



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA AGRONOMÍA

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE
MICROORGANISMOS ENTOMOPATÓGENOS EN DOS
SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA FAMILIAR
REPRESENTATIVOS DE LA COMUNIDAD SAN FRANCISCO

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AGRÓNOMA

AUTORA:

JESSICA BEATRIZ CULQUI QUINATO

Riobamba – Ecuador

2023



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA AGRONOMÍA

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE
MICROORGANISMOS ENTOMOPATÓGENOS EN DOS
SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA FAMILIAR
REPRESENTATIVOS DE LA COMUNIDAD SAN FRANCISCO

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AGRÓNOMA

AUTORA: JESSICA BEATRIZ CULQUI QUINATO

DIRECTORA: ING. NORMA SOLEDAD ERAZO SANDOVAL PhD

Riobamba – Ecuador

2023

© 2023, Jessica Beatriz Culqui Quinatoa

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Jessica Beatriz Culqui Quinatoa, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 01 de Junio del 2023






Jessica Beatriz Culqui Quinatoa

065011152-9

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA AGRONOMÍA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; tipo: Proyecto de Investigación, **AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS ENTOMOPATÓGENOS EN DOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA FAMILIAR REPRESENTATIVOS DE LA COMUNIDAD SAN FRANCISCO**, realizado por la señorita: **JESSICA BEATRIZ CULQUI QUINATO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Víctor Alberto Lindao Cordova PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		01-06-2023
Ing. Norma Soledad Erazo Sandoval DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		01-06-2023
Ing. Marco Aníbal Vivar Arrieta ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		01-06-2023

DEDICATORIA

El presente trabajo de titulación dedico a Dios por haberme dado salud y las fuerzas necesarias para enfrentar todos los obstáculos que se presentaron durante el transcurso de mi carrera universitaria y poder llegar hasta este momento, a mi familia por confiar en mí siempre, dándome ejemplo de superación, humildad y sacrificio fomentando en mí el deseo de superación y de triunfo en la vida, a mi mami Lida que es mi ángel se lo debo todo a ella, a mi hermano Alex por ser siempre ese apoyo que me motiva a seguir adelante, a mi cuñado Paúl por su apoyo incondicional en todo momento, a mi esposo Clever por creer en mí, por su amor, aunque hemos pasado momentos difíciles siempre ha estado brindándome todo su apoyo y el tiempo necesario para realizarme profesionalmente, a mis compañeros, amigos, quienes sin esperar nada a cambio compartieron sus conocimientos, alegrías y tristezas, a todas aquellas personas que estuvieron a mi lado apoyándome y lograron que este sueño se haga realidad.

Jessica

AGRADECIMIENTO

Agradecer a mi familia por brindarme siempre su apoyo, consejos y experiencias que fueron mi inspiración de superación. A mi hermano Alex por confiar en mí, enseñándome siempre que la vida es de persistencia constante, a mi mami Lida que es mi ángel y me bendice desde el cielo para que todo salga bien, y como no agradecer a mi esposo Clever por formar parte de mi vida y brindarme todo su apoyo y los recursos necesarios para poder realizarme profesionalmente. Agradezco infinitamente al Ing. Marco Vivar, por darme la oportunidad de realizar este trabajo de Integración Curricular dentro de su proyecto de Agricultura Familiar y por guiarme durante el desarrollo del trabajo. De igual manera, mi agradecimiento especial a la Ing. Norma Erazo, por crear un ambiente de confianza, ayudarme y guiarme en el desarrollo del trabajo hasta su culminación. A la par un inmenso agradecimiento al Ing. Juan Manzano, Ing. Gabriela Rosero, por su apoyo y guía y estar solventando siempre cualquier inquietud desde el inicio hasta la culminación de este trabajo. Un agradecimiento especial a los docentes, técnicos de la carrera de Agronomía de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo quienes me impartieron sus conocimientos, experiencias que me será de mucha utilidad y me permitirá aplicar en la vida profesional.

Jessica

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY / ABSTRACT.....	xv
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
1.1 Planteamiento del Problema	3
1.2 Objetivos	3
1.2.1 <i>Objetivo general</i>	3
1.2.2 <i>Objetivos específicos</i>	3
1.3 Justificación.....	3
1.4 Hipótesis.....	4
1.4.1 <i>Nula</i>	4
1.4.2 <i>Alternativa</i>	4
1.5 Operacionalización de variables.....	4
1.5.1 <i>Variable dependiente</i>	4
1.5.2 <i>Variable independiente</i>	4

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO	5
2.1 Microorganismos entomopatógenos.....	5
2.1.1 <i>Generalidades</i>	5

2.1.2	<i>Hongos entomopatógenos</i>	5
2.1.3	<i>Bacterias entomopatógenas</i>	10
2.1.4	<i>Nematodos entomopatógenos</i>	12
2.1.5	<i>Método de aislamiento</i>	15
2.1.6	<i>Caracterización morfológica y molecular de microorganismos entomopatógenos</i>	15
2.2	Sistemas de producción agrícola familiar	17
2.2.1	<i>Agricultura familiar</i>	18
2.2.2	<i>Importancia</i>	18
2.2.3	<i>Beneficios</i>	19
2.2.4	<i>Tipos de agricultura familiar</i>	19
2.2.5	<i>Uso de bioinsumos</i>	20

CAPÍTULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	21
3.1	Características del lugar	21
3.1.1	<i>Localización</i>	21
3.2	Materiales y equipos	22
3.2.1	<i>Materiales de campo</i>	22
3.2.2	<i>Materiales de oficina</i>	22
3.2.3	<i>Materiales de laboratorio</i>	22
3.2.4	<i>Equipos de laboratorio</i>	22
3.3	Metodología	22
3.3.1	<i>Factores en estudio</i>	22
3.3.2	<i>Especificaciones de las unidades experimentales</i>	23
3.3.3	<i>Tratamientos</i>	23
3.3.4	<i>Diseño experimental</i>	23
3.3.5	<i>Análisis de varianza</i>	24
3.3.6	<i>Análisis funcional</i>	24

3.4	Variables y métodos para evaluar	24
3.4.1	<i>Fase de campo</i>	24
3.4.2	<i>Fase de laboratorio</i>	25

CAPÍTULO IV

4.	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	29
4.1	Procesamiento, análisis e interpretación de resultados	29
4.1.1	<i>Características fisicoquímicas edáficas de los dos sistemas de producción agrícola.</i> ..	29
4.1.2	<i>Análisis de varianza para el número de cadáveres de larvas de G. mellonella con signos visibles.</i>	30
4.1.3	<i>Número de aislamientos obtenidos</i>	31
4.1.4	<i>Prueba de mortalidad de los aislamientos de hongos entomopatógenos obtenidos</i>	32
4.1.5	<i>DL50 y TL50 de los aislamientos efectivos de hongos entomopatógenos</i>	33
4.1.6	<i>Descripción morfológica y molecular de hongos entomopatógenos efectivos.</i>	36
4.1.7	<i>Pruebas de mortalidad de aislamientos de bacterias</i>	40
4.1.8	<i>Porcentaje de mortalidad de Steinernema carpocapsae</i>	40
4.1.9	<i>DL50 y TL50 de Steinernema carpocapsae</i>	41
4.1.10	<i>Coloración característica de larvas de G. mellonella infestadas con el nematodo entomopatógeno del género Steinernema carpocapsae.</i>	42
4.1.11	<i>Características morfológicas de S. carpocapsae</i>	43
4.2	Discusión de los resultados	43
4.2.1	<i>Características fisicoquímicas edáficas de los dos sistemas de producción agrícola.</i>	43
4.2.2	<i>Pruebas de mortalidad para seleccionar el aislamiento de mayor efectividad</i>	44
4.2.3	<i>DL50 y TL50 de los aislamientos seleccionados efectivos</i>	45
4.2.4	<i>Descripción morfológica de B. bassiana y M. anisopliae</i>	45
4.2.5	<i>Porcentaje de mortalidad de Steinernema carpocapsae</i>	46
4.2.6	<i>Coloración característica de larvas de G. mellonella infestadas con S. carpocapsae</i>	46
4.2.7	<i>Características morfológicas de S. carpocapsae</i>	46
4.2.8	<i>DL50 y TL50 de Steinernema carpocapsae</i>	47

4.3	Verificación de la hipótesis	47
------------	---	-----------

CAPÍTULO V

5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	48
-----------	---	-----------

5.1	Conclusiones	48
------------	---------------------------	-----------

5.2	Recomendaciones	49
------------	------------------------------	-----------

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2:	Taxonomía de <i>Beauveria bassiana</i>	7
Tabla 2-2:	Taxonomía de <i>Metarhizium anisopliae</i>	8
Tabla 3-2:	Taxonomía de <i>Isaria fumosorosea</i>	9
Tabla 4-2:	Taxonomía de <i>Lecanicillium lecanii</i>	9
Tabla 5-2:	Principales hongos entomopatógenos utilizados comercialmente en el control de insectos plagas.....	10
Tabla 6-2:	Taxonomía de <i>Bacillus thuringiensis</i>	11
Tabla 7-2:	Ubicación taxonómica para estos dos géneros	13
Tabla 8-2:	Uso comercial de los nematodos entomopatógenos (EPN) <i>Steinernema</i> y <i>Heterorhabditis</i> como bioinsecticidas.....	14
Tabla 9-2:	Taxonomía de <i>Galleria mellonella</i>	15
Tabla 10-3:	Especificaciones de las unidades experimentales.....	23
Tabla 11-3:	Tratamientos considerados en el estudio.....	23
Tabla 12-3:	Esquema del análisis de varianza.....	24
Tabla 13-3:	Propiedades fisicoquímicas evaluadas y metodología aplicada.....	25
Tabla 14-4:	Propiedades fisicoquímicas edáficas de los cultivos representativos del sistema orgánico y convencional.....	29
Tabla 15-4:	Análisis de varianza para el número de larvas de <i>G. mellonella</i> infectadas con microorganismos entomopatógenos.....	30
Tabla 16-4:	Test DMS al 5% para el Factor Sistemas	30
Tabla 17-4:	Total de aislamientos obtenidos.....	31
Tabla 18-4:	Número de aislamientos de hongos entomopatógenos y bacterias obtenidos. ..	32
Tabla 19-4:	DL50 y TL50 de los aislamientos efectivos.....	33
Tabla 20-4:	Porcentaje de mortalidad sobre larvas de <i>G. mellonella</i> utilizado como huésped para <i>S. carpocapsae</i> a los 5 y 8 días.....	40

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1-2:	Esquema resumido del espectro de acción de toxinas Bt sobre especies de invertebrados.	12
Ilustración 2-2:	Larvas de <i>Metamasius dimidiatipennis</i> a) coloración rojiza para infestaciones con el nemátodo del género <i>Heterorhabditis</i> . b) Coloración amarillo, marrón con el género <i>Steinernema</i>	14
Ilustración 3-3:	Esquema de la cámara de Neubauer.	26
Ilustración 4-4:	Porcentaje de mortalidad de 17 aislamientos de hongos entomopatógenos .	32
Ilustración 5-4:	Dosis letal media (DL50) de <i>Metarhizium anisopliae</i> SFSCC2R2-A3.	33
Ilustración 6-4:	Dosis letal media (DL50) de <i>Metarhizium anisopliae</i> SFSOC3R2-A3.	34
Ilustración 7-4:	Dosis letal media (DL50) de <i>Beauveria bassiana</i> SFSOC2R2-A1.	35
Ilustración 8-4:	Dosis letal media (DL50) de <i>Beauveria bassiana</i> SFSCC3R2-A1.	35
Ilustración.9-4:	Características macroscópicas de <i>B. bassiana</i> (SFSCC3R2-A1), a) anverso, b) reverso.	36
Ilustración 10-4:	Características macroscópicas de <i>B. bassiana</i> (SFSOC2R2-A1); a) anverso, b) reverso.	37
Ilustración 11-4:	Características microscópicas de <i>B. bassiana</i> (SFSCC3R2-A1; SFSOC2R2-A1). a) conidias globosas circulares, b) fiálides.	37
Ilustración 12-4:	Características macroscópicas de <i>Metarhizium anisopliae</i> (SFSCC2R2-A3) a) anverso, b) reverso.	38
Ilustración 13-4:	Características macroscópicas de <i>Metarhizium anisopliae</i> (SFSOC3R2-A3), a) anverso, b) reverso.	39
Ilustración 14-4:	Características microscópicas de <i>Metarhizium anisopliae</i> (SFSCC2R2-A3; SFSOC3R2-A. a) hifas ramificadas, b) conidios alargados cilíndricas.	39
Ilustración 15-4:	Porcentaje de mortalidad de larvas de <i>Galleria mellonella</i> infestadas con el nemátodo <i>Steinernema carpocapsae</i>	41
Ilustración 16-4:	Dosis letal media de <i>Steinernema carpocapsae</i>	41
Ilustración 17-4:	Color característico de larvas de <i>G. mellonella</i> infectadas con <i>S. carpocapsae</i>	42
Ilustración 18-4:	Vista al microscopio de <i>S. carpocapsae</i> a) Región cefálica y faríngea, b) Región caudal, c) Cuerpo entero, d y e) Juveniles infectivos JI.	43

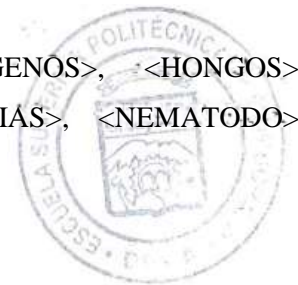
ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** IMAGEN SATELITAL DEL SITIO DE MUESTREO- COMUNIDAD SAN FRANCISCO
- ANEXO B:** MUESTREO DE CULTIVOS DEL SISTEMA ORGÁNICO
- ANEXO C:** MUESTREO DE CULTIVOS DEL SISTEMA CONVENCIONAL
- ANEXO D:** MUESTRAS DE SUELO RESPECTIVAMENTE ETIQUETADAS, LARVAS DE *G. mellonella*, PUESTAS EN TARRINAS PLÁSTICAS CAPACIDAD 1 L
- ANEXO E:** RECUPERACIÓN DE LARVAS DE *G. mellonella* A LOS 12 DÍAS Y PUESTA EN CÁMARA HÚMEDA.
- ANEXO F:** CÁMARA HÚMEDA DE LARVAS CON PRESENCIA DE MICELIO, CUERPOS BLANDOS Y AISLAMIENTO DE BACTERIAS Y HONGOS
- ANEXO G:** PREPARACIÓN DE SUSPENSIONES DE 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 DE ESPORAS/ML Y UFC BACTERIANAS/ML
- ANEXO H:** AISLAMIENTOS EFECTIVOS CORRESPONDIENTE DEL SISTEMA ORGÁNICO Y CONVENCIONAL
- ANEXO I:** LARVAS DE *G. mellonella* INFESTADAS CON *M. anisopliae* Y *B. bassiana*
- ANEXO J:** SOLUCIONES DE NEMATODOS Y VISTA AL MICROSCOPIO
- ANEXO K:** SUSPENSIÓN DEL NEMATODO PARA DETERMINAR LA DL50 DEL NEMATODO ENTOMOPATÓGENO *Steinernema carpocapsae*.
- ANEXO L:** NÚMERO DE ESPORAS/ML Y BACTERIAS/ML
- ANEXO M:** RESULTADO DEL ANÁLISIS BLAST DEL NCBI.

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue aislar y caracterizar microorganismos entomopatógenos de dos sistemas de producción agrícola familiar (orgánico y convencional) de la comunidad San Francisco. Se recolectaron 6 muestras de suelo (2kg) aplicando la técnica de muestreo en ele (L) a 20 cm de profundidad cercano a la rizosfera. Para el aislamiento de microorganismos entomopatógenos se utilizó el método de trampeo con larvas de *Galleria mellonella* L4, descrita por Zimmerman, 1986, y para su análisis estadístico un DCA bifactorial con tres repeticiones; obteniéndose 15 bacterias, 17 hongos y un nematodo con características entomopatógenas. Para determinar los aislados efectivos se realizaron pruebas de mortalidad con una concentración de 1,2 por 10 a las siete esporas/mL y bacterias/mL, que permitió identificar 4 aislamientos efectivos de hongos que causaron el 100% de mortalidad a los 5 días, pertenecientes a los géneros *Metarhizium* (SFSCC2R2-A3; SFSOC2R3-A3) y *Beauveria* (SFSCC3R2-A1; SFSOC2R2-A1) procedentes de cada sistema, que caracterizados morfológicamente y molecular corresponden a las especies de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*; en tanto que para bacterias no existió ningún aislado efectivo; en el caso del nematodo con concentraciones de 2,3 y 4 nematodos/larva causó un 70 por ciento de mortalidad a los 8 días y este fue identificado como *Steinernema carpocapsae*. Mediante Análisis Probit la Dosis Letal 50 (DL50) para *B. bassiana* (SFSCC3R2-A1; SFSOC2R2-A1) presentó 6,22 y 6,09 por diez a las siete esporas/mL y para *M. anisopliae* (SFSCC2R2-A3; SFSOC2R3-A3) 2,16 y 4,51 por diez a las siete esporas/mL, con un Tiempo letal 50 (TL50) de 5 días respectivamente; la DL50 de *S. carpocapsae* es 3 nematodos por larva, y TL50 de 8 días. Concluyendo que los hongos entomopatógenos efectivos, encontrados en los sistemas agrícolas de esta comunidad se constituyen en una alternativa de control biológico local y se recomienda realizar el bioescalado de las cepas efectivas.

Palabras clave: <MICROORGANISMOS ENTOMOPATÓGENOS>, <HONGOS>, <*Metarhizium anisopliae*>, <*Beauveria bassiana*>, <BACTERIAS>, <NEMATODO>, <*Steinernema carpocapsae*>, <COMUNIDAD SAN FRANCISCO>.



1123-DBRA-UPT-2023

SUMMARY / ABSTRACT

This research aimed to isolate and characterize entomopathogenic microorganisms from two family farming systems (organic and conventional) in San Francisco community. Six soil samples (2kg) were collected using the L-sampling technique at 20 cm depth close to the rhizosphere. The trapping method was used with larvae of *Galleria mellonella* L4, described by Zimmerman, 1986 to isolate entomopathogenic microorganisms, A bifactorial Completely Randomized Design with three replications was used for statistical analysis obtaining 15 bacteria, 17 fungi and a nematode with entomopathogenic characteristics. To determine the effective isolates, mortality tests were carried out with a concentration of 1.2 per 10 at seven spores/mL and bacteria/mL, identifying four effective fungal isolates that caused 100% mortality at 5 days, belonging to the genera *Metarhizium* (SFSCC2R2-A3; SFSOC2R3-A3) and *Beauveria* (SFSCC3R2-A1; SFSOC2R2-A1) from each system, which morphologically and molecularly characterized correspond to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* species, while for bacteria there was no effective isolate; in the case of the nematode with concentrations of 2, 3 and 4 nematodes/larvae caused 70 percent mortality after 8 days and it was identified as *Steinernema carpocapsae*; By Probit analysis the Lethal Dose 50 (LD50) for *B. bassiana* (SFSCC3R2-A1; SFSOC2R2-A1) showed 6.22 and 6.09 per ten at seven spores/mL and for *M. anisopliae* (SFSCC2R2-A3; SFSOC2R3-A3) 2.16 and 4.51 per ten at seven spores/mL, with a Time to Lethal 50 (TL50) of 5 days respectively; the LD50 of *S. carpocapsae* is 3 nematodes per larva, and TL50 of 8 days. It is concluded that the effective entomopathogenic fungi found in the agricultural systems of this community constitute an alternative of local biological control and it is recommended to perform bio scaling of the effective strains.

Keywords: <ENTHOMOPATHOGENIC MYCHROORGANISMS>, <FUNGI>, <*Metarhizium anisopliae*>, <*Beauveria bassiana*>, <BACTERIA>, <NEMATODUS>, <*Steinernema carpocapsae*>, <SAN FRANCISCO COMMUNITY>



Esthela Isabel Colcha Guashpa
C.C. 0603020678

INTRODUCCIÓN

Desde la aparición de los insecticidas de síntesis química para el control de las principales plagas de interés agrícola, se ha generalizado su uso excesivo; causando perturbaciones permanentes en la dinámica poblacional de los insectos, lo que ha mermado su control natural, por la directa afectación e incluso eliminación de los enemigos naturales (macroinvertebrados y microorganismos) que impiden la pululación de las plagas. En este escenario, la posibilidad de emplear métodos naturales para el manejo de las plagas se constituye en una alternativa viable de producción agrícola sustentable, que disminuya el impacto de esta actividad tanto en el medio ambiente, como en los agroecosistemas y en la salud humana (Hidalgo Dávila, 2017 pp. 15-23).

Una de las alternativas de uso ampliamente empleadas a nivel mundial para el control biológico son los microorganismos entomopatógenos (bacterias y hongos), que se empezaron a estudiar, difundir y aplicar desde 1835, cuando Agustino Bassi, mostró que *Beauveria bassiana* causaba una enfermedad en el gusano de seda *Bombix mori*; en 1878 Elie Metchnikoff realizó experimentos con *Metarhizium anisopliae* en el control del escarabajo *Anisoplia austriaca* (Correal Espinel, et al., 2019 pp. 338-340). En 1911 Berliner indicó que *Bacillus thuringiensis* causaba una enfermedad en el lepidóptero *Anagasta kuehniella*, y en 1938 en Francia se produjo el primer producto comercial "Sporeine", a base de la bacteria, convirtiéndose en una de las mejores opciones para bajar la huella ecológica de la actividad agrícola (Ochoa, et al., 2009 p. 21).

