispersa y las diversas formas de vivir.(Bastidas et al., 2005)

A partir de este conocimiento se desarrollan técnicas de control para aprovechar los puntos débiles del comportamiento y del ciclo de vida del insecto. Los conocimientos que se adquieran

deben ayudar a controlar las plagas y, a la vez, proteger el medio ambiente mediante el uso de varias prácticas eficaces, económicamente aceptables y seguras. (Bastidas et al., 2005)

### **8.10. Hongos entomopatógenos**

Hasta el momento se han descrito más de 750 especies de hongos entomopatógenos, dentro de los más utilizados se encuentran *Metarhizium anisopliae* (33.9%), *Beauveria bassiana* (33.9%) y *Beauveria brongniartii* (4.1%), el hongo se desarrolla en el insecto está dividido en tres fases: adhesión y germinación de la espóra en la cutícula del insecto, penetración en el hemocele y desarrollo del hongo, que generalmente resulta en la muerte del insecto. (Jurado, Cruz, Mercado, Asaff, & Cuenca, 2009)

La infección natural comienza cuando el insecto entra en contacto con el hongo al transitar por sustratos que este ha colonizado, como en el caso del suelo, el agua o las partes aéreas de las plantas. De esta manera, las unidades infectivas (conidios) se adhieren a la superficie de la cutícula del insecto, a través de fuerzas hidrófobas, debido a la presencia de proteínas ricas en cisteínas llamadas hidrofobinas. (Espinel et al., 2018)

### **8.11. Etapas de infección de hongos entomopatógenos**

No es fácil determinar con precisión los mecanismos que intervienen en las interacciones entre los hongos entomopatógenos y los insectos, en general la mayoría de los hongos de plantas y vertebrados infectan al hospedante a través de la cutícula. El contacto entre la unidad infectiva del entomopatógenos y el insecto es indispensable para el inicio del proceso infeccioso.

Menciona (Espinel et al., 2018) que el proceso de infección de un hongo entomopatógenos, puede explicarse de la siguiente manera:

1. Un conidio se adhiere a la cutícula del insecto, germina y forma la estructura de infección: el apresorio.
2. Se produce la combinación de la acción enzimática que degrada la cutícula, la cual se rompe debido a la presión osmótica, mediada por la generación de altas concentraciones de glicerol, producto del hidrólisis causada por las gotas de lípidos translocadas del conidio germinado.
3. En el hemocele, los cuerpos hifales producen blastosporas para colonizar el hospedero y aprovechar sus nutrientes, secretan proteínas efectoras y metabolitos secundarios para evadir la respuesta inmune, por lo que se contrarrestan los receptores del hospedero (proteínas de resistencia), y producen toxinas.
4. Debido a estas estrategias, el insecto muere, el hongo termina de colonizarlo, las hifas emergen del insecto y forman las células conidiógenas.

5. Dependiendo de las condiciones, estas últimas producen la esporulación sobre el hospedero.

### 8.12. Factores que influyen en el desarrollo

**Tabla 3:** Condiciones de crecimiento de *Beauveria bassiana*.

<b>Factor</b>	<b>Descripción</b>
<b>pH</b>	Entre 5.7 y 5.9
<b>Temperatura</b>	Óptima entre 25 y 28°C; límites entre 8 y 35°C.
<b>Humedad</b>	Óptima al 94%; límites entre 34y 100% según la temperatura.
<b>Necesidad nutricional</b>	Fuentes de nitrógeno como la peptona y fuentes de energía como sacarosa, glucosa, almidón, pectina.

*Fuente:*(De Ingeniería et al., n.d.)

### 8.13. Antecedentes

El género *Beauveria* fue establecido en 1912 por Vuillemin en honor de *Beauverie* quién en 1911 señaló las características del grupo al que entonces pertenecía *Beauveria* justificaba su ubicación en un género distinto. (Ayala, 2006)

### 8.14. Clasificación taxonómica

Clasificación taxonómica según (Taxonomia et al., 2022) se clasifica en:

**Tabla 4:** Taxonomía de *Beauveria bassiana*.

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

**Fuente:** (Taxonomia et al., 2022)

### **8.15. Características Morfológicas**

El hongo *Beauveria bassiana* se desarrolla en medio de cultivo PDA bajo condiciones de laboratorio, sus colonias crecen pegadas al medio de cultivo y alcanzan en 15 días los 3cm de diámetro, se caracteriza porque al inicio su aspecto es polvoriento de color blanquecino, pero a medida que la colonia envejece se torna de color amarillo, rojo o rosado empezando por el reverso.(Chiriboga P. et al., 2015)

La esporulación del hongo depende de la humedad, a menor humedad se produce mayor esporulación y a mayor humedad mayor crecimiento de micelial y menor esporulación, a mayor esporulación mayor infección, a mayor crecimiento micelial, menor infección.(Chiriboga P. et al., 2015)

El fructificación se constituye por células conidiógenas que forman conidios sucesivos, las células conidiógenas pueden ser globosas con un cuello muy corto o pueden ser muy gruesas en la base y adelgazadas hacia el ápice, en forma de botella.(Chiriboga P. et al., 2015)

Los conidios son globosos, de vez en cuando con la base de punta aguda de textura lisa, mientras que el raquis es zigzagueante de estructuras como apéndices donde se insertan los conidios en forma sucesiva. (Ayala, 2006)

### **8.16. Modo de acción**

Describe (Ayala, 2006) que el hongo normalmente ataca al insecto vía tegumento (cobertura natural de un organismo) o por vía digestiva, el hongo ingresa por la cutícula por presión ejercida por el tubo germinativo por el punto de contacto, que viene siendo el lugar donde germinan las esporas del hongo y produce hifas invasoras que penetran y colonizan los tejidos del hospedero.

Una vez en la cavidad del insecto, el hongo empieza a proliferarse, los micelios liberan blastosporas y el insecto muere por la depleción (perdida del contenido corporal) de sus nutrientes en la hemolinfa, causada por la actividad enzimática de metabolitos tóxicos del hongo. (Ayala, 2006)

La muerte de insectos es atribuida a la acción de moléculas de bauvericida y oosporein toxinas que induce la deshidratación de los tejidos de hospederos infectados, y la molécula de

oosporein, es un colorante rojo, es producida por *Beauveria* y actúa como veneno enzimático alterando las reacciones redox en la síntesis de ATP. (Ayala, 2006)

### 8.17. PAPA (*Solanum tuberosum*)

#### 8.17.1. Taxonomía y morfología

Menciona (Camino et al., 2008) la papa pertenece a las siguientes categorías taxonómicas:

<b>Familia :</b>	Solanaceae
<b>Género:</b>	<i>Solanum</i>
<b>Subgénero:</b>	<i>Potatoe</i>
<b>Especie:</b>	<i>Tuberosa</i>

**Fuente:** (Camino et al., 2008)

La papa es una dicotiledónea herbácea con hábitos de crecimiento rastrero o erecto, generalmente de tallos gruesos y leñosos, con entrenudos cortos. Los tallos son huecos o medulosos, excepto en los nudos que son sólidos, de forma angular y por lo general verdes o rojo púrpura. El follaje normalmente alcanza una altura entre 0.60 a 1.50 m. Las hojas son compuestas y pignadas. Las hojas primarias de plántulas pueden ser simples, pero una planta madura contiene hojas compuestas en par y alternadas. La hojas se ordenan en forma alterna a lo largo del tallo, dando un aspecto frondoso al follaje, especialmente en las variedades mejoradas.(Camino et al., 2008)

### 8.18. Cosecha

Tradicionalmente, los productores de Ecuador dejan sus cultivos de papa en el campo hasta ver la senescencia de la planta; es decir, cuando los tallos se viran y las hojas se vuelven amarillas. Los tubérculos cosechados deben ser retirados rápidamente del terreno con el objeto de exponerlos lo menos posible a daños ocasionados por el ambiente, plagas y enfermedades.(Yesserie, 2015)

### 8.19. Rendimiento

Señala (INIAP, 2022) que la papa de variedad superchola bajo buenas condiciones produce rendimientos promedios excelentes de hasta 30 t/ha de tubérculo fresco.

## CAPITULO III

### 9. HIPÓTESIS

#### 9.1. Hipótesis Nula = H0

H0: El aislado de *Beauveria bassiana* no controla gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*) en condiciones de laboratorio.

#### 9.2. Hipótesis Alternativa = H1

H1: El aislado de *Beauveria bassiana* controla gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*) en condiciones de laboratorio.

### 10. METODOLOGIA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

#### 10.1. Localización del ensayo

La investigación se realizó en el barrio Salache, parroquia Eloy Alfaro, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi en el laboratorio de microbiología de la Carrera de Agronomía, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

##### 10.1.1. Ubicación geográfica del ensayo

El Campus Salache se encuentra a una altura de 2720 (m s. n. m.) con 78°37'23" de longitud oeste y 0°59'58" de latitud sur.

**Gráfico 2:** Croquis de ubicación del proyecto.



**Fuente:** (Google Earth, 2021)

## **10.2. Tipo de investigación.**

### **10.2.1. Experimental**

Es experimental ya que consiste en hacer cambios en el valor de una o más variables independientes, para el diseño de este proyecto tenemos como variables independientes los tipos de aplicación de *Beauveria bassiana* por aspersión y que permitirá observar su efecto en la variable dependiente que es capacidad de adaptación.

Se aplicará un diseño experimental de bloques completamente al azar (DBCA) obteniendo siete tratamientos incluido el testigo con cinco repeticiones.

### **10.2.2. Cualitativa**

Recae en lo cualitativo ya que describe sucesos complejos en su medio natural, y cuantitativa porque recogen datos cuantitativos los cuales incluyen mediciones sistemáticas además se empleará un análisis estadístico en el programa INFOSDAT 2.0.

## **10.3. Modalidad básica de investigación**

### **10.3.1. De Campo**

La investigación fue de campo, dado que se tomó datos durante la vida de la plaga, este proceso nos permitió conseguir nuevos conocimientos en el campo para luego relacionar con la realidad de los productores que se ven afectados por esta plaga.

### **10.3.2. De laboratorio**

La investigación recae en la fase de laboratorio porque se realizó en un ambiente controlado (de tipo laboratorio) donde se aplicaron distintas técnica y reactivos para obtener valores cuantitativos de componte de interés como biológico, orgánico, etc.

### **10.3.3. Bibliográfica**

El estudio tuvo un proceso de recopilación de datos coherente, para la construcción del proyecto y se realizó un procedimiento de abstracción científica.

## **10.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos**

### **10.4.1. Observación de Campo**

Esta técnica permitió tener contacto directo con el objeto en estudio para una recopilación de datos de los respectivos tratamientos.

#### **10.4.2. Registro De datos**

Se llevó un libro de campo, donde apuntaremos los diferentes resultados.

#### **10.4.3. Análisis estadístico**

Con los datos obtenidos en la investigación se procedió a la tabulación y análisis estadístico con la ayuda del programa INFOSTAT 2.0.

