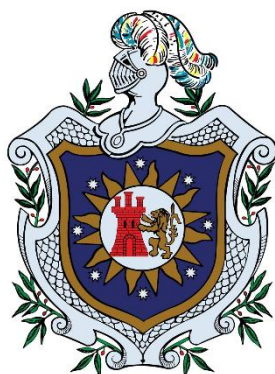


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, LEÓN
ÁREA DE CONOCIMIENTO DE CIENCIAS AGRARIAS Y VETERINARIAS
DIRECCIÓN ESPECIFICA DE AGROECOLOGÍA Y AGRONEGOCIOS



“TRABAJO MONOGRÁFICO PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERIA
AGROECOLÓGICA TROPICAL”

Evaluación de *Beauveria bassiana* (Bals. Vuill) para el manejo de *Phyllophaga* spp.
(Coleoptera: Scarabaeidae; Harris, 1827)

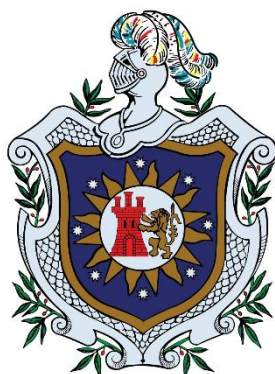
Autores:

Br. Osmarth Medardo Castro Ulloa.

Tutor:

Ing. Víctor Alfonso Morales Pérez.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, LEÓN
ÁREA DE CONOCIMIENTO DE CIENCIAS AGRARIAS Y VETERINARIAS
DIRECCIÓN ESPECIFICA DE AGROECOLOGÍA Y AGRONEGOCIOS



“TRABAJO MONOGRÁFICO PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERIA
AGROECOLÓGICA TROPICAL”

Evaluación de *Beauveria bassiana* (Bals. Vuill) para el manejo de *Phyllophaga spp.*
(Coleoptera: Scarabaeidae; Harris, 1827)

Autores:

Br. Osmarth Medardo Castro Ulloa.

Tutor:

Ing. Víctor Alfonso Morales Pérez.

RESUMEN

En Nicaragua, la larva de *Phyllophaga spp* representa una de las principales amenazas para muchos cultivos de interés agrícola, ya que su comportamiento subterráneo dificulta el manejo y su resistencia al uso intensivo de insecticidas ha reducido la eficacia del control químico. Frente a este panorama, el control biológico mediante hongos entomopatógenos surge como una alternativa sostenible, destacando *B. bassiana* por su reconocida capacidad infecciosa sobre insectos agrícolas. Este estudio evaluó a *B. bassiana* en formulaciones líquidas y granuladas, aplicadas a dos profundidades de suelo (2cm y 14cm), sobre larvas de *Phyllophaga spp* en condiciones de laboratorio. Las unidades experimentales se establecieron en contenedores plásticos con suelo natural no esterilizado, garantizando la presencia de microorganismos y materia orgánica propios del entorno larvario. Los tratamientos (líquidos y granulados) se aplicaron con una concentración de *B. bassiana* de 10^6 conidias/ml. Se utilizaron 30ml por cada tratamiento en los líquidos, y 6 g de sustrato en cada tratamiento granulado. Los resultados mostraron un incremento progresivo de mortalidad con el tiempo de exposición. A las 120 horas los granulados destacaron con valores de Abbott de 14.79 (BG2) y 19.17 (BG14). A las 168 horas, BG14 alcanzó la mayor eficacia (74.40), seguido por BG2 (43.25), mientras que las formulaciones líquidas presentaron mortalidades intermedias (23.20 y 33.44). Los testigos mantuvieron valores nulos o negativos durante todo el periodo. El análisis estadístico confirmó diferencias significativas entre los tratamientos rechazando la hipótesis nula y validando mediante Tukey quién agrupó a los tratamientos granulares como los mejores. Estos hallazgos evidencian que la formulación y la profundidad son determinantes, destacando a BG14 como el mejor tratamiento. Los resultados confirman el desempeño de *B. bassiana* en contra *Phyllophaga spp*, consolidándolo como una alternativa biológica con alto potencial para fortalecer el manejo de plagas y garantizar una agricultura más eficiente y segura.