El control biológico tiene una larga historia de éxitos en países desarrollados y en vías de desarrollo; en América Latina el control biológico según Vega Obando (2021) inició en Brasil en 1977, donde se demostró que *M. anisopliae* fue efectivo en el control de Salivazo (Cercopidae) en caña de azúcar; siendo el punto de partida para la generación de empresas privadas dedicadas a la producción de biocontroladores en Brasil, Venezuela y Costa Rica; que posteriormente se expandieron a Chile y Colombia.

El incipiente desarrollo del control biológico en Ecuador data de 1937, de acuerdo con Viera Arroyo, et al., (2020 p. 131), a pesar de no contar con registros o reportes puntuales. El empleo de bioformulados a base de *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *B. thuringiensis* se inició en cultivos de exportación (rosas, café, cacao, banano), tomando mayor realce su utilización en la última década, y extendiendo sus estudios y su aplicabilidad a cultivos de la agricultura familiar (Castillo, et al., 2021).

La agricultura en el Ecuador se caracteriza por dos sistemas de producción agrícola; a nivel de la Costa predomina el sistema convencional en extensos monocultivos, dependientes de la tecnología y agroquímicos que maximizan el rendimiento para la exportación. En contraste, los cultivos de la Sierra y Amazonía se producen en pequeñas extensiones de 0,05 a 10 ha conocidas como Unidades de Producción Agropecuaria (UPAs), destinados para el consumo local, dentro de esto se identifica el sistema convencional también dependiente de agroquímicos y el orgánico con una tendencia marcada hacia la agroecología, que se desarrolla en policultivos, hace uso de biofertilizantes, bioinsecticidas y toda estrategia que ayude a reducir los impactos negativos; caracterizándose la agricultura familiar, por el uso de conocimientos tradicionales y aplicación de insumos producidos de manera artesanal (Bettioli, et al., 2014 p. 219; Córdova Vargas, et al., 2013 p. 34).

Anteriormente los microorganismos que comúnmente se emplean para el biocontrol, y que se expendían en el país eran procedentes del exterior; razón por la cual, al ser aplicados en nuestros ecosistemas debían pasar por un proceso de adaptación previo mermando su efectividad y encareciendo los costos de producción, por este motivo la presente investigación que se llevó a cabo dentro del Proyecto de Vinculación “**Generación e implementación de alternativas tecnológicas para los sistemas de producción agropecuario forestales de la agricultura familiar**”, tuvo como finalidad aislar y caracterizar microorganismos entomopatógenos, procedentes de muestras de suelo de la comunidad San Francisco, los cuales se encuentran adaptados a las condiciones locales, que mediante escalamiento se puedan desarrollar en bioformulados efectivos y de bajo costo.

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Planteamiento del Problema

Los sistemas de producción agrícola de la comunidad San Francisco, no cuentan con alternativas locales de control biológico, ante los ataques de plagas que merman la productividad agrícola de la zona generando así una baja rentabilidad económica para los agricultores, considerando estas atenuantes surge la siguiente interrogante: ¿Existen microorganismos entomopatógenos que se puedan aislar de los sistemas de producción agrícola de la comunidad San Francisco y puedan emplearse como biocontroladores.?

1.2 Objetivos

1.2.1 *Objetivo general*

Aislar y caracterizar microorganismos entomopatógenos en dos sistemas de producción agrícola familiar representativos de la comunidad San Francisco.

1.2.2 *Objetivos específicos*

- Aislar microorganismos entomopatógenos presentes en sistemas de producción agrícola familiar de la comunidad San Francisco.
- Seleccionar el aislamiento de mayor efectividad.
- Caracterizar morfológicamente y molecular los microorganismos seleccionados.

1.3 Justificación

La agricultura en la región Sierra, (Jácome Espinoza, 2018) reporta que se desarrolla bajo el esquema de agricultura familiar, debido a que predomina el trabajo en familia ya sea a nivel de un sistema convencional dependiente de agroquímicos, o dentro de un sistema orgánico donde se maneja cultivos biodiversos y toda estrategia que ayude a reducir el uso de plaguicidas.

Según, Viera Arroyo, et al., (2020 pp. 5-10), el uso de plaguicidas en exceso ha hecho que los patógenos generen resistencia, así como también ha causado efectos adversos en la salud humana y el ambiente, en el suelo principalmente se ha visto reflejado por la pérdida de la diversidad microbiana, evidenciando disminución de la presencia de microorganismos entomopatógenos, mismos que son reguladores del ataque masivo de plagas de interés agrícola.

Por tanto, en las últimas décadas, varias investigaciones han demostrado que el uso de biocontroladores en grandes y pequeñas extensiones de cultivo han reducido el ataque de plagas. Ante esto mi trabajo consistió en aislar y caracterizar microorganismos entomopatógenos propios de los suelos de la comunidad San Francisco, de esta manera promoviendo la agro sostenibilidad.

1.4 Hipótesis

1.4.1 Nula

H₀: No se aisló ni caracterizó ningún microorganismo entomopatógeno a partir de las muestras de suelo de los sistemas de producción agrícola de la comunidad San Francisco.

1.4.2 Alterna

H₁: Al menos se aisló y caracterizó un microorganismo entomopatógeno a partir de las muestras de suelos de los sistemas de producción agrícola de la comunidad San Francisco.

1.5 Operacionalización de variables

1.5.1 Variable dependiente

- Número de aislamientos
- Número de especies efectivas aisladas
- Número de especies caracterizadas

1.5.2 Variable independiente

- Tipos de suelo
- Manejo de los cultivos

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Microorganismos entomopatógenos

2.1.1 Generalidades

El estudio de microorganismos entomopatógenos para el manejo integrado de insectos plagas de interés agrícola, en las últimas décadas sigue dos rumbos, en la primera son investigaciones a nivel de biología molecular, genómica, proteómica, y el segundo es la elaboración y uso de bioplaguicidas a base de estos microorganismos que permitan integrar estrategias efectivas de control (Gandarilla, et al., 2017 p. 82).

A nivel mundial Ramírez, et al., (2019, p. 324), reportan que existen 500 mil especies de insectos, pero solo el 10%, son plagas agrícolas, forestales y urbanas, responsables de arrasar con extensiones de cultivos. Los daños provocados por insectos plagas generan pérdidas de hasta un 40% de la producción agrícola, frente a esto para combatirlos se usan plaguicidas sintéticos que aplicados consecutivamente generan resistencia a estos productos, siendo necesario duplicar las dosis; con consecuencias tóxicas para la salud humana y el ambiente (FAO, 2020 p. 1).

Frente a esta realidad, Pacheco Hernández, et al., (2019, p. 15), mencionan que uno de los beneficios de usar el control biológico en la agricultura es la disminución de las afectaciones adversas contra el ambiente y la salud humana; así, los biocontroladores mayormente utilizados son los microorganismos entomopatógenos como bacterias, hongos y nematodos, los cuales se caracterizan por causar una enfermedad al insecto plaga, provocando su muerte después de un corto periodo de infección.

2.1.2 Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos hoy en día juegan un rol importante en el manejo biológico de plagas en todo el mundo. Son microorganismos heterótrofos, eucariotas, unicelulares o multicelulares, que se reproducen asexualmente, y generan una gama de propágulos infecciosos. (Deka, et al., 2021 p. 2).

Estos microorganismos constituyen alrededor de 750 especies, de los cuales están conformados por 115 géneros, de estas *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* son de interés agrícola debido a su modo de acción, por ende, son mayormente utilizados, y también se deben a que son parásitos facultativos por su capacidad de infectar a todos los estadios del insecto plaga (Estrada Martínez, 2019 p. 135).

Y el descubrimiento del primer hongo entomopatógeno se atribuye al Italiano Agostino Bassi (1773–1856) en 1835, causando la enfermedad de la muscardina blanca en los gusanos de seda (*Bombix mori*) que más tarde fue nombrado *B. bassiana*, Posteriormente, años más tarde Elias Metschnikoff descubrió la muscardina verde enfermedad inducida por *M. anisopliae* (Mantzoukas, et al., 2022 p. 647).

2.1.2.1 *Ciclo de vida*

El ciclo de vida de los hongos entomopatógenos, comprende dos etapas, la primera corresponde a la parasítica que sucede cuando los conidios o blastosporas se adhieren en la epicutícula del insecto, por la acción enzimática del hongo penetra vía tegumento, obstruyendo el hemocele que es el aparato circulatorio del insecto plaga, allí secreta sustancias tóxicas y coloniza la parte interna del hospedador causándole su muerte, y termina esporulando la parte externa del insecto esto corresponde a la fase saprofitica, que posterior estos conidios visibles se dispersan por acción de diversos agentes como el viento, la lluvia, así como también por hospederos primarios y secundarios (Schapovaloff, et al., 2015 p. 139).

2.1.2.2 *Mecanismo de acción*

Los hongos actúan por adhesión de las conidios a la cutícula del insecto plaga, posteriormente generando la germinación de esporas que regularmente tarde entre 12 a 20 horas, por el cual el hongo ingresa al hemocele gracias a las enzimas que rompen la cutícula del huésped, ya dentro del cuerpo del insecto, el hongo comienza a colonizar varios órganos donde libera toxinas que prácticamente impiden el desarrollo fisiológico causándole la muerte del insecto en un periodo de 7 a 14 días (Gómez, et al., 2014 pp. 9-11).

2.1.2.3 Características principales de especies de hongos entomopatógenos

- *Beauveria bassiana*

Tabla 1-2: Taxonomía de *Beauveria bassiana*.

Reino	Fungi
Filo	Ascomicota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Cordycipitaceae
Género	<i>Beauveria</i>
Especie	<i>B. bassiana</i>

Fuente: (Damas Buenrostro, 2012 p. 15)

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

Este microorganismo entomopatógeno ataca a más de 200 especies de plagas de importancia económica, como el gusano cogollero, barrenador, broca del café, pulgones, por lo que el principal síntoma que se aprecia en insectos infectados con este hongo es una capa algodonosa, blanquecina formada por micelio y esporas, a nivel del laboratorio usando el medio de cultivo PDA, las colonias presentan mayor esporulación tornándose blanco a color crema (beige), amarillo, y en el reverso incoloras o a su vez amarillas o rojizas (García, et al., 2020 p. 4; Gómez, et al., 2014 p. 8).

A nivel microscópico *Beauveria bassiana* presenta micelios septados, conidióforos de 2 micras de diámetro con células conidiógenas, de donde surgen conidios o esporas hialinas redondas y ovaladas de 2 a 3 micras de diámetro, que se insertan en el raquis IICA (2015 p. 13).

- *Metarhizium anisopliae*

Tabla 2-2: Taxonomía de *Metarhizium anisopliae*

Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Clavicipitacea
Género	<i>Metarhizium</i>
Especie	<i>M. anisopliae</i>

Fuente: (Ortiz, 2021 p. 5).

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

M. anisopliae, es un controlador de gusanos blancos, palomillas de la col, pero los coleópteros son hospederos más comunes, así como también por su efectividad en el control es considerado el segundo microorganismo más empleado en el control biológico, y en América Latina se lo usa con mayor frecuencia en el control de especies de Cercópodos, plagas de importancia económica de la caña de azúcar (Cano, et al., 2004 p. 39).

Por tanto, los insectos plagas infestados por este microorganismo, presenta la enfermedad de la muscardina verde. Esto se debe a que las colonias al inicio son blanquecinas, pero a medida que, van madurando las conidias presentan una coloración que va desde el verde olivo, amarillo verdoso hasta llegar un verde oscuro, las colonias alcanzan un crecimiento lento ya que a los 10 días tuvieron un diámetro de 2 cm, de aspecto algodonoso, textura variable y superficie plana (Castillo, 2021 p. 31).

A nivel microscópico (Ortiz, 2021 p. 12) señala que *Metarhizium* presenta conidióforos ramificados con 2 a 3 ramas por cada septo, el conidióforo mide en promedio 7 micras las fiálides tienen forma cilíndrica, midiendo 10 micras de longitud y las conidias son truncadas, cilíndricas y unicelulares las cuales se encuentran formando cadenas de color verdoso con una medida en promedio de 6,25 micras.

➤ *Isaria fumosorosea*

Tabla 3-2: Taxonomía de *Isaria. fumosorosea*.

Reino	Fungi
Filo	Ascomicota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Cordycipitacea
Género	<i>Isaria</i>
Especie	<i>I. fumosorosea</i>

Fuente: (Nava Trejo, 2022 p. 4)

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

Antes conocido como *Paecilomyces fumosoroseus* (Flores, et al., 2013 p. 523). Es un hongo entomopatógeno de interés con una amplia distribución geográfica pudiendo encontrarse en zonas templadas y tropicales del mundo, así como también posee un extenso rango de hospederos (moscas blancas *Bemisia tabaci* y *Bemisia argentifolii*, áfidos, escarabajos) (Gandarilla, et al., 2017 p. 82).

Las colonias de *I. fumosorosea*, en medios de cultivos presentan micelio blanco tornándose rosado al madurar o coloración lila oscuro, poseen crecimiento rápido, y a nivel microscópico este hongo posee micelio de forma tabicada, conidióforo de forma verticilados con un cuello angosto donde se desarrollan conidias ovaladas (Gómez, et al., 2014 p. 8).

➤ *Lecanicillium lecanii*

Tabla 4-2: Taxonomía de *Lecanicillium lecanii*

Reino	Fungi
Filo	Ascomicota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Hypocreaceae
Género	<i>Lecanicilium</i>
Especie	<i>L. lecanii</i>

Fuente: (Shinde, et al., 2010 p. 236)

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

Las colonias de este hongo son simétricas, posee una coloración amarillenta y revés amarillo intenso, a los 10 días alcanzan un diámetro de 15 a 25 mm, a nivel microscópica se observa que los conidióforos son los que sostienen a las fiálides mismas que son erectos, anchos en la base y punta delgadas por donde salen las conidios en grupos de 2 a 6, estas forman cabezuelas elipsoidales de 2-4 μm x 1-1.5 μm , y este hongo es usado en el control de los mocos blanca y trips (Castillo, 2021 p. 32).

Tabla 5-2: Principales hongos entomopatógenos utilizados comercialmente en el control de insectos plagas.

Especie	Insecto plagas
<i>Beauveria bassiana</i>	Langostas, chapulines, áfidos, escarabajos, mosquita blanca
<i>Beauveria brogniarti</i>	Moscas, escarabajos
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Termitas, chapulines, gallina ciega, langostas, picudos del chile, algodón, escarabajos
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Mosquita blanca
<i>Lecanicillium lecanii</i>	Áfidos, trips, mosquita blanca

Fuente: (Pucheta Díaz et al., 2006)

Realizado por: Culqui, Jessica, 2022

2.1.3 *Bacterias entomopatógenas*

En general, las bacterias son organismos unicelulares más abundantes y con un tamaño de 1 a 7 μm , sin núcleo y organelos, su reproducción se realiza por bipartición, sin embargo, son de gran importancia para la ecología de la tierra, ya que por ejemplo están relacionados bacteria – insecto, ya que cuando las larvas nacen, ingieren bacterias que siempre estuvieron alrededor de los huevos, que ahora formaran parte del tracto gastrointestinal (Grijalba, et al., 2019 p. 300).

Según Ramírez, et al., (2019 p. 56) aproximadamente 90 especies bacterianas son capaces de causar enfermedades en insectos plagas y Pacheco Hernández, et al., (2019 p. 8); Sauka, et al., (2021 p. 6), coinciden en cuanto a las especies bacterianas mayormente utilizadas por su efectividad en el control de plagas en estado larval del orden Díptera y ácaros son *Bacillus thuringiensis*, que a base de este se han desarrollado bioinsecticidas que han tenido gran éxito hasta hoy en el campo agrícola así también tenemos otras especies como son *B. popilliae*, *B. sphaericus* y *B. moritai*, que son utilizadas dentro del manejo integrado de plagas.

2.1.3.1 Mecanismo de acción

El mecanismo de acción en bacterias entomopatógenas es por ingestión, tras esto la solubilización de los cristales que conlleva a la activación de toxinas y liberación de las proteínas activas de las toxinas Cry, para la difusión desde la parte interna del intestino del insecto, posterior la unión con receptores específicos (células intestinales), y esta fusión se da en dos fases, de manera reversible cuando interacciona la toxina con el sitio de unión receptor, actuando los dominios II y III, en cambio la irreversible, sucede cuando la proteína receptora del insecto termina insertándose en la membrana, posteriormente surge la formación de poros que culmina en un desequilibrio osmótico, donde el intestino medio es invadido por las esporas llevando al insecto cese su alimentación y la muerte del insecto en un periodo entre 12 horas a 5 días (Jiménez, 2019 pp. 9-12).

2.1.3.2 Principales bacterias entomopatógenas

➤ *Bacillus thuringiensis*

Tabla 6-2: Taxonomía de *Bacillus thuringiensis*.

Reino	Bacteria
Filo	Fermicutes
Clase	Bacilli
Orden	Bacillales
Familia	Bacillaceae
Género	<i>Bacillus</i>
Especie	<i>B. thuringiensis</i>

Fuente: (Villareal Delgado, et al., 2018)

Realizado por: Culqui, Jessica,2022

Es una bacteria con mayor distribución en el mundo, gram positiva, forma de bacilos y cocos, forman esporas estructuras que son de resistencia, constituidas por proteínas Cry, que son tóxicas al ser ingeridos por plagas susceptibles y estas proteínas Cry tienen propiedades insecticidas específicas para cada una de las especies de insectos (ver **Ilustración 1-2**), y también por sus esporas facilita su capacidad de diseminación y la supervivencia en los ecosistemas, haciendo posible a que se pueda utilizar en investigaciones a nivel de campo e invernadero (Ruiz de Escudero, et al., 2006 p. 5).

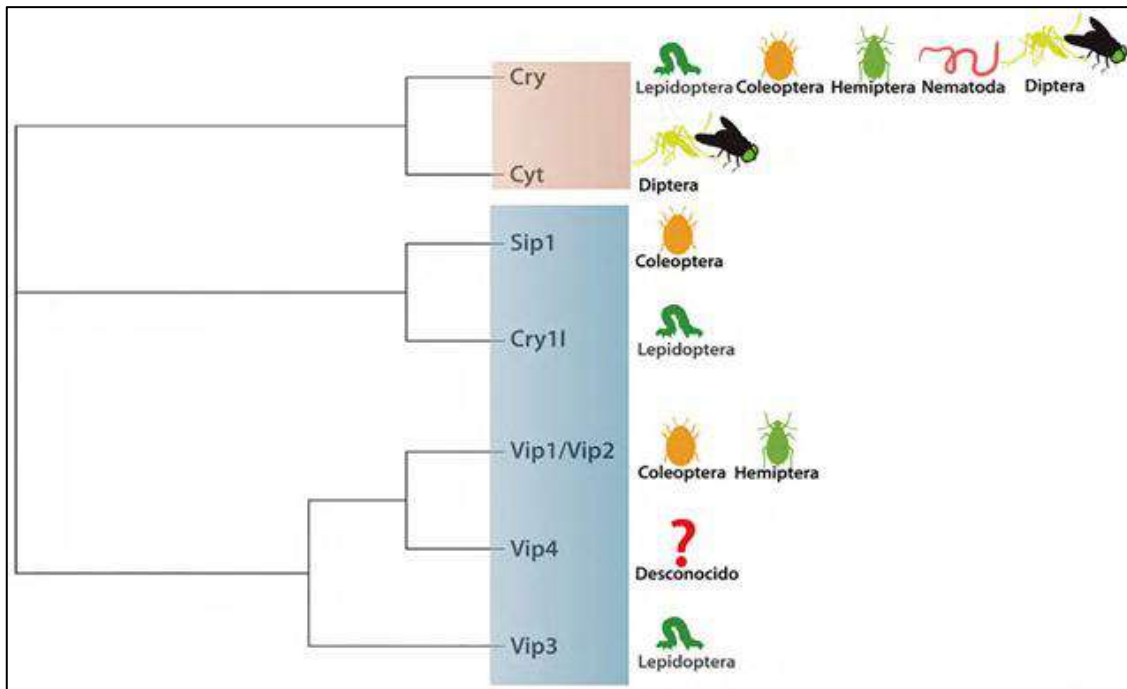


Ilustración 1-2: Esquema resumido del espectro de acción de toxinas Bt sobre especies de invertebrados.

Fuente: (Pinos et al., 2019)

Realizado por: Culqui, Jessica, 2022

Debido a que no deja residuos, *B. thuringiensis*, es ampliamente utilizado como pesticida biológico para controlar principales insectos plagas que son causales de generar grandes pérdidas en los cultivos agrícolas, y a su vez insectos que transmiten enfermedades (Crickmore, 2005 p. 1).

2.1.4 *Nematodos entomopatógenos*

Los nematodos no presentan sistema óseo, segmentación, apéndice, sistema circulatorio, respiratorio, pero si tiene un tracto digestivo completo, un sistema reproductor bien desarrollado, un sistema nervioso, muscular excretor especializado, de las 30 familias de nematodo 7 son entomopatógenas como son: Mermithidae, Allantonematidae, Neotylenchidae, Sphaerularidae, Rhabditidae, Steinernematidae y Heterorhabditidae, pero las más comunes son estas dos últimas (Polack, et al., 2020 p. 249).

