



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA AMBIENTAL

**CONTROL BIOLÓGICO DEL GORGOJO DEL MAÍZ (*Sitophilus*
zeamais) UTILIZANDO EXTRACTOS DE DIFERENTE
POLARIDAD DEL HONGO COMESTIBLE *Pleurotus ostreatus***

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AMBIENTAL

AUTORA:

JOSSETH ELENA MORÁN CABEZAS

Riobamba – Ecuador

2024



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA AMBIENTAL

CONTROL BIOLÓGICO DEL GORGOJO DEL MAÍZ (*Sitophilus zeamais*) UTILIZANDO EXTRACTOS DE DIFERENTE POLARIDAD DEL HONGO COMESTIBLE *Pleurotus ostreatus*

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AMBIENTAL

AUTORA: JOSSETH ELENA MORÁN CABEZAS

DIRECTOR: Dr. EDGAR IVAN RAMOS SEVILLA

Riobamba – Ecuador

2024

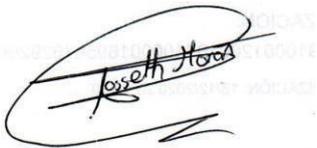
© 2024, **Josseth Elena Morán Cabezas**

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, Josseth Elena Morán Cabezas, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y los resultados de este son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor/autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

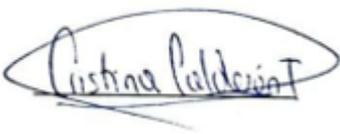
Riobamba, 05 de junio del 2024

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Josseth Morán", enclosed within a large, loopy oval scribble. The signature is written over a faint, light-colored watermark that repeats the name "Josseth Morán" and the text "Escuela Superior Politécnica de Chimborazo".

Josseth Elena Morán Cabezas
0604851451

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
INGENIERÍA AMBIENTAL

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; tipo: trabajo de investigación, **CONTROL BIOLÓGICO DEL GORGOJO DEL MAÍZ (*Sitophilus zeamais*) UTILIZANDO EXTRACTOS DE DIFERENTE POLARIDAD DEL HONGO COMESTIBLE *Pleurotus ostreatus***, realizado por la señorita: **JOSSETH ELENA MORAN CABEZAS**, 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. Romel Francisco Calles Jiménez PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2024-06-05
Dr. Edgar Iván Ramos Sevilla DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN		2024-06-05
Ing. Cristina Gabriela Calderón Tapia ASESORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN		2024-06-05

DEDICATORIA

A mi familia, personas cercanas y gatos que confiaron en mi durante toda mi carrera universitaria, su compañía me dio fortaleza para continuar en todas las circunstancias y paciencia para culminar con una etapa importante y crucial en mi vida que marcará mis acciones en beneficio de la sociedad.

Josseth Morán Cabezas

AGRADECIMIENTO

Un grato agradecimiento a mi familia que con paciencia y dedicación me han guiado a ser la persona que soy al término de esta carrera universitaria para continuar con mis siguientes etapas con entusiasmo en beneficio para la sociedad y naturaleza, a mis amigos cercanos que siempre me daban calma y momentos de diversión para que mis días en las aulas y recuerdos sean memorables, por ayudarme a aprender que la vida no se trata de estar solo para conseguir nuestras metas, la vida acompañada de buenos amigos que quieren lo mejor para ti se torna menos gris y a mis gatos que fueron mi soporte emocional durante este período de culminación de mi educación de pregrado y vida personal y a quienes ya no están conmigo, siempre estaré agradecida.

Josseth Morán Cabezas

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	x
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	xi
RESUMEN.....	xii
SUMMARY / ABSTRACT	xiii
INTRODUCCIÓN	1
1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA	2
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1.1 <i>Enunciado del problema</i>	2
1.2. JUSTIFICACIÓN	2
1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.3.1. <i>Objetivo general</i>	3
1.3.2. <i>Objetivos específicos</i>	3
2. MARCO TEÓRCIO	4
2.1. ANTECEDENTES	4
2.2. BASES TEÓRICAS	7
2.3. BASES CONCEPTUALES	11
3. MARCO METODOLÓGICO	13
3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN	13
3.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	13
3.3. Diseño Experimental / Cuasi Experimental / PRE Experimental.....	14
3.3.1. <i>Identificación de variables</i>	14
3.3.2. <i>Matriz de consistencia</i>	15
3.3.3. <i>Operacionalización de las variables</i>	16
3.3.4. <i>Localización del Estudio</i>	16
3.3.5. <i>Población de estudio</i>	16

3.3.6. <i>Técnicas de recolección de datos</i>	17
3.4. Preparación del sustrato, siembra y cosecha del micelio del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	18
3.5. Obtención de extractos de acetato de etilo y metanol con <i>Pleurotus ostreatus</i>	184.
RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	20
4.1. OBTENCIÓN DEL MICELIO DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS DE <i>Pleurotus ostreatus</i>	20
4.2. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS DE ACETATO DE ETILO Y METANOL A PARTIR DE <i>Pleurotus ostreatus</i>	20
4.3. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA CON KAPLAN MEYER.....	20
4.4. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA CON LOGRANK	26
4.5. PORCENTAJE DE EFICIENCIA DE ABBOTT EN EL EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO CON <i>Pleurotus ostreatus</i>	26
4.6. PORCENTAJE DE EFICIENCIA DE ABBOTT EN EL EXTRACTO DE METANOL CON <i>Pleurotus ostreatus</i>	27
4.7. COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS	28
4.8. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA).....	29
CONCLUSIONES	32
RECOMENDACIONES	33
ANEXOS	
BIBLIOGRAFÍA	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-3: Matriz de consistencia	15
Tabla 2-3: Operacionalización de las variables.....	16
Tabla 3-4: Gorgojos sobrevivientes en el extracto de Acetato de etilo con <i>Pleurotus ostreatus</i> en 24 horas	21
Tabla 4-4: Gorgojos de maíz sobrevivientes en el extracto de Acetato de etilo con <i>Pleurotus ostreatus</i> en 48 horas	21
Tabla 5-4: Gorgojos de maíz sobrevivientes en el extracto de Acetato de etilo con <i>Pleurotus ostreatus</i> en 72 horas.....	21
Tabla 6-4: Gorgojos de maíz sobrevivientes en el extracto de Metanol con <i>Pleurotus ostreatus</i> en 24 horas	22
Tabla 7-4: Gorgojos de maíz sobrevivientes en el extracto de Metanol con <i>Pleurotus ostreatus</i> en 48 horas	22
Tabla 8-4: Gorgojos de maíz sobrevivientes en el extracto de Metanol con <i>Pleurotus ostreatus</i> en 72 horas	23
Tabla 9-4: Elementos para el análisis de varianza.....	29
Tabla 10-4: Análisis de varianza (ANOVA).....	30

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1-2. Grano de maíz atacado por gorgojo	5
Ilustración 2-2. Gorgojo del maíz, gorgojo de los granos, gorgojo picudo.....	8
Ilustración 3-2. Ubicación de la parroquia San Gerardo, cantón Guano, provincia de Chimborazo	16
Ilustración 4-4. Método de Kaplan – Meier de supervivencia en el extracto de acetato de etilo con <i>Pleurotus ostreatus</i>	23
Ilustración 5-4. Método de Kaplan – Meier de supervivencia en el extracto de metanol con <i>Pleurotus ostreatus</i>	24
Ilustración 6-4. Método de Kaplan – Meier no supervivencia en el extracto de acetato de etilo con <i>Pleurotus ostreatus</i>	25
Ilustración 7-4. Método de Kaplan – Meier no supervivencia en el extracto de metanol con <i>Pleurotus ostreatus</i>	25
Ilustración 8-4. Análisis de supervivencia con Logrank entre el extracto de acetato de etilo y metanol.....	26
Ilustración 9-4. Distribución T-student	29
Ilustración 10-4. Gráfica de cajas de bigotes de extracto de acetato de etilo vs extracto de metanol	30

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ec. 1-3	14
Ec. 2-3	17

Resumen

El gorgojo del maíz, (*Sitophilus zeamais*), es una plaga que infesta al grano de maíz durante el secado y almacenamiento, alterando un 25% de la calidad del grano y su manejo se realiza con insecticidas sintéticos como fosfinas que pueden causar daños severos en el ambiente y salud de las personas como intoxicaciones, por tal motivo, el objetivo de esta investigación fue determinar la eficiencia de *Pleurotus Ostreatus* con extractos de acetato de etilo y metanol para el control del gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*) en las plantaciones de maíz de la parroquia San Gerardo, cantón Guano, provincia de Chimborazo. Los análisis de evaluación de la eficiencia fueron realizados con bioensayos con concentraciones al 1%, 3% y 5% de cada uno de los extractos por triplicado, el análisis de la supervivencia de los gorgojos de maíz fueron evaluados con el método Kaplan – Meier, prueba de Log – rank, porcentaje de Abbot; el análisis estadístico y ecotoxicológico fue realizado con el software Graph Prism y Minitab, obteniendo como resultado que el extracto de acetato de etilo con el champiñón ostra (*Pleurotus ostreatus*), presento una efecto insecticida del 85.55%, considerado alto por la FAO al presentar 77 muertes registradas durante las 72 horas de observación, mientras que el extracto de metanol con el champiñón ostra (*Pleurotus ostreatus*) fue del 53.33% con 42 muertes registradas al final del tiempo de observación, el cual, se encuentra dentro del rango de menor eficiencia insecticida propuesto por la FAO. Finalmente, el análisis estadístico demostró que el extracto de acetato de etilo presentó un mayor efecto plaguicida para el control del gorgojo de maíz en comparación al extracto de metanol.

Palabras clave: <Gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*) >, <Champiñón ostra (*Pleurotus Ostreatus*) >, <ACETATO DE ETILO>, <METANOL >.

0835-DBRA-UPT-2024



ABSTRACT

The maize weevil (*Sitophilus zeamais*) is a pest that infests maize grain during drying and storage, affecting 25% of the grain quality. Its management is carried out with synthetic insecticides such as phosphines, which can cause severe damage to the environment and human health, including poisoning. Therefore, the objective of this research was to determine the efficiency of *Pleurotus ostreatus* with ethyl acetate and methanol extracts for the control of the maize weevil (*Sitophilus zeamais*) in maize plantations in San Gerardo town in Guano city Chimborazo province. Efficiency evaluation analyses were conducted with bioassays at concentrations of 1%, 3%, and 5% of each extract in triplicate. The survival analysis of maize weevils was evaluated using the Kaplan-Meier method, Log-rank test, and Abbott's percentage. Statistical and ecotoxicological analysis was performed with Graph Prism and Minitab software. The results showed that the ethyl acetate extract with oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) had an insecticidal effect of 85.55%, considered high by the FAO, with 77 deaths recorded during the 72-hour observation period. In contrast, the methanol extract with oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) had an insecticidal effect of 53.33%, with 42 deaths recorded at the end of the observation period, which falls within the FAO's proposed lower insecticidal efficiency range. Finally, the statistical analysis demonstrated that the ethyl acetate extract had a greater pesticidal effect for the control of the maize weevil compared to the methanol extract.

Keywords: <Maize weevil (*Sitophilus zeamais*)>, <Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*)>, <ETHYL ACETATE>, <METHANOL>.



Ing. Romel Francisco Calles Jiménez

INTRODUCCIÓN

Pleurotus ostreatus es un hongo comestible que tiene forma de concha, pertenece al orden Agaricales y familia Pleurotaceae, tiene gran importancia en los roles ecológicos como la degradación de materia orgánica dentro de sus propiedades se encuentra que tiene un efecto terapéutico para infecciones causadas por bacterias patógenas vegetales, debido a que las propiedades nutricionales demuestran que tienen funciones de defensa contra las plagas y enfermedades (MÉNDEZ & GUTIÉRREZ HERNÁNDEZ, 2017). Por tal motivo, se lo ha utilizado junto con extractos de diferente polaridad, metanol y acetato de etilo, para formular pesticidas biodegradables que presentan eficiencia en el control del gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*).

Actualmente, se ha explorado en la formulación de compuestos de origen natural para contrarrestar el uso de sustancias sintéticas para el control químico de plagas, dado que, durante los últimos años, la frontera agrícola ha tenido una gran expansión en función del crecimiento poblacional, lo cual, ha obligado al sector agrícola usar sustancias químicas para el control de plagas y mejorar la calidad de los productos alimenticios (PINEDA-INSUASTI u. a., 2014).

A pesar de que en varios países como Costa Rica, Brasil, Argentina México y España, se ha permitido el uso de estas sustancias sintéticas para el sector agrícola, cabe destacar que existen consecuencias del uso de estas sustancias que resultan nocivas y destructivas para el ambiente, ya que, produce contaminación del aire, agua y suelo; y hacia la salud de las personas presentándose como intoxicaciones o envenenamiento por el consumo de alimentos infectados, por lo que, se va a determinar el efecto plaguicida de *Pleurotus ostreatus* (PUERTO RODRÍGUEZ u. a., 2014) con dos extractos de diferente polaridad para el control del gorgojo de maíz, porque este grano es uno de los granos más consumidos a nivel mundial y que sufre de afectaciones de plagas durante su etapa de maduración, cosecha y almacenamiento.