### **10.5. MATERIALES Y EQUIPOS**

#### **10.5.1. Material biológico:**

- Especímenes de larva de gusano blanco (primer estadio larval)
- Cepas de hongos entomopatógenos
- Tubérculos de papa variedad “Súper chola”

#### **10.5.2.**

##### **Materiales de campo**

- Cuaderno de registros
- Bolígrafo
- Pinzas entomológicas
- Cinta métrica
- Bolsas plásticas
- Cinta adhesiva
- Vasos descartables
- Cuchillo
- Ligas
- Malla tull
- Cámara fotográfica (celular)

#### **10.5.3. Materiales de oficina**

- Laptop

- Papel bond A-4
- Material bibliográfico

#### **10.5.4. Materiales de laboratorio**

- Pinzas entomológicas
- Láminas porta objetos
- Láminas cubre objetos
- Vasos de precipitado de 20, 50 y 100 mL.
- Cajas de Petri.
- Mechero de Bunsen
- Probetas de 20, 100 mL
- Matraces de Erlenmeyer 250 mL
- Tubos de ensayo
- Pipetas
- Micropipetas de 100 y 200 uL
- Tubos eppendorf (de microcentrífuga) de 1.5 mL estériles
- Gradilla para tubos de 1.5 mL
- Guantes descartables
- Bata de laboratorio
- Papel toalla
- Marcadores para etiquetar tubos
- Espátula
- Asa bacteriológica
- Pipeta plástica

#### **10.5.5. Insumos y reactivos**

- Alcohol
- Azul de metileno
- Medio de cultivo (Papa Dextrosa Agar)
- Gentamax 280

#### **10.5.6. Equipos**

- Incubadora
- Refrigeradora
- Vórtex
- Microscopio
- Cámara de Neubauer
- Cámara laminar
- Autoclave
- Balanza

### **10.6. Diseño Experimental**

Se utilizó un diseño experimental de Bloques Completos al Azar (DBCA), con un arreglo factorial de  $A \times B + 1$  donde se presentó al Factor A como concentración de conidios ( $10^4$ ,  $10^6$ ,  $10^8$ ) y el factor B corresponde a tipos de aplicación (aspersión, inmersión) constituido por 6 tratamientos más 1 testigo con 5 repeticiones totalizando así 34 unidades experimentales (UE), se aplicó pruebas de Tukey al 5%; con el análisis estadístico se determinó el mejor tratamiento en función a la variable a evaluar mortalidad.

#### **10.6.1. Unidad Experimental**

En cada unidad experimental se inoculó 15 larvas de gusano blanco (*Premnotrypes vorax*) en sus primer instar larval con 5 tubérculos de papa variedad Súper chola ubicados en una bandeja plástica de color blanco con 94,5 gramos de sustrato (tierra negra + turba) esterilizada.

### 10.7. Factores de estudio

**Factor A:** Dosis de concentración.

- ✓ A1: Concentración  $10^4$
- ✓ A2: Concentración  $10^6$
- ✓ A3: Concentración  $10^8$

**Factor B:** Tipos de aplicación.

- ✓ B1: Aplicación x inmersión
- ✓ B2: Aplicación x aspersion

### 10.8. Tratamientos en estudio

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

**Tabla 5:** Tratamientos, códigos, descripción.

Tratamientos	Código	Descripción
T1	a1b1	$10^4$ Conidios ml-L/ A. inmersión
T2	a1b2	$10^4$ Conidios ml-L/ A. aspersion
T3	a2b1	$10^6$ Conidios ml-L/ A. inmersión
T4	a2b2	$10^6$ Conidios ml-L/ A. aspersion
T5	a3b1	$10^8$ Conidios ml-L/ A. inmersión
T6	a3b2	$10^8$ Conidios ml-L/ A. aspersion
T7	a0b0	Testigo

**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

### 10.8.1. Distribución del ensayo.

**Tabla 6:** Diseño de Bloques Completamente al azar.

<b>R I</b>	<b>R II</b>	<b>R III</b>	<b>R IV</b>	<b>R V</b>
T1(a1b1)	T2(a1b2)	T3(a2b1)	T4(a2b2)	T5(a3b1)
T2(a1b2)	T3(a2b1)	T4(a2b2)	T5(a3b1)	T6(a3b2)
T3(a2b1)	T4(a2b2)	T5(a3b1)	T6(a3b2)	T7(a0b0)
T4(a2b2)	T5(a3b1)	T6(a3b2)	T7(a0b0)	T1(a1b1)
T5(a3b1)	T6(a3b2)	T7(a0b0)	T1(a1b1)	T2(a1b2)
T6(a3b2)	T7(a0b0)	T1(a1b1)	T2(a1b2)	T3(a2b1)
T7(a0b0)	T1(a1b1)	T2(a1b2)	T3(a2b1)	T4(a2b2)

**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

### 10.9. ADEVA

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

**Tabla 7:** Esquema del ADEVA.

<b>Fuente de Variación (F de V)</b>	<b>GL</b>
Factor A (Concentración de conidios)	2
Factor B( Tipos de aplicación)	1
Factor A* Factor B	4
Repeticiones	4
Error experimental	24
Total	35

**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

## 10.10. Operacionalización de variables

**Tabla 8:** Definición de variables e indicadores.

<b>TIPO DE VARIABLE</b>	<b>NOMBRE</b>	<b>INDICADOR</b>	<b>ÍNDICE</b>
DEPENDIENTE	Mortalidad	Mortalidad de gusano blanco de papa	% de mortalidad larvas en su último instar larval.
INDEPENDIENTE	<i>Beauveria bassiana</i>	Concentración de conidios $10^4$ , $10^6$ , $10^8$	Dosis de 10 cc por unidad experimental.

**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

## 10.11. Manejo específico del experimento.

La investigación constó de las siguientes fases como son:

### 10.11.1. Fase de campo:

El presente trabajo de investigación la primera etapa consistió en recolectar después de 15 días de estar expuesta en el suelo el estiércol de conejo para la obtención de cepas de hongos entomopatógenos nativos.

#### 10.11.1.1. Fase de recolección de muestras.

La muestra recolectada de estiércol de conejo se realizó en el barrio América, parroquia Juan Montalvo, cantón Cayambe, provincia de Pichincha, en esta zona debido a que el investigador se dedica a la cría de conejos y le resulta más fácil el conseguir estiércol que contengan micelios.

**Gráfico 3:** Ubicación geográfica de lugar de recolecta de las muestras.



**Fuente:** (Google Earth, 2021)

**Tabla 9:** Datos geográficos de recolección de muestras de heces de conejo.

Lugar de asilamiento	Altitud (m.s.n.m)	Coordenadas	
		Latitud	Longitud
Cantón Cayambe	2842	0°01'09"N	78°08'28"W

**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

#### 10.11.1.2. Fase de recolección de larvas de gusano blanco de la papa.

Asimismo, se realizó la identificación para la captura, por el cual se adoptó el método de “colección de larvas”, para este método se realizó visitas a los campos de cosecha de los productores de papa; se colectó tubérculos de papa infestados con larvas, las muestras fueron recolectadas de los sectores del cantón Cayambe como lo fue de la parroquia de Cangahua y las muestras fueron acondicionadas en un costal con papas infectadas y una cantidad mínima de tierra, para luego ser transportadas al laboratorio de microbiología en el campus Salache.

**Gráfico 4:** Ubicación geográfica de lugar de recolecta de las muestras.



**Fuente:** (Google Earth, 2021)

**Tabla 10:** Datos geográficos de colección de gorgojo de los Andes.

Lugar de colecta	Altitud (m.s.n.m)	Coordenadas	
		Latitud	Longitud
Parroquia Cangahua Cantón Cayambe	3157	0°03'39"N	78°10'09"W

**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

## 10.11.2 Fase de laboratorio

### 10.11.2.1. Preparación medio de cultivo

Conjunto de componentes que crea las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos (Cuervo Mulet & Cali, 2010).

Metodología adaptada de (Mcmillan et al., 2014), para la preparación del medio de cultivo PDA, se realizó el siguiente procedimiento:

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

1. Pesar 15,6 gr en una balanza analítica, verter este sólido en una botella esterilizadora con 400 ml de agua destilada.
2. Agitar la botella de vidrio hasta conseguir una mezcla homogénea, terminado este proceso se llevará a la autoclave para ser esterilizado a 35 °C por 40 min.
3. Al terminar el tiempo de esterilización agregar antibiótico, que consiste en la aplicación de una ampolla de Gentamax, para evitar la contaminación de bacterias en el medio de cultivo proceso realizado en la cámara laminar tras 15 min de enfriamiento de la disolución repartir en placas de Petri estériles y se dejó en reposo para que solidifique.

#### **10.11.2.2. Método de aislamiento:**

El cumplimiento de esta fase se lo realizó siguiendo el protocolo de (CAÑEDO & AMES, 2004) en el que establece los pasos, materiales y equipos empleados para el método de aislamiento en lo que se describe a continuación:

1. Separar las muestras recolectadas (estiércol de conejo) que contengan más presencia de micelios.
2. Colocar en un frasco graduado 250 ml de agua destilada.
3. Calcular los gramos de agar papa dextrosa (PDA) que se necesita, de acuerdo a los cálculos recomendados.
4. Pesar 9,75 gr de agar y mezclar junto con el agua destilada en el frasco graduado, agitándola hasta que se mezcle muy bien todo.
5. Colocar la solución en la autoclave por 45 minutos.
6. Desinfectar la cámara de flujo laminar con alcohol, para evitar contaminaciones.
7. Una vez lista la solución colocar en la cámara laminar y encender el ventilador para que se enfríe.
8. Luego procedemos a colocar el antibiótico Gentamax 280 en la solución de agar.
9. Colocar la solución de agar en las cajas Petri antes de que esta llegue a cuajarse.
10. Después procedemos a colocar las muestras de heces de conejo en las cajas Petri y tapar.

11. Sellar las cajas Petri con papel para film.
12. Una vez selladas las cajas procedemos a cubrir con el plástico de cocina.
13. Finalmente colocamos las cajas Petri en la incubadora.

#### **10.11.2.3. Método de identificación:**

En el proceso de esta fase se realizó siguiendo el protocolo de (CAÑEDO & AMES, 2004) que menciona que para la identificación de hongos se debe realizar un examen macroscópico de la colonia y en sus características microscópicas, semejanzas macroscópicas como la forma de la colonia, el color de la superficie, la textura y la producción de pigmentos son muy útiles para la identificación.

A continuación, se describe los pasos, materiales y equipos usados durante la práctica:

1. Pasados los 8 días desde que se realizó el medio de cultivo con agar papa dextrosa (PDA), y seleccionar las cajas Petri de las cuales se va a realizar la identificación.
2. Seleccionar un microscopio electrónico en el que se pueda visualizar y capturar imágenes a través de la computadora.
3. Luego con la ayuda de una aguja de disección raspar cuidadosamente el hongo.
4. Después colocar en la porta objetos y agregar una gota de azul de metileno.
5. Cubrir con el cubre objetos la muestra.
6. Colocar en el microscopio la muestra y empezar a enfocar.
7. Se debe empezar desde el lente de menor potencia e ir aumentando hasta identificar algo.

#### **10.11.2.4. Método de re- aislamiento:**

En el proceso de esta fase se realizó siguiendo el protocolo de (CAÑEDO & AMES, 2004) y se utiliza los cultivos monospóricos para garantizan la calidad del aislado, y se asegura su potencial como mico insecticida, además se certifica que el aislado está libre de contaminación (excluyendo los micovirus).

1. Seleccionar cajas Petri con el hongo *Beauveria bassiana*.
2. Preparar el medio de cultivo con agar agar.

3. Colocar en un frasco de vidrio 50 ml de agua destilada.
4. Pesar 0,5 gr de agar agar.
5. Colocar en otro frasco 200 l de agua destilada.
6. Mezclar los 0,5 gr de agar agar con los 50ml de agua destilada en el frasco de vidrio.
7. Seleccionar dos micropipeta de 100 y una de 200, puntas de micropipeta, tubos eppendorf, cajas Petri nuevas, papel parafilm, plástico film, marcador.
8. Envolver en papel aluminio 10 puntas de micropipeta, 10 tubos de eppendorf, pinzas y tijeras.
9. Colocar en la autoclave el frasco de vidrio con el medio de agar y la envoltura de aluminio con los materiales, y dejar por 45 minutos.
10. Desinfectar la cámara laminar con alcohol y encender el mechero.
11. Colocar en una probeta 100 ml de agua destilada.
12. Colocar el agua destilada de la probeta en una de las cajas Petri y con ayuda de una aza empezar a raspar el hongo *Beauveria bassiana*.
13. Coloca el medio de cultivo con agar agar, solución madre del hongo *Beauveria bassiana*, frasco de vidrio con 200 ml de agua destilada, cajas Petri, micropipeta de 100 y 200, puntas de micropipeta, tubos eppendorf y demás materiales en la cámara laminar.
14. Escoger la micropipeta de 100 e insertar la punta de micropipeta, luego escoger un tubo de eppendorf y colocar cinco veces 1 ml de agua destilada.
15. Escoger la micropipeta de 200 e insertar la punta de micropipeta, y en el tubo de eppendorf anterior seleccionar dos veces de la solución madre de beauveria 1 ml.
16. Nuevamente escoger la micropipeta de 100 e insertar una punta de micropipeta, y escoger una vez 1ml de agua destilada y colocar en el tubo de eppendorf que se colocó anteriormente el agua destilada y la solución madre de beauveria.
17. Repetir este proceso dependiendo del número de cajas Petri en las que se vaya a cultivar.