2.1.4.1 *Steinernema* y *Heterorhabditis*

Tabla 7-2: Ubicación taxonómica para estos dos géneros

Reino	Animalia
Filo	Nemátoda
Clase	Secernentea
Orden	Rhabditida
Familia	Steinernematidae y Heterorhabditidae
Género	<i>Steinernema</i> y <i>Heterorhabditis</i>
Especie	<i>S. carpocapsae</i>

Fuente: (Hernández Velázquez, et al., 2016)

Realizado por: Culqui, Jessica, 2022

Como todos los nematodos el ciclo de vida incluye, un estadio de huevo y cuatro estadios juveniles (J1, J2, J3, J4) y los adultos. Son parásitos obligados y tienen una relación simbiótica con bacterias gram negativas de la familia Enterobacteriaceae, aquí actúa el estadio juvenil (J3) parasitando a la larvas de insectos por la boca, ano y espiráculo llegando hasta el interior del hospedante donde libera a la bacteria simbiote *Xenorhabdus nematophilus*, los insectos afectados se tornan de color amarillo y marrón claro, consecuentemente se produce la muerte en un periodo de 24 a 48 horas, mientras que la relación simbiótica para *Heterorhabditis* es con la bacteria del género *Photorhadus luminiscens* (Reyes, 2009 p. 4).

Por lo que, en óptimas condiciones, los nematodos se multiplican y pasan 2 a 3 generaciones dentro del insecto, al devorar todo el alimento los J3, se cubren con la cutícula del insecto y salen a buscar otros insectos plagas que les sirva de hospedero, ya que con las reservas suficientes los nematodos en el suelo pueden sobrevivir alrededor de 4 a 6 meses, a diferencia de la bacteria simbiote, que necesita del J1, para permanecer latente. De acuerdo con (Sajnaga, et al., 2020 p. 19), el ciclo de vida de todos los microsimbiontes EPN es similar y puede dividirse en tres fases: forética en el huésped nemátodo, patógena en el cuerpo del insecto y saprófita en el cadáver del insecto.

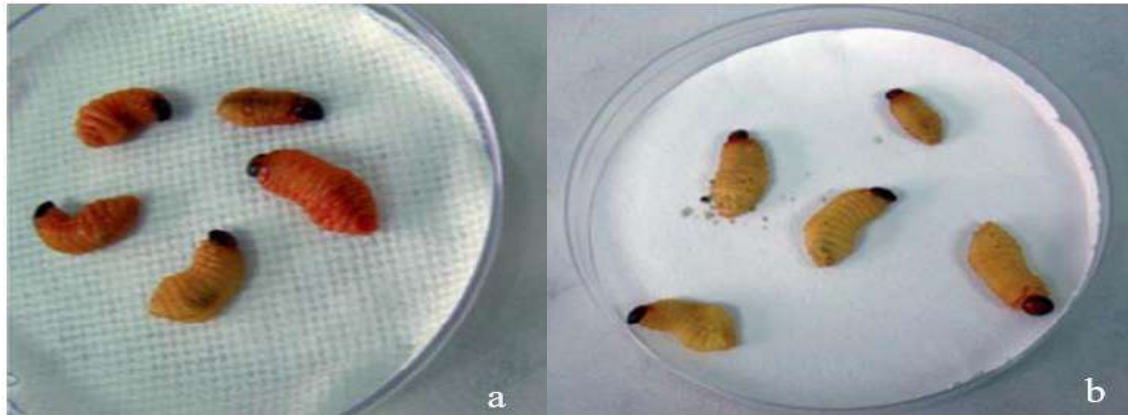


Ilustración 2-2: Larvas de *Metamasius dimidiatipennis* a) Coloración rojiza para infestaciones con el nemátodo del género *Heterorhabditis*. b) Coloración amarillo, marrón con el género *Steinernema*.

Fuente: García Caicedo, et al., (2013 p. 9)

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

Se muestra diferentes especies de nematodos entomopatógenos en la tabla 8-2, que son fuente de diversos productos comerciales como bioinsecticidas, que sirven como biocontroladores para una diversidad de plagas de importancia agrícola, que hoy en día, su uso ha tomado gran relevancia con el fin de promover una producción agro sostenible para preservar el medio ambiente y la salud humana.

Tabla 8-2: Uso comercial de los nematodos entomopatógenos *Steinernema* y *Heterorhabditis* como bioinsecticidas.

<i>Steinernema carpocapsae</i>	Polillas del banano, de la manzana, anilladores de arándanos, barrenadores del cornejo, del melocotonero.
<i>Riobrave Steinernema</i>	Picudos de la raíz de los cítricos.
<i>Heterorabditis bacteriófora</i>	Gusanos blancos (escarabajos), gusanos cortadores, escarabajos pulgas, gusanos de la raíz del maíz, gorgojos de la raíz de los cítricos.
<i>Heterorabditis marelatus</i>	Gusanos blancos (escarabajos), gusanos cortadores.

Fuente: (Nastaran, et al., 2012)

Realizado por: Culqui, Jessica, 2022

2.1.5 Método de aislamiento

2.1.5.1 Aislamiento con insecto trampa

Esta metodología consiste en utilizar un insecto trampa principalmente larvas de *Galleria mellonella* instar L4 usualmente conocidas como la polilla de cera, que es una de las principales plagas que destruyen enjambres de abejas, pero a nivel de laboratorio permiten aislar microorganismos entomopatógenos de muestras de suelos de un cultivo de interés muestreados cercanos a la rizosfera a 20 cm de profundidad (Galán, 2012 pp. 23-24).

Tabla 9-2: Taxonomía de *Galleria mellonella*

Reino	Animalia
Filo	Arthropoda
Clase	Insecta
Orden	Lepidóptera
Familia	Pyralidae
Género	<i>Galleria</i>
Especie	<i>G. mellonella</i>

Fuente: (Ortiz, 2021)

Realizado por: Culqui, Jessica, 2022

En cuanto al ciclo biológico de *G. mellonella*, Ortiz Villacis (2021 p. 12) indica que aproximadamente es de 50 a 60 días, con cuatro fases: durante la fase de huevo eclosiona de 5 a 8 días a temperatura de 24 a 27°C, mientras que la larva pasa de 1 a 23 mm en 28 días a una temperatura de 29 a 35°C, en cambio la pupa dura 9 semanas a temperaturas de 29 a 35°C, y finalmente el adulto sobrevive de 1 a 3 semanas a temperaturas de 29 a 35°C y oviposita entre 300 y 1000 huevos.

2.1.6 Caracterización morfológica y molecular de microorganismos entomopatógenos.

2.1.6.1 Caracterización macroscópica

La caracterización macroscópica parte de la siembra en la parte central de una caja Petri con medio de cultivo de una especie fúngica a estudiar, empleando una aguja de transferencia, en cambio en bacterias se lo hace tomando una muestra con el asa y haciendo un estriado compuesto sobre la superficie del medio y estas cajas selladas, etiquetadas e incubadas a una temperatura de 20 a 30° C, dependiendo el microorganismo registrando datos por un lapso de 3 a 15 días, si la

colonia microbiana presenta parámetros como forma, elevación, margen superficie, textura, tamaño (Pinto, 2017 pp. 8-9).

2.1.6.2 Caracterización microscópica

Consiste en utilizar un microscopio para observar y analizar las estructuras de los microorganismos entomopatógenos como tamaño y forma de conidios y conidióforos, en placas preparadas con tinción de azul de algodón (Pinto, 2017 p. 9). En bacterias la caracterización microscópica se realiza mediante la observación de las estructuras con tinción Gram (Clavijo, et al., 2012). Para el caso de nematodo permite observar la forma, medir la longitud y diámetro del cuerpo (Pallo, 2017 p. 5).

2.1.6.3 Caracterización molecular

Para la identificación de cepas de microorganismos de uso potencial se han llevado a cabo diferentes técnicas moleculares que han permitido identificar especies en particular. Una de las técnicas, es la secuenciación del ADN, así como también otras de las técnicas ampliamente utilizada es la reacción en cadena de la polimerasa (Soto, 2008 pp. 23-24).

2.1.6.3.1 Marcadores moleculares para la identificación de hongos y bacterias

PCR

Una técnica que hace múltiples copias de una región de ADN donde se conoce la región que se va a secuenciar, el mismo segmento de ADN se copia una y otra vez para seleccionar la región a amplificar utilizando dos pequeños fragmentos de ADN complementarios en los extremos del segmento de ADN. Un fragmento de ADN de interés unido a ambas cadenas de la doble hélice de ADN se puede utilizar como cebador para la enzima responsable de la síntesis de ADN, la ADN polimerasa (Beltrán Plaza, et al., 2019 p. 44).

Región ITS

La secuencia ITS, para hongos se presenta como un código de barras con dos separadores internos transcritos denominados ITS1 e ITS2, destacando de la secuencia ITS es que no hay presencia de genes insertados en la región, permitiendo que se desarrolle sin ninguna restricción, por ende,

cambia rápidamente, debido a esta propiedad el ITS se utiliza para diferenciar entre miles de especies de hongos (Alm, et al., 2016).

Gen 16S rRNA

Conocido como ADN ribosómico 16S, consta de unos 1500 nucleótidos, que componen una estructura secundaria con segmentos de doble cadena que apoyan la formación de asas y hélices, se considera el marcador molecular más empleado de todos los tiempos para la identificación de bacterias a partir de muestras metagenómicas, lo que permite clasificar las especies a nivel taxonómico (Valenzuela González, et al., 2015).

Secuenciación por el método de SANGER

Sintetiza una hebra de ADN complementaria a una de cadena simple que se emplea como molde en presencia del ADN polimerasa, cuatro 2'-desoxinucleótidos (dATP, dGTP, dCTP y dTTP) y cuatro didesoxinucleótidos (ddATP, ddGTP, ddCTP y ddTTP) que componen la secuencia de ADN. Estos últimos nucleótidos especiales, terminales, están diseñados para que no tengan un grupo 3'-OH, lo que permite la adición de nucleótidos consecutivos, de manera que cuando uno de ellos es incorporado por la polimerasa, la síntesis de la nueva hebra se interrumpe, obteniendo como resultado la secuenciación de fragmentos de diferentes tamaños, dependiendo de dónde se incorpore el didesoxinucleótido. De esta manera, la secuencia puede determinarse mediante electroforesis simple (Beltrán Plaza, et al., 2019 p. 44).

2.2 Sistemas de producción agrícola familiar

A nivel mundial esta agricultura produce más del 80% de alimentos, y emplea al 30% de la población mundial (Bindeau et al., 2022 p. 2). En América Latina el 23% de las tierras están en manos de agricultores familiares, aunque en la parte andina es menor con un 13%, y América del Sur se convierte en la región líder con un 56%, seguido de América central y México un 35%, y el Caribe con un 9% de las explotaciones agrícolas (ONU, 2019 p. 1).

Dentro de los sistemas de producción agrícola se tiene el sistema convencional que principalmente en la Sierra en las provincias del Azuay, Imbabura, Loja y Chimborazo se desarrolla bajo el esquema de agricultura familiar en la producción de legumbres y hortalizas en minifundios que son extensiones menores a 5 hectáreas, abasteciendo al mercado local, en cambio, en las provincias de la Costa Ecuatoriana su producción es dirigida hacia la exportación que se desarrolla

en extensiones mínimo de 20 hectáreas (Jácome Espinoza, 2018). Por ende, la agricultura convencional involucra monocultivos, uso de agroquímicos, uso de semillas híbridas y toda tecnología necesaria para cada etapa productiva, con el objetivo de generar el máximo rendimiento, para la recuperación del capital invertido (Martínez Castillo, 2009 p. 24).

Por otra parte, el sistema orgánico se caracteriza por conjugar varias estrategias que reducen el uso de agroquímicos como son, el uso de rotaciones de cultivos, aprovechamiento de los residuos vegetales, estiércoles de animales, cultivos de cobertera, abonos verdes, uso de micro y macro organismos benéficos, uso de las características alelopáticas de ciertas especies de plantas con la finalidad de mantener la salud del suelo, del producto, del ecosistema y la salud del consumidor, de esta manera su producción se desarrolla como policultivos que reducen el ataque de plagas (Chávez, et al., 2021 pp. 151-156).

2.2.1 Agricultura familiar

Según, Salcedo, et al., (2014 p. 22) el concepto de agricultura familiar se origina a fines del siglo XIX y comienzos del siglo XX, provenientes del planteamiento de Chayanov, que fundamenta la teoría de unidad económica campesina, donde describe el modo de organización, de relación y vinculación con el sistema económico indicando de esta manera a la economía campesina que es fortalecida por el trabajo familiar, mostrando una gran diferencia de las empresas capitalistas que se orientan al valor del cambio.

Por lo que la definición, de agricultura familiar a más de relacionarse directamente con el trabajo familiar, este incluye el manejo de sus sistemas de cultivos diversificados, el equilibrio entre emprendimiento y familia ya que todos los miembros de la familia toman decisiones, se caracteriza también porque los predios son heredados a sus descendientes y la producción agropecuaria contribuyen a mejorar la economía rural (Sánchez, 2018 pp. 6-7).

2.2.2 Importancia

La importancia de la agricultura familiar radica principalmente en aplicar prácticas agro sostenibles innovadoras contribuyendo en la soberanía y seguridad alimentaria, así como también es fuente de empleo para la población del sector rural ya que a nivel nacional esta agricultura sustenta el 70% de la demanda de alimentos para la población. Ya que el 80,4% de los agricultores ecuatorianos formados por pequeños y medianos productores poseen de 1 a 20 hectáreas para la producción agrícola que está destinada al autoconsumo y al mercado (FAO, 2022 p. 1)

Por otra parte, (Salazar, 2020 p. 34) menciona que, en Ecuador, la economía se ve reflejada por la explotación petrolera, sin embargo, luego de la pandemia la agricultura campesina e indígena adquiere un valor estratégico, evidenciando una estrecha relación existente entre la agricultura y la salud humana, ratificando y valorando a la agricultura familiar como el segundo ente más importante dentro de la economía de un país.

2.2.3 Beneficios

Pese al abandono del sector rural a causa de la emigración de los jóvenes, la agricultura familiar ha ido innovando y cobrando importancia en los beneficios principales que genera la producción agroecológica tales como salvaguardar la seguridad alimentaria, nutricional, económica, así como también la preservación de la salud del suelo, restaurar la biodiversidad, reciclar nutrientes (FAO, 2014 p. 1).

Por otra parte, el mismo autor menciona que la agricultura familiar, permite impulsar la economía local, mediante la producción agrícola biodiversa y si hacemos agricultura de exportación contribuye a la economía de todo un país, ya que esta agricultura no está solo enfocada en la parte agrícola si no también, hacia la parte pecuaria, silvícola, acuícola, así como también el turismo comunitario.

2.2.4 Tipos de agricultura familiar

2.2.4.1 Agricultura familiar de subsistencia AFS

Se caracteriza del resto porque no contrata mano de obra, así como también la producción usando prácticas tradicionales, con bajo nivel tecnológico, con el objetivo de preservar los ecosistemas naturales para las actuales y futuras generaciones (Chininín, et al., 2019 pp. 382-400).

Valle Martínez, (2014) muestran claramente que predomina la agricultura familiar de subsistencia principalmente en la región Sierra, que es enfocada al trabajo familiar, seguido de la Amazonia, por tanto, la agricultura familiar consolidada que usa mano de obra permanente es menor, Y agricultura de transición que contrata mano de obra permanente se desarrolla mayormente en la región Costa.

2.2.4.2 Agricultura familiar de transición AFT

Maroto Arce (2015 p. 8), indica que la característica de esta agricultura de transición es que contrata mano de obra ocasionalmente e incluye predios productivos, con un acceso considerable hacia los recursos, por tanto, la producción está orientada hacia el autoconsumo y la otra parte con destino hacia el mercado.

2.2.4.3 *Agricultura familiar consolidada AFC*

Esta agricultura se diferencia porque contrata mano de obra permanente, explota el recurso tierra con mayor potencial, tiene acceso a mercados locales internacionales, desarrollan investigación e invierten en tecnología, poseen capital propio, capacitación constante, y genera excedentes para la capitalización de la unidad productiva (Bessy, et al., 2018 p. 224).

2.2.5 *Uso de bioinsumos*

En general, los bioinsumos son productos orgánicos elaborados a partir de microorganismos, bacterias, hongos o virus beneficiosos que se utilizan para mejorar la producción, la salud de las plantas y las propiedades biológicas del suelo. Por lo tanto, el mercado agrícola actualmente necesita insumos para la producción, que sean amigables con el medio ambiente y no causen efectos adversos al momento de emplear en los cultivos, es decir. sean sostenibles y más eficientes (Rocha, 2020 p. 10).

Pero estos bioinsumos, para ser comercializados, implica estudios que tardan entre cinco hasta los diez años, y estas investigaciones deben estar asociadas a la diversidad microbiana a cada tipo de suelo de determinada localidad, así como cultivos vegetales y procesos ecológicos inherentes, para que sean eficientes de esta manera, cumplan con los estándares de calidad, ante las entidades regulatorias de cada país, evitando la pérdida de confianza de los productos biológicos (Zambrano, et al., 2015 p. 14).

Actualmente los microorganismos entomopatógenos, como *M. anisopliae* es agente activo de formulaciones comerciales como Metaril 10 WP para el control de una variedad de insectos plagas como Coleópteros, hemípteros, lepidópteros, entre otros (Moreno et al., 2013 p. 1). De la misma manera, en nuestro país empresas como MICROTECH, FENECSA, MICROBIOLAB entre otras, presentan bioformulados a base de *B. bassiana*, así como también de bacterias del género *Bacillus* (Linor), que pueden ser empleados en una amplia diversidad de cultivos como hortalizas, leguminosas, maíz, entre otras para el control de plagas de importancia agrícola.

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1 Características del lugar

La comunidad San Francisco de Cunuguachay cuenta con una superficie de 751,211 ha, la taxonomía de estos suelos corresponde al orden Entisol, cuentan con una población de 1000 habitantes conformada por 260 familias (PDyOT, 2015). De estas 32 familias forman parte de la asociación de quineros que trabajan en conjunto con la Fundación Maquita Cushunchic, en el fortalecimiento de la producción agroecológica de quinua, en la implementación de huertos familiares y en la producción de abonos orgánicos, como alternativa para consolidar una economía circular con las comunidades aledañas.

3.1.1 Localización

El presente trabajo de investigación inició con la recolección de muestras de suelo de dos sistemas de producción agrícola de la comunidad San Francisco, perteneciente a la parroquia Calpi, posterior, se desarrolló dentro de Laboratorio de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH, ubicado en la parroquia Lizarzaburu; ambos sitios pertenecientes al cantón Riobamba, provincia de Chimborazo.

a. Ubicación geográfica

Latitud:1°36'59.03'S

Longitud:78°45'48,6'O

Altura:3256 msnm (UTM Geo Map, 2022)

b. Características climáticas

La comunidad San Francisco de Cunuguachay, posee una temperatura promedio que oscila de 5 a 13,47 °C, una precipitación anual de 250 a 750 mm y una humedad relativa del 68% (PDyOT, 2015)

c. Características ecológicas

La clasificación ecológica, de la comunidad San Francisco según (Calderón Vallejo, 2011) es páramo arbustivo.

3.2 Materiales y equipos

3.2.1 *Materiales de campo*

Barreno, fundas ziploc, pala de jardín, marcador, atomizador con alcohol, papel absorbente, cooler, muestras de suelo y app GPS móvil.

3.2.2 *Materiales de oficina*

Computadora, impresora, cámara fotográfica, celular, libreta de apuntes, esferos y marcadores permanentes.

3.2.3 *Materiales de laboratorio*

Tarrinas transparentes capacidad 1L, papel filtro, vaso de precipitación (10-100mL), alcohol etílico (70° y 96°), cajas Petri, medio selectivos Agar Nutritivo (AN) y Agar Papa Dextrosa (PDA), cloranfenicol, mechero de bunsen, papel film, agua destilada, sacabocados, asas triangulares de Drigalski, micropipeta variable (10-100 µL), rastrillos de vidrio y cámara de neubauer.

3.2.4 *Equipos de laboratorio*

Microscopio, estereoscopio, cámara de flujo laminar, refrigeradora, balanzas, autoclave e incubadora.

3.3 Metodología

3.3.1 *Factores en estudio*

Los factores en estudio son:

- Factor A: Sistema de cultivos convencional (SC) y orgánico (SO).
- Factor B: Tres cultivos representativos de cada sistema (C1, C2 y C3).
- Interacción A*B: Sistemas por cultivos.

3.3.2 Especificaciones de las unidades experimentales.

Tabla 10-3: Especificaciones de las unidades experimentales.

Especificaciones	Cantidad
Factor A (Sistema convencional y orgánico)	2
Factor B (3 Cultivos representativos)	3
Número de repeticiones	3
Número de unidades experimentales	18

Realizado por: Culqui, Jessica,2022

3.3.3 Tratamientos

Tabla 11-3: Tratamientos considerados en el estudio.