CAPÍTULO I

1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1.1 Enunciado del problema

El nivel de uso de agroquímicos en el sector agrícola sintéticos para el control de plagas ha incrementado hasta la actualidad por su amplio espectro de control y facilidad de penetración en los cereales (ZETTLER & ARTHUR, 2000), sin embargo, la calidad del suelo se ve afectada por la presencia de metales pesados, la cual, es consecuencia del uso de agroquímicos.

En la parroquia San Gerardo del cantón Guano de la provincia de Chimborazo, ha expandido su frontera agrícola con sembríos de maíz, papa y con la construcción de invernaderos, los cuales, utilizan agroquímicos para la obtención de los productos, dado que, se debe mantener la calidad de éstos sin considerar la degradación del ambiente. Por tal razón, ¿se puede aplicar el uso de *Pleurotus ostreatus* con diferentes extractos de diferente polaridad para el control del gorgojo del maíz en el sector agrícola de la parroquia San Gerardo del cantón Guano de la provincia de Chimborazo?

1.2. JUSTIFICACIÓN

1.2.1. Justificación técnica

Esta investigación tiene el propósito de aportar conocimiento sobre el control del gorgojo de maíz por medio del uso de pesticidas biodegradables en el sector agrícola que presenta altas cantidades de contaminación por elementos extraños del ecosistema como los metales pesados y lixiviados, los cuales, representan un problema ambiental para la provincia de Chimborazo y se han convertido en objeto de estudio para disminuir los efectos dañinos irreversibles que causa a la naturaleza si no se los atiende pronto.

1.2.2. Justificación científica

Pleurotus ostreatus constituye una alternativa terapéutica para infecciones causadas por bacterias patógenas vegetales, debido a que las propiedades nutricionales de los basidiomicetes han demostrado ser relevantes en la producción de metabolitos secundarios, con funciones de defensa contra plagas y enfermedades (MÉNDEZ &

GUTIÉRREZ HERNÁNDEZ, 2017).

Los esteroides que constituyen a los hongos *Pleurotus ostreatus* son metabolitos secundarios que constituyen propiedades con actividad antibiótica, antiinflamatoria e insecticida (SUÁREZ & JEANNETTE, 2012).

La obtención de muestras, siembra y cultivo del hongo y el análisis de la eficiencia como pesticida de *Pleurotus ostreatus*, se realizarán mediante métodos científicos que han demostrado su validez y confiabilidad de replicación en otros trabajos de investigación y permitirán determinar el efecto biotransformador de este hongo, el cual, es el objetivo de la presente investigación.

1.2.3. Justificación económica

La obtención del hongo para realizar las pruebas con los diferentes extractos de diferente polaridad requiere de una inversión económica baja debido a que el costo del hongo se lo considera dentro de los estándares económicos y los extractos de diferente polaridad hace referencia al metanol y acetato de etilo que se los puede obtener en laboratorio.

1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1. Objetivo general

Determinar la eficiencia de *Pleurotus ostreatus* con diferentes extractos de diferente polaridad en el control del gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*) en las plantaciones de maíz de la parroquia San Gerardo, cantón Guano, provincia de Chimborazo.

1.3.2. Objetivos específicos

- Obtener el micelio de los cuerpos fructíferos del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*.
- Sintetizar los extractos de acetato de etilo y metanol a partir del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*.
- Comprobar el efecto insecticida de *Pleurotus ostreatus* para el control del gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*) de la parroquia San Gerardo, cantón Guano, provincia de Chimborazo.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRCIO

2.1. ANTENEDENTES

De acuerdo con las proyecciones de densidad poblacional, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura estima que la demanda del maíz aumentará de 165 millones de toneladas a 400 millones para el 2030 y tras la cosecha, en el sistema de almacenamiento se puede producir interacciones biológicas negativas como las plagas que pueden causar pérdidas económicas (VILLALBA, 2016).

El daño que ocasionan los gorgojos de maíz (*Sitophilus zeamais*), es más grave en los trópicos secos y húmedos, donde las condiciones ambientales favorecen su reproducción, que en pocas semanas causa daños del orden de 25% en la calidad del grano o de la semilla (LAGUNAS & DOMÍNGUEZ, 1985), siendo la principal característica de su ataque, la aparición de una gran cantidad de polvillo blanco.

El gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*) es una plaga que infesta a las mazorcas en el campo durante el secado del grano, antes de la cosecha o en el almacenamiento del grano. (GARCÍA u. a., 2007) explican que los mayores daños al grano los ocasionan las larvas y los adultos que perforan el grano para ovipositar, mientras que las larvas forman surcos en el endospermo al alimentarse.

La presencia del gorgojo favorece el ataque de otros insectos, cuando hay mucha humedad y los insectos atacan el grano, se crea un foco de infección que ocasiona calentamiento en el maíz y en consecuencia fuertes infestaciones. La infestación se desarrolla cuando las hembras depositan sus huevos en perforaciones que hacen en el grano y luego los cubren con un mucílago transparente, la hembra produce hasta 250 huevos en su vida reproductiva. Las larvas se alimentan del endospermo del grano, hasta que se transforman en pupa y cuando se convierten en adultos, perforan el grano y salen al ambiente. Su ciclo de vida depende de la temperatura, pero varía entre 30 y 113 días (García u. a., 2007).

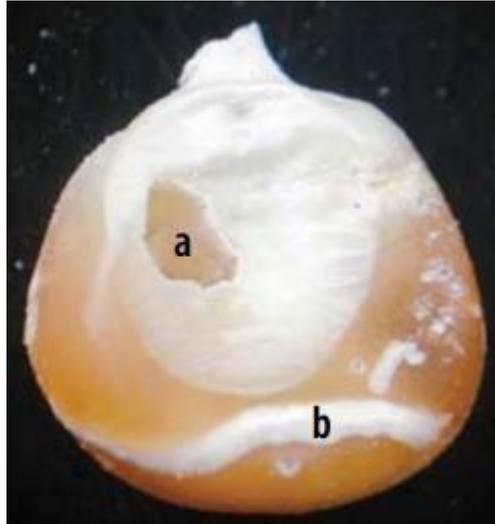


Ilustración 1-2. Grano de maíz atacado por gorgojo.

Fuente: (GARCÍA u. a., 2007)

(CORRALES CASTILLO u. a., 2017) describen que existe dos tipos de métodos de manejo del gorgojo de maíz que son el manejo cultural que consiste en cosechar a tiempo los cultivos en grano para minimizar la infestación en el almacenamiento, se lo debe mantener en áreas de almacén y recipientes limpios y libres de residuos de granos antes de introducir el material nuevo; y el manejo biológico que es el uso de avispas parasitoides larvales: *Anisopteromalus calandrae* (*Hymenoptera: Pteromalidae*) que es su enemigo natural y se encuentra en el maíz almacenado, junto con la plaga.

A su vez, existen otras alternativas de control como el mejoramiento genético mediante evaluaciones del germoplasma con el fin de encontrar e incorporar fuentes de resistencia a las variedades mejoradas, porque la infestación principal por gorgojos inicia cuando el grano se encuentra en la etapa de estado lechoso, ya que, la tolerancia al ataque de insectos ha sido atribuida a factores como la dureza, tamaño, textura del grano, contenido de amilosa, contenido de fenoles y la presencia de ácido cumárico (RAMAYO, 1983)

El método predominante para el control de esta plaga es el uso de insecticidas sintéticos como la fosfina y el bromuro de metilo. (VILLALBA, 2016) describe que el uso indiscriminado de los compuestos químicos originó el surgimiento de resistencia por parte de insectos, plagas, contaminación ambiental, desaparición de organismos benéficos y riesgos para la salud humana, por lo que, se analiza alternativas como la

búsqueda de bioplaguicidas que resguarden la calidad de los productos almacenados ante los ataques externos, dado que los insecticidas naturales generalmente son específicos hacia una plaga, lo que significa que eliminan solo a ese agente, sin matar otro tipo de organismos que están en el ambiente y que quizás sean beneficiosos para controlar al insecto o al hongo (VILLALBA, 2016).

El control químico está centrado en el uso de las fosfaminas que se encuentran en los productos fumigantes como Phostoxin, Gastión, Detia y otros. (NINA u. a., 2018) explican que estos productos son pastillas que se gasifican sólo cuando son extraídas de su recipiente y quedan en contacto con la humedad del ambiente, es muy tóxico, incoloro y es la materia activa que mata a los insectos en todas sus etapas (huevo, larva, pupa y adulto), debe usarse bolsas de plástico herméticas y ambientes o silos muy herméticos que no permitan la fuga del gas.

De igual manera, para disminuir los daños que causan esta plaga, (NINA u. a., 2018) recomiendan realizar en el campo; hacer una cosecha adelantada de las mazorcas con infestaciones iniciales y luego eliminarlas, evitando la infestación en los tendales y almacén, durante el desgrane se debe eliminar los granos atacados y almacenar granos de maíz desgranado y no mazorcas, protegidos de plantas repelentes como muña y eucalipto.

Sin embargo, el uso de insecticidas sintéticos ha producido efectos adversos como la contaminación del ambiente, presencia de residuos peligrosos en alimentos, junto con antecedentes de insectos resistentes a insecticidas sintéticos como organofosforados o piretroides (POHLEVEN u. a., 2011). De acuerdo con (MOLINA, 1999), la agricultura ha depositado una confianza excesiva en los insecticidas sintéticos para el control de plagas, muchos de estos compuestos son biocidas de amplio espectro que tienen serios efectos en otros organismos.

Aún los insecticidas bioracionales pueden tener efectos de largo alcance, por eso es importante considerar el uso de insecticida con selectividad fisiológica o ecológica. La mortalidad directa o subletal de los insecticidas sobre los enemigos naturales puede ser causada por contacto directo, contacto con residuos o a través de la cadena alimenticia. Sin embargo, el efecto de los insecticidas sobre los enemigos naturales ha sido menos estudiado que el efecto que estos tienen sobre las plagas, ya que estas son el principal objetivo del control (GONZÁLEZ u. a., 2016).

El control químico con insecticidas sintéticos es el más empleado para el control de gorgojos, sin embargo, estos insecticidas generan efectos negativos en los seres humanos por su alta capacidad de bioacumulación y su poder residual prolongado (GARCÍA u. a., 2014) explican que el uso continuo de estos químicos trae como consecuencia la contaminación del ambiente con pérdida de la biodiversidad en los ecosistemas, problemas de salud en humanos asociados principalmente con riesgos de intoxicación y la presencia de residuos de insecticidas en alimentos y entre otros efectos secundarios.

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. *Pleurotus ostreatus*

Pleurotus ostreatus es una especie de hongo comestible que se desarrolla sobre madera y tiene forma de concha, pertenece al orden Agaricales y familia Pleurotaceae, es muy importante en roles ecológicos como la degradación de materia orgánica principalmente lignina y compuestos hemicelulíticos (PAVLIK u. a., 2008).

P. ostreatus es un hongo de fácil cultivo en diversos residuos derivados de la agroindustria como desperdicios del aserrado de madera; varios estudios han testeado la productividad y rendimiento de proteína de esta especie en diversos sustratos, por ejemplo, hojas de plátano y aserrín (38,5% de proteína), paja de trigo (25,6% de proteína), eucalipto (25,4% de proteína) y en álamo (22,9% de proteína) (CRUZ u. a., 2021). En Ecuador, a nivel de laboratorio se ha evaluado principalmente la eficiencia biológica en bagazo de caña y afrecho de trigo (PINEDA-INSUASTI u. a., 2014)

P. ostreatus tiene un alto valor nutricional conteniendo entre 57% y 61% de carbohidratos, 26% de proteína; 11,9% de fibra y 0,9% a 1,8% de grasas con base a su peso seco, también posee vitaminas como el niacina, tiamina (B1), vitamina B12, vitamina C o ácido ascórbico y minerales como potasio, fósforo y calcio (BARROS u. a., 2008).

Esta especie de hongo es una especie introducida en el Ecuador y se constituye como un aporte nutricional proteico comparable con otros suplementos alimenticios, especialmente en poblaciones vulnerables con recursos económicos limitados (MAJESTY u. a., 2018).

Los hongos durante la postcosecha se comportan como las demás hortalizas y al carecer de película protectora son vulnerables a cambios físicos, microbianos y daños mecánicos; la pérdida de surgencia y procesos de degradación afectan la vida media durante el almacenamiento (RIVERA, 2008) lo cual altera su textura y color, parámetros de gran importancia en la industria de los hongos.

La textura de los hongos, está definida por la disposición del tejido reticulado la cual produce un material blando con una energía paralela a las fibras reticuladas del mismo, en cuanto al color, el pardeamiento enzimático tiene lugar durante la senescencia o daño en la post cosecha, este ha sido atribuido a la actividad de la Polifenol Oxidasa y la velocidad de dicho proceso está determinada por la concentración de la enzima, compuestos fenólicos, pH, temperatura, oxígeno disponible y actividad de agua (CORTÉS RODRÍGUEZ & SUAREZ-MAHECHA, 2007), para evitar el pardeamiento se utiliza ácido ascórbico.