#### **10.11.2.5. Método de multiplicación:**

En el proceso de esta fase se realizó siguiendo el protocolo de (Gómez et al., 2014) partiendo del método de los cultivos monospóricos para la multiplicación del hongo *Beauveria bassiana*.

A continuación, se describen los pasos, materiales y equipos a usar:

- 1.- Se preparó medio de cultivo con agar papa dextrosa (PDA).
- 2.- Luego se procedió a llevar el medio de cultivo a la autoclave para su esterilización, posteriormente se procedió a dejar el medio de cultivo se llevó a la cámara de flujo laminar se dejó enfriar el mismo a temperatura ambiente y se colocó el antibiótico “Gentamax 280” en el medio de cultivo.
- 3.- Se escogió la caja Petri que contenga el asilado de *Beauveria bassiana* y se realizó un corte con un bisturí en la parte que tenga más presencia de micelios de unos 4mm de grosor y con una pinza se retiró el pedazo cortado y se lo colocó en la caja Petri.
- 4.-Luego se procedió a cerrar la caja y sellar con cinta Parafilm y se rotulo la caja para luego proceder a colocar dentro de la incubadora a una temperatura de 25 °.
- 5.- Al transcurso de 7 días se observó la caja Petri cubierta con *B. bassiana*. La misma que será considerada como el primer subcultivo de la aislada madre (insecto).
- 6.- Al obtenerse el primer subcultivo limpio y sin contaminación, se preparó nuevamente medio de cultivo suplementado con el antibiótico.
- 7.- Del subcultivos de *Beauveria bassiana* se realizó cortes de 5 mm con el bisturí y cada corte se colocó en una caja Petri respectivamente, seguidamente se selló con la cinta Parafilm y se identificó.
- 8.- Finalmente se envolvió en papel film y se colocó las cajas en la cámara de incubación y al transcurso de 5 – 7 días se observó que las nuevas cajas se encuentran cubiertas con *Beauveria bassiana*.

#### **10.11.2.6. Método para conteo de UFC (Unidad formadora de colonias)**

En el proceso de esta fase se realizó siguiendo el protocolo de (Corral-Lugo et al., 2012) y consiste en realizar diluciones seriadas 1:10 y extender 0.1 mL de cada dilución en una placa; las placas se incuban hasta que las colonias son apreciables para su recuento.

1. Seleccionar las cajas Petri con *Beauveria bassiana* en las que se va a realizar el conteo.

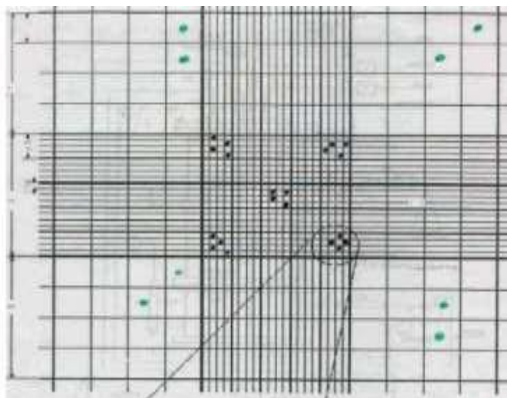
2. Colocar agua destilada en una de las cajas Petri que contiene e hongo *Beauveria bassiana*.
3. Con la ayuda de una aza empezar a raspar el hongo.
4. En un vaso de precipitación colocamos la solución del hongo que raspamos.
5. En cuatro tubos de ensayo colocar 9 ml de la solución madre.
6. Colocar en el agitador de voatex el tubo de ensayo con la solución madre y agitar por 4 minutos.
7. Una vez agitada la solución madre, con una pipeta coger 1 ml y colocar en el tubo de ensayo siguiente.
8. Colocar nuevamente el tubo de ensayo en el agitador de voatex.
9. Repetir el mismo procedimiento hasta llegar al último tubo de ensayo que es de donde se cogerá la muestra para el conteo.
10. Con una micro pipeta coger 1 ml de la última solución mezclada en el agitador de voatex.
11. Colocar la muestra en la cámara Neubauer y cubrirla.
12. Después se procede a colocar en el microscopio y empezar a enfocar la muestra.
13. Una vez enfocada se empieza a observar unos cuadrantes y dentro de ellos se encuentran los conidios de los cuales se va a realizar el conteo.

#### **10.11.2.7. Determinación de la concentración de conidios (cuantificación en la cámara Neubauer).**

**Procedimiento adaptado de** (Arredondo-Vega & Voltolina, 2007)

1. Con una micropipeta de 100  $\mu\text{L}$  extraer la solución de la muestra  $10^4$ .
2. Transferir la muestra a la cámara Neubauer, hasta que por caparidad se llene un lado de la cámara.
3. Llevar la cámara al microscopio y observar con el mejor lente para esta actividad ubicaren el primer cuadrante (superior derecho).

4. Cuantificar los conidios presentes en el cuadrante central, como se indica en la figura.



**Fuente:** (Arredondo-Vega & Voltolina, 2007)

Para determinar las unidades formadoras de colonias (UFC) se utiliza la fórmula ajustada de Gómez, et al, (2014):

$$\text{UFC} = \bar{x} * 10000 * \text{FD}$$

**Donde:**

$\bar{x}$  : Promedio de las lecturas por área de conteo.

**FD:** Factor de disolución.

**10 000:** constante del cuadrante central

#### 10.11.2.8. Método elaboración de la solución madre

En la ejecución de esta fase se adaptó la metodología utilizada por (Antía et al., 1992) mencionando que, en primera instancia la preparación de la solución madre con un volumen de Agua Destilada Estéril (ADE) de 100 ml y el hongo *Beauveria* producido en cajas Petri.

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

- 1.- Se seleccionó 6 cajas Petri que presenten las mejores características del hongo como su coloración, esporulación y libre de contaminación, para la concentración de  $10^8$ , para la

concentración de  $10^6$  se seleccionó 4 cajas Petri y para la concentración de  $10^4$  se seleccionó 2 cajas Petri.

2.- En cada caja Petri se colocó agua destilada para realizar un raspado hasta dejar limpia la caja.

3.- El agua destilada con los restos del hongo se depositó en una probeta hasta alcanzar los 100 ml.

4.- Después se procedió a agitar la probeta con cada concentración durante 3 minutos con ayuda del agitador voatex.

4.- Este proceso se realizó para cada concentración.

## **10.12. Implementación del diseño experimental**

### **10.12.1. Desinfección de las larvas**

Materiales:

- Larvas de gusano blanco de la papa.
- Cloro
- Agua destilada
- Vaso de precipitación
- Papel toalla de cocina

Procedimiento:

1. Primero en un vaso de precipitación se colocó 100 ml de agua destilada con 0,05 ml de cloro y se mezcló muy bien.
2. Luego se procedió a separar las larvas de gusano blanco para ingresar dentro del hipoclorito de sodio al 0,5%.
3. Posteriormente se dejó a las larvas durante 1 minuto dentro del hipoclorito de sodio.
4. Después que paso el minuto se sacó a las larvas y se colocó encima de papel de cocina para secarlas.

### **10.12.2. Desinfección de los sustratos**

Materiales:

- Sustrato (Tierra negra + Turba)
- Papel aluminio
- Autoclave
- Bandejas de aluminio

Procedimiento:

1. Primero se procedió a mezclar el sustrato de tierra y turba.
2. Luego se extendió el papel aluminio, y se colocó en el sustrato.
3. Después se cubrió con más papel aluminio el sustrato hasta quedar bien sellado.
4. A continuación, se colocó la envoltura dentro del autoclave por 45 minutos para su esterilización.

### **10.12.3. Rotulación de las bandejas plásticas**

En papel adhesivo se imprimió el diseño experimental con sus tratamientos para luego ser colocados en las bandejas.

### **10.12.4. Acondicionamiento del gusano blanco de la papa**

Se aplicó la metodología hecha por (Peña, 2018), para *Premnotrypes vorax*, pero con algunas modificaciones para la adaptación de larvas de gusano blanco de la papa:

Materiales:

- Sustrato (Tierra negra + Turba) esterilizado
- Bandejas plásticas de color blanco de 24cm x 40 cm.
- Rótulos con los códigos de los tratamientos.
- Larvas de gusano blanco inoculado.
- Tubérculos de papa “Súper chola”

Procedimiento:

1. Primero se procedió a colocar los tubérculos de papa en las bandejas plásticas 5 de ellos por unidad experimental, para la alimentación de las larvas.
2. Luego se procedió a colocar el sustrato con 94,5 g en cada unidad experimental hasta cubrir las papas.
3. A continuación, se humedeció el sustrato con agua destilada colocada en un aspersor.
4. Después se colocó en cada bandeja plástica 15 larvas de gusano blanco inoculado.
5. Luego se procedió a cubrir los testigos con tela tulle y se sujetó con una banda elástica.

### **10.13. Aplicación de *Beauveria bassiana***

La aplicación de *Beauveria bassiana* durante el ensayo se realizó de la siguiente manera.

Materiales:

- Aspersor mediano
- Vaso de precipitación
- Solución madre de *Beauveria bassiana*

#### **10.13.1. Método de aplicación por aspersión**

- 1.- En un aspersor mediano se colocó 10 ml de la solución madre de *Beauveria bassiana*.
- 2.- Luego se procedió a fumigar sobre las larvas en cada unidad experimental guiándose por los tratamientos planteados en el ensayo.
- 3.- Se realizó este procedimiento para cada concentración.

#### **10.13.2. Método de aplicación por inmersión**

- 1.- En un vaso de precipitación se colocó 10 ml de la solución madre de *Beauveria bassiana*.
- 2.- Después se procedió a colocar las larvas inoculadas dentro del vaso de precipitación durante 1 minuto, por cada unidad experimental guiándose por los tratamientos planteados en el ensayo.
- 3.- Se realizó este procedimiento para cada concentración.

## 10.14. Datos a evaluar

### 10.14.1. Mortalidad de larvas

Se contabilizó el número de larvas muertas, después de la aplicación de *Beauveria bassiana*, se realizó por cada unidad experimental se procedió a colocar una bandeja plástica para luego retirar las papas y el sustrato cuidadosamente para realizar el conteo y tomando una lectura diaria se contabilizó partiendo del número inicial de larvas colocadas que fueron 15 y se expresó en números este dato.

Se utilizó una fórmula para el cálculo del porcentaje de mortalidad que es la siguiente:

$$\% \text{ mortalidad} = \frac{\text{Número de larvas muertas}}{\text{Número de larvas colocadas}} \times 100 \quad (100)$$

## 10.15. Análisis estadístico

En la investigación se utilizó el software INFOSTAT para la obtención de análisis de varianza y pruebas de Tukey al 5% para los factores en estudio y el programa Excel, para el análisis de resultados por medio de las hojas de cálculo con las funciones propias ajustadas a las necesidades de la investigación y elaboración de gráficos.

## 10.16. Fórmula de Poison

Para ingresar al INFOSTAT se aplicó la fórmula de Poison que se utiliza para generalmente para datos de recuento, además de aplicarse cuando se producen ceros o valores bajos (menos de 10 a 15) se recomienda usar estas transformaciones  $\sqrt{\sqrt{x} + 0,5}$ .(Os, n.d.)

## CAPÍTULO IV

### 11. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

#### 11.1. ANÁLISIS DE LABORATORIO

La investigación se sustentó con un examen de laboratorio que garantiza la especie y género del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* y se muestra a continuación:

#### PSL 292 TAXONOMIA FUNGAL A NIVEL DE GENERO Y/O ESPECIE

##### RESULTADOS

Muestra 1.

<b>UBICACION TAXONOMICA DE <i>Beauveria bassiana</i>.</b>
---

Clasificación taxonómica según Alexopoulos y Mims (1979).

Reino: Myceteae

División: Amastigomycota

Sub división: Deuteromycotina

Clase de forma: Hyphomycetidae

Orden de forma: Moniliales.