Tratamientos	Sistemas	Cultivos	Codificación	Descripción
T1	SC	C1	SFSCC1	San Francisco, Sistema Convencional: cultivo 1
T2	SC	C2	SFSCC2	San Francisco, Sistema Convencional: cultivo 2
T3	SC	C3	SFSCC3	San Francisco, Sistema Convencional: cultivo 3
T4	SO	C1	SFSOC1	San Francisco Sistema Orgánico: cultivo 1
T5	SO	C2	SFSOC2	San Francisco, Sistema Orgánico: cultivo 2
T6	SO	C3	SFSOC3	San Francisco, Sistema Orgánico: cultivo 3

Realizado por: Culqui, Jessica,2022

3.3.4 Diseño experimental

Se aplicó un diseño completo al azar bifactorial con 6 tratamientos constituidos por la interacción de dos factores (sistemas x cultivos) y tres repeticiones.

3.3.5 Análisis de varianza

Tabla 12-3: Esquema del análisis de varianza.

Fuentes de variación	Grados de libertad
Repeticiones ($r - 1$)	2
Sistemas ($S - 1$)	1
Cultivos ($C - 1$)	2
Sistemas*cultivos ($S - 1$) ($C - 1$)	2
Error experimental ($(r \times S \times C) - 1$) - ($r - 1$) - ($S - 1$) - ($C - 1$) - ($S - 1$) ($C - 1$)	10
Total ($r \times S \times C$) - 1	17

Realizado por: Culqui, Jessica, 2022

3.3.6 Análisis funcional

- Para el factor A (Sistemas de cultivo), si hay diferencias significativas se aplicó DMS al 5%.
- Para el factor B (3 cultivos representativos) se utilizó la prueba de TUKEY al 5%.

3.4 Variables y métodos para evaluar

3.4.1 Fase de campo

3.4.1.1 Área de estudio

Para la selección del área de estudio en la comunidad San Francisco se identificó el sistema convencional con los **monocultivos** de brócoli, cebolla y maíz, así como también el sistema orgánico estuvo compuesto por los **policultivos**: el primero (brócoli, acelga, lechuga, cebolla, col y remolacha); el segundo (col, cebolla, nabo, acelga, brócoli y orégano) y el tercero (maíz, fréjol, habas) que fueron muestreados y georreferenciados.

3.4.1.2 Recolección de las muestras de suelo

De los tres cultivos representativos de cada sistema agrícola (convencional y orgánico), mediante la técnica de muestreo en ele (L), se colectaron seis muestras compuestas de suelo de aproximadamente 2 kg cercano a la rizosfera a 20 cm de profundidad que fueron puestas en fundas ziploc, respectivamente etiquetadas y transportadas en un cooler a temperatura aproximada de 4° C, hasta el laboratorio para el desarrollo de la investigación.

3.4.2 Fase de laboratorio

3.4.2.1 Caracterización edáfica

Para el análisis fisicoquímico las muestras de suelo fueron enviadas al laboratorio de suelos del INIAP, y fueron analizadas de acuerdo con la metodología desarrollada por el laboratorio ver (Tabla 13-3).

Tabla 13-3: Propiedades fisicoquímicas evaluadas y metodología aplicada.

Determinación	Metodología	Extractante
Textura	Bouyoucos	No aplica
pH	Potenciométrica	Suelo: Agua (1:2,5)
MO	Oxidación vía húmeda	No aplica
Conductividad eléctrica	Conductimetría	Pasta saturada
N, P	Colorimetría	Olsen
K	Absorción atómica	Modificado pH 8,5

Fuente: INIAP, 2022

Realizado por: Culqui, Jessica, 2022

3.4.2.2 Aislamiento de microorganismos entomopatógenos

Para la obtención de aislamientos de microorganismos entomopatógenos, se aplicó el método de trampeo con larvas de *Galleria mellonella*, instar L4 descrita por Zimmerman 1986 con adaptaciones de Hernández Velásquez, et al., (2011 pp. 593-594), que consistió en colocar muestras de suelo en tarrinas plásticas transparentes de capacidad 1 L con tres repeticiones; junto con 10 larvas de *G. mellonella*, posteriormente se humedeció con 60 mL de agua destilada, cada recipiente se tapó, etiquetó, invirtió y se colocó en un cooler para mantener las condiciones de temperatura que fue de $18^{\circ}\text{C} \pm 5$.

Transcurrido 12 días se extrajeron las larvas de cada unidad experimental, se realizó el primer enjuague con alcohol y los dos restantes con agua destilada, seguido se realizó la contabilización de número de larvas vivas y muertas, luego se procedió a poner en cámara húmeda colocando en cada tarrina papel absorbente previamente esterilizados, que favorecieron el desarrollo de los microorganismos sean estas bacterias u hongos.

Desde la implementación de la cámara húmeda, transcurrieron otros 10 días, al finalizar este lapso se pudo evidenciar signos visibles de infección entre ellos crecimiento micelial sobre las larvas de *G. mellonella* instar L4, para el caso de hongos, y cuerpos blandos, putrefactos para bacterias,

un caso particular en el nematodo se evidenció una biopelícula acuosa en las paredes del envase de la cámara húmeda por donde se movilizan estos, hasta la larva.

3.4.2.2.1 Aislamiento de hongos y bacterias

Dentro de la cabina de flujo laminar, con una aguja se tomó un pequeño trozo de PDA, con el cual se tocó el micelio presente en las larvas, de inmediato se puso en el centro de la caja Petri, luego se selló, etiquetó y se colocó en forma invertida las cajas dentro de la incubadora a 28°C, para el caso de las bacterias se pasó al medio de cultivo denominado Agar nutriente (AN), pero antes las larvas con características putrefactas y blandas se enjuagaron con alcohol y agua destilada, con ayuda de un bisturí se hizo un corte transversal que permitió tomar con el aza una pequeña muestra del interior de la larva, y se hizo en un estriado compuesto.

3.4.2.3 Selección de los aislamientos más efectivos

Para esto se preparó suspensiones de esporas en agua destilada con Tween 80 al 0,1%, con una micropipeta de volumen variable (10-100) se tomó 20 microlitro de solución y se agregó en la cámara de Neubauer, se observó al microscopio, y se contabilizó el cuadrante del centro y se aplicó la fórmula que nos permitió obtener el número de esporas/mL.

$$n^{\circ} \text{ esporas/mL} = n^{\circ} \text{ esporas contadas} * 25\ 000 * 10$$

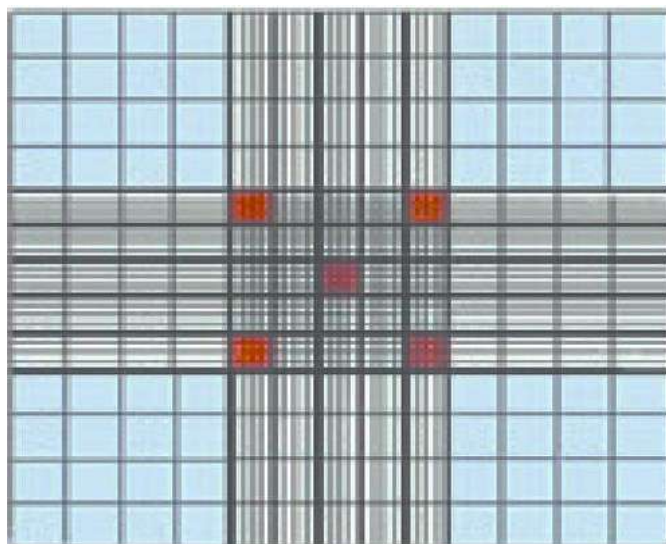


Ilustración 3-3: Esquema de la cámara de Neubauer.

Fuente: (Martínez Silvestre, et al., 2011 p. 132)

Realizado por: Culqui, Jessica, 2022

Por consiguiente, para cada uno de los aislamientos de hongos se realizó tres repeticiones agregando 10 larvas de *Galleria mellonella* instar L4, los cuales se infectaron con suspensiones de $1,2 \times 10^7$ esporas/ml, posteriormente se registró el número de larvas muertas/día para determinar el porcentaje de mortalidad el cual nos permitió seleccionar a los más efectivos.

En el caso de las bacterias en primera instancia se elaboró la tarjeta Wickerham que va de fondo y se compone de líneas horizontales negras, así también la escala McFarland. De acuerdo con Gallegos Torres (2014 p. 66) indica que para el estándar de 0,5 McFarland se emplea 0,5 ml de 0,048 M de BaCl₂ (1,175% BaCl₂+2H₂O) en 99,5 ml de 0,18 M H₂SO₄ (1% v/v) con agitación constante, todo esto para 100 ml. Entonces para la elaboración de nuestra escala se realizó algunas modificaciones obteniendo una escala McFarland de 0,5 ($1,5 \times 10^8$); 9 ($2,7 \times 10^9$) y 10 (3×10^9) estas soluciones fueron preparados en tubos de ensayo con tapa rosca que facilitó agitar en el vortex.

Entonces, las suspensiones bacterianas se realizaron haciendo ajustes a la turbidez de las soluciones de escala McFarland equivalente al 0,5 ($1,5 \times 10^8$); 9 ($2,7 \times 10^9$) y 10 (3×10^9), posteriormente, se hizo visualmente comparaciones con las soluciones de la escala al mismo tiempo colocando los tubos con las suspensiones bacterianas en la gradilla frente a la tarjeta Wickerham, de esta forma obteniendo el número de células bacterianas.

Tomando en cuenta el mecanismo de acción de las bacterias que actúan por ingestión, se preparó trocitos de cera de aproximadamente 3cm², que fueron sumergidos en las suspensiones bacterianas y puestos en cámara húmeda con 10 larvas de *G. mellonella* instar L4, que nos permitió seleccionar los aislamientos bacterianos más efectivos.

3.4.2.4 Determinación de la DL50 y el TL50 de los microorganismos seleccionados.

Se utilizaron suspensiones de $3,1 \times 10^6$; $2,4 \times 10^7$; $2,3 \times 10^8$; $1,5 \times 10^9$ esporas/ml de los aislamientos de hongos entomopatógenos seleccionados como efectivos, que fueron aplicados sobre 10 larvas de *G. mellonella* instar L4 con tres repeticiones, seguido se registró datos de porcentaje de mortalidad mismos que se usaron para aplicar Probit y determinar la DL50 y el TL50 de cada uno de los aislamientos seleccionados.

Por otra parte, para la DL50 y TL50 de los nematodos entomopatógenos, se preparó una suspensión de nematodos con agua destilada estéril, después de corroborar el número de nematodos mediante el conteo usando el microscopio, en 20µL habían 2 nematodos, en 30µL 3 y en 40µL 4 nematodos, consecuentemente usando una micropipeta de volumen variable se tomó 20 µL de la suspensión de nematodos y se añadió por larva hasta cubrir las 10 larvas, de la misma forma para la dosis de 3 y cuatro nematodo; posterior se registró el número de larvas muertas cada 18 horas.

3.4.2.5 *Caracterización morfológica y molecular*

Se realizó la caracterización macroscópica de los aislamientos efectivos de hongos entomopatógenos, donde se registró parámetros como diámetro, forma, color y textura de las colonias, y a nivel microscópico se realizó la observación de las estructuras morfológicas en placas preparadas con cinta adhesiva, y azul de algodón, descrita por Pinto (2017 pp. 9-11).

Para la caracterización a nivel molecular de las cepas efectivas de los hongos entomopatógenos, se enviaron al laboratorio de Fitopatología, quienes en primera instancia, realizaron la extracción del ADN de las cepas, posterior, la amplificación de la Reacción de la Cadena de Polimerasa (PCR) con los cebadores ITS4 e ITS5, los productos resultantes fueron secuenciados con tecnología SANGER en la empresa MACROGEN KOREA, con el programa Chromas Technelysium Pty Ltd. versión 2.6.6 se visualizaron los electroferogramas y se compararon las secuencias con la herramienta Blast del NCBI que posee un banco de datos.

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Procesamiento, análisis e interpretación de resultados

4.1.1 Características fisicoquímicas edáficas de los dos sistemas de producción agrícola.

Tabla 14-4: Propiedades fisicoquímicas edáficas de los cultivos representativos del sistema orgánico y convencional.

Muestra	Textura	MO (%)	CE (dS/m)	DA (g/cm ³)	pH	N	P Ppm	K
SFSOC1	Franco arenoso	4,6 ^M	0,44 ^{NS}	1,42	7,20 ^{PN}	31 ^M	81 ^A	742,9 ^A
SFSOC2		5,2 ^A	0,35 ^{NS}	1,47	7,27 ^{PN}	36 ^M	15 ^M	312 ^A
SFSOC3		5,3 ^A	0,56 ^{NS}	1,46	6,97 ^{PN}	32 ^M	12 ^M	234 ^A
SFSCC1		2,9 ^B	1,25 ^{NS}	1,42	7,16 ^{PN}	16 ^B	35 ^B	135 ^B
SFSCC2		2,6 ^B	0,66 ^{NS}	1,45	7,56 ^{LA}	15 ^B	52 ^M	107 ^B
SFSCC3		3,3 ^M	0,70 ^{NS}	1,50	7,52 ^{LA}	25 ^M	88 ^M	189 ^M

A: Alto, M: Medio, B: Bajo, NS: No Salino, LA: Ligeramente Alcalino, LN: Ligeramente Neutro,

PN: Prácticamente Neutro

Realizado por: Culqui, Jessica, 2022

Las muestras de suelo procedentes de los cultivos representativos correspondientes a los dos sistemas de producción presentaron una textura de tipo Franco arenoso. En el sistema orgánico el porcentaje de MO del primer cultivo es de 4,6% mostrando un nivel medio, así encontrando niveles altos en el segundo cultivo con un 5,2% y en el tercero con un 5,3%; la conductividad eléctrica con valores de 0,44; 0,35 y 0,56 dS/m, demuestra que estos suelos agrícolas no son salinos; en cuanto a la densidad aparente es de 1,42; 1,47; 1,46 g/cm³; el pH de estos suelos presenta valores prácticamente neutros de 7,20; 7,27; 6,97; los macronutrientes como el N está en un nivel medio con 31, 36 y 32 ppm en los tres cultivos; el P presente en el primer cultivo es alto con 81 ppm y en los dos cultivos restantes se encuentra en un nivel medio con 15 y 12 ppm; se halla niveles altos de K en los tres cultivos con 742,9; 312 y 234 ppm.

En el sistema convencional, el primer y segundo cultivo mostraron niveles bajos de MO con 2,9 y 2,6%, y el tercer cultivo presentó un nivel medio de MO con un 3,3%; en cambio, la conductividad eléctrica muestra que estos suelos no son salinos con valores de 1,25; 0,66 y 0,70 dS/m; la densidad aparente es de 1,42; 1,45 y 1,5 g/cm³ para los tres cultivos; el pH del primer cultivo es 7,16 prácticamente neutro, en los dos cultivos restantes es ligeramente alcalino con 7,56 y 7,52; el primer cultivo y el segundo presentaron niveles bajos de N con 16 y 15 ppm, en cambio, el tercer cultivo presentó 25 ppm que corresponde a un nivel medio de N; un nivel bajo del P se evidenció en el primer cultivo, mientras que en el segundo y tercer cultivo el P se encuentra en

un nivel medio 52 y 88ppm; en cuanto al K presentó niveles bajos tanto en el primer cultivo como en el segundo 135 y 107 ppm, y en el tercer cultivo teniendo un nivel medio 189 ppm.

4.1.2 *Análisis de varianza para el número de cadáveres de larvas de G. mellonella con signos visibles de infección de microorganismos entomopatógenos.*

El análisis de varianza para el número de larvas infectadas con microorganismos entomopatógenos a los 10 días tuvo diferencias altamente significativas para el Factor sistemas de producción agrícola, en cambio se constató que para el factor cultivos, repeticiones y la interacción no tuvo diferencias significativas, por ende, para la separación de medias del Factor sistemas se aplicará DMS al 5%, ver Tabla 15-4.

Tabla 15-4: Análisis de varianza para el número de larvas de *G. mellonella* infectadas con microorganismos entomopatógenos.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Factor A (Sistemas)	1	53,39	53,39	106,78	<0,0001
Factor B(Cultivos)	2	2,33	1,17	2,33	0,1473
Repeticiones	2	1	0,5	1	0,4019
Sistemas*Cultivos	2	0,78	0,39	0,78	0,4853
Error	10	5	0,5		
Total	17	62,5			

Diferencias significativas *(p<0,05), diferencias altamente significativas **(p<0,01), ns: no significativo (p>0,05)

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

Al realizar la separación de medias del Factor A (sistemas de producción agrícola orgánico-conventional), se observa que el sistema orgánico se encuentra en el rango A con un promedio de 8,56 larvas infectadas con microorganismos evidenciando que la mayor infección sobre larvas de *G. mellonella* ocurre en el sistema orgánico seguido del sistema convencional ubicándose en el rango B con un promedio de 5,11 de larvas infectadas con microorganismos a los 10 días después de haber recuperadas las larvas de las muestras de suelo, ver Tabla 16-4, indicativo del sistema de producción en el que se obtendrá el mayor número de aislamientos sean estos en conjunto hongos, bacterias y nematodos con características entomopatógenas.

Tabla 16-4: Test DMS al 5% para el Factor Sistemas

Factor A (Sistemas)	Medias	N	E.E.	
Orgánico	8,56	9	0,24	A
Convencional	5,11	9	0,24	B

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

4.1.3 Número de aislamientos obtenidos

En la Tabla 17-4: se aprecia el total de aislamientos a nivel de los sistemas de producción agrícola, obteniendo 91 aislamientos entre hongos, bacterias y nematodos dentro del sistema orgánico siendo mayoritariamente a diferencia del sistema convencional con 55 aislamientos en el cual solamente se aisló hongos y bacterias, así también se tiene un total de 59 aislamientos de hongos, 86 de bacterias procedentes de los dos sistemas de producción, y un nematodo encontrado a nivel del sistema orgánico.

Tabla 17-4: Total de aislamientos obtenidos.

Tratamientos	Hongos	Bacterias	Nematodo entomopatógeno	Total
SFSCC1	19	3	0	
SFSCC2	13	8	0	55
SFSCC3	9	3	0	
SFSOC1	4	34	1	
SFSOC2	5	27		91
SFSOC3	9	11		
Total	59	86	1	

SC: Sistema convencional; SO: sistema orgánico

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

Mediante un ensayo que permitió diferenciar microorganismos entomopatógenos y no entomopatógenos se realizó su clasificación quedándonos con 17 aislamientos potenciales de hongos entomopatógenos, 5 de ellos pertenecían al género *Metarhizium* y 12 al género *Beauveria*, evidenciando que el mayor número de aislamientos pertenecieron a los cultivos manejados de manera convencional y en su minoría manejados de forma orgánico. Todo lo contrario, sucede para el caso de las bacterias, se obtuvo 15 aislamientos que probablemente presentaban características entomopatógenas, procedentes en su mayoría de los cultivos del sistema orgánico, así también se quedó con el nematodo entomopatógeno del género *Steinernema* sp.; ver Tabla 18-4.; estos aislados fueron utilizados para la siguiente fase de la investigación que consistió en la determinación de su efectividad con pruebas de mortalidad y la selección de los efectivos.

Tabla 18-4: Número de aislamientos de hongos entomopatógenos y bacterias obtenidos.

Sistemas de producción agrícola	Cultivos	Aislamientos			
		Hongos entomopatógenos		Bacterias	
		Codificación	N°	Codificación	N°
Convencional	C1	- SFSCC1R1-A5	1		0
	C2	- SFSCC2R2-A3 - SFSCC2R3-A1 - SFSCC2R3-A3 - SFSCC2R1-A3 - SFSCC2R3-A2	5	- SFSCC2R1-A1 - SFSCC2R2-A1 - SFSCC2R3-A2	3
	C3	- SFSCC3R3-A2 - SFSCC3R2-A3 - SFSCC3R2-A1 - SFSCC3R1-A2	4		0
Orgánico	C1	- SFSOC1R3-A1	1	- SFSOC1R3-A1 - SFSOC1R1-A6 - SFSOC1R3-A2 - SFSOC1R2-A4 - SFSOC1R1-A1 - SFSOC1R3-A3 - SFSOC1R2-A2	7
	C2	- SFSOC2R3-A2 - SFSOC2R2-A1	2	- SFSOC2R2-A1 - SFSOC2R2-A3	2
	C3	- SFSOC3R1-A1 - SFSOC3R2-A3 - SFSOC3R2-A4 - SFSOC3R1-A3	4	- SFSOC3R1-A1 - SFSOC3R3-A2 - SFSOC3R1-A2	3
Total			17		15

A1: Aislamiento 1, 2...; R1: Repetición 1,2 y 3.