El cultivo de *P. ostreatus* se presenta como una opción para aprovechar los residuos lignocelulósicos agrícolas, agroindustriales y urbano disponibles, esta técnica ha sido difundida a lo largo de diferentes países, por la abundancia de la materia prima para su desarrollo, debido a que usa como principales alimentos a la celulosa y lignina presentes en dichos residuos (NORA GARCÍA-ODUARDO u. a., 2011).

Así como por la relativa facilidad y versatilidad del manejo de las condiciones para su producción. Este hongo crece en ambientes con temperaturas de 23 a 32°C con una óptima de 28°C para crecimiento micelial y de 18 a 20°C para formación de primordios, pH de 4.5 a 7 con un óptimo de 5.5, humedad de sustrato entre 60 y 70%, y una humedad relativa de 80 a 90 (SÁNCHEZ & ROYSE, 2001) %.

2.2.2. Gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*)

El gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*), es una plaga primaria que es capaz de sobrevivir de cuatro a ciento meses y causar daño al grano sano incluso antes de su cosecha, dado que las larvas causan el mayor daño por su desarrollo en el interior del grano, transformándose en pupa y luego en adultos (PIZARRO, 2007).

(GARCÍA u. a., 2007), explican que esta plaga se caracteriza por tener una región circumoral alargada en forma de una trompa o probóscide y terminadas en una maza compacta, su cuerpo es generalmente ovalado o semicilíndrico, las patas tienen los

fémures engrosados. La hembra produce de 200 a 500 huevecillos durante toda su vida y alcanzan su máxima producción de tres a cuatro meses después de que emergen.



Ilustración 2-2. Gorgojo del maíz, gorgojo de los granos, gorgojo picudo

Fuente: (GARCÍA u. a., 2007)

El gorgojo adulto mide entre 3.3 y 5 milímetros de largo; es de color pardo negruzco o rojizo; su cabeza se proyecta en forma de pico y su tórax es alargado y cónico, con manchas ovales en el dorso (GARCÍA u. a., 2007).

La infestación del gorgojo de maíz inicia en el almacenamiento de la semilla y está relacionada con factores climáticos y el porcentaje de humedad del medio en donde se realiza el almacenamiento. (TINOCO u. a., 2002) explican que las larvas y adultos se alimentan del grano; la hembra adulta hace un hueco en el grano, deposita un solo huevo por grano y lo cubre con un fluido gelatinoso. Durante su ciclo de vida una hembra puede depositar de 300 a 550 huevos, los cuales incuban en tres días y originan una larva blanca y suave de tres milímetros.

Los factores que favorecen la infestación del gorgojo de maíz hacia los cultivos y almacenamiento de maíz se describen a continuación:

- ✓ La disminución de la precipitación incrementa la infestación en condiciones de campo.
- ✓ La existencia de remanentes de semillas o harina de temporadas pasadas en los contenedores de almacenamiento (PÉREZ, 1988).
- ✓ La cobertura es un factor que influye en la presencia de daños por gorgojos en su infestación en campo, de acuerdo con (RAMAYO, 1983), la mala

cobertura facilita la entrada del insecto y el inicio de los daños, desde que el grano se encuentra en estado lechoso.

- ✓ En las regiones tropicales los gorgojos causan pérdidas considerables, debido a que la cosecha permanece en el campo, por la dificultad para su secado, hasta que presenta entre 12% a 14% de humedad, representando mucho tiempo de exposición al insecto, donde recibe la infestación que luego se incrementa rápidamente bajo condiciones de almacenamiento (RICA PALAFOX-CABALLERO u. a., 2008).
- ✓ El retraso en la cosecha incrementa significativamente el porcentaje de mazorcas dañadas por gorgojos.

Según el (INSTITUTO NACIONAL DE FORMACIÓN PROFESIONAL, 2019), las afectaciones que causa la presencia del gorgojo de maíz, son las siguientes:

- ✓ Aumentan la respiración del grano y con ello mejoran el ambiente propicio para los microorganismos.
- ✓ Reducción del proceso de germinación de la semilla.
- ✓ El excremento del gorgojo contamina el grano y transporta esporas de hongos.
- ✓ La presencia de ciertos gorgojos produce feromonas que tienen efectos cancerígenos sobre el humano.
- ✓ Reducción del peso y precio en el mercado, debido a que la presencia de gorgojos en los granos durante el proceso de almacenamiento afecta a la calidad física del grano y al aspecto económico por el daño directo a los mismos (LUNA, 1999).
- ✓ El número de granos dañados es una consecuencia del fuerte ataque de los insectos que se desarrollan en los granos almacenados, provocando con estos una disminución de la calidad, que lo hacen perder su aceptabilidad en el mercado (LUNA, 1999).

2.2.3. Plaguicidas

Según (LANDA, 2021), los plaguicidas o insecticidas son sustancias o mezcla de sustancias que son usadas para controlar o repeler las plagas que invaden los hogares, industrias o cultivos, los plaguicidas sintéticos se han convertido en la forma dominante del combate a las plagas después de la segunda guerra mundial y al tipo de estructura dependiente de estos insumos.

El uso creciente de plaguicidas químicos sin restricción puede provocar la resistencia

a plaguicidas, plantas y de hongos, dicha resistencia de las plagas a los plaguicidas es un proceso mediante el cual los insectos desarrollan mecanismos bioquímicos que permiten que la dosis aplicada ya no sea mortal y se hereda a generaciones posteriores.

Agregando a lo anterior, la dispersión de plaguicidas en forma líquida o en polvo para exterminar las plagas se suelen dispersar en el aire para combatir los insectos voladores. (PUERTO RODRÍGUEZ u. a., 2014) describen que los plaguicidas que contaminan el medio ambiental, determinan el punto de contacto de los seres humanos con estas sustancias, entre los que se pueden encontrar el medio laboral, doméstico, lugares de recreación o cuando se consumen alimentos que contienen residuos de estas sustancias, a su vez, los plaguicidas tienen efectos agudos y crónicos sobre la salud cuando entran en contacto con el hombre a través de todas las vías de exposición posibles: respiratoria, digestiva y dérmica, pues estos pueden encontrarse en función de sus características, en el aire inhalado, en el agua y en los alimentos, entre otros medios ambientales.

Los plaguicidas son compuestos químicos que han aportado beneficios al ser humano a través de los tiempos, usados básicamente para el control de las enfermedades en el hombre y las plagas en la agricultura, y que en la actualidad aún son prioritarios para su utilización en áreas específicas (PUERTO RODRÍGUEZ u. a., 2014).

Se ha acumulado suficiente evidencia de los riesgos que conlleva el uso excesivo e indiscriminado de los plaguicidas para la salud y el ambiente, riesgos que además comprometen la sostenibilidad de los sistemas agrícolas, por lo que corresponde políticamente a los gobiernos, su uso racional, aplicar medidas de mitigación ante los efectos causados a la salud y el ambiente y encontrar alternativas para su control (PUERTO RODRÍGUEZ u. a., 2014).

2.3. BASES CONCEPTUALES

Ovipositar: Poner huevos, especialmente, los insectos hembra y algunos peces (DICCIONARIO DEL ESPAÑOL DE MÉXICO, 2023).

Endospermo: Tejido nutritivo que se encuentra a un lado del embrión o rodeándolo. En el caso de las angiospermas procede de la fusión de un núcleo generativo con los dos núcleos centrales del saco embrionario formando un tejido triploide (MEGÍAS u. a., 2023; SILVA u. a., 2022).

Mucílago: Tipo de fibra soluble que tiene una forma viscosa, algunas plantas producen los mucílagos de forma natural, ya que, posee diversas funciones positivas para la salud de las personas y tiene ciertas utilidades (PORTILLO, 2023).

Germoplasma: Conjunto de genes que se transmiten a la descendencia por medio de células reproductoras y que permiten perpetuar una especie o una población de organismos (REAL ACADEMIA ESPAÑOLA, 2023).

Ácido cumárico: Compuesto orgánico que posee un alto poder antibacteriano y su consumo en la dieta puede modificar la composición del microbiota del tracto gastrointestinal (LÓPEZ, 2012).

Bioplaguicida: Plaguicidas naturales derivados de extractos de materiales naturales de plantas, microorganismos o de sustancias que liberan dichos organismos, así también, se incluyen algunos minerales que por lo general solo afectan la plaga a la cual está dirigido. (Ramírez, 2012).

Fosfaminas: Gas incoloro, inflamable que explota a temperatura ambiente y que huele a ajo o pescado podrido, pequeñas cantidades ocurren naturalmente provenientes de la degradación de materia orgánica y es levemente soluble en agua (AGENCIA PARA SUSTANCIAS TÓXICAS Y EL REGISTRO DE ENFERMEDADES, 2002).

Phostoxin: Fumigante sólido que puede utilizarse para el control de las plagas de los granos almacenados, tabaco, especias, piensos (concentrados de alimentación animal), fruta deshidratada, pieles, cacao en granos, el producto en presencia de la humedad y temperatura ambiente se hidrolizan y liberan fosfina, gas venenoso (DEGESCH DE CHILE, 2017)

Gastión: Producto utilizado para proteger los productos almacenados de los daños causados por insectos, está compuesto por Fosfuro de Aluminio como principio activo, un sólido fumigante de elevado poder insecticida, cuando es expuesto al aire, el fosfuro de aluminio reacciona con la humedad atmosférica para producir un gas conocido comúnmente como Fosfamina. (FARMAGRO, 2016)

Detia: Fumigante insecticida a base de Fosfuro de Aluminio en forma de tabletas que producen de fosfuro de hidrógeno, es eficaz para el control de toda clase de

insectos presentes en los productos almacenados, a su vez, controla los diferentes estados de crecimiento de los insectos, huevos, larvas, ninfas y pupas (DISPEIN, 2021).

Piretroides: Insecticidas que se aplica a cosechas, plantas de jardines, animales domésticos y también directamente a seres humanos, los niveles altos de piretroides pueden causar mareo, dolor de cabeza, náusea, espasmos musculares, falta de energía, alteraciones de la conciencia, convulsiones y pérdida del conocimiento (AGENCIA PARA SUSTANCIAS TÓXICAS Y EL REGISTRO DE ENFERMEDADES, 2003).

Subletal: Casi mortal (MEDICOPEDIA, 2023).

Pardeamiento: Reacción de oxidación en la que interviene como substrato el oxígeno molecular, está relacionada con la actividad de la enzima polifenol oxidasa que cataliza la oxidación a diferentes compuestos fenólicos, con la consecuente transformación a pigmentos oscuros no deseables para la calidad industrial (Suárez u. a., 2009).

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Este trabajo de investigación es de tipo experimental, dado que, el levantamiento de información como el análisis, comprobaciones, aplicaciones prácticas, conocimientos y métodos utilizados para llegar a obtener conclusiones, se realizan en el medio que se desenvuelve, es decir se trabaja directamente en los bioensayos y sólo se utiliza un carácter documental para valar o complementar los resultados (MUÑOZ, 1998).

3.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

3.2.1. *Investigación experimental*

En el presente trabajo se realiza una investigación de tipo experimental, pues se presenta mediante la manipulación de una variable experimental no comprobada, en condiciones controladas, con el fin de describir de qué modo o causa se produce del efecto insecticida de *Pleurotus ostreatus* en los cultivos de maíz del sector agrícola

de la parroquia San Gerardo, cantón Guano.

En el experimento, se maneja de manera deliberada la variable experimental para luego observar que ocurre en condiciones controladas (RODRÍGUEZ, 2005). La investigación descriptiva se lleva a cabo mediante la manipulación de una variable experimental no comprobada que fue el efecto insecticida los extractos, con el fin de describir de qué manera estos extractos causan la muerte de los gorgojos de maíz.

Dentro del proceso del experimental, es posible manejar de manera determinada la concentración y tiempo de exposición de cada uno de los extractos en los bioensayos y luego observar lo que ocurre en condiciones controladas.

3.2.2. Según las intervenciones en el trabajo de campo

A más de ser una investigación experimental, tiene un periodo longitudinal de panel. Esto se debe a que se debe observar los efectos producidos por la aplicación de *Pleurotus ostreatus* sobre cultivos de maíz infectados por el gorgojo de maíz seleccionados previamente y las muestras tomadas serán las mismas durante y después de la aplicación del hongo.

3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL / CUASI EXPERIMENTAL / PRE EXPERIMENTAL

3.3.1. Identificación de variables

3.3.1.1. Variable independiente

Las variables independientes que se va a manejar en el presente trabajo de titulación serán los extractos de acetato de etilo y metanol con *Pleurotus ostreatus*, debido a que, determina el valor de la variable independiente no depende de otra variable.

3.3.1.2. Variable dependiente

La variable dependiente que se va a determinar en el presente trabajo de titulación serán la tasa de mortalidad de los gorgojos de maíz (*Sitophilus zeamais*) a causa del efecto plaguicida de los extractos elaborados.