Familia de forma: Moniliaceae.

Género: *Beauveria Vuillemin*

Especie: *Beauveria bassiana*. (Bals) Vuillemin

<b>MORFOLOGIA</b>
-------------------

##### **Colonias**

De color blanco, aterciopeladas, algodonosas, pulverulentas, con superficie semielevada, con formación de sinemas, como principal característica de la especie *B. bassiana*, especialmente en

plena producción de conidias. Al inicio del crecimiento de las colonias son de color blanco, posteriormente de color amarillo pálido, que evidencia la producción de metabolitos. **Conidioforos**

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

### Fiálides

Con una parte basal dilatada terminando en zig-zag.

### Conidios

De contrastes hialinos, redondeadas o globosas o subglobosas unicelulares, con la base apiculada de 2.5-4,5  $\mu\text{m}$ . El raquis de 25  $\mu\text{m}$ .

**Conidióforos** células conidioforas alargadas, solitarias, de base subglobosa o cilíndrica de 3 a 20  $\mu\text{m}$  de largo por 1.3 a 4  $\mu\text{m}$  de ancho, formando racimos compactos.

## GERMINACIÓN

Las conidias germinan a las 20 horas de incubación, alcanzando el 99,90% de germinación.

## METABOLITOS SECUNDARIOS

Metabolitos	Beauvericina	Bassianolides	Enniantinas A y B	Beauverolidos	Bassianinas	Tenelinas	oosporeinas	Ácidos oxálicos	Oxalatos de calcio
Cepa 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+

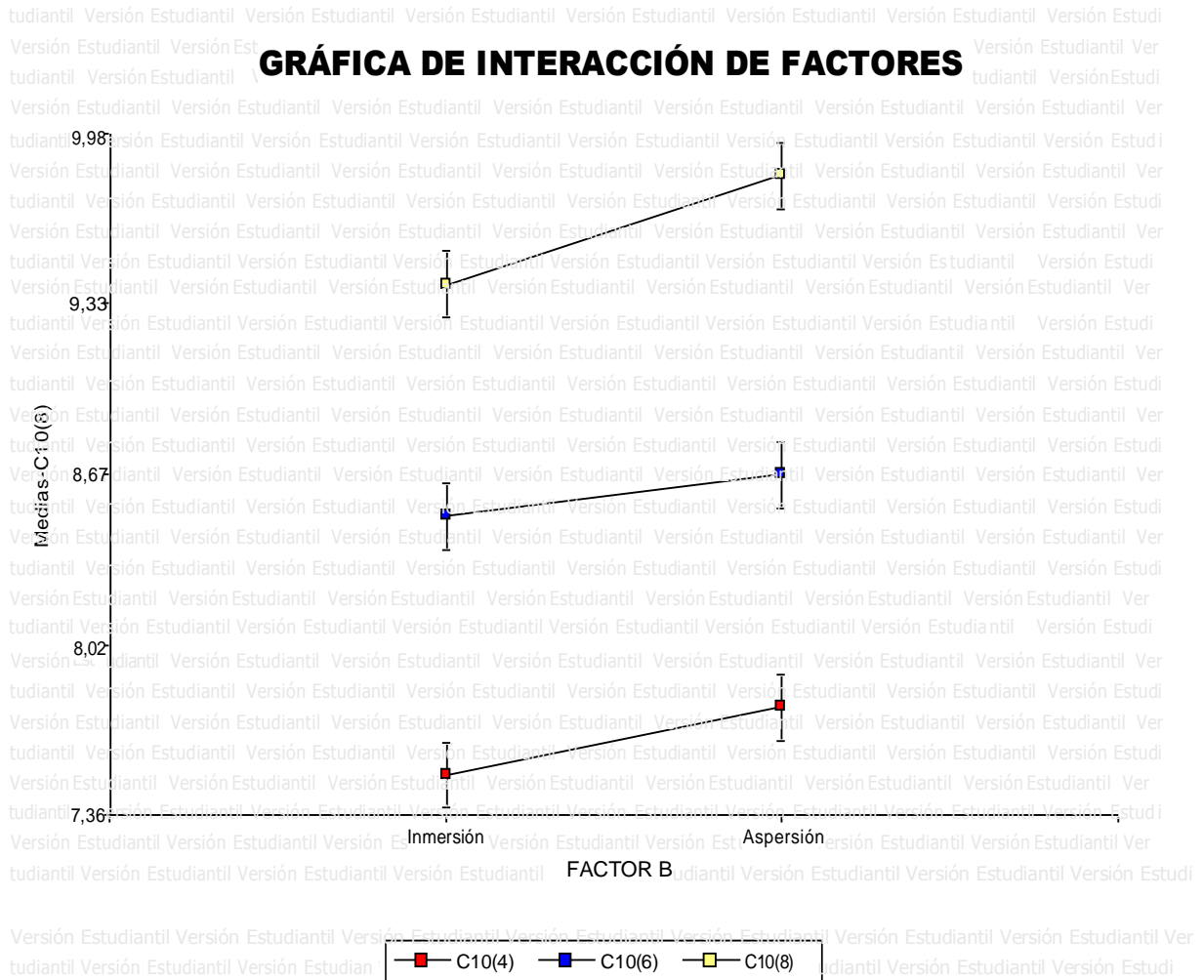
Metabolitos	Ácido Fusarico	Ácido Dipicolínico	Paecolomicinas	Efraeptinas	Beauverolidos	Eniantinas	Ciclosporinas	Pyridovericina
Cepa 1	+	+	+	+	+	+	+	+

## ENZIMAS DETECTADAS

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

En las siguientes tablas se presenta el ADEVA del porcentaje y la prueba Tukey 5 % para mortalidad de gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*).

**Gráfico 5:** Interacción de factores.



**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

En la gráfica # 5 se observan la interacción entre factores, el factor A (a1, a2, a3) el factor B (inmersión, aspersión) no se manifiesta ninguna interacción entre factores, por lo tanto, no hay cruce de líneas, sino que se comportan de manera similar tanto para él un factor como para el otro, en donde se observan diferencias únicamente en el factor B, en la concentración  $10^8$  en aspersión.,

pero si se observan diferencias en el comportamiento de los dos factores haciendo visible la manifestación del factor A.

**Cuadro 1:** Análisis de la Varianza para la variable mortalidad.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	20,08	9	2,23	27,4	<0,0001	
TRAT	288,09	6	48,01	707,19	<0,0001	**
FACTOR A	19,4	2	9,7	119,14	<0,0001	**
FACTOR B	0,58	1	0,58	7,17	0,0145	NS
FACTOR A*FACTOR B	0,09	2	0,04	0,53	0,5992	NS
REP	1,00E-02	4	1,04E-03	0,02	0,9991	NS
Error	1,63	24	0,07			
Total	21,71	34				
CV						3,81 %.

**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

En el cuadro #1 del análisis de varianza de porcentaje de mortalidad para los tratamientos se observó que es altamente significativo, para el factor A (concentración de conidios) hay valores altamente significativos lo que manifiesta que en los niveles del factor A, los resultados son diferentes para cada tratamiento, para el Factor B no hay diferencias significativas lo que manifiesta que se comportan de manera similar, en la interacción del factor Ax B no hay diferencias significativas debido a la multiplicación entre ambos factores, en las repeticiones se manifiesta que se ha comportado de manera similar los tratamientos separados en los distintos bloques de estudio.

**Cuadro 2:** Contrastes Ortogonales

**Contrastes de testigo vs tratamientos**

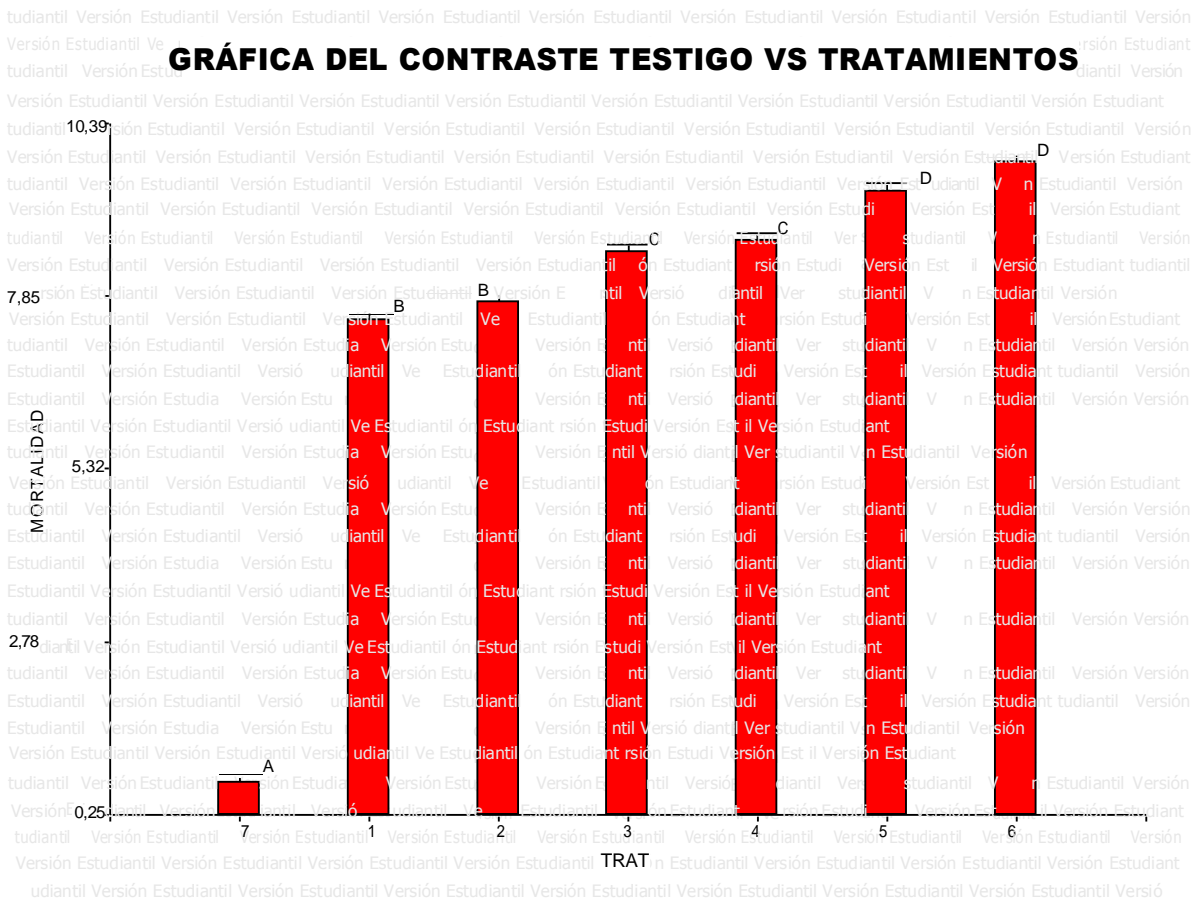
TRAT	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Contraste1	-47,45	0,7	268,02	1	268,02	4589,51	<0,0001	**
Total			268,02	1	268,02	4589,51	<0,0001	

**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

En el cuadro # 3, Al hacer la comparación entre el testigo y los seis tratamientos se observan diferencias altamente significativas lo que manifiesta el buen manejo del experimento puesto que

el testigo se comportó de manera totalmente diferente al resto de los tratamientos, puesto que no controló a la plaga.

**Gráfico 6: Contrastes de testigo vs tratamientos.**



**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

En el Gráfico 6, se observa cuatro rangos de significancia para la comparación entre los tratamientos vs el testigo, el mayor fue el T6 (concentración  $10^6$  x aspersión) con una media de 9,82 y se encuentra en el rango D, mientras que en comparación con el testigo la media fue de 0,72 y se encuentra ubicado en el rango A lo que refleja que la investigación se ha realizado de manera correcta.