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

Hongos entomopatógenos

4.1.4 Prueba de mortalidad de los aislamientos de hongos entomopatógenos obtenidos

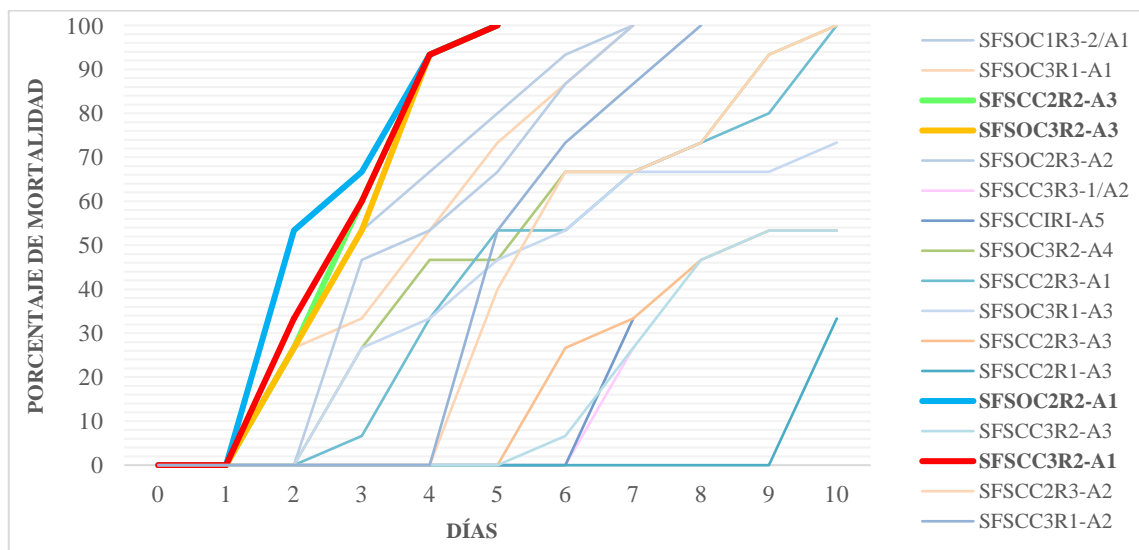


Ilustración 4-4: Porcentaje de mortalidad de 17 aislamientos de hongos entomopatógenos

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

La ilustración 4-4; mostró el porcentaje de mortalidad en función del tiempo de los 17 aislamientos de hongos encontrados en los suelos de los cultivos representativos pertenecientes al sistema orgánico y convencional de la comunidad San Francisco; cuatro aislamientos produjeron una mortalidad del 100% desde el día 3 hasta el día 5 y esporulando al mismo tiempo, constituyéndose en los de mayor efectividad al ser más virulentos frente a los trece restantes que alcanzaron el mismo porcentaje de mortalidad a partir del día 7, pero con la diferencia de que el nivel de esporulación sobre las larvas fue menor y el número de esporas/mL lo demuestra ver ANEXO L. Los aislamientos efectivos correspondieron al género *Metarhizium* (SFSOC3R2-A3; SFSCC2R2-A3) y *Beauveria* (SFSOC2R2-A1; SFSCC3R2-A1), procedentes del sistema convencional y orgánico.

4.1.5 DL50 y TL50 de los aislamientos efectivos de hongos entomopatógenos

Tabla 19-4: DL50 y TL50 de los aislamientos efectivos.

Aislamientos	Día 3	Día 5	Día 7
SFSCC2R2-A3 <i>M. anisopliae</i>	3,20x10 ⁸	2,16x10 ⁷	1,07x10 ⁶
SFSOC3R2-A3 <i>M. anisopliae</i>	5,07x10 ⁸	4,51x10 ⁷	4,23x10 ⁶
SFSOC2R2-A1 <i>B. bassiana</i>	7,39x10 ⁸	6,09x10 ⁷	1,35x10 ⁷
SFSCC3R2-A1 <i>B. bassiana</i>	7,56x10 ⁸	6,22x10 ⁷	2,36x10 ⁶

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

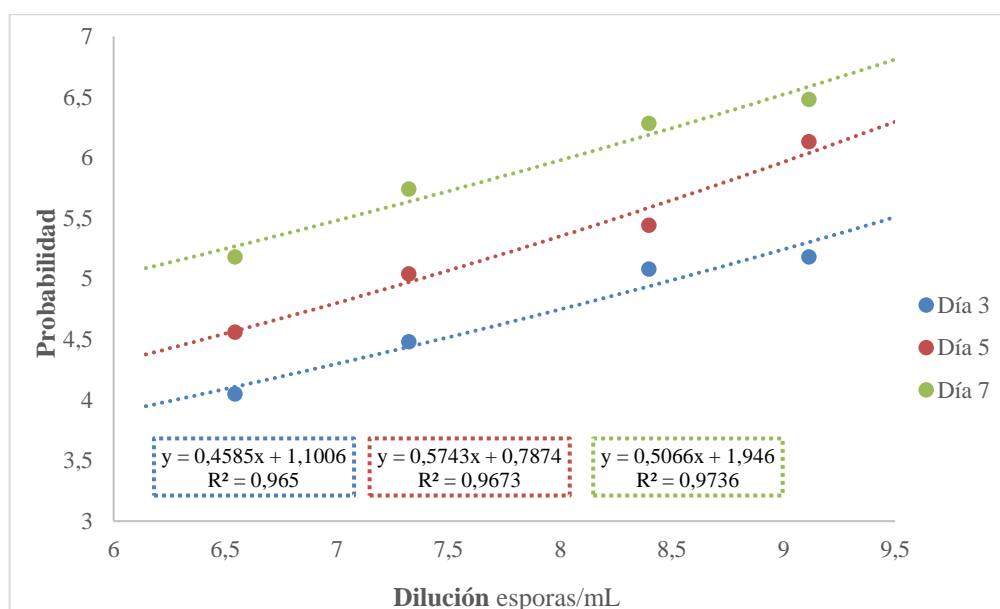


Ilustración 5-4: Dosis letal media (DL50) de *Metarhizium anisopliae* SFSCC2R2-A3.

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

Para el aislamiento SFSCC2R2-A3 correspondiente a *M. anisopliae*, procedente del cultivo de cebolla del sistema de producción convencional de la comunidad San Francisco, la Dosis letal media (DL50) se obtuvo con concentraciones de $3,20 \times 10^8$; $2,16 \times 10^7$ y $1,07 \times 10^6$ esporas/mL con un Tiempo letal 50 (TL50) de 3, 5 y 7 días respectivamente.

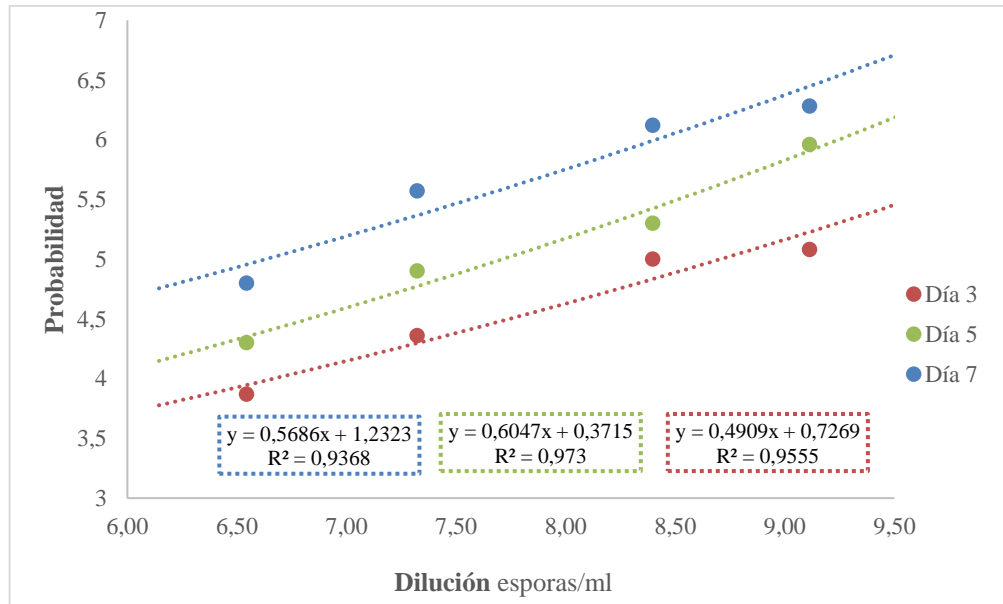


Ilustración 6-4: Dosis letal media (DL50) de *Metarhizium anisopliae* SFSOC3R2-A3

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

Para el aislamiento SFSOC3R2-A3 correspondiente a *M. anisopliae*, procedente del policultivo de maíz en asociación con habas y fréjol del sistema de producción orgánico de la comunidad San Francisco, la Dosis letal media (DL50) se obtuvo con concentraciones de $5,07 \times 10^8$; $4,51 \times 10^7$ y $4,23 \times 10^6$ esporas/mL con un Tiempo letal 50 (TL50) de 3, 5 y 7 días respectivamente.

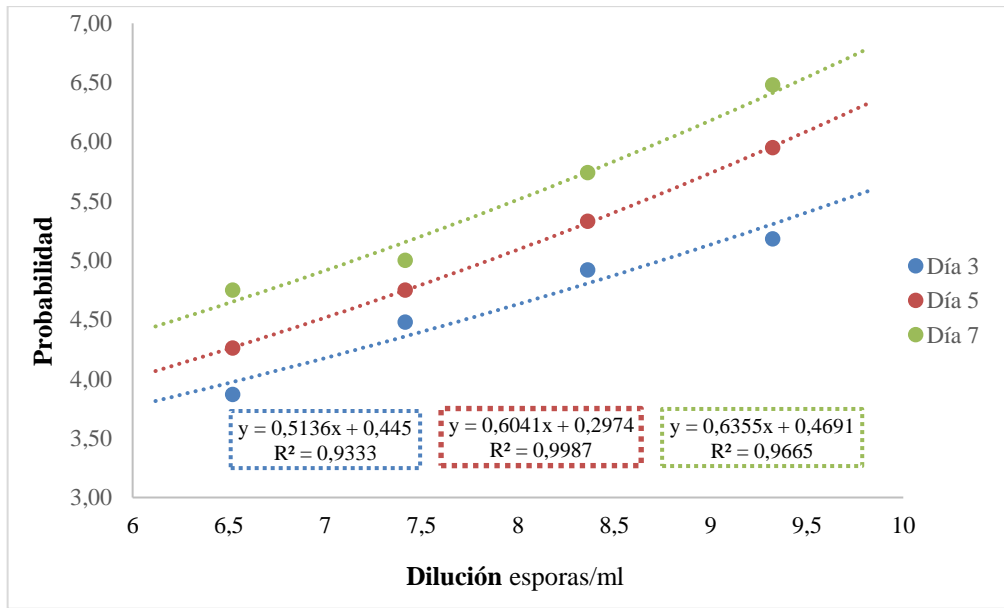


Ilustración 7-4: Dosis letal media (DL50) de *Beauveria bassiana* SFSOC2R2-A1

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

Para el aislamiento SFSOC2R2-A1 correspondiente a *B. bassiana*, procedente del policultivo dos del sistema orgánico con su asociación de col, brócoli, nabo, cebolla, acelga y orégano de la comunidad San Francisco, la Dosis letal media (DL50) se obtuvo con concentraciones de $7,39 \times 10^8$; $6,01 \times 10^7$ y $1,03 \times 10^7$ esporas/mL con un Tiempo letal 50 (TL50) de 3, 5 y 7 días respectivamente.

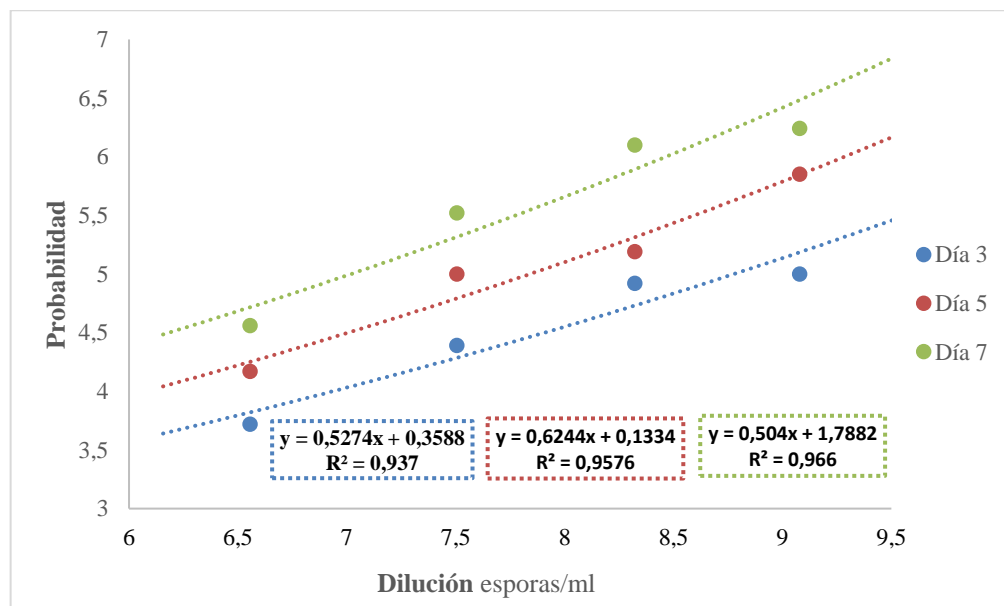


Ilustración 8-4: Dosis letal media (DL50) de *Beauveria bassiana* SFSCC3R2-A1.

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

Para el aislamiento SFSCC3R2-A correspondiente a *B. bassiana*, cepa procedente del cultivo tres del sistema orgánico que es asociación maíz, frejol y habas, la Dosis letal media (DL50) se obtuvo con concentraciones de $7,56 \times 10^8$; $6,20 \times 10^7$ y $2,40 \times 10^6$ esporas/mL con un Tiempo letal 50 (TL50) de 3, 5 y 7 días respectivamente.

4.1.6 Descripción morfológica y molecular de hongos entomopatógenos efectivos encontrados a nivel de cultivos del sistema orgánico y convencional.

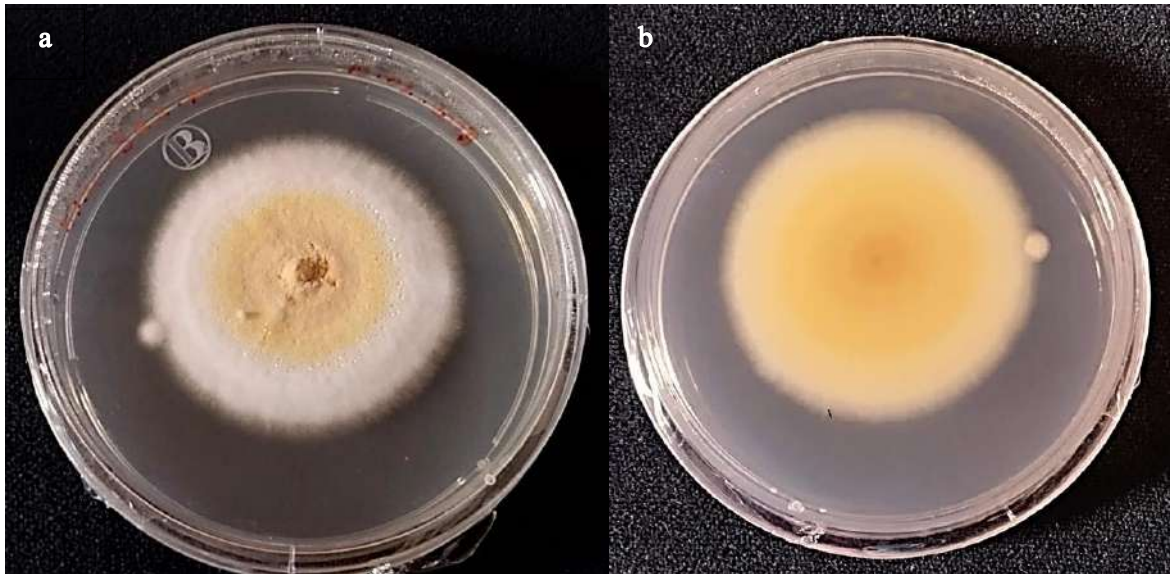


Ilustración 9-4: Características macroscópicas de *B. bassiana* (SFSCC3R2-A1), **a)** anverso, **b)** reverso.

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

La cepa de *B. bassiana* procedente del sistema convencional (SFSCC3R2-A1), que se muestra en la Ilustración 9-4; se visualizó las siguientes características macroscópicas, a los 8 días presentó un diámetro de 2,6 cm, llegando a los 15 días alcanzar un diámetro de 5,2 cm; en el anverso presentó micelio blanquecino de textura algodonosa, forma circular, elevación plana, borde entero, esporulaciones de color amarillo que se extienden desde el centro de la colonia hacia los bordes y en el reverso posee un color anaranjado y los bordes de color amarillo blanquecino.

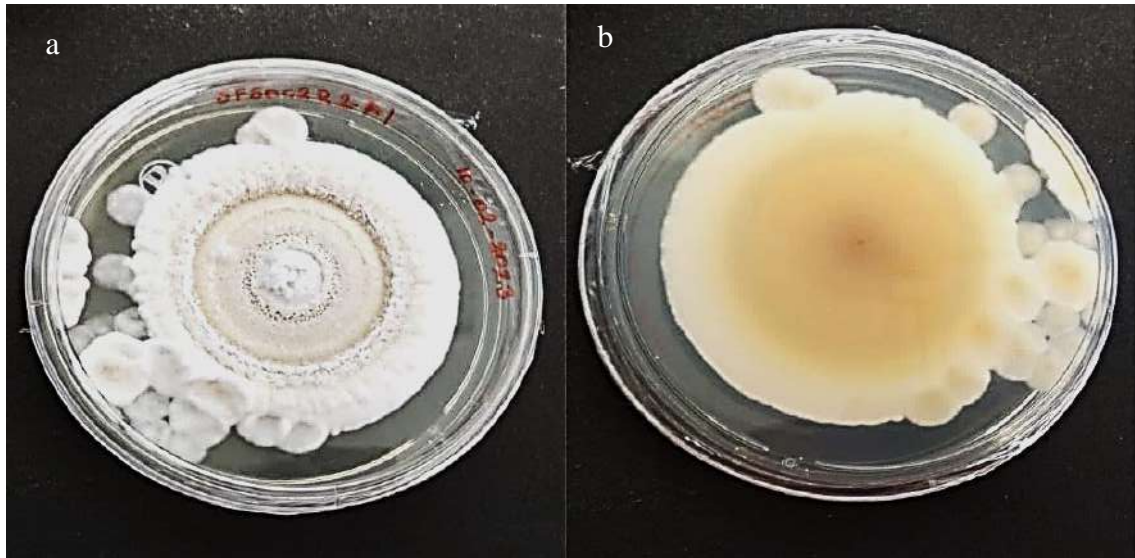


Ilustración 10-4: Características macroscópicas de *B. bassiana*, (SFSOC2R2-A1); **a)** anverso, **b)** reverso.

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

La cepa de *B. bassiana* procedente del sistema orgánico (SFSOC2R2-A1) que se muestra en la Ilustración 10-4 presentó las siguientes características macroscópicas, a los 8 días tuvo un diámetro de 2,8 cm, alcanzando a los 15 días un diámetro de 5,5 cm; en el anverso presentó al inicio micelio blanquecino de textura algodonosa densa, forma circular, borde entero, elevación umbonada, en el centro se desarrollan esporulaciones de color beige que se extienden hacia los bordes y en el reverso también presentó halo de color beige oscuro en el centro, y en el borde un beige claro.

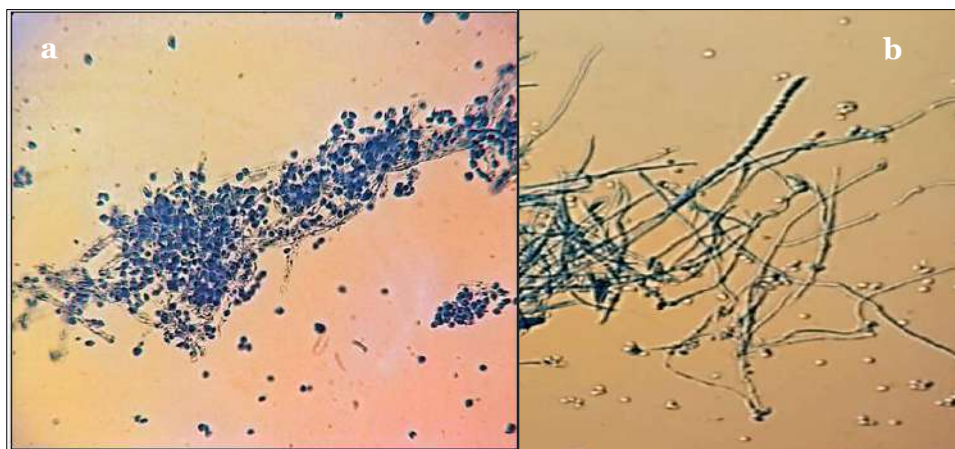


Ilustración 11-4: Características microscópicas de *B. bassiana* (SFSCC3R2-A1; SFSOC2R2-A1). **a)** conidias globosas circulares, **b)** fiálides

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

En la ilustración 11-4: se observó las estructuras a nivel microscópicas de *Beauveria bassiana* procedentes del sistema orgánico y convencional caracterizándose por presentar micelio septado, conidióforos ramificados, de donde surgen esporas hialinas circulares. Conjuntamente las características macroscópicas y microscópicas indican que corresponde a *Beauveria* y mediante la caracterización molecular se comprobó que la cepa corresponde a la especie *B. bassiana*.