3.3.1.3. Planteamiento de la hipótesis

Se planteará la hipótesis con los siguientes parámetros:

u_1 = Extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus*.

u_2 = Extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus*.

Hipótesis planteada: El extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus* tendrá un efecto plaguicida mayor al extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus*.

$$\begin{aligned}
 & \textbf{Hipótesis nula} \rightarrow H_0: u_1 = u_2 \\
 & \textbf{Hipótesis alternativa} \rightarrow H_a: u_1 > u_2 \\
 & \textbf{Estadístico de prueba} \rightarrow t_0 = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}}
 \end{aligned}$$

Ec. 1-3

Donde:

t_0 = Estadístico de prueba con T-student

\bar{x} = Media de muertes registradas en el extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus*.

\bar{y} = Media de muertes registradas en el extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus*.

S^{21} = Varianza de muertes registradas en el extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus*.

S^{22} = Varianza de muertes registradas en el extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus*.

n_1 = Número de muerte registradas en el extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus*.

n_2 = Número de muerte registradas en el extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus*.

3.3.2. Matriz de consistencia

Tabla 1-3: Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES
<p>PROBLEMA GENERAL:</p> <p>¿Se puede aplicar el uso de <i>Pleurotus Ostreatus</i> con diferentes extractos de diferente polaridad para el control del gorgojo del maíz en el sector agrícola de la parroquia San Gerardo del cantón Guano de la provincia de Chimborazo?</p>	<p>OBJETIVO GENERAL:</p> <p>Determinar la eficiencia de <i>Pleurotus Ostreatus</i> con diferentes extractos de diferente polaridad en el control del gorgojo de maíz (<i>Sitophilus zeamais</i>) en las plantaciones de maíz de la parroquia San Gerardo, cantón Guano, provincia de Chimborazo.</p> <p>OBJETIVOS ESPECÍFICOS:</p> <p>Obtener el micelio de los cuerpos fructíferos del hongo comestible <i>Pleurotus Ostreatus</i></p> <p>Sintetizar los extractos de acetato de etilo y metanol a partir del hongo comestible <i>Pleurotus Ostreatus</i>.</p> <p>Comprobar el efecto insecticida de <i>Pleurotus Ostreatus</i> para el control del gorgojo de maíz de la parroquia San Gerardo, cantón Guano, provincia de Chimborazo.</p>	<p>HIPOTESIS GENERAL:</p> <p>Hipótesis nula</p> $H_0: u_1 = u_2$ <p>Hipótesis alternativa</p> $H_a: u_1 > u_2$ <p>Estadístico de prueba</p> $t_o = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}}$	<p>VARIABLE INDEPENDIENTE:</p> <p>Extractos de acetato de etilo y metanol con <i>Pleurotus ostreatus</i></p> <p>INDICADORES:</p> <p>Propiedades plaguicidas de los biopesticidas creados a partir de <i>Pleurotus ostreatus</i> con metanol y acetato de etilo.</p> <p>VARIABLE DEPENDIENTE:</p> <p>Mortalidad de los gorgojos de maíz (<i>Sitophilus zeamais</i>)</p> <p>INDICADORES:</p> <p>Tasa de mortalidad del gorgojo de maíz a causa del uso del biopesticida.</p>

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

3.3.3. Operacionalización de las variables

Tabla 2-3: Operacionalización de las variables

VARIABLE	CONCEPTO	INDICADOR	INSTRUMENTO
VARIABLE INDEPENDIENTE:	Plaguicidas naturales derivados de metanol y acetato de etilo con <i>Pleurotus ostreatus</i>	Propiedades plaguicidas de los biopesticidas creados a partir de <i>Pleurotus ostreatus</i> con metanol y acetato de etilo.	Análisis de supervivencia.
VARIABLE DEPENDIENTE:	Plaga que infesta a las mazorcas en el campo durante el secado del grano, antes de la cosecha o en el almacenamiento de maíz.	Tasa de mortalidad del gorgojo de maíz a causa del uso del biopesticida.	Técnica de análisis de supervivencia con el método de Kaplan Meier, la prueba de Logrank para obtener las curvas de supervivencia del gorgojo y el porcentaje de eficiencia de Abbott.

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

3.3.4. Localización del Estudio

El estudio se va a realizar en los cultivos de maíz del sector agrícola de la parroquia San Gerardo, cantón Guano de la provincia de Chimborazo, LATITUD 1°38'17.07"S LONGITUD 78°36'55.83"O.

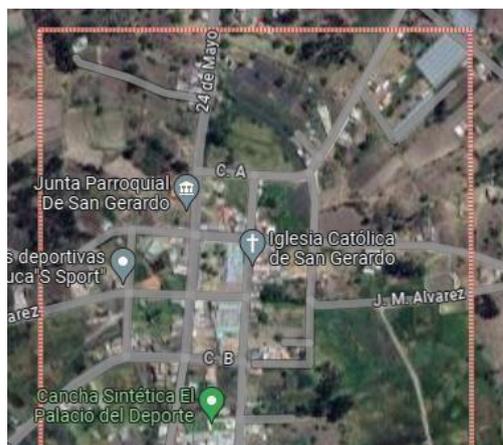


Ilustración 3-2. Ubicación de la parroquia San Gerardo, cantón Guano, provincia de Chimborazo

3.3.5. Población de estudio

Fuente: Google Maps

La población de estudio son los gorgojos de maíz (*Sitophilus zeamais*) en cultivos de maíz del sector agrícola de la parroquia San Gerardo, cantón Guano, por lo que, se colocarán 10 gorgojos de maíz en cada una de las unidades experimentales, de cada

una de las tres concentraciones y el grupo de control, con un arreglo factorial de 3 corridas (3 repeticiones), obteniendo una población de estudio de 240 gorgojos de maíz de la parroquia de San Gerardo.

3.3.6. Técnicas de recolección de datos

3.3.6.1. Método de Kaplan – Meier

El método de Kaplan – Meier es una estimación de la probabilidad de supervivencia por métodos no paramétricos que calcula la proporción acumulada que sobrevive para el tiempo individual de cada sujeto de estudio, cada vez que se produce un evento, los cuales, se tratan de la muertes ocurridas durante el período de seguimiento y da proporciones exactas de supervivencia, la probabilidad de sobrevivir en un tiempo determinado (t_i) es igual a la probabilidad de sobrevivir hasta el momento anterior (t_{i-1}) por la probabilidad condicionada de sobrevivir un tiempo después de haber sobrevivido un tiempo (KLEINBAUM, 2011). Este método se lo va a realizar por medio del software “GraphPad Prism”.

3.3.6.2. Prueba Log-rank

Se realizará análisis de la tasa de mortalidad de los gorgojos de maíz (*Sitophilus zeamais*) a causa del uso de los biopesticidas resultantes del producto entre *Pleurotus ostreatus* con metanol y acetato de etilo para determinar su efecto plaguicida para el control biológico del gorgojo de maíz, añadiendo a lo anterior se va a realizar la prueba de Logrank que es un método estadístico no paramétrico en el que se obtiene las curvas de supervivencia, mortalidad de larvas, esperanza media de vida, emergencia de adultos, tasas netas de reproducción, tasas intrínsecas de incremento natural y tiempo promedio de generación del gorgojo (LAGUNAS & DOMÍNGUEZ, 1985).

3.3.6.3. Porcentaje de eficiencia de Abbott (PE_a)

La fórmula de Abbott o porcentaje de eficiencia de Abbott se aplica cuando las plagas se presentan en condiciones homogéneas en campo (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2020), considerando como eficiencia media a baja valores de 50% a 70% (FAO, 2006).

$$PE_a = \left(1 - \frac{N_t}{N_t'}\right) \times 100$$

Ec. 2-3

N_t = Infestación (o densidad relativa) de la plaga en la unidad de observación en la que se evalúa el pesticida a t días después de la aplicación.

N'_t = Infestación (o densidad relativa) de la plaga en la unidad de observación control o testigo (en las que no se ha realizado aplicación) inmediatamente antes de las aplicaciones.

3.3.6.4. *Software GraphPad Prism*

El prisma es un software que combina datos organizados para análisis de datos cuantitativos y categóricos con pruebas t, ANOVA de una, dos y tres vías, regresión lineal y no lineal, curvas de dosis – respuesta, regresión binaria, análisis de supervivencia, el cual, indica el tiempo en que se registra mayor muertes y sobrevivientes de cada uno de los componentes (SCIENTEC SOFTWARE, 2021).

3.4. PREPARACIÓN DEL SUSTRATO, SIEMBRA Y COSECHA DEL MICELIO DEL HONGO

PLEUROTUS OSTREATUS

La paja de arroz (PA) y el rastrojo de maíz (RM) deben ser picados hasta un tamaño de partícula de 1 a 2 centímetros aproximadamente. Con cada sustrato se llenan unas canastas de malla de alambre y se sumergen en agua caliente a 85°C durante una hora. Se drena y se coloca en un cuarto libre de contaminación hasta que el sustrato alcance la temperatura ambiente. Las canastas deben drenarse toda la noche.

Se coloca 1 kg de sustrato en base húmeda en bolsas de polietileno de 2 kg, y se añaden 60 gramos de inóculo de las cepas de hongos cultivados sobre granos de sorgo (semilla), lo que representa un porcentaje de inoculación del 6% en peso. Por cada cepa se inocularon 15 bolsas, que después de la siembra deben ser colocadas en el cuarto de incubación a una temperatura de 24°C y en oscuridad, por 15 días, tiempo en el cual el micelio cubrió completamente el sustrato. Después del tiempo de incubación, las bolsas fueron trasladadas al área de cosecha ubicado en el laboratorio de Sostenibilidad en la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, para regular la temperatura a 24 + 2°C, 80-95% de humedad y una leve luminosidad. Bajo estas condiciones, las bolsas se mantienen en producción durante 30 días, dentro de los cuales se realizan las cosechas (VEGA & FRANCO, 2013).

3.5. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DE ACETATO DE ETILO Y METANOL CON

PLEUROTUS OSTREATUS

Se prepara el dedal de papel filtro para colocar en su interior el micelio de *Pleurotus ostreatus* y colocarlo en el interior del sifón del Soxhlet donde ocurre la extracción sólida – líquido. Colocar las mangueras de conexión en el pico inferior para alimentarlo con agua y en el pico superior se lo conectará para que el agua que ingresa al refrigerante se direcciona hacer el desagüe. Al conectar las mangueras, el sifón con el dedal, el matraz y la parrilla, se procede a verter 250 mL de acetato de etilo en la parte superior del refrigerante para comenzar con la extracción. El disolvente contenido en el matraz alcanza su punto de ebullición por efecto de la fuente de calor, sube en forma de vapor por el cuello de éste, recorre el sifón y llega al refrigerante, aquí se condensa y regresa al sifón en forma líquida (CAMPOS, 2009).

Realizar este proceso durante 18 horas para el acetato de etilo y para el metanol se deber realizar en 4 horas. Colocar el balón de 500 mL con los extractos de acetato de etilo y metanol obtenidos en el Soxhlet para separar los solventes (acetato de etilo y metanol) de la muestra a través de la destilación. Para cada uno de los extractos se colocará la temperatura que corresponde a su punto de ebullición para que el equipo realice la separación de sustancias. En el caso del acetato de etilo se utilizó 70 °C y para el metanol 50 °C. Realizar este proceso durante 30 minutos. Colocar el extracto obtenido del balón de 500 mL en los tubos de ensayo de 15 mL de rosca.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. OBTENCIÓN DEL MICELIO DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS DE

PLEUROTUS OSTREATUS.

Tras completar los treinta días de la etapa de producción, se cosechó 700 gramos de hongo *Pleurotus ostreatus* a partir de 1 kilogramos de sustrato Anexo A, que fueron deshidratados durante dos días en el laboratorio Sostenibilidad de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo para utilizar el cuerpo micelar del hongo que contiene los esteroides con propiedades insecticidas.

4.2. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS DE ACETATO DE ETILO Y METANOL A PARTIR DE *PLEUROTUS OSTREATUS.*

El extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus* se lo produjo tras pesar 100 gramos del hongo *Pleurotus ostreatus* y colocarlo en el dedal del sistema Soxhlet

con 250 mL de acetato de etilo durante 18 horas a 70 °C, al cumplir con el tiempo establecido, se situó en el rota vapor durante treinta minutos hasta obtener una concentración de 10 g /mL con una temperatura de 40 °C, como se observa en el Anexo B.

El extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus*, siguió el mismo procedimiento que el extracto anterior, no obstante, el tiempo de extracción fue 4 horas en el sistema Soxhlet con 250 mL de metanol a 50 °C, en el rotavapor el extracto se mantuvo durante treinta minutos a 40 °C hasta alcanzar una concentración de 10 g /mL. Este proceso se lo puede visualizar en el Anexo C.