**Cuadro 3: Contraste del Factor A.**

FACTOR A	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor	FACTOR A	Ct.1	Ct.2
Contraste1	-2,91	0,22	14,16	1	14,16	173,92	<0,0001 **	C10(4)	2	0
Contraste2	-1,02	0,13	5,24	1	5,24	64,35	<0,0001 **	C10(6)	-1	1
Total			19,4	2	9,7	119,14	<0,0001	C10(8)	-1	-1

**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

En el cuadro #4 para la comparación dentro del factor A se observaron diferencias altamente significativas lo que se manifiesta en el siguiente cuadro #4 donde la primera comparación fue entre la concentración  $10^4$  frente  $10^6$  y  $10^8$  dando valores altamente significativos y la segunda comparación fue entre  $10^6$  y  $10^8$  igual con valores altamente significativos.

**Cuadro 4:** Contraste del Factor B.

FACTOR B	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor	FACTOR B	Ct.1
Contraste1	0,28	0,1	0,58	1	0,58	7,17	0,0145 NS	Aspersión	1
Total			0,58	1	0,58	7,17	0,0145	Inmersión	-1

**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

En el cuadro # 5 En el contraste del factor B se puede observar que no existe significancia, en el tipo de aplicación inmersión y aspersión, el cual tiene los siguientes resultados 1 y -1 respectivamente.

**Cuadro 5:** Contraste Factor A \* B.

FACTOR A*FACTOR B	Cont raste	E. E.	SC	g l	C M	F	p- valo r	FACTOR A*FACTOR B	C				
									t 1	C 2	C 3	C 4	C 5
Contraste1	-5,05	0,7	4,2	1	4,2	52,21	<0,001 *	C10(4):Aspersión	5	0	0	0	0
Contraste2	-6,35	0,57	10,08	1	10,08	123,79	<0,001 *	C10(4):Inmersión	-1	4	0	0	0
Contraste3	-1,73	0,44	1,2	1	1,2	15,31	0,009 N	C10(6):Aspersión	-1	-1	3	0	0
Contraste4	-2,21	0,31	4,0	1	4,0	49,6	<0,001 *	C10(6):Inmersión	-1	-1	-1	2	0

		0,	0,4		0,4	5,3	0,03	N	C10(8):Aspersió	-				
Contraste5	0,42	18	4	1	4	7	11	S	n	1	-1	-1	-1	1
			20,		4,0	49,	<0,0		C10(8):Inmersió	-				
Total			07	5	1	3	001		n	1	-1	-1	-1	-1

**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

En el cuadro #6 para los contrastes del Factor A\*B se agrupan en tres categorías las concentraciones de conidios Factor A y tipos de aplicación Factor B, obteniendo como resultado que para el contraste 1 (C10(4): aspersión), contraste 2(C10(4): inmersión), contraste 4 (C10(6): inmersión) si existe diferencias significativas, mientras que para el contraste 3 (C10(6): aspersión) y contraste 5 (C10(8): aspersión) no existen diferencias significativas.

**Cuadro 6:** Prueba de Tukey al 5% para el Factor A (concentración de conidios).

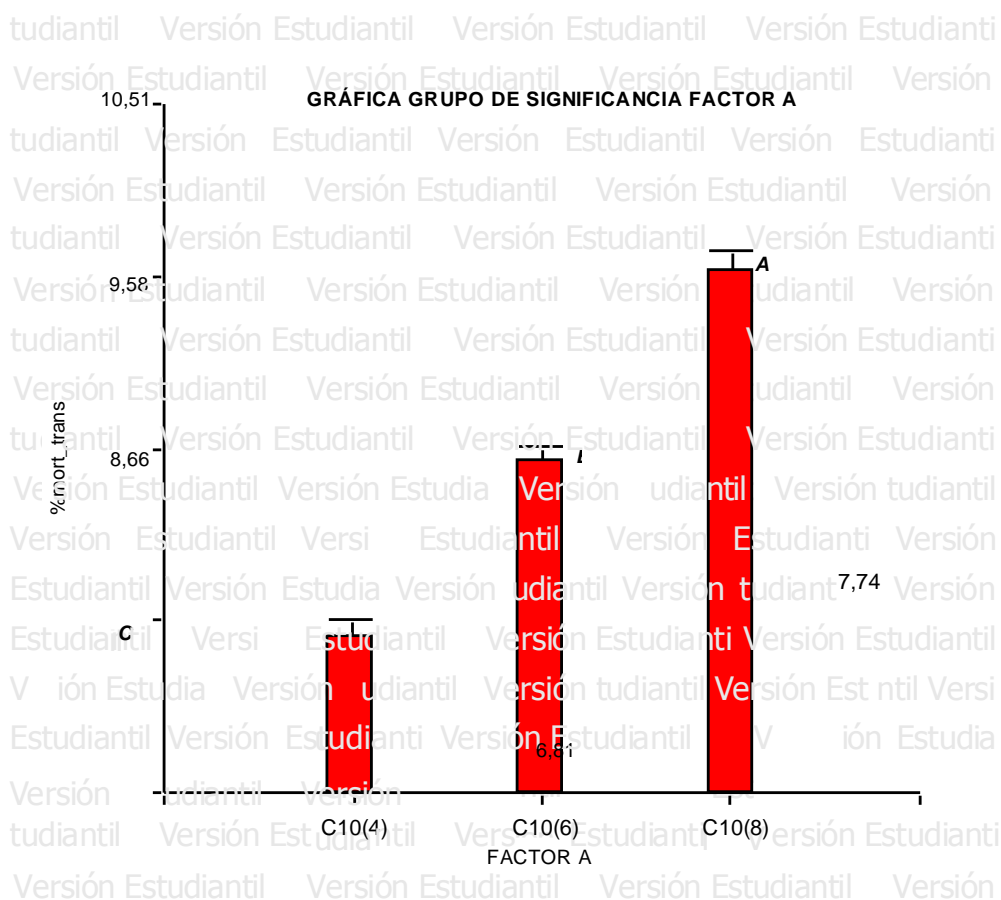
FACTOR A	Medias	n	E.E.		
C10(8)	9,61	10	0,09	A	
C10(6)	8,59	10	0,09		B
C10(4)	7,64	10	0,09		C

**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

En el cuadro # 7 Se realizaron los grupos de significancia para el factor A en la tabla # se observan tres grupos de significancia el grupo A (concentración  $10^8$ ) con una media de 9,61 el grupo B (concentración  $10^6$ ) con una media de 8,59 y el grupo C (concentración  $10^4$ ) con una media de 7,64 lo que manifiesta que mayor porcentaje de mortalidad en el experimento fue en el grupo A pues la concentración  $10^8$  dio la media mayor en comparación a los otros dos niveles en estudio.

**Gráfico 7:** Prueba de Tukey al 5% para el Factor A (Concentración de conidios).



**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

En el Gráfico 7, se observa dos rangos de significancia para el Factor A (concentración de conidios), reflejando que la concentración  $10^8$  es la mayor ubicándose en el rango A con una media de 9,61 y la concentración  $10^4$  la menor ubicándose en el rango C con una media de 7,64.

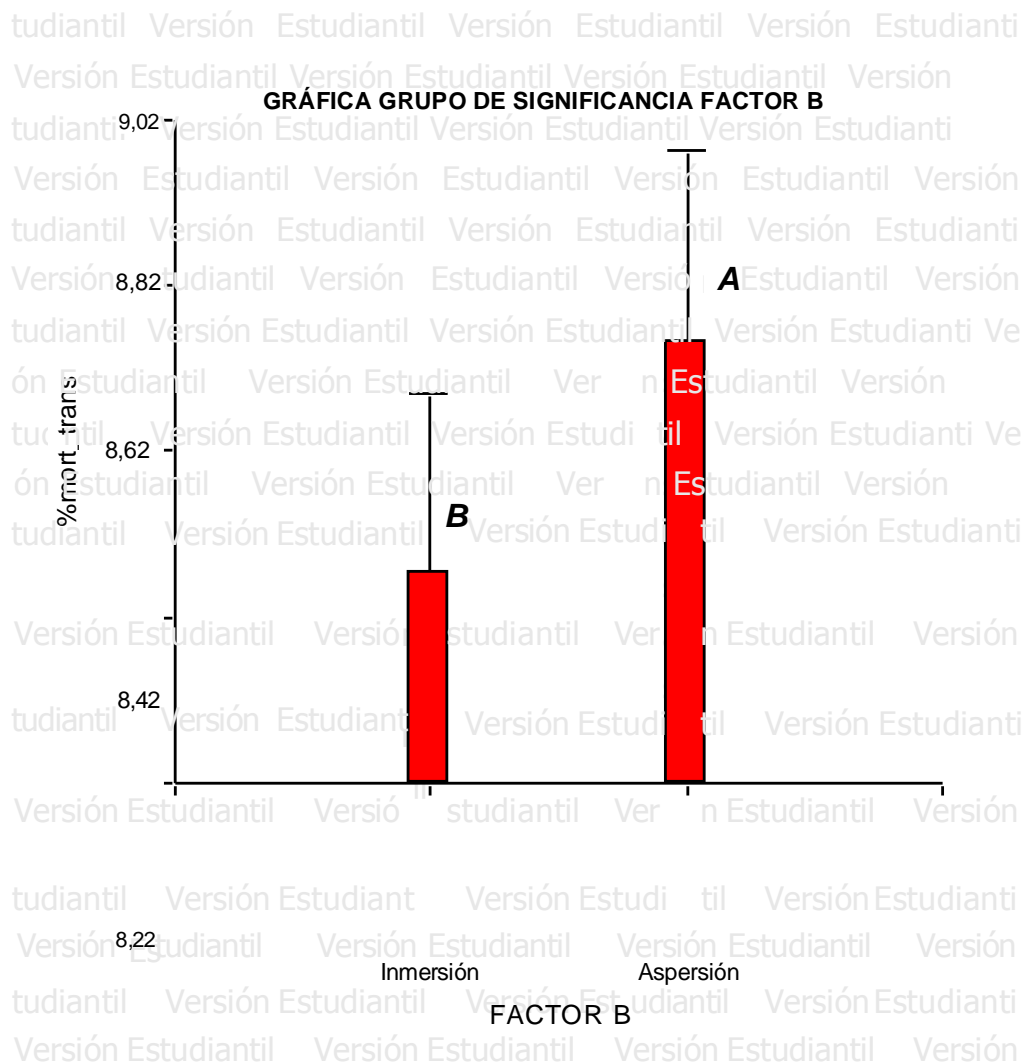
**Cuadro 7:** Prueba de Tukey al 5% para el Factor B (tipos de aplicación).

FACTOR B	Medias	n	E.E.	
Aspersión	8,75	15	0,07	A
Inmersión	8,48	15	0,07	B

Se realizaron los grupos de significancia para el factor B en la tabla #7 se observan dos grupos de significancia el grupo A (aspersión) y B (inmersión), debido a que las medias son diferentes se agrupan en distintas letras, el grupo A tiene una media de 8,75 y el grupo B de 8,48 lo que

manifiesta que mayor porcentaje de mortalidad en el experimento fue en el grupo A pues el tipo de aplicación por aspersión dio la media mayor en comparación al otro nivel en estudio.

**Gráfico 8:** Prueba de Tukey al 5% para el Factor B (Tipos de aplicación).



**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

En el Gráfico 8, se observa dos rangos de significancia para el Factor B (tipos de aplicación), reflejando que el tipo de aplicación por aspersión es el mayor ubicándose en el rango A con una media de 8,75 y la aplicación por inmersión menor ubicándose en el rango B con una media de 8,48.