Ilustración 12-4: Características macroscópicas de *Metarhizium anisopliae* (SFSCC2R2-A3) **a)** anverso, **b)** reverso

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

El aislamiento que se observa en la Ilustración 12-4, procedente del sistema convencional (SFSCC2R2-A3), a nivel macroscópico presentó al inicio micelio de color blanquecino de textura algodonosa, forma circular, elevación plana, alcanzando un diámetro de 2,2 cm a los 8 días, transcurrido este tiempo la colonia fúngica en el anverso empezó a tornarse de color amarillo verdoso hasta llegar a un color verde oliva intenso que se extiende desde el centro hacia el borde este color se debe a la presencia de esporas características de esta hongo, el borde se mantiene de color blanquecino hasta que la esporulación se expanda por completo, también se evidenció presencia de sinemas de color blanco, que se desarrollan por la exposición de la colonia a la luz, y el color del reverso de la colonia es amarillo anaranjado, y alcanzando a los 15 días un diámetro de 5,96 cm.

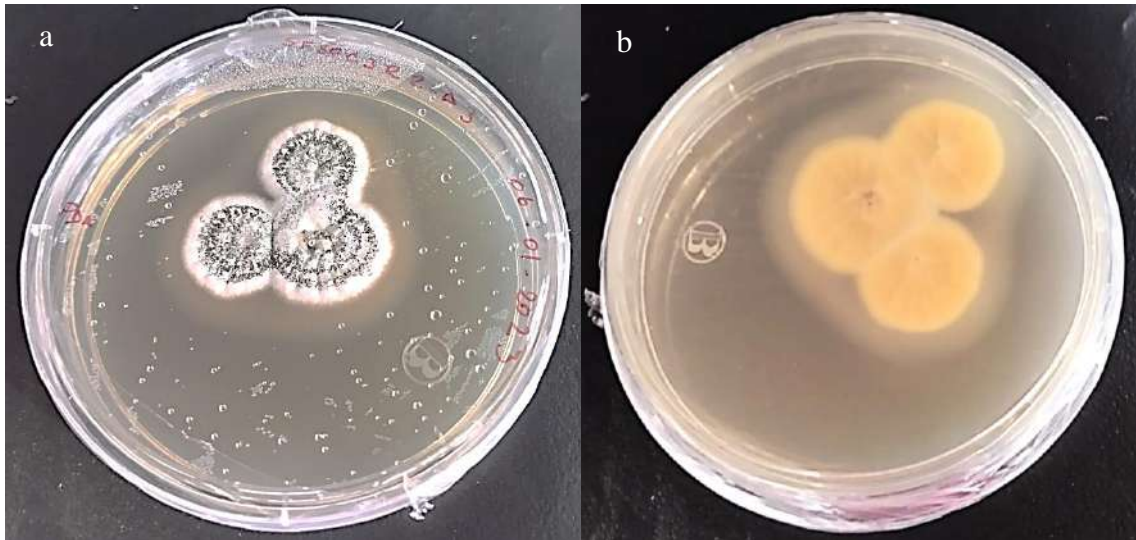


Ilustración 13-4: Características macroscópicas de *Metarhizium anisopliae* (SFSOC3R2-A3), **a)** anverso, **b)** reverso

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

El aislamiento que se observa en la Ilustración 13-4 procedente del sistema orgánico (SFSOC3R2-A3) a nivel macroscópico al inicio se evidenció micelio de color blanquecino de textura algodonosa, forma circular, elevación plana, a los 8 días alcanzó 2,3 cm de diámetro, transcurrido este lapso la colonia fúngica en el anverso empezó a tornarse de color amarillo verdoso hasta llegar a un verde oliva intenso debido a la presencia de esporas a medida que se van extendiéndose desde el centro hacia los bordes, por ende el borde se mantiene de color blanco hasta que se expanda por completo, el color del lado reverso de la colonia es de color amarillo anaranjado y llegando a los 15 días a un diámetro de 4,9 cm.

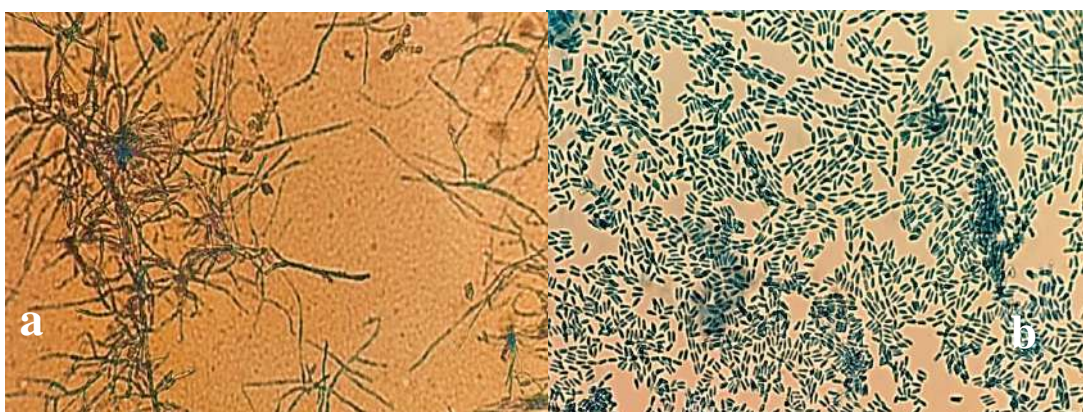


Ilustración 14-4: Características microscópicas de *Metarhizium anisopliae* (SFSCC2R2-A3; SFSOC3R2-A. **a)** hifas ramificadas, **b)** conidios alargados cilíndricas.

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

En la Ilustración 14-4 se muestra las características microscópicas de *Metarhizium anisopliae* procedente de los sistemas orgánico y convencional, una de ellas es que presenta conidios individuales de forma cilíndricas y en sus extremos redondeados formando cadenas largas o pirámides, sus fiálides son alargadas cilíndricas. Entonces conjuntamente la caracterización morfológica a nivel macroscópica y microscópica, con la caracterización molecular muestran que las dos cepas efectivas corresponden a la especie de *M. anisopliae*.

Bacterias

4.1.7 Pruebas de mortalidad de aislamientos de bacterias

Los aislamientos de bacterias obtenidos de las muestras de suelo de dos sistemas de producción agrícola convencional y orgánico sometidas a pruebas de mortalidad sobre larvas de *G. mellonella*, realizando evaluaciones cada 24 horas, se evidenció que las larvas seguían vivas desde el día de implementación del ensayo hasta el día 6 sobrepasando el tiempo expuesto por (Jiménez, 2019 pp. 9-12) que indica, el mecanismo de acción de las bacterias es por ingestión, entonces una vez que ingresa la bacteria al interior del insecto plaga provoca un cese en su alimentación ocasionando la muerte del insecto en un periodo entre 12 horas a 5 días; por tanto, se descartó la presencia de bacterias entomopatógenas efectivas sino más bien probablemente correspondan a bacterias saprófitas.

Nematodo entomopatógeno

4.1.8 Porcentaje de mortalidad de *Steinernema carpocapsae*

Tabla 20-4: Porcentaje de mortalidad sobre larvas de *G. mellonella* utilizado como huésped para *S. carpocapsae* a los 5 y 8 días.

Especie de Nemátodo Entomopatógeno	Concentración	n	Día 5	Día 8
<i>Steinernema carpocapsae</i>	2	10	10	40
	3	10	20	60
	4	10	30	70

n: población de larvas de *Galleria mellonella* instar L4

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

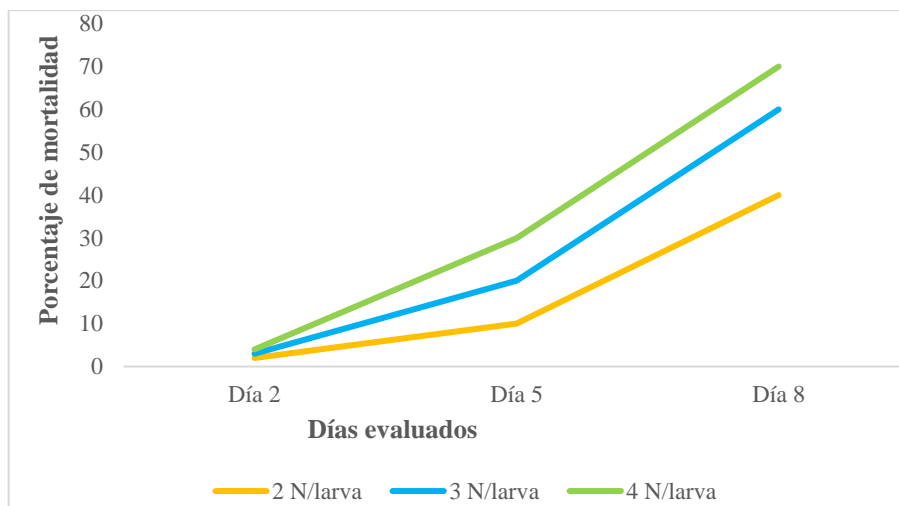


Ilustración 15-4: Porcentaje de mortalidad de larvas de *Galleria mellonella* infestadas con el nemátodo *Steinernema carpocapsae*.

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

El porcentaje de mortalidad sobre larvas de *G. mellonella*, en la Ilustración 15-4 evidenció que para la concentración de 2 nematodos/larva tuvo un porcentaje del 10% en el día 5, valores que van incrementando la mortalidad de las larvas según la concentración de nematodo, ya que en el mismo día con 3 y 4 nematodo produjeron una mortalidad del 20 y 30% de la población, llegando al día 8 con las mismas concentraciones a un porcentaje de mortalidad que va de un 40% hasta un 70%.

4.1.9 DL50 y TL50 del nematodo *Steinernema carpocapsae*

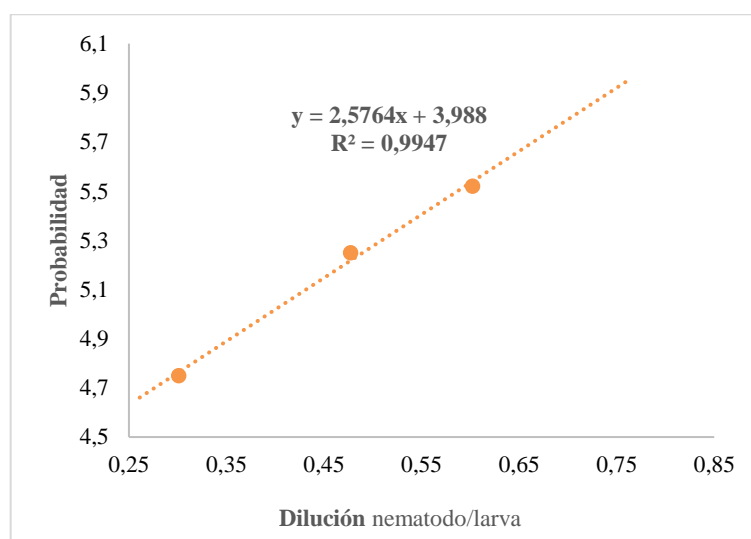


Ilustración 16-4: Dosis letal media de *Steinernema carpocapsae*.

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

El nematodo *Steinernema carpocapsae* aislado de muestras de suelo del sistema orgánico de la comunidad San Francisco presento una dosis letal media (DL50) de 3 nematodo por larva, con una concentración letal mínima de 2,1 y una máxima de 3,3 y el Tiempo Letal medio (TL50) fue de 8 días, ver Ilustración 16-4.

4.1.10 Coloración característica de larvas de *G. mellonella* infectados con el nematodo entomopatógeno *Steinernema carpocapsae*



Ilustración 17.4: Color característico de larvas de *G. mellonella* infectadas con *S. carpocapsae*

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

En la Ilustración 17-4 se evidencia la coloración larvas de *G. mellonella* infectadas con el nemátodo entomopatógeno *S. carpocapsae* que proviene de los cultivos orgánicos de la comunidad San Francisco que va de un color amarillo a pardo oscuro, luego de que el nematodo ingresa en el huésped, a través de la boca, ano, espiráculos, donde libera una bacteria gram negativa mutualista denominada *Xenorhabdus nematophilus* de la familia Enterobacteriaceae, encargada de provocar la muerte del insecto plaga y crear condiciones óptimas para su multiplicación.

4.1.11 Características morfológicas de *S. carpocapsae*

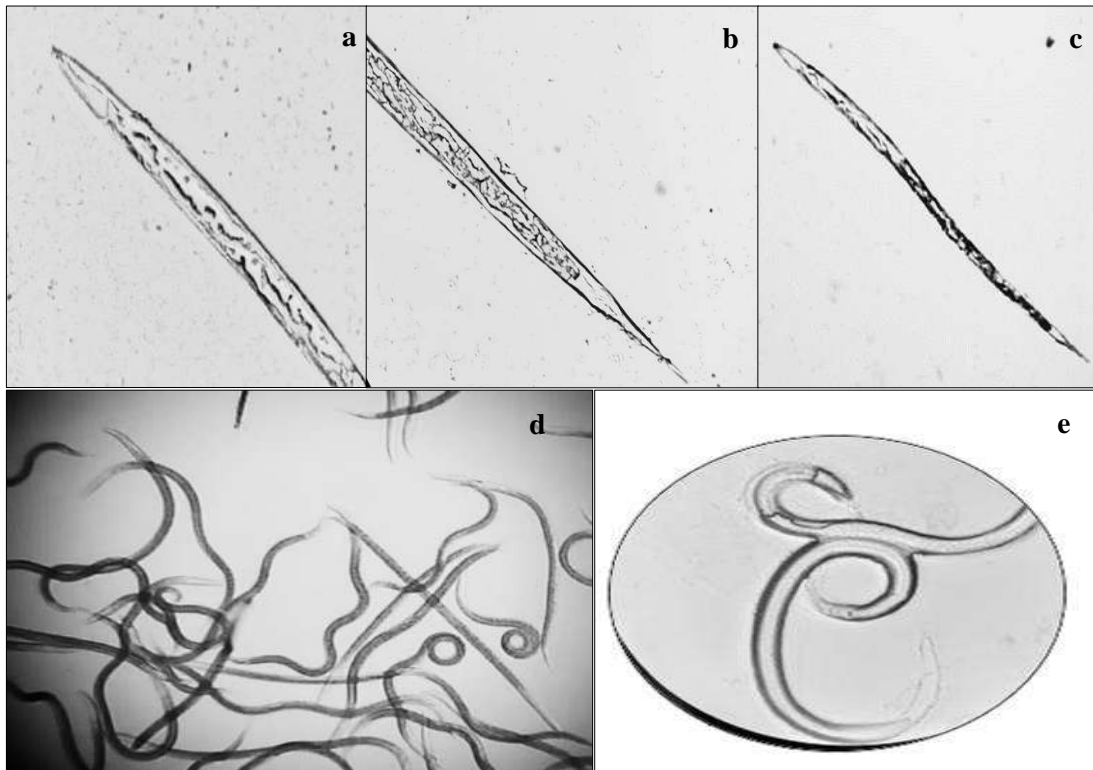


Ilustración 18-4: Vista al microscopio de *S. carpocapsae* a) Región cefálica y faríngea, b) Región caudal, c) Cuerpo entero, d y e) Juveniles infectivos JI.

Realizado por: Culqui, Jessica, 2023

En la Ilustración 18-4, se evidencia las características microscópicas que presenta el nematodo del género *Steinernema* un cuerpo delgado en forma de C, las espículas de este nematodo presentan una cabeza (manubrio) redondeada, una lámina delgada y curvada y la cola termina en punta uniforme, estas características corresponden a la especie de *Steinernema carpocapsae*; y a nivel molecular este nematodo no se logró caracterizar.

4.2 Discusión de los resultados

4.2.1 Características fisicoquímicas edáficas de los dos sistemas de producción agrícola

Una de las propiedades físicas del suelo determinantes para la presencia de microorganismos entomopatógenos es la materia orgánica, esto lo manifiestan Vidaurre et al (2020 pp. 15-19) y Argotti et al., (2022 pp. 6-9) que niveles altos derivan condiciones favorables para la presencia de microorganismos entomopatógenos, en tanto que en los niveles bajos su presencia disminuye. Por otra parte, Salamanca et al., (2005 p. 382) menciona que los suelos de textura gruesa poseen una

densidad aparente que va de 1,2 a 1,6 g/cm³, valores similares a los obtenidos en las muestras de suelo de los dos sistemas de producción de la comunidad San Francisco, también destaca la influencia de la densidad aparente en la productividad de los cultivos, debido a que rangos elevados de este parámetro provocan la compactación de los suelos, por ende, el desarrollo de las raíces se ve obstruida conjuntamente se ve limitada la presencia de microorganismos, ya que la mayor actividad microbiana se da a los 20 cm de profundidad

Según estudios por Pacasa et al., (2017) el pH afecta la solubilidad de los nutrientes; así también indican que valores de pH cercanos a 7 favorecen la germinación de esporas y existe una mayor actividad microbiana; sin embargo, los hongos toleran pH de 5 a 9. En la investigación realizada por Ramírez Huerta et al., (2018) se reporta un número considerable de aislamientos de hongos entomopatógenos de muestras de suelo con un pH de 3,8 a 4,3 (ligeramente ácidos). Sin embargo, la presente investigación muestra resultados de pH de neutro a ligeramente alcalino tanto para los dos sistemas de producción agrícola, donde muchos de los nutrientes están disponibles dentro de este rango además existiendo una mayor actividad microbiana.

La fertilización con N, P y K es comúnmente empleada en la producción agrícola. De acuerdo con Ge et al., (2008) indican que provoca algunas modificaciones en la diversidad microbiana del suelo, pero sin diferencias significativas.

Hongos entomopatógenos

4.2.2 Número de aislamientos obtenidos

Galán (2012) menciona que la obtención de un número considerable de aislamientos de microorganismos entomopatógenos se debe a que *G. mellonella* es susceptible a ser invadido por distintos microorganismos, y es el insecto cebo mayormente utilizado para aislar microorganismos entomopatógenos, así también Vidaurre et al (2020 pp. 15-19), menciona que la presencia de materia orgánica es determinante y el contenido en porcentaje que se evidencia en el análisis físico químico de las muestras de suelo de los cultivos de los dos sistemas de producción lo demuestra; por otra parte, el mayor número de aislamientos de *Beauveria* se debe a que es obicuo, es decir, está distribuido por todo el mundo.

4.2.3 Pruebas de mortalidad para seleccionar el aislamiento de mayor efectividad

Según Torres de la Cruz et al., (2014) reportan que los aislamientos de *M. anisopliae* más virulentos fueron los que produjeron la mortalidad de 100%, 88,9% y 83,3% con una concentración de 1×10^7 esporas/mL a los 8 días. Así mismo, Bermeo, (2022) menciona que *B. bassiana* produjo la muerte del 93,33% de larvas de *Premnotripes vorax* al cuarto día y llegando a 100% dos días después, por tanto, los porcentajes son casi similares a los obtenidos con los aislamientos efectivos de la investigación, en nuestro caso alcanzó el 100% de mortalidad sobre larvas de *G. mellonella* a los 5 días, ya que en este tiempo se observó inmovilidad de las larvas y presencia de estructuras fúngicas sobre ellas.

4.2.4 DL50 y TL50 de los aislamientos seleccionados efectivos.

Los resultados de la DL50 y TL50 de los aislamientos efectivos de *B. bassiana* y *M. anisopliae* se acercan a lo expuesto por (Chafloque Vargas, 2012), en su investigación donde usa concentraciones de 4,05; $8,05 \times 10^7$, 2,30; $4,30 \times 10^6$ y 8,05; $2,30 \times 10^5$ conidios/mL de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre larvas del III estadio de *Musca doméstica*, demostrando que la más alta concentración que es de 4,05; $8,05 \times 10^7$, fue la DL50 para las dos especies de microorganismos entomopatógenos, con un TL50 de 6,86 y 6,47 días respectivamente. De la misma manera, Bustamante Rojas (2019), indica que con concentraciones de *Beauveria bassiana* de 10^7 y 10^8 conidios/ml, poseen un TL50 de 9,16 días y 6,84 días, de esta forma aduciéndose que concentraciones altas producen la muerte del 50% de la población de las larvas de *G. mellonella* en menor tiempo posible y dosis bajas viceversa.

4.2.5 Descripción morfológica de *B. bassiana* y *M. anisopliae*

Las características macroscópicas de los aislamientos de *B. bassiana* procedentes del sistema de producción agrícola convencional y orgánico de la comunidad San Francisco coincide con la descripción realizada por García Gutiérrez, et al (2020, p.4); Gómez, et al, (2014, p.5), quienes describieron que *B. bassiana* al inicio es de color blanquecino, que con el transcurso del tiempo va tornándose de blanco a un color crema (beige) o amarillo, y en el reverso a veces incoloras o a su vez amarillas, y a nivel microscópico los conidios son hialinas, lisas y circulares.

En cuanto a las características macroscópicas y microscópicas propias de *Metarhizium anisopliae* obtenidos de muestras de suelo de un sistema orgánico y convencional de la comunidad San Francisco concuerdan con la descripción realizada por Contreras Arias, et al., (2020 pp. 4-9),

Castillo Guamán, (2021 p. 31) y Morocho et al., (2020 p. 55), quienes indican que *M. anisopliae* al inicio es de color blanquecino que con el tiempo las esporulaciones van cambiando de un amarillo verdoso hasta llegar a un verde intenso, y las estructuras microscópicas como los conidios son cilíndricas con sus extremos redondeados, formando cadenas largas.