4.3. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA CON KAPLAN MEYER

El análisis de supervivencia de los gorgojos de maíz en el extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus* y del extracto de metanol *Pleurotus ostreatus*, se lo realizó en tres fases de 24 horas consecutivas cada uno, para lo cual, se registró el número de gorgojos sobrevivientes en las concentraciones al 5%, 3% y 1% en 24 horas, 48 horas y 72 horas (Anexo D).

La **Tabla 3 – 4** corresponde a la exposición del extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus* en gorgojos de maíz en 24 horas, se realizó 3 bioensayos con 10 gorgojos de maíz (sujetos de estudio), obteniendo 30 sujetos de estudio en observación por cada una de las concentraciones establecidas. En la concentración al 5%, se registraron 30 muertes siendo esta la dosis con mayor tasa de mortalidad en este extracto y en el extracto de metanol, la concentración al 3% presentó 24 muertes y la concentración al 1% registró 18 muertes.

Tabla 3-4: Gorgojos sobrevivientes en el extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus* en 24 horas.

Concentraciones	Sobrevivientes			Σ muertes	Σ sobrevivientes
Blanco	10	10	10	0	10
5%	0	0	0	30	0
3%	2	3	1	24	6
1%	3	4	5	18	12

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

La **Tabla 4 – 4** corresponde a la exposición del extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus* en gorgojos de maíz en 48 horas, en la concentración al 3% se registraron 25 muertes y en la concentración al 1% se obtuvo 19 muertes.

Tabla 4-4: Gorgojos de maíz sobrevivientes en el extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus* en 48 horas.

Concentraciones	Sobrevivientes			Σ muertes	Σ sobrevivientes
Blanco	10	10	10	0	30
5%	0	0	0	30	0
3%	1	3	1	25	5
1%	3	4	4	19	11

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

La **Tabla 5 – 4** corresponde a la exposición del extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus* en gorgojos de maíz en 72 horas, en la concentración al 3% se registraron 28 muertes y en la concentración al 1% se obtuvo 19 muertes. Por lo que, la tasa de mortalidad de los gorgojos de maíz es proporcional a la concentración y tiempo de exposición del extracto, es decir, una mayor concentración de extracto de acetato de etilo y un mayor tiempo de exposición, representa una mayor tasa de mortalidad de gorgojos de maíz.

Tabla 5-4: Gorgojos de maíz sobrevivientes en el extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus* en 72 horas.

Concentraciones	Sobrevivientes			Σ muertes	Σ sobrevivientes
Blanco	10	10	10	0	30
5%	0	0	0	30	0
3%	1	0	1	28	2
1%	3	4	4	19	11

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

La **Tabla 6 – 4** corresponde a la exposición del extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus* en gorgojos de maíz en 24 horas, en la concentración al 5% se registraron 14 muertes de sujetos de estudio, en la concentración al 3% se obtuvo 10 muertes

y en la concentración al 1% hubo 5 muertes. Las muertes registradas no fueron representativas como las que fueron registradas en el extracto de Acetato de etilo en 24 horas de exposición.

Tabla 6-4: Gorgojos de maíz sobrevivientes en el extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus* en 24 horas.

Concentraciones	Sobrevivientes			Σ muertes	Σ sobrevivientes
Blanco	10	10	10	0	30
5%	6	5	5	14	16
3%	6	6	8	10	20
1%	8	8	9	5	25

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

La **Tabla 7 – 4** corresponde a la exposición del extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus* en gorgojos de maíz en 48 horas, en la concentración al 5% se registraron 16 muertes de sujetos de estudio, en la concentración al 3% se obtuvo 14 muertes y en la concentración al 1% hubo 8 muertes.

Tabla 7-4: Gorgojos de maíz sobrevivientes en el extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus* en 48 horas.

Concentraciones	Sobrevivientes			Σ muertes	Σ sobrevivientes
Blanco	10	10	10	0	30
5%	5	5	4	16	14
3%	3	5	8	14	16
1%	8	6	8	8	22

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

La **Tabla 8 – 4** corresponde a la exposición del extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus* en gorgojos de maíz en 72 horas, en la concentración al 5% se registraron 17 muertes de sujetos de estudio, en la concentración al 3% se obtuvo 16 muertes y en la concentración al 1% hubo 8 muertes.

La tasa de mortalidad de los gorgojos de maíz es proporcional a la concentración y tiempo de exposición del extracto, es decir, una mayor concentración de extracto de metanol y un mayor tiempo de exposición, representa una mayor tasa de mortalidad de gorgojos de maíz. No obstante, las muertes registradas no fueron representativas como las que fueron registradas en el extracto de acetato de etilo en 72 horas de exposición.

Tabla 8-4: Gorgojos de maíz sobrevivientes en el extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus* en 72 horas.

Concentraciones	Sobrevivientes			Σ muertes	Σ sobrevivientes
Blanco	10	10	10	0	30
5%	5	5	3	17	13
3%	3	4	7	16	14
1%	7	6	8	9	21

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

El método de Kaplan – Meier es el análisis de supervivencia que estima la probabilidad de supervivencia individual acumuladas a lo largo del tiempo (MARTÍN CONEJERO, 2022). El análisis de Kaplan – Meier se lo ha realizado por medio del seguimiento de los gorgojos de maíz sobrevivientes de cada uno de los bioensayos que estuvieron en observación en 24 horas, 48 horas y 72 horas de cada extracto y se registraron en la Tabla 3-4, Tabla 4-4, Tabla 5-4, Tabla 6-4, Tabla 7-4 y Tabla 8-4. La primera columna de las tablas corresponde a las concentraciones que se utilizaron en cada bioensayo por triplicado, en la siguiente columna se realizó el conteo del número de muertes y de sobrevivientes que fueron tratados en el Software GraphPad Prism.

En el extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus*, la probabilidad de supervivencia media que correspondió al 48%, se dio en 48 horas de exposición del extracto en una población de 90 gorgojos de maíz, de los cuales, tras 72 horas de exposición quedaron 6 gorgojos en riesgo de morir a causa del extracto, cabe destacar que se obtuvo la muerte de todos los sujetos de estudio en la concentración de 5% y existieron 11 sobrevivientes en los bioensayos que estuvieron expuestos a una concentración de 1%.

EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO CON *Pleurotus ostreatus*

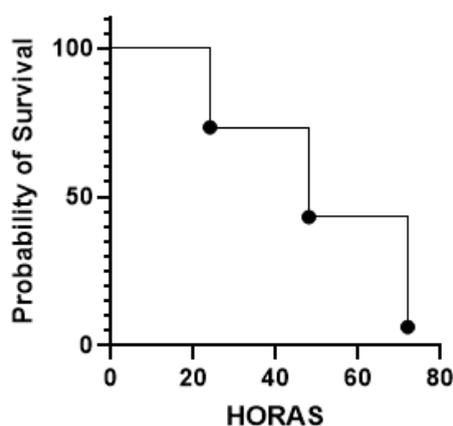


Ilustración 4-4. Método de Kaplan – Meier de supervivencia en el extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus*

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

En el extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus*, la probabilidad de supervivencia al 53% se registró en 72 horas, el 70% de probabilidad de supervivencia se dio en 48 horas y la supervivencia del 89% fue en 24 horas de exposición del extracto en los bioensayos, las cuales, fueron mayores en comparación a la probabilidad de supervivencia registrada en el extracto de acetato de etilo, dado que, tras 72 horas de exposición se obtuvo 48 gorgojos de maíz sobrevivientes este extracto y 13 sobrevivientes en el extracto de acetato de etilo.

EXTRACTO DE METANOL CON *Pleurotus ostreatus*

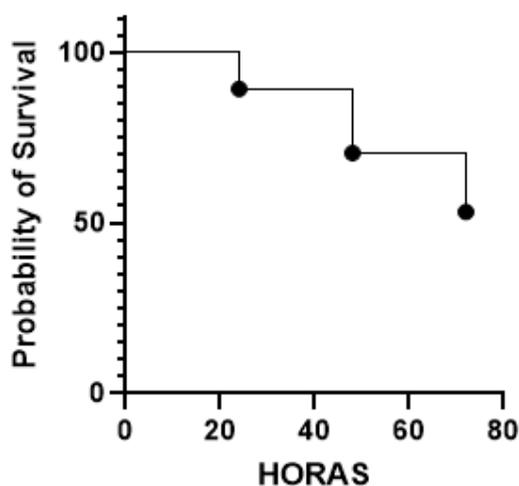


Ilustración 5-4. Método de Kaplan – Meier de supervivencia en el extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus*

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

4.3.1. Probabilidad de muerte

La probabilidad de muerte en el extracto de acetato de etilo en 24 horas de observación fue 26.66% con 72 muertes registradas, en 48 horas fue de 56.81% con 74 muertes y en la fase final de 72 horas fue de 93.76% con 77 muertes de gorgojos, por lo cual, un mayor período de exposición de este extracto en los gorgojos de maíz representa una mayor tasa de mortalidad.

EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO (NO SUPERVIVENCIA)

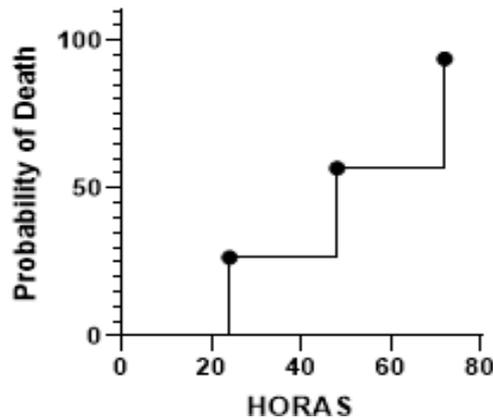


Ilustración 6-4. Método de Kaplan – Meier no supervivencia en el extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus*.

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

La probabilidad de muerte en el extracto de metanol en 24 horas de observación fue 10.74% con 29 muertes registradas, en 48 horas fue de 29.58% con 38 muertes y en la fase final de 72 horas fue de 46.79% con 42 muertes de gorgojos, por lo cual, un mayor período de exposición de este extracto en los gorgojos de maíz representa una mayor tasa de mortalidad, sin embargo, las muertes no son representativas, por lo que, la probabilidad de muerte en los gorgojos de maíz en este extracto es menor al 50%.

EXTRACTO DE METANOL (NO SUPERVIVENCIA)

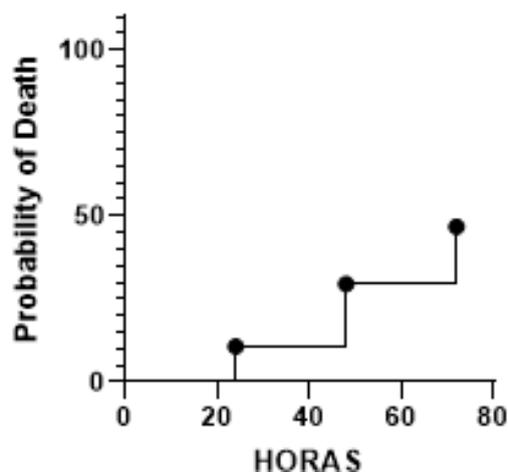


Ilustración 7-4. Método de Kaplan – Meier no supervivencia en el extracto de metanol con

Pleurotus ostreatus.

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

4.4. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA CON LOGRANK

La prueba Logrank es un método que compara la supervivencia de grupos que incluye todo el período de seguimiento, por lo que, este método se basa en el tiempo de los eventos (muerte) de cada grupo que se compran con el número esperado de eventos si no hubiera diferencias entre los grupos (MEDINA & LOGRANK, 2011).

De acuerdo con la Gráfica 5 – 4, existe una mayor probabilidad de supervivencia en el extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus* que en el extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus*, esto se debe a que el extracto de acetato de etilo presentó 77 muertes, representando una mayor tasa de mortalidad de gorgojos de maíz en 72 horas de seguimiento en comparación de 42 muertes registradas en el extracto de metanol. La concentración que presentó una mayor probabilidad de supervivencia en el extracto de metanol al final del seguimiento fue al 1% ya se obtuvieron 21 sobrevivientes y en el extracto de acetato de etilo fue la concentración al 1% con 11 sobrevivientes, es decir, hay mayor probabilidad de supervivencia de los gorgojos de maíz en concentraciones bajas de los dos extractos.