FACTOR A	FACTOR B	Medias	n	E.E.
----------	----------	--------	---	------

**Cuadro 8:** Prueba de Tukey al 5% para el Factor A+B (concentración de conidios x tipos de aplicación).

---

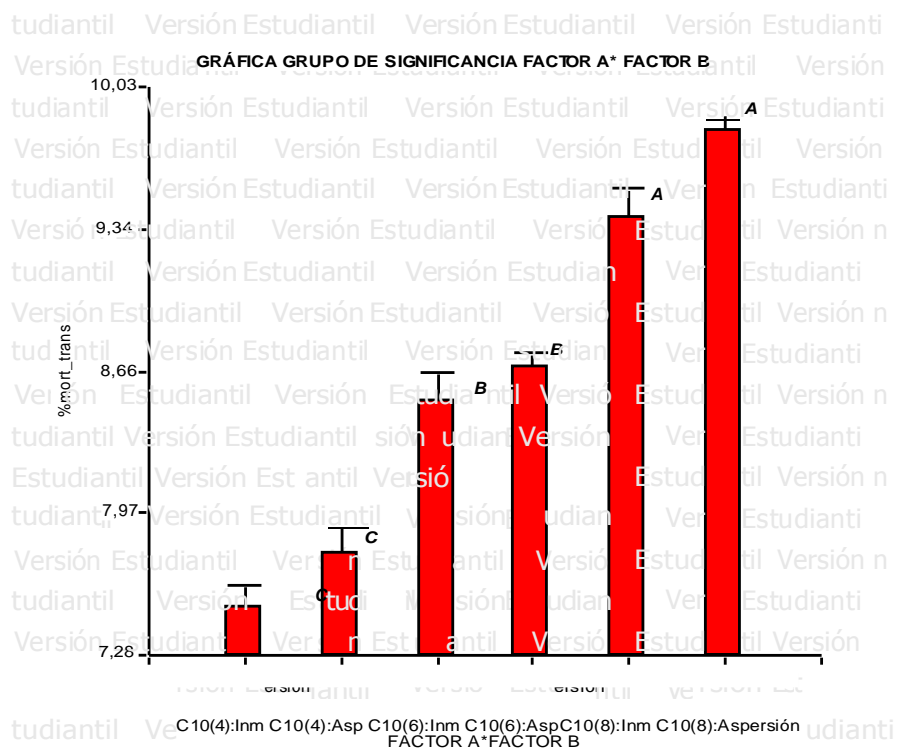
<b>FACTOR A</b>	<b>FACTOR B</b>	Medias	n	E.E.
-----------------	-----------------	--------	---	------

C10(8)	Aspersión	9,82	5	0,13	A	
C10(8)	Inmersión	9,4	5	0,13	A	
C10(6)	Aspersión	8,67	5	0,13		B
C10(6)	Inmersión	8,51	5	0,13		B
C10(4)	Aspersión	7,77	5	0,13		C
C10(4)	Inmersión	7,51	5	0,13		C

**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

En el cuadro #9 se observan 3 grupos de significancia donde se encuentra el grupo A representado por la (concentración  $10^8$  x Aspersión) con una media de 9,82 y la (concentración  $10^8$  x Inmersión) con una media de 9,4 en el grupo B representado por (concentración  $10^6$  x aspersión) con una media de 8,67 y la (concentración  $10^6$  x inmersión) con una media de 8,51 y el grupo C representado por la (concentración  $10^4$  x aspersión) con una media de 7,77 y la (concentración  $10^4$  x inmersión) con una media de 7,51 lo que manifiesta que mayor porcentaje de mortalidad en el experimento fue en el grupo A pues el tratamiento 6 (concentración  $10^8$  x Aspersión) dio la media mayor a los otros tratamientos en estudio.

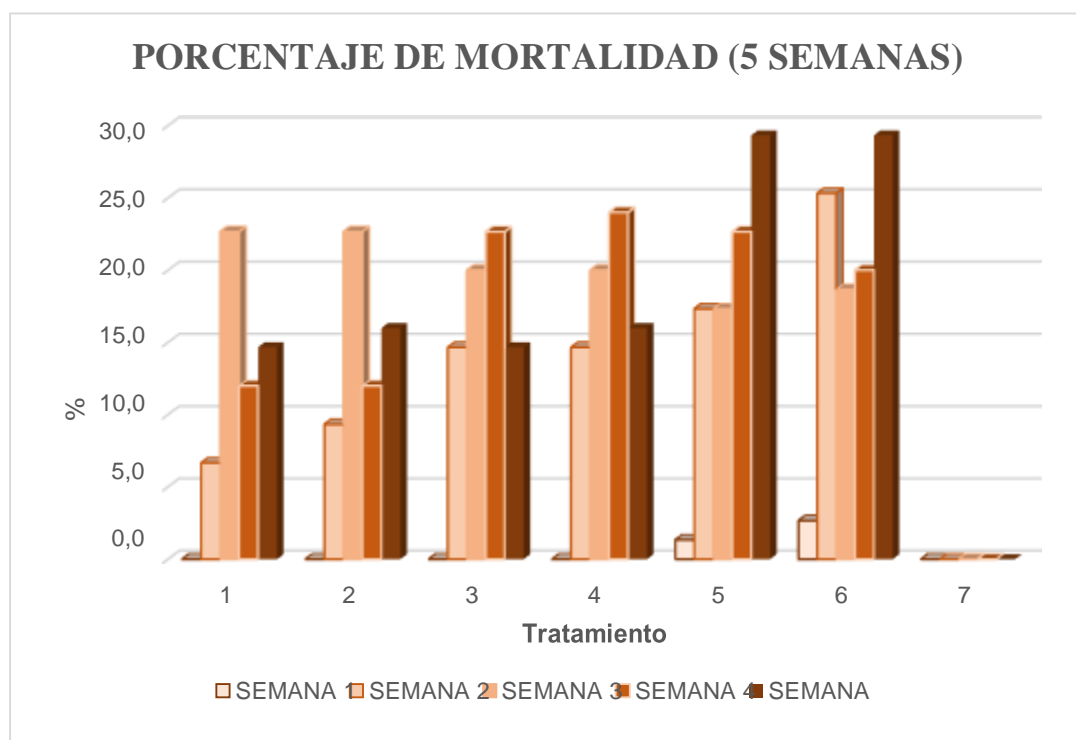
**Gráfico 9:** Prueba de Tukey al 5% para el Factor A\*B (concentración de conidios x tipos de aplicación).



**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

En el Gráfico 9, se observa dos rangos de significancia para la interacción entre el Factor A\*B (concentración de conidios x tipos de aplicación), reflejando que la concentración  $10^8$  x Aspersión es el mayor ubicándose en el rango A con una media de 9,82 y la concentración  $10^4$  x inmersión la menor ubicándose en el rango C con una media de 7,51.

**Gráfico 10:** Porcentaje semanal de Mortalidad de larvas.



**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

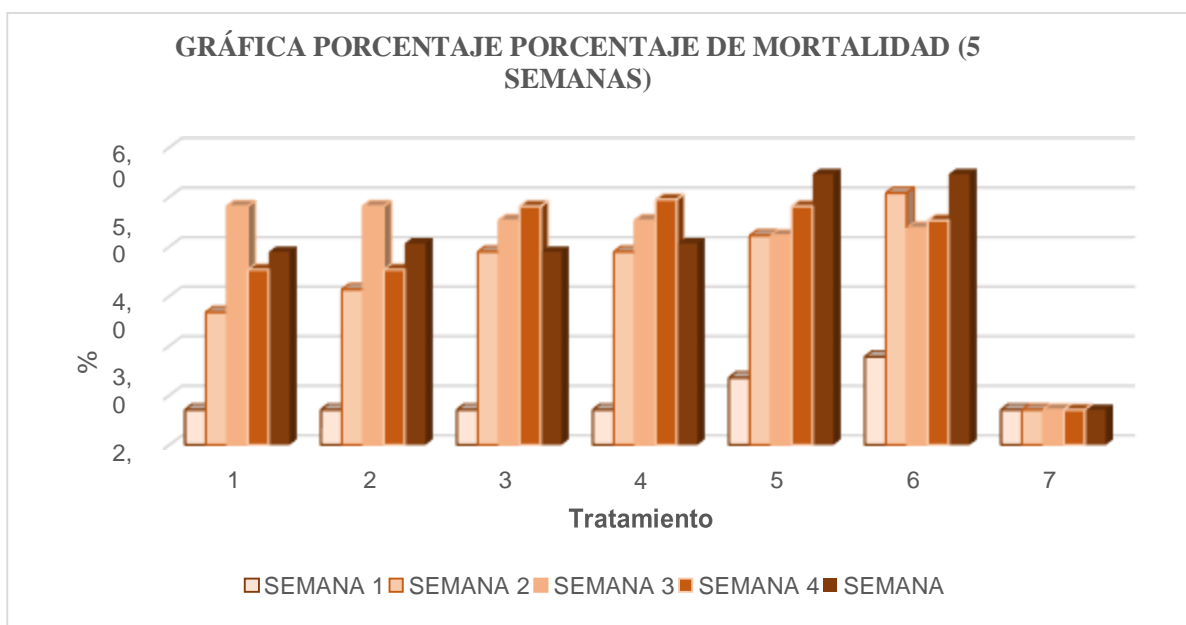
En el Gráfico 10, se observa el porcentaje de mortalidad distribuido en las 5 semanas que duró la parte experimental es decir 25 días. En dónde el (T6) que corresponde a la (concentración de  $10^8$  x aspersión) obtuvo los porcentajes más altos en la primera y segunda semana, siendo estos 2,7%, 25,3% y el 22,7% de mortalidad para la tercera semana con el T1 (concentración  $10^4$  x aspersión) y T2 (concentración  $10^4$  x inmersión), para la cuarta semana el T4 (concentración  $10^6$  x aspersión) obtuvo el porcentaje más alto con 24,0% y para la última semana el T5 (concentración  $10^8$  x Inmersión) y T6 (concentración  $10^8$  x Aspersión) obtuvieron los porcentajes más altos siendo este

el 29,3 % para ambos; en comparación con el (T7) que corresponde al testigo que no presentó mortalidad de *Premnotrypes vorax* en el transcurso de las cinco semanas.

La mortalidad de *Premnotrypes vorax*, se la registro durante cinco semanas, desde la primera semana se observó larvas muertas, previo a esto en las semanas siguientes se comenzó a observar síntomas en las larvas como es la disminución de la movilidad, menciona este mismo síntoma y otros (Arboleda, JW; Delgado, F; Valencia, 2004) que antes de matar a su hospedero le causa síntomas importantes como son: pérdida de sensibilidad, letargo y parálisis, mientras menciona (García et al., 2006) que al quinto día después de aplicar *Beauveria bassiana* se registra mortalidad de larvas de *Premnotrypes vorax*.

Expone (Inclán et al., 2007) que conforme se aumente la aplicación de *Beauveria bassiana* y las larvas se encuentren mucho más tiempo en exposición al entomopatógenos, se incrementa los promedios de mortalidad, posteriormente los promedios de mortalidad empiezan descender debido a que, el índice poblacional inicial va disminuyendo consecuencia de la mortalidad de las larvas.

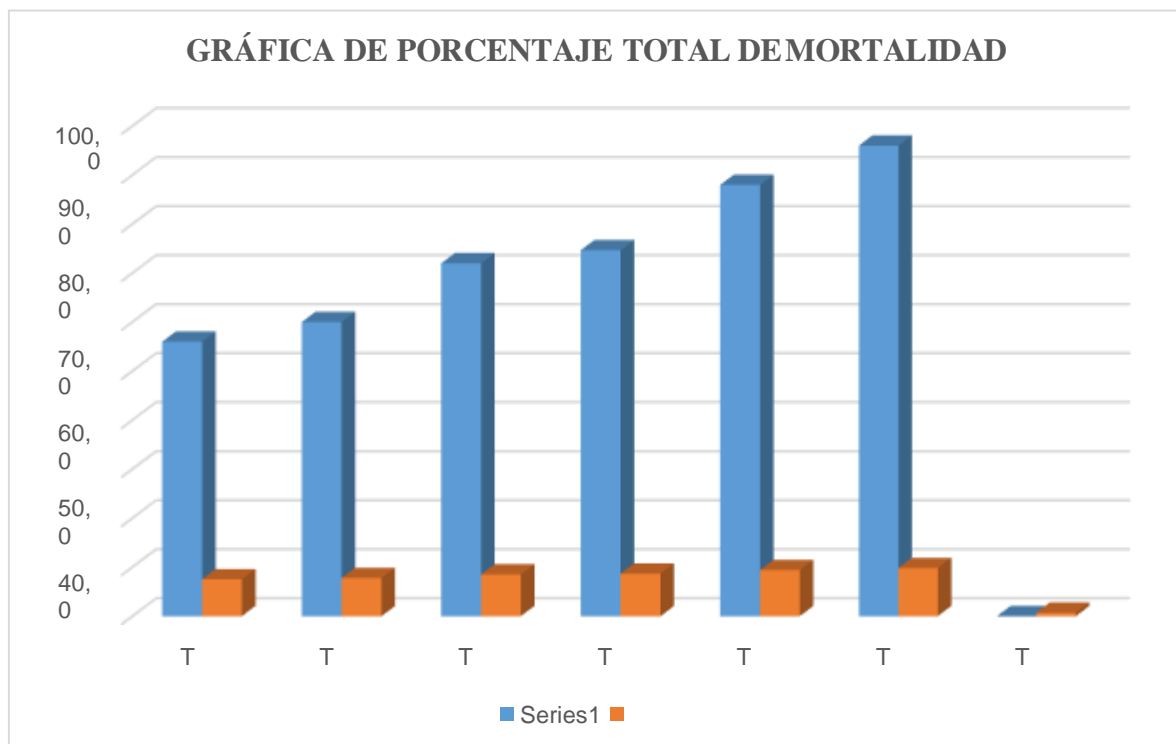
**Gráfico 11:** Porcentaje semanal de Mortalidad de larvas aplicada la fórmula de Poison.