Nematodo entomopatógeno

4.2.6 Porcentaje de mortalidad de *Steinernema carpocapsae*

Los valores de porcentaje de mortalidad sobre larvas de *G. mellonella* con el nematodo *S. carpocapsae* se acercan a lo expuesto por Durón Alvarado, (2016 p. 5), donde indica que una concentración de 2 nematodo de *S. carpocapsae* produjeron una mortalidad de 32% en el día 5 y 38% de la broca del café (*Hypothenemus hampei*), con una concentración de 6 nematodo alcanzando una mortalidad en un 44% en el quinto día hasta un 50% en el día 8, por tanto, mayor número de nematodos provocan la mortalidad de un mayor número de larvas de *G. mellonella* en menor tiempo posible.

4.2.7 Coloración característica de larvas de *G. mellonella* infestadas con *S. carpocapsae*

Bustillo (2014 pp. 53-58), menciona, que el color característico, de las larvas muertas originadas por nematodo del género *Steinernema* es amarillo a pardo oscuro, por tanto, coincide con el color característico que se aprecia en la Ilustración 17-4, que fueron larvas de *G. mellonella* infestadas con el nemátodo *Steinernema carpocapsae* encontrados en cultivos del sistema orgánico de la comunidad San Francisco. Además, también se asemejan a la coloración de larvas de *Metamasius dimidiatipennis* infestados con *Steinernema carpocapsae* como lo denota García, et al., (2013 p. 9), en la Ilustración 2-2.

4.2.8 Características morfológicas de *Steinernema. carpocapsae*

Los estudios de la caracterización microscópica del nematodo realizadas por Torrini, et al., (2014 p. 91), mencionan que el macho del nemátodo entomopatógeno *Steinernema* posee un cuerpo delgado en forma C, cabeza fina y redondeada, cutícula lisa, faringe cilíndrica, cola corta pero puntiaguda, al igual que la hembra es de tamaño variable, por ende, estas características son semejantes a lo que presenta el nematodo obtenido de las muestras de suelo de los cultivos del sistema orgánico de la comunidad San Francisco.

4.2.9 DL50 y TL50 de *Steinernema carpocapsae*

Durón (2016 p. 5), en su investigación indicó que el porcentaje de mortalidad posee una relación directa con la concentración, a mayor concentración, va a existir mayor número de larvas muertas de *G. mellonella* lo mismo sucede con el TL50, que mayor tiempo de aplicado el nemátodo en el insecto plaga mayor va a ser mayor el número de individuos muertos. Por otra parte, Pascagaza, (2020) menciona que *Steinernema carpocapsae* presentó una DL50 de 10 infectivos juveniles/larva de *Spodoptera frugiperda* con un TL50 de 45 horas posinfección, por tanto, la DL50 de nuestra investigación es próxima, debido a que se utilizó 2,3,4 nematodos/larva.

4.3 Verificación de la hipótesis

$H_0 = 0$ Se rechaza la hipótesis nula.

$H_a = 1$ Se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que, al menos se aisló y caracterizó más de un microorganismo entomopatógeno a partir de las muestras de suelos de los dos sistemas de producción agrícola familiar representativos de la comunidad San Francisco.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Se obtuvieron un total de 17 aislamientos de hongos entomopatógenos, procedentes de los cultivos del sistema orgánico y convencional, de los cuales 12 (70,59%) corresponden a *Beauveria bassiana* y 5 (29,41%) al *Metarhizium anisopliae*, así como también, se encontró un nematodo entomopatógeno correspondiente al género *Steinernema* proveniente de los cultivos del sistema orgánico.
- También se obtuvo un total de 15 aislamientos de bacterias procedentes de los cultivos del sistema convencional y orgánico de la comunidad San Francisco, pero que sometidos a pruebas de mortalidad no resultaron ser efectivos sino más bien probablemente correspondan a bacterias saprófitas.
- Cuatro cepas fúngicas fueron seleccionadas efectivas ya que a los 5 días produjeron la mortalidad del 100% de larvas de *G. mellonella*, dos de ellas corresponden al género *Metarhizium* (SFSCC2R2-A3, SFSOC3R2-A3), y las otras dos cepas al género *Beauveria* (SFSCC3R2-A1, SFSOC2R2-A1) provenientes de los sistemas de producción orgánico-convencional identificados en la comunidad San Francisco. Y en el caso del nematodo este provocó un 70% de mortalidad a los 8 días;
- La Dosis Letal 50 (DL50) para *B. bassiana* (SFSCC3R2-A1; SFSOC2R2-A1) presentó 6,22 y $6,09 \times 10^7$ esporas/mL, y para *M. anisopliae* (SFSCC2R2-A3; SFSOC2R3-A3) 2,16; $4,51 \times 10^7$, con un Tiempo Letal 50 de 5 días respectivamente. El nemátodo tuvo una DL50 de 3 nematodos/larva con un TL50 de 8 días.
- Las características macroscópicas de los aislamientos efectivos para *Beauveria bassiana* al inicio presentó micelio de textura algodonoso blanquecino, forma circular y esporulaciones de color amarillo para el aislado del sistema convencional diferenciándose del aislamiento del sistema orgánico que presentó un color beige; a nivel microscópico se evidenció esporas hialinas, lisas y globosas. En cambio, las cepas de *Metarhizium anisopliae* de los dos sistemas de producción presentó al inicio micelio blanquecino de textura algodonosa, forma circular que al transcurrir el tiempo fue formando esporulaciones de color verde oliva intenso, y a

nivel microscópico esporas cilíndricas. Y la caracterización molecular confirmó que estos aislamientos corresponden a las especies *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*. En el caso del nematodo entomopatógeno del género *Steinernema* no se logró caracterizar a nivel molecular.

5.2 Recomendaciones

- Realizar el bioescalado de los hongos entomopatógenos efectivos, para el control de plagas de la comunidad San Francisco u en otros sectores con características climáticas similares a lo que presenta esta comunidad.
- Usar larvas y/o adultos de otros insectos plagas de distintos órdenes, para obtener microorganismos entomopatógenos específicos para su control.
- Para la caracterización del nematodo se recomienda aplicar otra metodología alterna.

BIBLIOGRAFÍA

ALM, ROSENBLAD. Magnus, et al. “Detection of signal recognition particle (SRP) RNAs in the nuclear ribosomal internal transcribed spacer 1 (ITS1) of three lineages of ectomycorrhizal fungi (Agaricomycetes, Basidiomycota)”. *MycKeys* [En línea], 2016, 1(1), pp. 21-33. [Consulta: 21 de octubre 2022]. Disponible en: <https://mycokeys.pensoft.net/article/8579/>

ALTIERI, M. A. NICHOLIS, C. I. “Detection of signal recognition particle (SRP) RNAs in the nuclear ribosomal internal transcribed spacer 1 (ITS1) of three lineages of ectomycorrhizal fungi (Agaricomycetes, Basidiomycota)”. *Ecosistemas* [En línea], 2007, 16(1), pp. 18-22. [Consulta: 14 de marzo 2023]. Disponible en: <https://revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/133>

ALMEIDA, Milena. “Reseña de Agricultura Familiar-Ecuador”. *ondarural.org*. [En línea], 2022. [Consulta: 13 de septiembre 2022]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/5086>

CASTILLO, Jhosep. “Aislamiento e identificación de dos hongos entomopatógenos y evaluación de su antagonismo en la plaga *Frankliniella occidentalis* en cultivos de *Rosa* spp. de una florícola, Ecuador”. [En línea], 2021. [Consulta: 13 de diciembre 2022]. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/25683/1/T-ESPE-044709.pdf>.

CASTILLO, Carmen Elena, et al. "Caracterización morfológica de *Beauveria bassiana*, aislada de diferentes insectos en Trujillo-Venezuela". [En línea], 2012. [Consulta: 13 de marzo 2023]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/271825762_CARACTERIZACION_MORFOLOGICA_DE_BEAUVERIA_BASSIANA_AISLADA_DE_DIFERENTES_INSECTOS_EN_TRUJILLO-VENEZUELA. ISSN 1690-3226.

CONTRERAS ARIAS, Leidy Johanna, et al. "Identificación morfológica y molecular de aislamientos del género *Metarhizium*". [En línea], 2020. [Consulta: 15 de marzo 2023]. Disponible en: https://web.fedepalma.org/sites/default/files/files/Cenipalma/Reunion-tecnica2020/33_Morfolog%C3%ADa%20de%20aislamientos%20de%20Metarhizium%20aislados%20de%20insectos%20plaga%20en%20palma.pdf.

CHÁVEZ, Jenny y BURBANO, Rafael. "Cambio climático y sistemas de producción agroecológico, orgánico y convencional en los cantones Cayambe y Pedro Moncayo". *Letras Verdes - Revista Latinoamericana de Estudios Socioambientales* [En línea], 2021. [Consulta: 14 de marzo 2023]. Disponible en: <http://scielo.senescyt.gob.ec/pdf/lverdes/n29/1390-6631-lverdes-29-00149.pdf>

CHININÍN, Víctor, et al. "Asistencia técnica agrícola para la transición de la agricultura de subsistencia a la sostenible, Parroquia Buenavista, Cantón Chaguarpamba, Provincia de Loja, 2017". [En línea], 2019, 4(3), pp. 382-400. [Consulta: 16 de marzo 2023]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7164293>

PACASA, Fernando, LOZA, Manuel y FLORES, Bonifacio. "Comunidad de hongos filamentosos en suelos del Agroecosistema de Kiphak'iphani, Comunidad Choquenaira-Viacha". [En línea], 2017, 8(1), pp.435-437. [Consulta: 13 de marzo 2023]. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2072-92942017000100002

DÁVILA, Keysi. "Control biológico del mazorquero del cacao (Carmenta foraseminis), utilizando dos cepas nativas de Beauveria Bassiana, Región San Martín". [En línea], 2018. [Consulta: 15 de marzo 2023]. Disponible en: <https://tesis.unsm.edu.pe/handle/11458/3138>

CÓRDOVA VARGAS, Cindy Alexandra y LEÓN SICARD, Tomás Enrique. "Resiliencia de sistemas agrícolas ecológicos y convencionales frente a la variabilidad climática en Anolaima (Cundinamarca - Colombia)". *Agroecología* [En línea], 2013, 8(1). [Consulta: 21 de marzo 2023]. Disponible en: <https://revistas.um.es/agroecologia/article/view/182931>

CORREAL ESPINEL, carlos, et al. "Hongos entomopatógenos en el control biológico de insectos plaga". [En línea], 2019. [Consulta: 06 de marzo 2023]. Disponible en: <https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/34071/CB%20CAPITULO%206%20-%20WEB.pdf?sequence=4&isAllowed=y>.

CRICKMORE, Neil. "Using worms to better understand how *Bacillus thuringiensis* kills insects". *Trends Microbiol.* [En línea], 2005. 13(8), pp. 347-350. [Consulta: 01 de marzo 2023]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0966842X05001563>

DAMAS BUENROSTRO, Gabriela. "Aislamiento y efectividad de *Beauveria Bassiana* Villemin para el control biológico de la cucaracha urbana *Periplaneta Americana* L". [En línea],

2012. [Consulta: 11 de marzo 2023]. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/2707/1/1080227494.pdf>

DEKA, Bhabesh, BARUAH, Chittaranjan AND BABU, Azariah. "Entomopathogenic microorganisms: their role in insect pest management". [En línea], 2021, 3(121). [Consulta: 14 de febrero 2023]. Disponible en: <https://ejbpc.springeropen.com/articles/10.1186/s41938-021-00466-7>

DURÓN ALVARADO, Madai Yaraaí. "Estimación de la concentración y tiempo letal de los nematodo entomopatógenos Heterorhabditis bacteriophora, Steinernema carpocapsae para el control de Broca de café (*Hypothenemus hampei*)". [En línea], 2016. [Consulta: 02 de febrero 2023]. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/items/8e02cccb-08df-4b7a-855e-f09ac718a9cb>

CHAFLOQUE, Cristina. "Efecto de diferentes concentraciones de beauveria bassiana CCB-LE 265, Isaria fumosorosea CCB-LE 302, sobre larvas del III estadio de Musca domestica (Díptera: Muscidae)". *Universidad Nacional de Trujillo* [En línea], 2018, 1(1). [Consulta: 12 de febrero 2023]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/2074>

ESTRADA MARTÍNEZ, María Elena. "Utilización de hongos entomopatógenos para el control biológico de antrópodos plagas agrícolas". [En línea], 2019, 7(1). [Consulta: 14 de febrero 2023]. Disponible en: <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/254>

MAFLA, Any, VILLAMIL, Lucero y IBARRA, Tito. "Evaluación de la actividad biocontroladora de Beauveria bassiana y Metarhizium anisopliae sobre larvas de *Ancognatha scarabaeiodes* (Coleoptera: Scarabaeidae)". *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* [En línea], 2004, 5(1), pp. 43-48. [Consulta: 14 de febrero 2023]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4499/449953025006.pdf>

FAO. "Hacia una agricultura familiar más fuerte". [En línea], 2014, pp. 39. [Consulta: 30 de Agosto 2022]. Disponible en: <https://www.fao.org/publications/card/es/c/54630952-b39d-4430-b109-dc38a02c2315/>

MUÑOZ, Ismael. "Sanidad vegetal y seguridad alimentaria". [En línea] 2020, 1(45), pp. 17-19. [Consulta: 15 de diciembre 2022]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7687866>

FAO, BINDEAU, Simón y KORZENSKY, Anna. “Agricultura familiar”. *Nota de orientación jurídica* 8. [En línea], 2022, Vol. 39, No. 153, ISSN 0301-7036. [Consulta: 17 de enero 2022]. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0301-70362008000200002&script=sci_arttext

FENECSA. “Formulaciones de microorganismos”. *Ficha Técnica*. [En línea], 2013. [Consulta: 27 de febrero 2023]. Disponible en: <https://www.fenecsa.com.ec/micro-organismos/>.

FLORES, Antonio, et al. “Estudio del hongo entomopatógeno *Isaria fumosorosea* como control microbiológico de LA mosquita blanca *Bemisia tabaco*”. *Interciencia* [En línea], 2013, 38(7), pp. 523-527. [Consulta: 18 de marzo 2023]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/339/33928556008.pdf>

GALÁN, Lucila. “Aislamiento e identificación de hongos entomopatógenos de las diferentes zonas citrícolas de México”. [En línea], 2012. [Consulta: 13 de septiembre 2022]. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/2799/1/1080227487.pdf>

GALLEGOS TORRES, Franklin Iván. “Resistencia bacteriana en pacientes atendidos con gastroenteritis por salmonella spp. en el hospital corazón inmaculado de maría, del cantón el chaco”. [En línea], 2014. [Consulta: 20 de febrero 2023]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/8709>

GANDARILLA, Fátima, et al. “Producción de unidades infectivas de *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) a partir de aislados nativos del noreste de México mediante 3 estrategias de propagación”. *Revista Argentina de Microbiología* [En línea], 2017, 50(1), pp. 81-89. [Consulta: 18 de febrero 2023]. Disponible en: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0325754117300925?token=2184B089585C17E2E63EBB367936696B3224DF3ED84F8D297340723069AD23116435BA17DD148BF0340580C1C9C8B99E&originRegion=us-east-1&originCreation=20230316185922>.

GARCÍA, Cipriano, et al. “Macromorfología y crecimiento radial de cepas de hongos entomopatógenos suplementado con polvo de lepidópteros”. *Revista Colombiana de Entomología* [En línea] 2020, 46(1), ISSN 2665-4385. [Consulta: 20 de febrero 2022]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882020000100014

GARCÍA CAICEDO, María, TORRES, Angel y OCHOA, Angel. “Evaluación de nematodo entomopatógenos para el control del picudo de la piña en el estado Táchira Venezuela”. *Agronomía Tropical* [En línea], 2013, 63(1), ISSN 0002-192X. [Consulta: 10 de febrero 2023]. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0002-192X2013000100001&script=sci_arttext

GLISSMAN. “Agroecology: ecological processes in Sustainable Agriculture. Annn Arbor Presss, Ann Arbor”. 1998.

GÓMEZ, Hilda, et al. “Manual de Producción y Uso de Hongos Entomopatógenos”. [En línea], 2014. [Consulta: 08 de febrero 2023]. Disponible en: <https://corporacionbiologica.info/wp-content/uploads/2020/11/Manual-de-Prod-y-Uso-de-Hong-Entomopa.pdf>.

GRIJALBA, Erika, et al. “Bacterias entomopatógenas en el control biológico de insectos”. [En línea], 2019, 1(1), pp. 300. [Consulta: 12 de enero 2023]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Trevor-Jackson-3/publication/357698685_Entomopathogenic_bacteria_in_insect_biological_control/links/61db9cffb8305f7c4b347d25/Entomopathogenic-bacteria-in-insect-biological-control.pdf

GUILLEN NEPITA, ANA LAURA. “Morfología colonial”. *Blog: Bacteriología*. [En línea], 2020. [Consulta: 15 de marzo 2023]. Disponible en: <https://dingmicrolab.wordpress.com/2020/10/12/morfologia-colonial/>.

HERNÁNDEZ VELÁZQUE, V. Manuel, et al. “Aislamiento de hongos entomopatógenos en suelo y sobre gallinas ciegas (coleóptera: melolonthidae) en agroecosistemas de maíz”. *Acta Zoológica Mexicana* [En línea], 2011, 27(3), pp. 591-599. [Consulta: 15 de marzo 2023]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/575/57521382007.pdf>.

HERNÁNDEZ VELÁZQUEZ, Víctor Manuel and BERLANGA PADILLA, Angélica María. “Potencial de uso de nematodo entomopatógenos en México”. [En línea], 2016, ISSN: 2448-475X. [Consulta: 11 de marzo 2023]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Kenedy-Cortez/publication/350781416_NEMATODO_ENTOMOPATOGENOS_RHABDITIDA_STEI_NERNEMATIDAE_EN_SUELOS_CANEROS_DEL_CENTRO_DE_NAYARIT_MEXICO/links/60711729a6fdcc5f7794c46a/NEMATODO-ENTOMOPATOGENOS-RHABDITIDA-

[STEINERNEMATIDAE-EN-SUELOS-CANEROS-DEL-CENTRO-DE-NAYARIT-MEXICO.pdf](#)

HIDALGO DÁVILA, José Luis. “La situación actual de la sustitución de insumos agroquímicos por productos biológicos como estrategia en la producción agrícola: El sector florícola ecuatoriano”. *Universidad Andina Simón Bolívar* [En línea], 2017. [Consulta: 13 de septiembre 2022.]. Disponible en: <https://repositorio.uasb.edu.ec/handle/10644/6095>

IICA. “Beauveria Bassiana, hongo entomopatógeno para el control biológico de hormigas cortadoras (YSAÚ)”. [En línea], 2015. [Consulta: 01 de febrero 2023]. Disponible en: <https://repositorio.iica.int/handle/11324/2646>

JIMÉNEZ, Angel. “Bacterias entomopatógenas como alternativa para el biocontrol de plagas”. [En línea], 2019. [Consulta: 01 de marzo 2023]. Disponible en: <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/15760/Bacterias%20entomopatogenas%20como%20alternativa%20para%20el%20biocontrol%20de%20plagas.pdf?sequence=1>.

MANTZOUKAS, SPIRIDON, et al. “Entomopathogenic Fungi: Interactions and Applications”. [En línea], 2022. [Consulta: 16 de febrero 2023]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2673-8392/2/2/44>

MAROTO ARCE, Steven Arturo. “Agricultura familiar. Un nuevo sentido hacia el desarrollo y la seguridad alimentaria”. *FICHA TÉCNICA N° 3*. [En línea], 2015, 3(1). [Consulta: 20 de septiembre 2022]. Disponible en: <http://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2599/BVE17028576e.pdf;jsessionid=7665808BE8705209BAB3E36194F40CF3?sequence=1>.

MARTÍNEZ CASTILLO, Róger. “Sistemas de producción sostenible”. *Tecnología en marcha* [En línea], 2009, 22(2). [Consulta: 21 de septiembre 2022]. Disponible en: https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/114

MARTÍNEZ SILVESTRE, Alberto, LAVIN, Santiago and CUENCA, Rafaela. “Hematología y citología sanguínea en reptiles”. [En línea], 2011. [Consulta: 10 de marzo 2023]. Disponible en: <https://ddd.uab.cat/record/128943>

MAS, EVA, et al. “Fundamento de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)”. *Revista AguaTIC*. [En línea], 2016. [Consulta: 19 de febrero 2023]. Disponible en: <http://www.revistaaquatic.com/ojs/index.php/aquatic/article/view/139/128>.