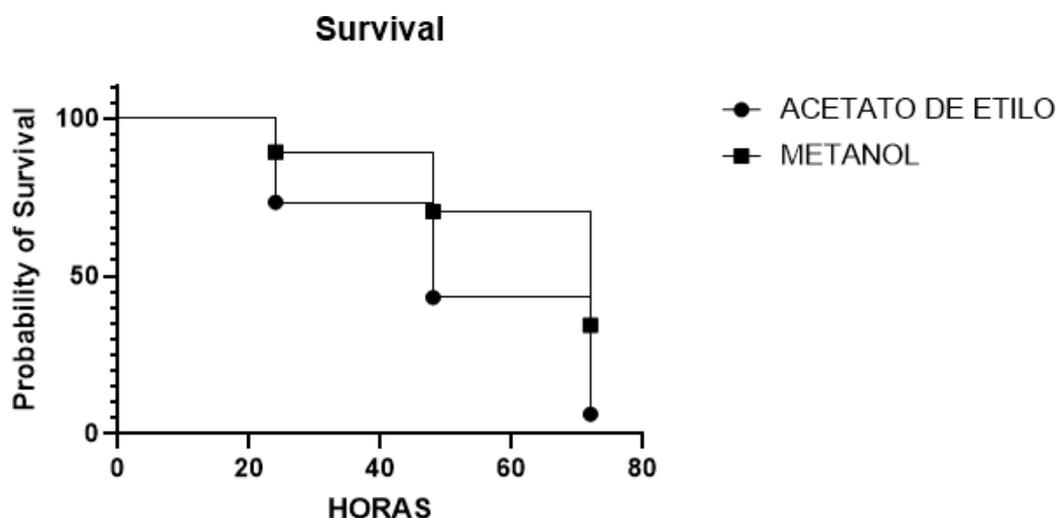


Ilustración 8-4. Análisis de supervivencia con Logrank entre el extracto de acetato de etilo y metanol

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

4.5. PORCENTAJE DE EFICIENCIA DE ABBOTT EN EL EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO CON *PLEUROTUS OSTREATUS*

$$PEa = \left(1 - \frac{N_t}{N'_t}\right) \times 100$$

$$PEa = \left(1 - \frac{13}{90}\right) \times 100$$

$$PEa = 85.55 \%$$

De acuerdo con la ecuación 2-3, el porcentaje de eficiencia en el extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus* en la fase final del registro de mortalidad de los sujetos de estudio tras 72 horas de seguimiento fue de 85.55%, el cual, al ser aplicado en las poblaciones en condiciones homogéneas de campo, se considera que su eficiencia tiene valores altos al superar el rango de 50% - 70% establecido por la (FAO, 2006).

El porcentaje de eficiencia del extracto de acetato de etilo fue considerado alto, al igual que el efecto fumigante del extracto de acetato de etilo del estudio denominado EFICIENCIA IN VITRO DE EXTRACTOS DEL HONGO COMESTIBLE PLEUROTUS OSTREATUS KUMM PARA EL CONTROL DE SITOPHILUS ZEAMAI MOTSCHULSKY, (PINO u. a., 2019), con una mortalidad superior a 70% a partir de la concentración 20 μ L, cuya tendencia de incremento de la mortalidad en la medida que aumenta la concentración del extracto, lo cual, se debe a que el acetato de etilo presentó una mayor afinidad para extraer a los esteroides que constituyen a los hongos *Pleurotus ostreatus* de propiedades con actividad antibiótica e insecticida (Suárez & Jeannette, 2012).

4.6. PORCENTAJE DE EFICIENCIA DE ABBOTT EN EL EXTRACTO DE METANOL CON *PLEUROTUS OSTREATUS*

$$PEa = \left(1 - \frac{N_t}{N'_t}\right) \times 100$$

$$PEa = \left(1 - \frac{42}{90}\right) \times 100$$

$$PEa = 53.33 \%$$

De acuerdo con la ecuación 2-3, el porcentaje de eficiencia en el extracto de Metanol

con *Pleurotus ostreatus* en la fase final del registro de mortalidad de los sujetos de estudio tras 72 horas de seguimiento fue de 53.33%, el cual, al ser aplicado en las poblaciones en condiciones homogéneas de campo, se considera que su eficiencia tiene valores bajos al encontrarse dentro del rango de 50% - 70% establecido por la (FAO, 2006). No obstante, la tendencia de incremento de la mortalidad aumenta en la medida que aumenta la concentración del extracto en este estudio.

El porcentaje de eficiencia del extracto de Metanol fue considerado bajo, al igual que el efecto fumigante del extracto de Metanol del estudio denominado EFICIENCIA IN VITRO DE EXTRACTOS DEL HONGO COMESTIBLE PLEUROTUS OSTREATUS KUMM PARA EL CONTROL DE SITOPHILUS ZEAMAI MOTSCHULSKY (2019), con una mortalidad inferior al 5%, lo cual, se debe a que el Metanol presentó una menor afinidad para extraer a los esteroides que constituyen a los hongos *Pleurotus ostreatus*, dado que en la etapa de extracción se tuvo un control de que la temperatura no excediera el punto de ebullición del Metanol y que el tiempo de extracción en el sistema Soxhlet no supere las 4 horas porque al no controlar estas condiciones, este extracto adquiriría un efecto atrayente para el gorgojo de maíz y un olor similar a la trimetilamina (TMA) que es la molécula encargada del olor a pescado podrido.

4.7. COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS

El análisis de las hipótesis planteadas, se las realizaron con el seguimiento de las muertes registradas en el extracto de etilo con *Pleurotus ostreatus* y extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus* tras las 72 horas de seguimiento, con un nivel de confianza del 95% ($\alpha = 0.05$) y con 8 grados de libertad.

Tabla 7-4: Elementos del estadístico de prueba de T-student

Acetato de etilo		Metanol	
\bar{x}	8.56	\bar{y}	4.67
S_1^2	3.03	S_2^2	3.25
n_1	9	n_2	9

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

$$\text{Hipótesis nula} \rightarrow H_0: u_1 = u_2$$

$$\text{Hipótesis alternativa} \rightarrow H_a: u_1 > u_2$$

$$t_o = \frac{8.56 - 4.67}{\sqrt{\frac{3.03}{9} + \frac{3.25}{9}}}$$

$$t_o = 4.66$$

El punto crítico (t_c), se lo determinó según el nivel de confianza de 95% y grados de libertad igual a 8, por lo que su valor que se encuentra en el Anexo E de Gutiérrez Pulido & de la Vara Salazar, 2008).

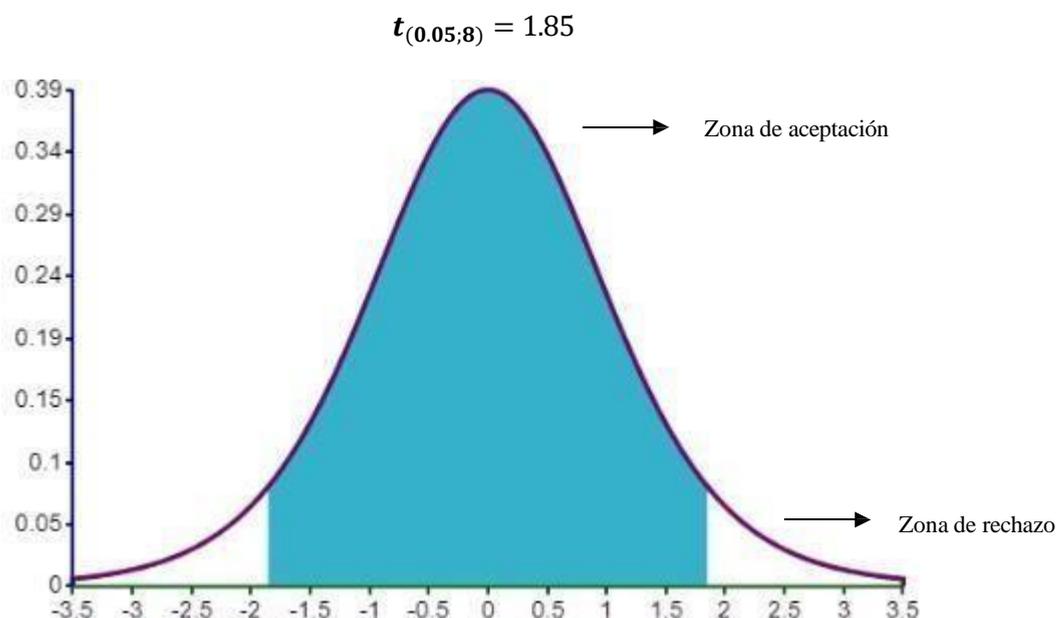


Ilustración 9-4. Distribución T-student

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

Se rechaza la hipótesis nula, debido a que, el valor del estadístico de prueba que es igual a 4.66 se encuentra dentro de la zona de rechazo porque la zona de aceptación comprende el intervalo entre $[-1.85;1.85]$; por tal razón, se acepta la hipótesis alternativa, es decir, el extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus* tiene un mayor efecto plaguicida en comparación al extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus*, como se lo determinó en el porcentaje de eficiencia de Abbott.

4.8. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

El análisis de varianza se realizó con las muertes registradas en el extracto de acetato de etilo y metanol, tras 72 horas de seguimiento por medio del software Minitab.

Tabla 9-4: Elementos para el análisis de varianza

	Extracto de Acetato de etilo con <i>Pleurotus ostreatus</i>	Extracto de Metanol con <i>Pleurotus ostreatus</i>
Total de tratamientos	77	42
Número de dato en cada tratamiento	9	9
Media muestral	3.03	3.25
Suma de los cuadrados de todas las observaciones	683	222

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

Tabla 10-4: Análisis de varianza (ANOVA)

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Razón F	Valor-p
Tratamientos	68.06	1	68.06	21.68	0.000
Error	50.22	16	3.139		
Total	118.28	17			

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

La hipótesis nula planteada se rechaza debido a que la significancia observada que corresponde al valor-p es menor que el nivel de confianza ($\alpha = 0.05$) utilizada para el análisis estadístico planteado, por lo tanto, el extracto de Acetato de etilo tiene un mayor efecto insecticida que el extracto de metanol. En la Gráfica 7-4, se determina que el extracto de acetato de etilo (AC) y el extracto de metanol (ME) son diferentes entre sí, dado que, las cajas de AC y ME que corresponde a las medias muestrales de las muertes registradas de los gorgojos de maíz al terminar las 72 horas de seguimiento, no se traslapan entre sí, por lo cual, se valida el análisis de varianza realizado por el método gráfico de cajas.

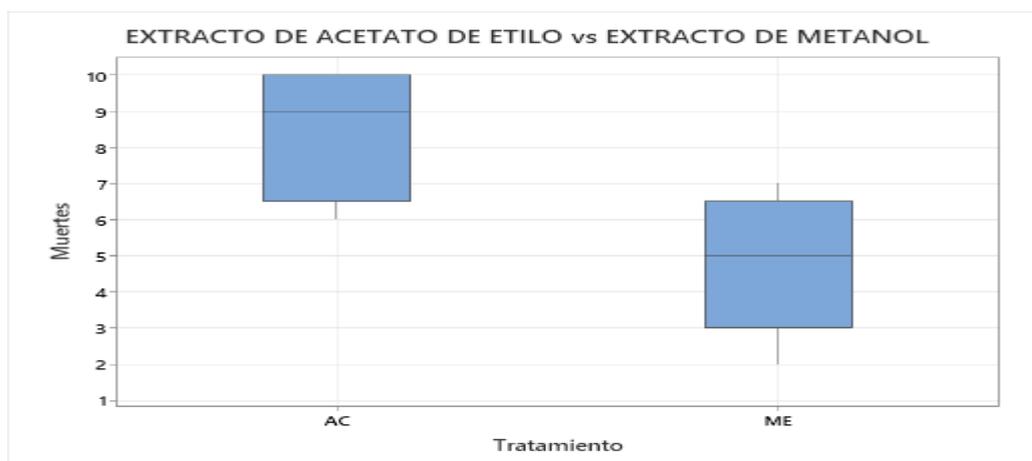


Ilustración 10-4. Gráfica de cajas de bigotes de extracto de acetato de etilo vs extracto de metanol

Realizado por: Morán, Josseth, 2024

El acetato de etilo presentó mayor afinidad para la extracción de los esteroides que constituyen al *Pleurotus ostreatus* que le otorgó propiedades insecticidas al extracto (SUÁREZ & JEANNETTE, 2012) que el metanol, lo cual, se reflejó en el número de muertes observadas en cada uno de los extractos al final de las 72 horas establecidas y las condiciones de extracción. Cabe destacar que durante la observación del extracto de acetato de etilo y metanol, se registró un mayor número de muertes en la concentración al 5%, siguiendo una proporción entre dosis – respuesta que consiste en que una mayor concentración de extracto de acetato de etilo y metanol representa una cantidad de muertes de gorgojos de maíz (*Sitophilus zeamais*).

Sin embargo, el extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus* tuvo una baja eficiencia pesticida igual a 53.33% con 42 muertes registradas, el cual, al ser aplicado en las poblaciones en condiciones homogéneas de campo, se considera bajo al encontrarse dentro del rango de 50% - 70% establecido por la (FAO, 2006), mientras que el extracto de acetato de etilo presenta una eficiencia equivalente al 85.55% con 77 muertes que supera el límite máximo de eficiencia baja; por tal motivo, este extracto tiene un efecto pesticida mayor al extracto de metanol y el olor que desprendía era fuerte.