**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

En el Gráfico 9, se observa el porcentaje de mortalidad distribuido en las 5 semanas que duró la parte experimental es decir 25 días, en la que se aplicó la fórmula de Poisson debido al testigo arroja valores de cero se recomienda aplicar dicha fórmula, en dónde el (T6) que corresponde a la (concentración de  $10^8$  x aspersion) obtuvo los porcentajes más altos en la primera y segunda semana, siendo estos 1,8%, 5,1% y el 4,8% de mortalidad para la tercera semana con el T1(concentración  $10^4$  x inmersión) y T2 (concentración  $10^4$  x aspersion), para la cuarta semana el T4 (concentración  $10^6$  x aspersion) obtuvo el porcentaje más alto con 4,9% y para la última semana el T5 (concentración  $10^8$  x Inmersión) y T6 (concentración  $10^8$  x Aspersion) obtuvieron los porcentajes más altos siendo este el 5,5 % para ambos; en comparación con el (T7) que corresponde al testigo que no presento mortalidad de *Premnotrypes vorax* en el transcurso de las cinco semanas.

**Gráfico 12:** Total del porcentaje de mortalidad.



**Fuente:** (Imbaquingo, 2022)

En el Gráfico 10 se observa, los porcentajes totales de mortalidad para cada tratamiento en donde se compara entre los porcentajes normales que equivale a un total del 100% y los porcentajes en

donde se aplicó la fórmula de Poisson para los valores de cero que tiene el testigo equivale a un total del 10%. En donde los porcentajes normales el T6 que corresponde a la (concentración  $10^8$  x Aspersión) que registró un 96% de mortalidad siendo este el mejor tratamiento; le sigue el T5 que corresponde a la (concentración  $10^8$  x Inmersión) con un 88% de mortalidad; mientras los porcentajes más bajos obtuvo el T1 que corresponde a la (concentración  $10^4$  x inmersión) que registró un 56% y finalmente se tiene el (T7) que corresponde al testigo que no presento mortalidad de *Premnotrypes vorax*, mientras que los porcentajes para la fórmula de Poisson nos indica el T6 que corresponde a la (concentración  $10^8$  x Aspersión) que registró un 9,8% de mortalidad siendo este el mejor tratamiento; le sigue el T5 que corresponde a la (concentración  $10^8$  x Inmersión) con un 9,4% de mortalidad; mientras los porcentajes más bajos obtuvo el T1 que corresponde a la (concentración  $10^4$  x inmersión) que registró un 7,5% y finalmente se tiene el (T7) que corresponde al testigo que no presento mortalidad de *Premnotrypes vorax* pero con la fórmula de Poisson se le asigna un valor de 0,7% de un valor total del 10%.

Los resultados obtenidos para el T6 (concentración  $10^8$  x Aspersión) que registró un 96% de mortalidad destacándose como el mejor, concuerdan a los resultados obtenidos de (García, 2006) quienes reportaron un 100% de mortalidad al aplicar *Beauveria bassiana* para el control de *Premnotrypes vorax*.

En el estudio realizado se determinó que para la concentración de conidios 10(8),10(6),10(4), la concentración más alta ( $10^8$ ) demuestra que es mejor concordando con (Malpartida-Zevallos et al., 2013) que haciendo relación a la concentración de conidios para su investigación las concentraciones más altas dieron mejor resultado en el control de *Premnotrypes vorax*, debido a que mayor concentración de conidios mayor incremento y producción de esporas de manera que produzca una mayor infección al gusano blanco de la papa.

En el ensayo experimental se realizó dos tipos de aplicación: por inmersión y aspersión, los resultados obtenidos para la mortalidad de *Premnotrypes vorax* demuestran que, la aplicación por aspersión es mejor que la aplicación por inmersión concordando con (Mena et al., 2003), quienes aplicaron este hongo entomopatógenos obtuvieron mayor mortalidad además (Beauveria et al., 2015) menciona que *Beauveria bassiana* al estar en contacto con el suelo permitiendo la esporulación y asegurando mantener vivas las esporas como también proporcionando la acción de

*Beauveria bassiana* y que las larvas se infecten más fácilmente concordando con lo que indica otro autor (C, 2016). El hongo normalmente ataca al insecto vía tegumento o por vía digestiva.

## CAPITULO V

### 12. CONCLUSIONES

- Se identificó mediante un análisis taxonómico que el aislado obtenidos de estiércol de conejo es *Beauveria bassiana*.
- Se estableció que *Beauveria bassiana* a partir de estiércol de conejo controla al gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*).
- Se determinó que la concentración  $10^8$  en aspersion de *Beauveria bassiana* controlo el 96 % de individuos de *Premnotrypes vorax* seguido de la concentración  $10^8$  por inmersión con 88 % de individuos muertos.

### 13. RECOMENDACIONES

- Realizar nuevos estudios probando diferentes sustratos con el fin de conocer en cual el hongo actúa de mejor manera y como es el comportamiento de la plaga.
- Estudiar el desarrollo del hongo en diferentes condiciones del suelo.
- Difundir el uso de *Beauveria bassiana* para el control biológico de gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*).
- Estudiar mayores concentraciones de conidios de *Beauveria bassiana* para el control de gusano blanco procurando un control más rápido de la plaga.
- Establecer un método de cría de las larvas de gusano blanco (*Premnotrypes vorax*) para evitar pérdidas de las larvas por factores como falta de alimento, presencia de luz, falta de humedad, etc.

## 14. PRESUPUESTO

Objetivo 1					
Actividad 1					
Rubro General	Detalle	Tamaño	Cantidad	Costo Unitario	Costo Total
<b>Recolectar heces de conejo.</b>	Envase de plástico	Mediano	1	1,50	1,50
	Espátula	Mediana	1	2,00	2,00
<b>Asilar Beauveria bassiana (Medio de cultivo).</b>	Cajas Petri de plástico	Medianas	40	0,25	10,00
	Cajas Petri de vidrio	Medianas	20	1,60	32
	Caja de disección	Mediana	1	16,00	16,00
	Papel parafilm	Mediana	1	54,00	54,00
	Antibiótico Gentamax 280	Mediana	8	1,00	8,00
	Antibiótico Gentamax 160	Mediana	5	0,85	4,25
	Agar Papa dextrosa	Mediano	1	60,00	80,00
	Plástico de cocina	Mediano	2	1,80	3,60
	Papel aluminio	Mediano	2	2,25	4,50
	Papel de cocina	Mediano	2	1,25	2,50
	Marcador	Mediano	1	0,80	0,80

<b>Identificar hongo</b>	Porta y cubre objetos	Mediano	20	0,20	4,00
	Cinta stock	Pequeña	2	0,30	0,60
<b>Subtotal Actividad</b>					<b>228,25</b>
Objetivo 2					
Actividad 2					
<b>Rubro General</b>	<b>Detalle</b>	<b>Tamaño</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Costo Unitario</b>	<b>Costo Total</b>
<b>Multiplicar Beauveria bassiana</b>	Cajas Petri de plástico	Mediana	90	0,25	22,50
	Marcador	Mediano	1	0,80	0,80
	Antibiótico Gentamax 280	Mediana	5	1,00	5,00
	Plástico de cocina	Mediano	2	1,80	3,60
<b>Subtotal Actividad</b>					<b>31,90</b>
Objetivo 3					
Actividad 3					
<b>Rubro General</b>	<b>Detalle</b>	<b>Tamaño</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Costo Unitario</b>	<b>Costo Total</b>
<b>Conteo UFC</b>	aza	Mediana	2	3,00	6,00
	Platos plásticos	Paquete	1	4,80	4,80
<b>Insumos</b>	Palillos de madera	Paquete	1	3,50	3,50
	Costales	Medianos	2	0,30	0,60

	Papas infectadas de larvas (gusano blanco de la papa)	Quintal	2	7,00	14,00
	Papa chola	Quintal	1	15,00	15,00
<b>Toma de datos</b>	Libreta	A4	1	1,25	1,25
	Esfero	Mediano	1	0,50	0,50
	<b>Subtotal de Actividades</b>				<b>45,65</b>
Actividad 4					
<b>Rubro General</b>	<b>Detalle</b>	<b>Tamaño</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Costo Unitario</b>	<b>Costo Total</b>
<b>Transporte</b>	Bus	Integrantes	1	0,60	48,00
	<b>Subtotal Actividad</b>				<b>48,00</b>
				<b>TOTAL</b>	<b>353,80</b>

## 15. BIBLIOGRAFÍA

- Ayala, O. M. (2006). Determinación de agresividad de hongos entomopatógenos para *Macroductylus* sp. (Cazzo del maíz). En O. M. Ayala, *Determinación de agresividad de hongos entomopatógenos para Macroductylus sp. (Cazzo del maíz)* (págs. 20 - 21). Quito-Ecuador: INIAP.
- Arboleda, JW; Delgado, F; Valencia, A. (2004). Deteccion de beuavericina en el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* mediante el uso de anticuerpos monoclonales. In *Revista Colombiana de Entomología* (Vol. 30, Issue 2, pp. 125–130).
- Arredondo-Vega, B. O., & Voltolina, D. (2007). Capítulo 2: Concentración, recuento celular y tasa de crecimiento. *Métodos y Herramientas Analíticas En La Evaluación de La Biomasa Microalgal*, January, 10. <https://www.researchgate.net/publication/253237563>
- Baez, F., Perdomo, C., Pincay, A., Tello, C., Villamizar, L., Jackson, T., Jaronski, S., & Viera, W. (2019). *Manual de analisis de calidad para formulaciones con base en hongos biocontroladores* (p. 45). <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5553>
- Bastidas, S., Morales, P., Pumisacho, M., Gallegos, P., Heredia, G., & Benítez, J. (2005). *El catzo o adulto del gusano blanco de la papa y alternativas de manejo. Guía de aprendizaje para pequeños agricultores*. 78.
- Beauveria, A. D. E., Villamil, J. E., Martínez, J. W., & Pinzón, E. H. (2015). *ACTIVIDAD ENTOMOPATOGÉNICA DE AISLAMIENTOS ( HUSTACHE ) IN VITRO . ENTOMOPATOGENIC ACTIVITY OF NATIVE Beauveria spp . ISOLATES AGAINST Premnotrypes vorax ( HUSTACHE )*. 20(1).
- C, J. E. V. (2016). *Hustache ( Coleoptera : Curculionidae )*. 33(1), 34–42.
- Calvache, H. (1991). Efectos de barreras vegetales y químicas en el control del gusano blanco de la papa (*premnortrypes vorax hustache*). *Revista Latinoamericana de La Papa*, 4(1).
- Camino, C., Espín, S., Samaniego, I., & Carpio, C. (2008). Estación Experimental Santa Catalina.