INDICE

RESUMEN.....	<i>i</i>
INDICE DE TABLAS Y ANEXOS	<i>v</i>
ÍNDICE DE FIGURAS Y ANEXOS	<i>vi</i>
DEDICATORIA	<i>vii</i>
AGRADECIMIENTOS	<i>viii</i>
I. INTRODUCCIÓN.....	<i>1</i>
II. OBJETIVOS.....	<i>2</i>
2.1. General.....	<i>2</i>
2.2. Específicos	<i>2</i>
III. HIPÓTESIS	<i>3</i>
IV. MARCO TEÓRICO.....	<i>4</i>
4.1. <i>Phyllophaga</i> spp (Gallina Ciega).....	<i>4</i>
4.2. Taxonomía.....	<i>4</i>
4.3. Ciclo biológico de <i>Phyllophaga</i>	<i>5</i>
4.3.1. Huevo.....	<i>5</i>
4.3.2. Larva	<i>5</i>
4.3.3. Pupa.....	<i>5</i>
4.3.4. Adultos	<i>5</i>
4.4. Importancia agrícola.....	<i>6</i>
4.5. Métodos de control	<i>6</i>
4.5.1. Control químico	<i>6</i>
4.5.2. Mecánico y cultural.....	<i>7</i>
4.5.3. Control Mecánico	<i>7</i>
4.5.4. Control Cultural	<i>7</i>

4.5.5. Control biológico a <i>Phyllophaga spp.</i>	8
4.6. Hongos entomopatógenos	9
4.7. <i>Beauveria bassiana</i>	9
4.7.1. Taxonomía	10
4.7.2. Mecanismo de acción.....	10
V. DISEÑO METODOLÓGICO	12
5.1. Descripción del área de estudio.	12
5.2. Tipo de investigación.....	12
5.3. Descripción del Diseño experimental.....	12
5.4. Definición de los tratamientos	14
5.5. Definición y clasificación de las variables a evaluar	14
5.5.1. Mortalidad de <i>Phyllophaga spp.</i>	14
5.5.2. Eficacia de formulaciones x profundidad	15
5.5.3. Eficiencia toxicológica de los tratamientos	15
5.5.4. Dinámica temporal de mortalidad.....	16
5.6. Producción del hongo	16
5.6.1. Cepa utilizada.....	16
5.6.2. Preparación de PDA para reproducción de <i>B. bassiana</i>	16
5.6.3. Siembra del hongo	16
5.6.4. Suspensión líquida del hongo	17
5.6.5. Preparación de sustrato y siembra del hongo	17
5.7. Establecimiento del Bioensayo.....	18
5.7.1. Recolección y selección de larvas de <i>Phyllophaga spp.</i>	18
5.7.2. Conteo de conidios.....	19
5.7.3. Aplicación de los tratamientos en las unidades experimentales	19
5.7.4. Cámara húmeda.....	20
5.7.5. Validación de la causa de muerte del insecto.....	20
5.8. Análisis de los resultados	21

VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	22
VII. CONCLUSIÓN	33
VIII. RECOMENDACIONES	34
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	35
X. ANEXOS	39

INDICE DE TABLAS Y ANEXOS

Tabla 1 Taxonomía de <i>Phyllophaga</i> spp	4
Tabla 2 Taxonomía de <i>Beauveria bassiana</i>	10
Tabla 3 Factores (tratamientos)	13
Tabla 4 Diseño completamente aleatorizado (DCA) del experimento (repeticiones y tratamientos)	13
Tabla 5 Índice de Abbott	23
Tabla 6 ANOVA de un factor	24
Tabla 7 Prueba de Tukey (subconjuntos).....	31
Tabla 8 Índice de Abbott para todos los tratamientos y repeticiones	39

ÍNDICE DE FIGURAS Y ANEXOS

Figura 1 Respuesta diferencial de tratamientos según variable dependiente	25
Figura 2 Larvas muertas en función horas/exposición	28
Figura 3 Validación de causa de muerte del insecto. A y B estructuras reproductivas de <i>B. bassiana</i>	32
Figura 4 Ilustración dimensional (recipiente plástico)	41
Figura 5 (A) Recipientes utilizados (dimensiones). (B) Medición de humedad volumétrica	42
Figura 6 Humedad volumétrica en cada combinación a lo largo del estudio	42
Figura 7 (A) Papas precocidas, (B) Agar, (C) Dextrosa	43
Figura 8 (A) Arroz precocido (sustrato), (B) generación de blastosporas, (C) Bolsas térmicas	43
Figura 9 (A) Hifas y conidios de <i>B. bassiana</i> , (B) Estructura de <i>B. bassiana</i> , (C) Estructura de <i>B. bassiana</i> , (D) Libro guía	44
Figura 10 (A) larvas desinfectadas por cloro, y enjuague previo, (B) colocación en cámara húmeda, (C y D) larvas infectadas y muertas, (E y F) revelación de estructuras <i>B. bassiana</i>	45

DEDICATORIA

En primer lugar, doy gracias a Dios, por ser mi guía constante y la luz necesaria para no rendirme. Sin su voluntad y bendición, este sueño no habría sido posible.