Tobias, Dixon and Tilston, Libia. 2010. “Microbiology and sustainable crop production”. *Springer Science and Media BV* [En línea], 2010, 1(1), pp. 1-44. [Consulta: 03 de febrero 2023]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323915953000033>

MORENO, Alba and MADAI, Isela. “Desarrollo de un Insecticida Biorracional para el Control del Psílido Asiático de los Cítricos (*Diaphorina citri*) (Hemiptera: Psyllidae) mediante Nuevas Estrategias Biotecnológicas”. [En línea], 2013. [Consulta: 03 de marzo 2023]. Disponible en: <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/27435/DESARROLLO%20DE%20UN%20INSECTICIDA%20BIORRACIONAL%20PARA%20EL%20CONTROL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

MOROCHO, Norma, MAZÓN, Marina and RUIZ, Jeamel. “Presencia de *Phyllophaga* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae) y hongos entomopatógenos potenciales para su control biológico en sistemas agrícolas de Saraguro (Loja, Ecuador)”. *CEDAMAZ Revista del Centro de Estudio y Desarrollo de la Amazonia* [En línea], 2020, 10(2). [Consulta: 10 de marzo 2023]. Disponible en: <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/cedamaz/article/view/896>

NASTARAN, Tofangrazi, UNIVERSIDAD DE CALIFORNIA, Riverside, STEVEN, P. Arthurs and ROBIN M., Giblin Davis, Universidad de Florida. “Nematodo entomopatógenos”. [En línea], 2012, 36(2), pp. 65-69. [Consulta: 10 de marzo 2023]. Disponible en: <https://biblat.unam.mx/hevila/Centroagricola/2009/vol36/no2/10.pdf>

NAVA TREJO, MARIANA. “Modo de acción de *Isaria fumosorosea* como micoinsecticida sobre plagas de importancia económica”. [En línea], 2022. [Consulta: 13 de marzo 2023]. Disponible en: <https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/retrieve/c5ef6ee1-dc99-4166-bc6d-068db25a4dc9/250498.pdf>.

OCHOA, Gustavo and ARRIVILLAGA, Jazzmin. “*Bacillus thuringiensis*: Avances y perspectivas en el control biológico de *Aedes aegypti*”. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* [En línea], 2009, 49(2), ISSN 1690-4648. [Consulta: 11 de marzo 2023]. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482009000200002

ONU. “La agricultura familiar es un aliado fundamental para lograr el desarrollo sostenible”. [En línea], 2019. [Consulta: 22 de marzo 2023]. Disponible en: <https://news.un.org/es/story/2019/05/1456841>.

ORTIZ, José. “Aislamiento y caracterización de hongos entomopatógenos presentes en el suelo de las diferentes zonas agrícolas de la Provincia de Tungurahua”. *Universidad Técnica de Ambato* [En línea], 2021. [Consulta: 13 de septiembre 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/33664>

PACHECO HERNÁNDEZ, María De Lourdes AND RESÉNDIZ, MARTÍNEZ, J. Francisco. “Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México: una revisión”. *Rev. mex. de cienc. forestales*. [En línea], 2019, 10(56), ISSN 2007-1132. [Consulta: 22 de septiembre 2022]. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11322019000600004#:~:text=El%20t%C3%A9rmino%20entomopat%C3%B3genos%20se%20refiere,Garc%C3%ADa%20y%20Gonz%C3%A1lez%2C%202013).

PALLO, Byron. “Identificación de especies de nematodo entomopatógenos mediante la técnica PCR y microscopía electrónica de barrido, en aislamientos pertenecientes a la colección de la estación experimental Santa Catalina-INIAP”. [En línea], 2017. [Consulta: 15 de octubre 2022]. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/21000/13624/T-ESPE-057449.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

STERLING, Armando, GÓMEZ, Carlos AND CAMPO, Ary. “Patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycota: Hyphomycetes) sobre *Heterotermes tenuis* (Isoptera: Rhinotermitidae) en *Hevea brasiliensis*”. *Revista Colombiana de Entomología* [En línea], 2011, 37(1), pp. 36-42. [Consulta: 15 de marzo 2022]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v37n1/v37n1a06.pdf>

PDyOT. “Actualización del Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial Parroquia de Calpi”. *Escuela Superior Politécnica de Chimborazo* [En línea], 2015. [Consulta: 14 de septiembre 2022]. Disponible en: <http://dspace.espech.edu.ec/handle/123456789/17253>

PINOS, Daniel AND HERNÁNDEZ MARTÍNEZ, Patricia. “Modo de acción del insecticida biológico *Bacillus thuringiensis*”. [En línea], 2019, 40(2), ISSN 0325-7541. [Consulta: 15 de

octubre 2022]. Disponible en:
http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412008000200013

PINTO, J. “Micología”. *Microbiología ambiental*. [En línea], 2017, 32(2), pp. 122-125. [Consulta: 14 de marzo 2022]. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1130140614000412>

POLACK, Luis Andrés, LECUONA, Roberto Eduardo AND LÓPEZ, Silvia Noemí. “Control biológico de plagas en horticultura”. *ri.conicet.gov.ar*. [En línea], 2020, 5(1), ISBN: 978-987-8333-43-4. [Consulta: 20 de septiembre 2022]. Disponible en:
https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/150350/CONICET_Digital_Nro.2f304142-280b-4817-8e64-a8241851b46c_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y

PARRA, Frank, VILLALOBOS, S AND LUGO, M. “Potencial agrobiotecnológico de bacterias aisladas de suelos agrícolas asociados al cultivo de maíz en el Valle del Fuerte, Sinaloa”. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales* [En línea], 2017, 13(1), pp. 1-7. [Consulta: 12 de diciembre 2022]. Disponible en: <https://revista.itson.edu.mx/index.php/rlrn/article/view/264>

PUCHETA DÍAZ, Micaela, et al. “Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos”. *INCI v.31 n.12 Caracas* [En línea], 2006, 31(6), ISSN 0378-1844. [Consulta: 05 de diciembre 2022]. Disponible en:
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006001200006

PUYOL Jonathan and ALFREDO. “Determinación de la calidad de agua del sistema de riego “chi-pungales” y su incidencia en la producción de maíz de la comunidad pungal santa marianita del cantón guano”. *Universidad Nacional de Chimborazo* [En línea], 2016, 1(1), pp. 56-75. [Consulta: 12 de septiembre 2022]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/1491>

RAMÍREZ, Argelia, LARA, Antano AND MARTÍNEZ, Itzcó. “Diversidad de entomopatógenos en suelo agrícola de tres sistemas de producción en Tepatepec Estado de Hidalgo”. *researchgate.net/* [En línea], 2019, 6(1), pp. 3-6. ISSN: 2448-475X. [Consulta: 12 de septiembre 2022]. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/340476612_Diversity_of_entomopathogens_in_agricultural_soil_of_three_production_systems_in_Tepatepec_Hidalgo_State?enrichId=rgreq-7a5b31f40d7618181f879461893a6901-

[XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzM0MDQ3NjYxMjtBUzo4Nzc1NTg2NDgyNzQ5NDIAMTU4NjIzNzY5NDkyMA%3D%3D&el=1_x_3&_esc=publicationCoverPdf](https://www.researchgate.net/publication/331111111)

REYES, María. “Conductas de agregación en estadios adultos del nemátodo entomopatógeno *steinernema carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae)”. *Centro de investigación en alimentación y desarrollo, A.C.* [En línea], 2009, 1(1), pp. 1-15. [Consulta: 21 de noviembre 2022]. Disponible en: https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1006/571/1/ReyesVidal%20M%20Y_D_C_2009.pdf.

ROCHA, Pedro. “Exponen los beneficios del uso de bioinsumos en el agro en Venezuela”. *IICA.int.* [En línea], 2020, 1(1). [Consulta: 13 de septiembre 2022]. Disponible en: <https://iica.int/es/prensa/noticias/exponen-los-beneficios-del-uso-de-bioinsumos-en-el-agro-en-venezuela#:~:text=Los%20bioinsumos%2C%20explic%C3%B3%20Rocha%2C%20son,las%20caracter%C3%ADsticas%20biol%C3%B3gicas%20del%20suelo.>

RUIZ DE ESCUDERO, I., et al. “Aislamiento y caracterización de nuevas cepas de *Bacillus thuringiensis* procedentes de muestras de tierra de Canarias”. [En línea], 2006, 1(1), pp. 1-10. [Consulta: 6 de febrero 2023]. Disponible en: <https://www.miteco.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/plagas/BSVP-30-04-703-712.pdf>

SAJNAGA, Ewa AND KAZIMIERCZACK, Waldemar. “Evolución y taxonomía de bacterias entomopatógenas asociadas a nematodo de los géneros *Xenorhabdus* y *Photorhabdus* : una visión general”. *Artículo* [En línea], 2020, 1(1), pp. 1-13. [Consulta: 14 de marzo 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13199-019-00660-0>

SALAMANCA JIMÉNEZ, Alveiro AND SADEGHIAN KHALAJABADI, Siavosh. “La densidad aparente y su relación con otras propiedades en suelos de la zona cafetera Colombiana”. *Cenicafe.* [En línea], 2005, 1(1), pp. 2-9. [Consulta: 02 de marzo 2023]. Disponible en: <https://www.cenicafe.org/es/publications/arc056%2804%29381-397.pdf>

SALAZAR. “Agricultura familiar y campesina (AFC)”. *Pacto social por la vida y el ecuador* [En línea], 2020, 1(1). [Consulta: 20 de diciembre 2022]. Disponible en: <https://www.esquel.org.ec/es/que-son-las-mesas-tematicas-del-pacto/agricola-campesina.html>

SALCEDO, Salamón AND GUZMÁN. “Agricultura familiar en América Latina y el Caribe”. *fao.org*. [En línea], 2014, 1(1), E-ISBN 978-92-5-308364-0. [Consulta: 13 de septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.fao.org/3/i3788s/i3788s.pdf>

SÁNCHEZ, Hellen. “Seguridad y soberanía alimentaria en la agricultura familiar campesina. el caso de los agricultores de Tibasosa, Turmequé y Ventaquemada, Boyacá”. *Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia* [En línea], 2018, 1(1), pp. 28-46. [Consulta: 13 de septiembre 2022]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/34355>

SAUKA, Diego Herman AND BENINTENDE, Graciela Beatriz. “Bacterias Entomopatógenas”. *ri.conicet.gov.ar*. [En línea], 2021, 43(4), pp. 217-225. ISBN: 978-987-8333. [Consulta: 13 de septiembre 2022]. Disponible en: https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/142534/CONICET_Digital_Nro.921774fb5d6b-42ed-9ed2-7bde88cc0a5f_B.pdf?sequence=5&isAllowed=y.

SCHAPOVALOFF, María E. AND ANGELI ALVES, Luis F. “Ocurrencia natural de hongos entomopatógenos en suelos cultivados con yerba mate ((*Ilex paraguariensis* St.Hil.) en Misiones, Argentina”. *Rvista argentina de microbiologia* [En línea], 2015, 47(2), pp. 138-142. [Consulta: 20 de diciembre 2023]. Disponible en: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0325754115000474?token=5259E69B9F4A9DD2E70C158672A48808BA21056A1D10F5689CB347BFD9A76D60F0FA19CD6420907A294100DBDE39A415&originRegion=us-east-1&originCreation=20230316182805>.

SHINDE, S. V., et al. “*Lecanicillium lecanii* (zimm.) zare and games an important biocontrol agent for the management of insect pests – a review”. *Agri. Review* [En línea], 2010, 31(4), pp. 235-252. ISSN: 0976-0741. [Consulta: 14 de diciembre 2022]. Disponible en: <http://arccarticles.s3.amazonaws.com/webArticle/articles/ar314001.pdf>.

SOTO, Jorge. “Caracterización molecular de aislamientos de *beauveria bassiana* y *metarhizium anisopliae* y evaluación de su toxicidad sobre gusano cogollero del maíz *spodoptera frugiperda* (j.e. smith)”. *Instituto Politécnico Nacional Sinaloa*. [En línea] 2009, 1(1), pp. 28-53. [Consulta: 02 de marzo 2023]. Disponible en: <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/3804>

HARO, Pablo, VILLACORTA, Hugo AND ORIHUELA, Julio. “Tipificación de los Sistemas Productivos de Agricultura Familiar Cantón Penipe, Chimborazo, Ecuador”. [En línea], 2021, 6(1), pp. 4-10. [Consulta: 13 de septiembre 2022]. Disponible en: <https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/3447>

TORRINI, GIULIA, et al. “Morphological and molecular characterization of a steinernema carpocapsae (nematoda steinernematidae) strain isolated in Veneto region (Italy)”. [En línea], 2014, 97(1), pp. 89-94. [Consulta: 22 de noviembre 2022]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/270898874>.

VALLE MARTÍNEZ, Luciano. “La agricultura familiar en el Ecuador”. *flacsoandes.edu.ec*. [En línea], 2014, 147(1), pp. 12-28. [Consulta: 13 de septiembre 2022]. Disponible en: https://flacsoandes.edu.ec/sites/default/files/%25f/agora/files/la_agricultura_familiar_en_el_ecuador.pdf.

VEGA OBANDO, Rommel. “Historia – ¿Qué es el ‘Control biológico’?” [En línea], 2021, 1(1), pp. 1-3. [Consulta: 06 de marzo 2023]. Disponible en: <https://www.inapidte.ac.cr/pluginfile.php/33319/course/section/6491/Historia%2C%20C2%B7Qu%2C%20es%20el%20Control%20Biol%2C%20B3gico%3F.pdf?time=1616778841093#:~:text=En%20Am%C3%A9rica%20Latina%2C%20la%20llegada,Brasil%2C%20Venezuela%20y%20Costa%20Rica..>

VIDAURRE, Daniela, RODRIGUEZ, Alejandro AND URIBE, Lidieth. “Factores edáficos y nematodo entomopatógenos en un agroecosistema neotropical de banano”. *Costa Rica, Costa Rica : Revista de Biología Tropical*, [En línea], 2020, 68(1), pp. 276-288. ISSN-0034-7744. [Consulta: 05 de diciembre 2022]. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442020000100276&script=sci_arttext

VIERA ARROYO, William Fernando, et al. “Control biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador”. [En línea] 2020, 1(1), ISSN 2308-3859. [Consulta: 02 de noviembre 2022]. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/pdf/jsab/v8n2/v8n2_a06.pdf.

VILLAREAL DELGADO, María Fernanda, et al. “El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola”. *Rev. mex. fitopatol vol.36 no.1 Texcoco*. [En línea], 2018, 36(1), ISSN 0185-3309.

[Consulta: 01 de marzo 2023]. Disponible en:
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018533092018000100095#B63.

ZAMBRANO, Diana, et al. “Industria de bioinsumos de uso agrícola en Colombia”. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* [En línea], 2015, 18(1), pp. 59-67. [Consulta: 02 de marzo 2023]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v18n1/v18n1a08.pdf>.



ANEXOS

ANEXO A: IMAGEN SATELITAL DEL SITIO DE MUESTREO- COMUNIDAD SAN FRANCISCO



● Sistema Convencional ● Sistema Orgánico

ANEXO B: MUESTREO DE CULTIVOS DEL SISTEMA ORGÁNICO



ANEXO C: MUESTREO DE CULTIVOS DEL SISTEMA CONVENCIONAL



ANEXO D: MUESTRAS DE SUELO RESPECTIVAMENTE ETIQUETADAS, LARVAS DE *G. MELLONELLA*, PUESTAS EN TARRINAS PLÁSTICAS CAPACIDAD 1 L.



ANEXO E: RECUPERACIÓN DE LARVAS DE *G. MELLONELLA* A LOS 12 DÍAS Y PUESTA EN CÁMARA HÚMEDA.



ANEXO F: CÁMARA HÚMEDA DE LARVAS CON PRESENCIA DE MICELIO, CUERPOS BLANDOS Y AISLAMIENTO DE BACTERIAS Y HONGOS



ANEXO G: PREPARACIÓN DE SUSPENSIONES DE 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 DE ESPORAS/ML Y UFC BACTERIANAS/ML



ANEXO H: AISLAMIENTOS EFECTIVOS CORRESPONDIENTE DEL SISTEMA ORGÁNICO Y CONVENCIONAL



ANEXO I: LARVAS DE *G. MELLONELLA* INFESTADAS CON *M. anisopliae* Y *B. bassiana*.



ANEXO J: SOLUCIONES DE NEMATODO Y VISTA AL MICROSCOPIO



ANEXO K: SUSPENSIÓN DE NEMATODO PARA DETERMINAR LA DL50 DEL NEPS *Steinernema Carpocapsae*.



ANEXO L: NÚMERO DE ESPORAS/ML Y BACTERIAS/ML

- Hongos

N°	Tratamientos	Esporas/mL
1	SFSOC1R3-2/A1	5,50E+08
2	SFSOC3R1-A1	4,05E+07
3	SFSCC2R2-A3	3,84E+08
4	SFSOC3R2-A3	6,04E+08
5	SFSOC2R3-A2	2,14E+07
6	SFSCC3R3-1/A2	9,55E+07
7	SFSCCIRI-A5	6,43E+07
8	SFSOC3R2-A4	4,74E+08
9	SFSCC2R3-A1	6,00E+08
10	SFSOC3R1-A3	3,58E+07
11	SFSCC2R3-A3	4,92E+07
12	SFSCC2R1-A3	4,28E+07
13	SFSOC2R2-A1	2,36E+08
14	SFSCC3R2-A3	7,89E+08
15	SFSCC3R2-A1	1,26E+09
16	SFSCC2R3-A2	7,75E+08
17	SFSCC3R1-A2	9,18E+08

Realizado por: Culqui, Jessica, 2022

- Bacterias

N°	Tratamientos	bacterias/mL
1	SFSOC1R3-2/A1	2,85E+09
2	SFSOC3R1-A1	2,25E+09
3	SFSCC2R1-A1	3,00E+09
4	SFSOC1R1-A6	2,87E+09
5	SFSOC2R2-A1	2,70E+09
6	SFSOC1R3-A2	2,85E+09
7	SFSOC2R2-A3	1,50E+08
8	SFSOC3R3-A2	2,85E+09
9	SFSCC2R2-A1	2,70E+09
10	SFSOC1R2-1/A4	2,70E+09
11	SFSOC3R1-A2	2,70E+09
12	SFSOC1R1-A1	2,60E+09
13	SFSOC1R3-A1	2,85E+09
14	SFSCC2R3-A2	2,85E+09
15	SFSOC1R2-A2	1,50E+08

Realizado por: Culqui, Jessica, 2022

ANEXO M: RESULTADO DEL ANÁLISIS BLAST DEL NCBI.

	Descripción	Nombre científico	Maximo puntaje	Puntaje total	Cubierta de consulta	valor E	Por. Identificador	Cuenta Len	Adhesión
✓	Metarhizium anisopliae aislado F.01 gen de ARN ribosómico de subunidad pequeña, secuencia parcial...	Metarhizium ani...	459	459	79%	3e-124	93,33%	560	MN078271.1
✓	Metarhizium anisopliae aislado Fq18 gen de ARN ribosómico de subunidad pequeña, secuencia parcial...	Metarhizium ani...	459	459	79%	3e-124	93,33%	702	MK942509.1
✓	Metarhizium anisopliae aislado S17 gen de ARN ribosómico de subunidad pequeña, secuencia parcial...	Metarhizium ani...	459	459	79%	3e-124	93,33%	574	MK142277.1
✓	Metarhizium anisopliae aislado C7 espaciador interno transcrito 1, secuencia parcial, gen de ARN ribos...	Metarhizium ani...	459	459	79%	3e-124	93,33%	462	MK142276.1
✓	Metarhizium anisopliae aislado B21 gen de ARN ribosómico de subunidad pequeña, secuencia parcial...	Metarhizium ani...	459	459	79%	3e-124	93,33%	471	MK142271.1
✓	Cultivo de Metarhizium anisopliae CBS: 127632 cepa CBS 127632 gen de ARN ribosómico de subunid...	Metarhizium ani...	459	459	79%	3e-124	93,33%	601	MH864645.1

	Descripción	Nombre científico	Maximo puntaje	Puntaje total	Cubierta de consulta	valor E	Por. Identificador	Cuenta Len	Adhesión
✓	aislado de Beauveria bassiana ERL327 espaciador interno transcrito 1, secuencia parcial, gen de ARN r...	Beauveria bassi...	520	520	100%	8e-143	100,00%	521	MN122409.1
✓	Beauveria bassiana aislado ERL68 espaciador interno transcrito 1, secuencia parcial, gen de ARN ribos...	Beauveria bassi...	520	520	100%	8e-143	100,00%	518	MN122407.1
✓	Beauveria bassiana aislado ERL58 espaciador interno transcrito 1, secuencia parcial, gen de ARN ribos...	Beauveria bassi...	520	520	100%	8e-143	100,00%	526	MN122406.1
✓	aislado de Beauveria bassiana ERL319 espaciador interno transcrito 1, secuencia parcial, gen de ARN r...	Beauveria bassi...	520	520	100%	8e-143	100,00%	542	MN122402.1
✓	aislado de Beauveria bassiana Bb5-22-18Qr espaciador interno transcrito 1, secuencia parcial, gen de ...	Beauveria bassi...	520	520	100%	8e-143	100,00%	545	MN186738.1
✓	Beauveria bassiana aislado gen de ARN ribosomal de subunidad pequeña AP18, secuencia parcial, esp...	Beauveria bassi...	520	520	100%	8e-143	100,00%	551	MK803216.1



epoch

**Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje**

**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL**

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 26 / 06 / 2023

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: Jessica Beatriz Culqui Quinatoa
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: RECURSOS NATURALES
Carrera: AGRONOMÍA
Título a optar: INGENIERA AGRÓNOMA
f. responsable: Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz

Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz



1123-DBRA-UTP-2023