- INIAP. *Iniap*, 12(23), 10. <http://181.112.143.123/bitstream/41000/2827/1/iniapsc322est.pdf>
- CAÑEDO, V., & AMES, T. (2004). *Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos*. <https://doi.org/cip@cgiar.org>, [www.cipotato.org](http://www.cipotato.org)
- Chiriboga P., H., Gomez B., G., & Garces E., K. (2015). Beauveria Bassiana, hongo entomopatógeno para el control biológico de hormigas cortadoras. In *IICA (Instituto interamericano de cooperación para la Agricultura)*. <https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2646/BVE17038724e.pdf;jsessionid=15810051E3ECA9685E6C4B0ADD1280F1?sequence=1>
- Corral-Lugo, A., Morales-García, Y. E., Pazos-Rojas, L. A., Ramírez-Valverde, A., Martínez-Contreras, R. D., & Muñoz-Rojas, J. (2012). Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de “Goteo en Placa por Sellado (o estampado) Masivo.” *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(2), 147–156. <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/37416/40417>
- Cuervo Mulet, R. A., & Cali. (2010). Manual de protocolos de microbiología general. In *Biblioteca Digital Universidad de San Buenaventura*. <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsbas&AN=edsbas.3F7FF71A&lang=es&site=eds-live>
- De Ingeniería, C., Biotecnología, E. N., Los, D. E., Naturales, R., Lissette, J., & Aguirre, F. (n.d.). *UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE CUENCA “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOPESTICIDA DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO Beauveria bassiana SOBRE LA BROCA DEL CAFÉ (Hypothenemus hampei).”*
- Devaux, A., Ordinola, M., & Horton, D. (2011). Innovation for development: The Papa Andina experience. In *Innovation for development: The Papa Andina experience*. <https://doi.org/10.4160/9789290604105>
- Espinel, C., Torres, L. A., Villamizar, L. F., Bustillo, A. E., Zuluaga, M. V., & Cotes, A. M. (2018). Hongos entomopatógenos en el control biológico de insectos plaga. *Control Biológico de Fitopatógenos, Insectos y Ácaros*, 371–401.
- Estado, E. L. (2019). *LA AGRICULTURA Y*.

- Gallegos, P., Avalos, G., & Castillo, C. (1997). El gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*) en el Ecuador: Comportamiento y control. In *Variedades de papa cultivadas en el Ecuador*.
- García, M. X., Villamizar, L. F., Torres, L. A., & Cotes, A. M. (2006). Efecto de subcultivos sucesivos de *Beauveria bassiana* sobre sus características y actividad contra *Premnotrypes vorax*. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, 75, 50–56. <https://biblat.unam.mx/es/revista/manejo-integrado-de-plagas-y-agroecologia/articulo/diagnostico-del-uso-de-insecticidas-utilizados-contrabemisia-tabacigennadius-en-tomate-y-chile-en-costa-rica>
- Gómez, H., Zapata, A., Torres, E., & Tenorio, M. (2014). Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos. *Servicio Nacional de Sanidad Agrícola (SENASA)*, 37. <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2017/09/Manual-de-Producción-y-Uso-de-Hongos-Entomopatógenos.pdf>
- Guapi, A. (2012). *Evaluación de la eficacia del bioformulado de Beauveria bassiana., y tipos de aplicación para el control del gusano blanco de la papa (Premnotrypes vorax), en dos localidades de la provincia de Chimborazo*. 42.
- Inclán, D. J., Alvarado, E., & Williams, R. N. (2007). EVALUACIÓN DE CUATRO INSECTICIDAS NATURALES PARA EL CONTROL DE TECLA, *Strymon megarus* (Godart) (LEPIDOPTERA: LYCAENIDAE), EN EL CULTIVO DE PIÑA. *Tierra Tropical*, 3(2).
- INIAP. (1997). - *El Gusano Blanco de la Papa en Ecuador comportamiento y control*. 34. [iniapsc365.pdf](#). (n.d.).
- Malpartida-Zevallos, J., Narrea-Cango, M., & Dale-Larraburre, W. (2013). PATOGENICIDAD DE *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., SOBRE EL GUSANO DEFOLIADOR DEL MARACUYÁ *Dione juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) EN LABORATORIO. *Ecología Aplicada*, 12(1–2), 75. <https://doi.org/10.21704/rea.v12i1-2.440>
- McMillan, R. T., Jr, R. T., Avila, G. D. Q., Tijerina, L. C., Thysanoptera, P., On, C., Of, A., Gaskin, R. E., Pak, H. A., Wu, Y., Liu, K., Qiu, H., Li, F., Cao, Y., Restrepo, T., Tolima, N., Rodríguez-valenzuela, J., & Varón-devia, E. H. (2014). Aislamiento , identificación y

evaluación de hongos entomopatógenos como posibles agentes de control de trips ( Thysanoptera: Thripidae ) asociados a cultivos de aguacate ( *Persea americana* Miller )  
Aislamiento , identificación y evaluación de hongos ent. *Film*, 67(2), 292–297.  
<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/612/61221209.pdf>

Memorias, L. De. (2021). *IX Congreso Ecuatoriano de la Papa Agrobiodiversidad y Nutrición*  
*ARTÍCULOS DEL IX-CEP-2021 Libro de Memorias Organizado por :*

Mena, S. J., Peña, L. A., & González, R. (2003). *de Beauveria bassiana y Metarhizium anisopliae*.  
4, 49–54.

Os, C. (n.d.). *No Title*.

Peña, J. M. (2018). *Evaluación del efecto antialimentario y actividad insecticida del aceite esencial de molle (Schinus molle L .) frente al gusano blanco de la papa (Premnotrypes vorax Hustache)*. 56. [https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/28759/1/Tesis-213Ingeniería Agronómica -CD 606.pdf](https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/28759/1/Tesis-213IngenieríaAgronómica-CD606.pdf)

Peñal, L., & Bolaños, M. (2014). Manejo integrado del gusano blanco de la papa. In *Boletín divulgativo* (Issue 1, pp. 1–14).  
[http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/6445/1/Manejo integrado del gusano blanco de la papa.pdf](http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/6445/1/Manejo%20integrado%20del%20gusano%20blanco%20de%20la%20papa.pdf)

Rivera, G., & Pinto, L. (2001). Evaluación de patogenicidad de aislamientos nativos de hongos entomopatógenos sobre el gusano blanco de la papa, *Premnotrypes vorax* (Hustache). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 3(2).

Rojas, M., Jaimes, L., & Valencia, M. (2018). Efectividad, eficacia y eficiencia en equipos de trabajo. *Espacios*, 39(6).

Taxonomia, P. S. L., Nivel, F. A., & Especie, D. E. G. Y. O. (2022). *Ing. Valeria Bermudez*.

Valencia, L. (2016). El gusano blanco de la papa. *Premnotrypes vorax* (Hustache) en Colombia. I.- Comportamiento de adultos en el campo. *Revista Latinoamericana de La Papa*, 2(1), 57–70.  
<https://doi.org/10.37066/ralap.v2i1.22>

Yesserie. (2015). No Title空間像再生型立体映像の研究動向. In *Nhk技研* (Vol. 151).

<https://doi.org/10.1145/3132847.3132886>

- Changoluisa, V. (Febrero de 2020). “*EVALUACIÓN DE pH EN SUELOS ALCALINOS UTILIZANDO TRES ENMIENDAS QUIMICAS EN EL CULTIVO DE REMOLACHA (Beta vulgaris L. var Conditiva) SECTOR SALACHE, CANTÓN LATACUNGA, PROVINCIA COTOPAXI 2019-2020*”. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/6619/1/PC-000812.pdf>
- Croplife. (2012). *LATINAMERICA*. Obtenido de <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/gorgojo-de-los-andes#:~:text=Las%20p%C3%A9rdidas%20en%20rendimiento%20ocasionadas,puede%20ocasionar%20la%20p%C3%A9rdida%20total.&text=En%20Ecuador%20esta%20plaga%20afecta,%2C%20Chimborazo%2C%20Cotopax>
- García, M. (2006). *Efecto de subcultivos sucesivos de Beauveria bassiana sobre sus características y actividad contra Premnotrypes vorax*. 1659-0082.
- Herrera, F. (1997). *El gusano blanco de la papa biología, comportamiento y prácticas de manejo integrado*. Obtenido de <file:///C:/Users/Dell/Documents/TESIS/Guapi-2013-Efficacy-of-Beauveria.pdf>
- INIAP. (2022). *Agroscopio*. Obtenido de Agroscopio: <https://agroscopio.com/producto/papa-superchola/#:~:text=RENDIMIENTO%20PROMEDIO%3A%2030%20t%2Fha,alta%20calidad%20sanitaria%20y%20fisiol%C3%B3gica>.
- Jurado, A. T., Cruz, M. G., Mercado, Y., Asaff, A., & Cuenca, A. A. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista mexicana de micología*, 23:31.
- YARA. (2022). *La producción mundial de papa*. Obtenido de <https://www.yara.com.ec/nutricion-vegetal/papa/la-produccion-mundial-de->



**Fiálides**

Con una parte basal dilatada terminando en zig-zag.

**Conidios**

De contrastes hialinos, redondeadas o globosas o subglobosas unicelulares, con la base apiculada de 2.5-4,5  $\mu\text{m}$ . El raquis de 25  $\mu\text{m}$ .

**Conidióforos** células conidioforas alargadas, solitarias, de base subglobosa o cilíndrica de 3 a 20  $\mu\text{m}$  de largo por 1.3 a 4  $\mu\text{m}$  de ancho, formando racimos compactos.

**GERMINACION**

Las conidias germinan a las 20 horas de incubación, alcanzando el 99,90% de germinación.

**METABOLITOS SECUNDARIOS**

Metabolitos	Seaverictas	Basiconidias	Basiconidias A y B	Seaverictas	Basiconidias	Tremelas	Aspergillus	Acidos oxálicos	Oxalatos de calcio
Cepa 1	+	-	+	-	+	+	+	+	+

Metabolitos	Acido Fusarico	Acido Diquelico	Periconiazina	Elipogélicas	Dematiocálicas	Estreptococcos	Ciclopépticas	Pyridoverocinos
Cepa 1	+	+	+	+	-	-	-	-

**ENZIMAS DETECTADAS**

Enzimas	Proteasas	Lipasas	Aminopectidasas	Esterasas	Quitinasas
Cepa 1	+	+	+	+	+

  
 Dr. Carlos Falconi Borja PhD  
 BIONIKA LABS (PSL)  
 0999796977-3460158  
 www.bdkl.eu  
 drfalconi-labs@biosoftware.de

**Bionika**  
 LABORATORIOS  
 RUC: 1792492955001

**Anexo 2:** Recolección y separación de estiércol de conejo con más presencia de micelios.



**Anexo 3:** Medio de cultivo para el aislamiento del hongo *Beauveria bassiana* en el laboratorio.



**Anexo 4:** *Beauveria bassiana* aislada después de 15 días.



**Anexo 5:** Identificación del hongo *Beauveria bassiana* en el laboratorio con la ayuda del microscopio.



**Anexo 6:** Esterilización de herramientas para cultivos monospóricos en el laboratorio.



**Anexo 7:** Realizar los cultivos monospóricos en la cámara laminar.



**Anexo 8:** Cosecha de micelios en el microscopio.



**Anexo 9:** Medios de cultivo para siembra de *Beauveria bassiana* en el laboratorio.



**Anexo 10:** Purificación de *Beauveria bassiana* en el laboratorio.



**Anexo 11:** Multiplicación del hongo *Beauveria bassiana*.



**Anexo 12:** Elaboración de la solución madre de *Beauveria bassiana* para aplicación.



**Anexo 13:** Conteo de conidios para la determinación de la concentración a usar en el ensayo.



**Anexo 14:** Implementación del ensayo experimental.





**Anexo 15:** Implementación de unidades experimental.



**Anexo 16:** Aplicación de *Beauveria bassiana* en las unidades experimentales.





**Anexo 17:** Registro de la mortalidad de gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*).

**Anexo 18:** Mortalidad de larvas de gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*).



**Anexo 19:** Insectos muertos infestados de *Beauveria bassiana*.



**Anexo 20:** Protocolo de producción de *Beauveria bassiana*.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS  
NATURALES  
INGENIERIA AGRONÓMICA

PROTOCOLO PARA LA PRODUCCION DE *Baccharis Juncea*

AUTOR:  
Paolina Ichabagingo

TUTOR:  
Ing. Mg. Esteban Marcelo Chacang. PhD.

LATACUNGA-ECUADOR