De igual manera, el estudio “EFICIENCIA IN VITRO DE EXTRACTOS DEL HONGO COMESTIBLE PLEUROTUS OSTREATUS KUMM PARA EL CONTROL DE SITOPHILUS ZEAMAI MOTSCHULSKY, (Pino u. a., 2019)”, determinó que el extracto de acetato de etilo tuvo un incremento superior al 70% de la tasa de mortalidad de los gorgojos de maíz a partir de una concentración de 20 μ L, no obstante, el extracto de metanol obtuvo una tasa de mortalidad inferior al 5%, esto se debe a que este extracto no presentó afinidad con *Pleurotus ostreatus*.

A diferencia del extracto de acetato de etilo, el extracto de metano tuvo un tiempo de extracción en el sistema Soxhlet diferente, ya que, no debía superar en 4 horas una temperatura de 50 °C, porque al no controlar estas condiciones, este extracto adquiriría un efecto atrayente para el gorgojo de maíz y un olor similar a la trimetilamina (TMA) que es la molécula encargada del olor a pescado podrido (MONTROYA ÁLVAREZ u. a., 2009).

CONCLUSIONES

- ✓ El estudio realizado demuestra que *Pleurotus ostreatus* tiene propiedades plaguicidas, que puede ser utilizado para tener un control biológico natural.
- ✓ Al término del período de seguimiento en 72 horas el extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus* registró 77 muertes siendo este valor, la mayor tasa de mortalidad de gorgojos de maíz en comparación a las 42 muertes que registró el extracto de metanol, esto se debe a que el extracto de acetato de etilo presentó mayor afinidad de extracción de esteroides.
- ✓ El extracto de acetato de etilo tiene una eficiencia de repelencia del 85.55%, la cual, es considerada alta, al superar el rango establecido por la FAO y la eficiencia que presentó el extracto de metanol fue de 53.33% y es considerada baja, al estar dentro del 50% al 70%.
- ✓ El extracto de acetato de etilo presentó mayor efectividad para la extracción de esteroides, lo cual, se refleja en la tasa de mortalidad del gorgojo de maíz en una hora de exposición.
- ✓ El análisis estadístico realizado con el ANOVA demostró que existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados, por lo que, se fundamenta que el extracto de acetato de etilo con *Pleurotus ostreatus* tiene mayor efecto plaguicida frente al extracto de metanol con *Pleurotus ostreatus*.

RECOMENDACIONES

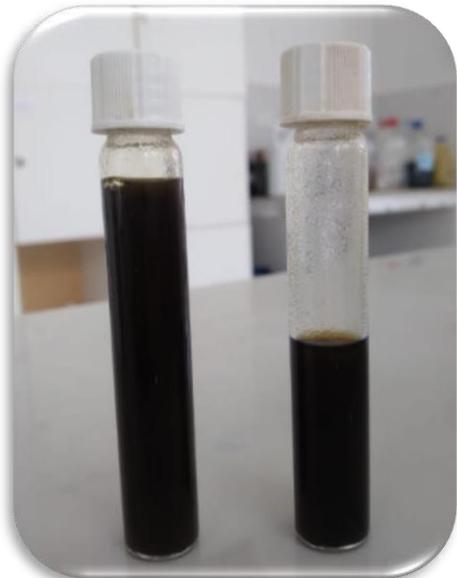
- ✓ Se recomienda utilizar el extracto de acetato de etilo en diferentes concentraciones en la aplicación en las plantaciones de maíz.
- ✓ Utilizar la propiedad plaguicida del hongo *Pleurotus ostreatus* en la plaga del choclo denominada “trozador”.

ANEXOS
ANEXO A: CUERPOS FRUCTÍFEROS DE *Pleurotus ostreatus*

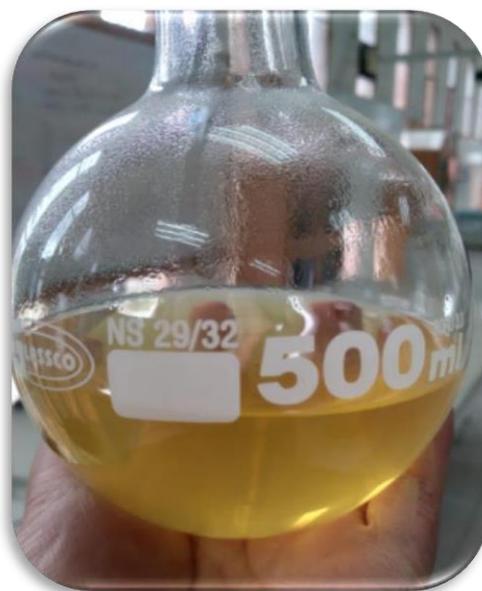
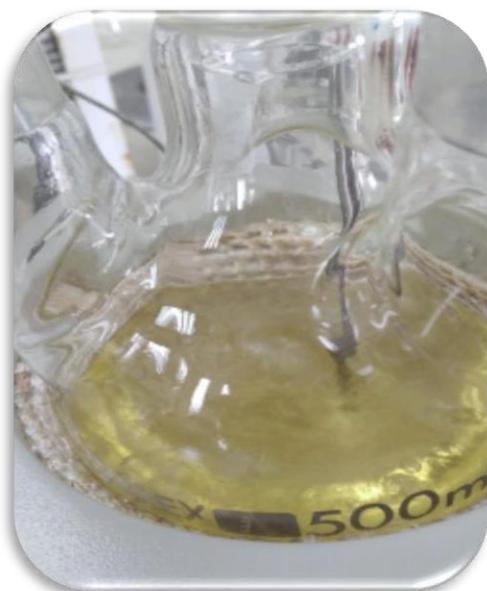


**ANEXO B: OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO A
PARTIR DE**

Pleurotus ostreatus



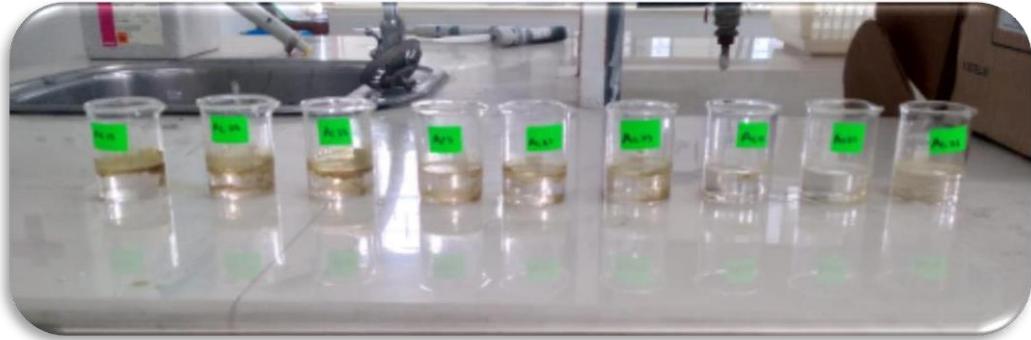
ANEXO C: OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE METANOL A PARTIR DE *Pleurotus ostreatus*



ANEXO D: SEGUIMIENTO DE LA TASA DE MORTALIDAD DE LOS GORGOJOS DE MAIZ.







ANEXO E: TABLA A3 – PUNTOS CRÍTICOS PARA LA DISTRIBUCIÓN T DE STUDENT

Grados de libertad	Área a la derecha de los puntos, $P(X > x)$			
	0.10	0.05	0.025	0.015
1	3.0776835	6.3137515	12.706205	21.204949
2	1.8856181	2.9199856	4.3026527	5.6427784
3	1.6377444	2.3533634	3.1824463	3.8960459
4	1.5332063	2.1318468	2.7764451	3.2976297
5	1.475884	2.0150484	2.5705818	3.002875
6	1.4397557	1.9431803	2.4469119	2.8289279
7	1.4149239	1.8945786	2.3646243	2.714573
8	1.3968153	1.859548	2.3060041	2.6338144
9	1.3830287	1.8331129	2.2621572	2.573804
10	1.3721836	1.8124611	2.2281389	2.5274842
11	1.3634303	1.7958848	2.2009852	2.4906639
12	1.3562173	1.7822876	2.1788128	2.4607002
13	1.3501713	1.7709334	2.1603687	2.4358452
14	1.3450304	1.7613101	2.1447867	2.4148977
15	1.3406056	1.7530504	2.1314495	2.397005
16	1.3367572	1.7458837	2.1199053	2.3815454
17	1.3333794	1.7396067	2.1098156	2.3680548
18	1.3303909	1.7340636	2.100922	2.35618
19	1.3277282	1.7291328	2.0930241	2.3456475
20	1.3253407	1.7247182	2.0859634	2.3362422
21	1.3231879	1.7207429	2.0796138	2.3277923
22	1.3212367	1.7171444	2.0738731	2.3201596
23	1.3194602	1.7138715	2.0686576	2.313231
24	1.3178359	1.7108821	2.0638986	2.3069134
25	1.3163451	1.7081408	2.0595386	2.3011295
26	1.3149719	1.7056179	2.0555294	2.2958145
27	1.3137029	1.7032884	2.0518305	2.2909136
28	1.3125268	1.7011309	2.0484071	2.2863802
29	1.3114336	1.699127	2.0452296	2.2821746
30	1.310415	1.6972609	2.0422725	2.2782623

BIBLIOGRAFÍA

1. **ACUÑA, A. et al.** *Caracterización de un proceso de biorremediación de hidrocarburos en deficiencia de nitrógeno en un suelo de Patagonia Argentina*. In: *Ecosistemas* Bd. 17 (2008), Nr. 2, S. 85–93
2. **AGENCIA PARA SUSTANCIAS TÓXICAS Y EL REGISTRO DE ENFERMEDADES.** FOSFINA (Phosphine) CAS # 7803-51-2 División de Toxicología ToxFAQs TM DEPARTAMENTO DE SALUD Y SERVICIOS HUMANOS de los EE. UU., Servicio de Salud Pública *Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades* [en línea], 2002. [Consulta: 13 de enero del 2024]. Disponible en:
[https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts177.html#:~:text=siglas%20en%20ingl%C3%A9s\).-,%20es%20la%20fosfina%3F,Es%20levemente%20soluble%20en%20agua](https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts177.html#:~:text=siglas%20en%20ingl%C3%A9s).-,%20es%20la%20fosfina%3F,Es%20levemente%20soluble%20en%20agua).
3. **AGENCIA PARA SUSTANCIAS TÓXICAS Y EL REGISTRO DE ENFERMEDADES.** AGENCIA PARA SUSTANCIAS TÓXICAS Y EL REGISTRO DE ENFERMEDADES- Resumen de Salud Pública: Piretrinas y piretroides [en línea], 2003. [Consulta: 13 de enero del 2024]. Disponible en:
https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts155.html
4. **BARROS, Lilian. et al.** C.F.R.: Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. In: *Food and Chemical Toxicology* Bd. 46 (2008), Nr. 8, S. 2742–2747
5. **CAMPOS, Martha.** *SOXHLET, DEL INVENTOR AL MÉTODO* [en línea]. — saber más. [Consulta: 13 de enero del 2024]. Disponible en: <https://www.myminstrumentostecnicos.com/tecnologia/soxhlet-metodo-para-determinacion-de-grasa-en-alimentos/>
6. **CORRALES CASTILLO, Jordan. et al.** *Principales plagas de Artrópodos en el cultivo de Maíz Blanco en Costa Rica* [en línea]. Segunda. Costa Rica, 2017 — ISBN 9789930957509. [Consulta: 13 de enero del 2024]. Disponible en:
<https://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/H10-10934.pdf>