Mi familia ha sido el pilar más grande de mi vida; con paciencia, amor y confianza me han acompañado en cada etapa de este camino.

La familia Ulloa Navarrete, Moya Ulloa y Castro Caballero me enseñaron con su ejemplo el valor de la unión, la perseverancia y la fé en uno mismo. Cada palabra de aliento y cada gesto de apoyo fueron cimientos sobre los cuales pude construir este logro.

En especial, a la memoria de mi querida mamita Isidra Mercedes Ulloa Álvarez, quien partió de este mundo, pero permanece viva en mi corazón. Ojalá estuviera conmigo en este momento para observar la persona en la que me he convertido. Este logro también es suyo, porque su amor, enseñanzas y ejemplo siguen siendo faro que ilumina mi vida.

Mis amigos, mi inquebrantable *Team DET*, llenaron mis días de compañía, alegría y solidaridad, recordándome que la amistad también es refugio y fuente de fuerza. Sus palabras, risas y apoyo se convirtieron en luz en medio del cansancio.

Mis padres, los seres más valiosos de mi vida, me han demostrado con su amor inmenso que no existen barreras imposibles cuando se lucha con el corazón. Gracias por ser ejemplo de esfuerzo y entrega, por creer en mí incluso en mis dudas, y por sostenerme en cada paso de este recorrido.

Mi hermana, compañera de vida y de sueños, con tu ternura me recuerdas siempre la importancia de avanzar con esperanza y valentía. Te amo profundamente, y este triunfo también es tuyo.

Este logro es el reflejo de todo el amor, la amistad y la sabiduría que me han acompañado en este camino.

Br. Osmarth Medardo Castro Ulloa.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y hermana, por su amor y confianza incondicional. A Lic. Jhamil Moya, Lic. Idalia Ulloa, Lic. María José Ulloa, Téc Mauricio Ulloa, Est. Prof. Karel Moya, Karen Moya, Lic. Gerald García, M.Sc. Paola Castillo, Lic. Mynor García, Jorge Castro; a mis abuelitos Juana Martha Navarrete, José Gregorio Ulloa y Bernarda Caballero Chávez, por estar siempre conmigo y creer en mí. A M.Sc. Arlen Córdoba, Lic. Juan Solís Álvarez por su apoyo en el proceso de titulación; a Pbro. Gabriel Pallavicini Herrera por guiarme y en caminar en los momentos más difíciles; y a mi tutor, Victor Morales, por su ayuda en la conceptualización de este trabajo. Agradezco también al M.Sc. Pedro Silva Illescas y a los Ingenieros Mayerli Palacios, Keyling Díaz y Bryan Romero, Fiorela Arrollo, por su amistad y apoyo sincero.

No puedo dejar de expresar mi gratitud a cada uno de mis profesores, desde mis primeros años de formación académica hasta este momento decisivo. Gracias por compartir sus conocimientos, inspirar mi curiosidad y sembrar en mí la pasión por aprender. Cada enseñanza ha dejado una huella que me guía hoy.

Br. Osmarth Medardo Castro Ulloa

I. INTRODUCCIÓN

El control biológico de plagas mediante el uso de hongos entomopatógenos ha cobrado gran relevancia con la búsqueda de alternativas sostenibles frente al uso intensivos de agroquímicos. *Beauveria bassiana* ha sido ampliamente reconocido por su capacidad infecciosa sobre diversos insectos de importancia agrícola. Investigaciones recientes han evidenciado su efectividad en distintos contextos: Zhang et al (2019) reportaron un 83.33% de mortalidad en *Frankliniella occidentalis* utilizando formulación granular de *B. bassiana* en sustrato, mientras que Ritu et al (2012) destacaron la eficacia de su formulación líquida aplicada en el suelo contra larvas *Helicoverpa armígera*. Asimismo, Dávila y Kevin (2020) demostraron cómo la respuesta al hongo varía según la especie objetivo y la formulación utilizada, observando una mayor eficacia en la formulación líquida.