7. **CORTÉS RODRÍGUEZ, Misael & SUAREZ – MAHECHA, Hector.** FORTIFICACIÓN DE HONGOS COMESTIBLES (*Pleurotus ostreatus*) CON CALCIO, SELENIO Y VITAMINA C, 2007
8. **CRUZ, Dario. et al.** Producción y valor proteico de *Pleurotus ostreatus* en la región sur de Ecuador: Valor proteico de *Pleurotus ostreatus*. In: *ACI Avances en Ciencias e Ingenierías* Bd. 12, Universidad San Francisco De Quito (2021), Nr. 2
9. **DANTE MARTÍNEZ, Luis & GASQUEZ, José.** Sitio Argentino de Producción Animal, 2005
10. **DEGESCH DE CHILE.** *Phostoxin- Precauciones y Advertencias* [en línea]. [Consulta: 13 de enero del 2024]. Disponible en: https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/phostoxin_mini_rope-s-resol_ndeg_4353_13-07-2017.pdf
11. **DICCIONARIO DEL ESPAÑOL DE MÉXICO.** *ovipositar* [en línea], 2023. [Consulta: 13 de enero del 2024]. Disponible en: <https://dem.colmex.mx/ver/ovipositar>
12. **DISPEIN.** *Fumigante Insecticida Detia Gas Rt 500* [en línea], 2021. [Consulta: 13 de enero del 2024]. Disponible en: <https://procplag.com/wp-content/uploads/2021/05/FT.-DETIA-PP.pdf>
13. **FAO.** DOCUMENTO GENERAL Protocolos de eficiencia de productos microbianos de control de plagas [en línea], 2006. [Consulta: 13 de enero del 2024]. Disponible en: <https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/d-ris-rai-pa-004-protocolos-eficacia-pmcp-v01-final3- ok.pdf>
14. **FARMAGRO.** *Ficha técnica – Gastion* [en línea]. [Consulta: 13 de enero del 2024]. Disponible en: http://www.farmagro.com.pe/media_farmagro/uploads/ficha_tecnica/ficha_tecnica_-_gastion.pdf. - abgerufen am 2024-03-16
15. **GARCÍA, Silverio. et al.** *Manual de plagas en granos almacenados y tecnologías*

alternas para su manejo y control. CIMMYT. México, D.F, 2007

16. **GARCÍA, Villir. et al.** Efecto insecticida de productos alternativos en *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). In: *Revista Colombiana de Entomología* Bd. 40 (2014), Nr. 2, S. 143– 147
17. **GONZÁLEZ, Alfredo. et al.** Alternativas para el control de *Diaphorina citri* (Kuwayama) con insecticidas botánicos, en *Citrus latifolia* tanaca, Tlapacoyan, Veracruz. In: *Biológico Agropecuaria Tuxpan* Bd. 4 (2016), Nr. 1, S. 9–16
18. **GUTIÉRREZ PULIDO, Humberto & DE LA VARA SALAZAR, Román.** *Análisis y diseño de experimentos, 2da Edición*, 2008
19. **INSTITUTO NACIONAL DE FORMACIÓN PROFESIONAL.** *Curso ALMACENAMIENTO DE GRANOS BÁSICOS A NIVEL FAMILIAR Plagas que afectan los granos Almacenados Categoría de pérdidas Uso y manejo del silo metálico Otras estructuras de almacenamiento tradicional Fosfaminas INSTITUTO NACIONAL DE FORMACIÓN PROFESIONAL División de Acciones Formativas* [en línea]. [Consulta: 13 de enero del 2024]. Disponible en: https://www.shareweb.ch/site/Agriculture-and-Food-Security/focusareas/Documents/phm_infop_almacenamiento_granos.pdf. - abgerufen am 2024- 03-16
20. **KLEINBAUM, D.** *Survival analysis: a self-learning* (2011). [Consulta: 13 de enero del 2024].
21. **LAGUNAS, TA & DOMÍNGUEZ, RR.** Plagas del maíz. In: *Universidad Autónoma Chapingo*. (1985), S. 100
22. **LANDA, Eduardo.** *TOXICOLOGÍA DE PLAGUICIDAS SINTÉTICOS* [en línea]. [Consulta: 13 de enero del 2024]. Disponible en: <https://www.tetengo.com.mx/blog/toxicologia-de-plaguicidas-sinteticos>. - abgerufen am 2024-03-16

23. **LÓPEZ, Félix.** *Un micronutriente abundante en frutas (ácido p-cumárico) podría mejorar la capacidad funcional de probióticos* [en línea]. [Consulta: 13 de enero del 2024]. Disponible en: <https://www.ictan.csic.es/671/un-micronutriente-abundante-en-frutas-acido-p-cumarico-podria-mejorar-la-capacidad-funcional-de-probioticos/>. - abgerufen am 2024-03-16
24. **LUNA, Francisco.** *Evaluación de productos orgánicos e inorgánicos y dos tipos de empaques en el control de plagas en los granos de maíz (Zea mayz L.) y frijol (Phaseolus vulgaris L.) en almacenamiento*, 1999
25. **MAJESTY, Duru K C. et al.** Cronicon EC NUTRITION Research Article Nutritional, Anti- nutritional, and Biochemical Studies on the Oyster Mushroom, Pleurotus ostreatus. In: *ECRONICOM* Bd. 14 (2018), Nr. 1, S. 36–59
26. **MARTÍN CONEJERO, Antonio.** Let's survive the survival analysis (part one). In: *Angiologia* Bd. 74, ARAN Ediciones S.L (2022), Nr. 4, S. 157–161.
27. **MEDICOPEDIA.** *Subletal* [en línea]. [Consulta: 13 de enero del 2024]. Disponible en: https://www.portalesmedicos.com/diccionario_medico/index.php?title=Subletal. - abgerufen am 2024-03-16
28. **MEDINA, Mauricio & LEMA, Logrank.** *Logrank Test*. Bd. 50, 2011
29. **MEGÍAS, M. et al.** *Atlas de histología vegetal y animal*.
30. **MÉNDEZ, Rubén & GUTIÉRREZ, Rosalinda.** ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE Pleurotus ostreatus [en línea]: Revistas Academia Celay, 2017 — ISBN 9781939982322. [Consulta: 14 de enero del 2024]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/322235757_ACTIVIDAD_ANTIBACTERIANA_DE_Pleurotus_ostreatus

31. **MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA.** Instructivo para la aprobación, ejecución y supervisión de ensayos de eficiencia de plaguicidas y productos afines, de uso agrícola en REPÚBLICA DEL ECUADOR MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA REPUBLICA DEL ECUADOR AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO, 2020
32. **MOLINA, María.** *Evaluación de insecticidas botánicos, biológicos y sintéticos sobre trichogramma pretiosum, Diadegmainsulare, Chrysoperla carnea E Hippodamia convergens.* Honduras, ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA, 1999
33. **MONTOYA ÁLVAREZ, T. et al.** Trimetilaminuria: el síndrome de olor a pescado. In: *Endocrinol Nutr Bd.* 56 (2009), S. 337–340
34. **MUÑOZ, C.** *Cómo elaborar y asesorar una investigación de Tesis.* México, 1998
35. **NINA, Roberto. et al.** *Gorgojo del grano de maíz* [en línea]. [Consulta: 14 de enero del 2024]. Disponible en: <https://plantwiseplusknowledgebank.org/doi/epdf/10.1079/pwkb.20197800034>. - abgerufen am 2024-03-16
36. **NORA GARCÍA, Eduardo. et al.** FORMULACIONES DE SUSTRATOS EN LA PRODUCCIÓN DE SETAS COMESTIBLES PLEUROTUS. In: *Tecnología Química Bd.* XXXI (2011), Nr. 3, S. 15–22
37. **OLMEDO SÁNCHEZ, María Teresa.** Subproductos de la desinfección del agua por el empleo de compuestos de cloro. Efectos sobre la salud. In: *Hig. Sanid. Ambient. Bd.* 342 (2008)
38. **PAVLIK, M.** Oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) PKumm. - its cultivation and utilization in the Slovak forestry. In *Mushroom biology and mushroom products. Proceedings of the Sixth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products.* In: *Bonn* (2008), S. 246– 254
39. **PÉREZ, M.** Susceptibilidad a insecticidas en poblaciones del picudo del maíz

- Sitophilus zeamais Motschulsky (Coleóptera: Curculionidae) de varias localidades de México. Montecillo, Colegio de Postgraduados, 1988
40. **PINEDA – INSUASTI, Cuba. et al.** Producción de Pleurotus ostreatus por fermentación en estado sólido: *una revisión* *Bd.* 48 (2014), Nr. 2, S. 13–23
41. **PINO, Valentina. et al.** EFICIENCIA IN VITRO DE EXTRACTOS DEL HONGO COMESTIBLE PLEUROTUS OSTREATUS KUMM PARA EL CONTROL DE SITOPHILUS ZEAMAI MOTSCHULSKY IN VITRO EFFICACY OF EDIBLE MUSHROOM PLEUROTUS OSTREATUS KUMM EXTRACTS FOR SITOPHILUS ZEAMAI MOTSCHULSKY CONTROL. In: *Anim. Sci., ex Agro-Ciencia* *Bd.* 35 (2019), Nr. 3, S. 293–303.
42. **PIZARRO, D.** Polvo, aceites esenciales y extractos de Peumus boldus Molina para el control de Sitophilus zeamais Motschulsky en laboratorio. Chillán, 2007.
43. **POHLEVEN, J. et al.** Basidiomycete Clitocybe nebularis is rich in lectins with insecticidal activities. In: *Appl. Microbiol. Biotechnol* *Bd.* 91 (2011), Nr. 4, S. 1141–1148.
44. **PORTILLO, Germán.** *Características y propiedades del mucílago* [en línea]. [Consulta: 14 de enero del 2024]. Disponible en: <https://www.jardineriaon.com/mucilago.html>. - abgerufen am 2024-03-16.
45. **PUERTO RODRÍGUEZ, D. et al.** Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. In: *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* *Bd.* 52 (2014), Nr. 3, S. 372–387
46. **RAMAYO, R.** Tecnología de granos [en línea]. Universidad Autónoma Chapingo, 1983. [Consulta: 14 de enero del 2024]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/437/43711424005.pdf>

47. **RAMÍREZ, Juan.** Bioplaguicidas [en línea]. InfoAgro. 2012. [Consulta: 14 de enero del 2024]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/461/46125177003.pdf>
48. **REAL ACADEMIA ESPAÑOLA.** *Germoplasma* [en línea]. 2023. [Consulta: 14 de enero del 2024]. Disponible en: <https://dle.rae.es/germoplasma>
49. **RICA PALAFOX – CABALLERO, Costa & MONTALVO, RODRÍGUEZ, Noe.** *Agronomía Mesoamericana*. In: *Agronomía Mesoamericana* Bd. 19 (2008), Nr. 1, S. 39–46
50. **RIVERA, J.** Deterioro poscosecha de las frutas y hortalizas frescas por hongos y bacterias [en línea], 2014. [Consulta: 14 de enero del 2024]. Disponible en: http://www.fhia.org.hn/descargas/Departamento_de_Proteccion_Vegetal/hoja_tecnica_proteccion_vegetal01.pdf. - abgerufen am 2024-03-16
51. **RODRÍGUEZ, Ernesto.** *Metodología de la investigación*. Quinta. México, 2005
52. **SÁNCHEZ, J & ROYSE, D.** *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* México: Ecosur, 2001
53. **SCIENTEC SOFTWARE.** *GraphPad Prism* [en línea], 2021. [Consulta: 14 de enero del 2024]. Disponible en: <https://www.solvusoft.com/es/file-extensions/software/graphpad- software/graphpad-prism/>
54. **SUÁREZ, C & JEANNETTE, I.** Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: una alternativa en la obtención de nutraceuticos. In: *ELSEVIER* Bd. 30 (2012), Nr. 1, S. 1–8
55. **SUÁREZ, P. et al.** Pardeamiento enzimático: caracterización fenotípica, bioquímica y molecular en variedades de papa nativas de la Argentina. In: *Revista Latinoamericana de la Papa* Bd. 15 (2009), Nr. 1, S. 66–71

56. **SUÁREZ, S & DEL PUERTO RODRÍGUEZ, A.** Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. In: *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* Bd. 52 (2014), Nr. 3, S. 372–387
57. **TINOCO, C. et al.** *Manual de producción de maíz para los estados de Veracruz y Tabasco* [en línea], 2002. [Consulta: 14 de enero del 2024]. Disponible en:
https://www.academia.edu/24558519/TOLERANCIA_A_INFESTACION_POR_GORGOS_Sitophilus_spp_EN_GENOTIPOS_DE_MAIZ_COMUNES_Y_DE_ALTA_CALIDAD_PROTEINICA
58. **VEGA, A & FRANCO, H.** Productividad y calidad de los cuerpos fructíferos de los hongos comestibles *Pleurotus pulmonarius* RN2 y *P. djamor* RN81 y RN82 cultivados sobre sustratos lignocelulósicos [en línea], 2013, vol. 24 (1), págs. 69 – 78. [Consulta: 14 de enero del 2024]. ISSN 10-4067. Disponible en: <https://www.scielo.cl/pdf/infotec/v24n1/art09.pdf>
59. **VERA, Jorge & CRUZ, Sarafin.** PARÁMETROS POBLACIONALES DEL INSECTO *Acanthoscelides obtectus* (Say.) EN GRANOS DE CINCO CULTIVARES DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.). In: *AGROCIENCIA* Bd. 50 (2016), S. 347–353
60. **VILLALBA, María.** *Plaguicidas naturales para combatir las plagas del maíz* [en línea], 2016. UNciencia. [Consulta: 14 de enero del 2024]. Disponible en: <https://unciencia.unc.edu.ar/agronomia/plaguicidas-naturales-para-combatir-las-plagas-del-maiz/>
61. **ZETTLER, J & ARTHUR, F:** Chemical control of stored product insect with fumigants and residual treatments. In: *Crop Prot* Bd. 19 (2000), S. 8–10

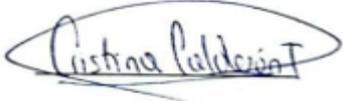
TOTAL: 61 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS





ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA GUÍA PARA
NORMALIZACIÓN DE TRABAJOS DE FIN DE GRADO

Fecha de entrega: 25/06/2024

INFORMACIÓN DEL AUTOR
Nombres – Apellidos: Josseth Elena Morán Cabezas
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Ingeniería Ambiental
Título a optar: Ingeniera Ambiental
 Dr. Edgar Iván Ramos Sevilla Firma del Director del Trabajo de Integración Curricular
 Ing. Cristina Gabriela Calderón Tapia Firma de la Asesora del Trabajo de Integración Curricular