En Nicaragua, una de las amenazas mas apremiantes para la agricultura es la larva *Phyllophaga spp*, cuyo comportamiento subterráneo dificulta el manejo efectivo, y cuya resistencia creciente al uso intensivo de insecticidas ha mermado la eficiencia del manejo químico (Argüello-Chávez, 2017). Esta situación, sumada a los daños significativos en raíces y semillas de cultivos como maíz, plátano y caña, ha generado pérdidas económicas de hasta un 30% (Comisión Nacional Forestal [CONAFOR], 2018; Instituto Nacional de Estadísticas [INEC], 2018). La necesidad de explorar alternativas biológicas adaptadas a las condiciones locales es urgente, especialmente considerando que no se cuenta con estudios suficientes sobre la efectividad de *B. bassiana* frente a *Phyllophaga spp*, ni cómo influyen factores como el método de aplicación y la profundidad del suelo, en el que este puede ser efectivo.

Esta investigación surge con el propósito de evaluar el desempeño de *B. bassiana* aplicado en formulaciones líquidas y granulares a dos profundidades de suelo (2cm y 14cm), sobre la mortalidad de larvas de *Phyllophaga spp*. La importancia de este estudio no solo radica en llenar un vacío científico sobre el comportamiento del hongo en condiciones subterráneas, sino también en generar alternativas ecológicas, viables y accesibles en concordancia con las estrategias nacionales orientadas a una agricultura ecológica resiliente y con menor huella ambiental.

II. OBJETIVOS

2.1. General

Evaluar la efectividad de *Beauveria bassiana* en diferentes formulaciones (líquido y granulado) bajo diferentes profundidades de suelo (2cm y 14cm) para el manejo de *Phyllophaga spp* en estado larval, en condiciones de laboratorio.

2.2. Específicos

Evaluar la eficacia sinérgica entre métodos de aplicación y profundidad del hongo entomopatógeno, identificando combinaciones que maximizan el efecto letal de *Phyllophaga spp*.

Comparar las tasas y dinámica temporal de mortalidad de larvas de *Phyllophaga spp*, sometidas a tratamientos con *B. bassiana*, aplicados en formulación líquida y granulada, evaluadas en diferentes profundidades 2cm y 14cm.

Determinar la combinación óptima entre formulación (líquida o granulada) y profundidad de aplicación que permita un manejo más eficiente, ecológico y sostenible de larvas de *Phyllophaga spp*.

III. HIPÓTESIS

H₀: La aplicación de *B. bassiana* mediante diferentes métodos (líquido y granulado) en distintas profundidades del suelo (2cm y 14cm) no genera diferencias significativas en la mortalidad de larvas de *Phyllophaga spp.*

H₁: Al menos una de las combinaciones entre métodos de aplicación (líquido y granulado) en diferentes profundidades, tiene diferencias significativas en la mortalidad de larvas de *Phyllophaga spp.*

IV. MARCO TEÓRICO

4.1. *Phyllophaga* spp (Gallina Ciega)

Gallardo-Tapia e Hidalgo-López (2021) describe que en la mayoría de los países latinoamericanos el término gallina ciega se utiliza para referirse a las larvas de escarabajos en su mayoría pertenecientes a la familia *Scarabaeidae*, Taxonomía de *Phyllophaga* spp se presenta en la **Tabla 1**. Varias de estas larvas son consideradas fitopatógenas debido a sus hábitos alimenticios, las cuales pueden clasificarse como rizófagos estrictos, rizófagos facultativos o saprófitos. Las especies rizófagas, en particular, se alimentan directamente de las raíces de una amplia diversidad de plantas cultivadas, provocando daños significativos en los sistemas radicales. Esta actividad puede traducirse en pérdidas económicas considerables, convirtiendo a estas larvas en una amenaza potencial para la producción agrícola. Destacan el género *Phyllophaga* spp.

4.2. Taxonomía

Tabla 1

Taxonomía de Phyllophaga spp

Phylum	Arthropoda
Clase	Insecta
Orden	Coleoptera
Familia	Scarabaeidae
Subfamilia	Melolonthinae
Género	Phyllophaga
Especie	Phyllophaga spp

Nota: basado en la taxonomía de European and Mediterranean Plant Protection Organization [EPPO] (2002)

4.3. Ciclo biológico de *Phyllophaga*

4.3.1. Huevo

Los huevos de *Phyllophaga* presentan una forma ovoide, son opacos y de color blanco. Al momento de la oviposición, miden aproximadamente 2mm de largo por 1mm de ancho; después de 24 horas aumentan de tamaño, alcanzando 2.5mm de longitud y 1.25mm de ancho. Estos se depositan a profundidades de entre 2 a 15cm, agrupados en lotes de 10 a 20 unidades. La hembra realiza la oviposición durante un periodo de 2 a 4 días, tras lo cual necesita copilar nuevamente para continuar la puesta (Oliveira y Frizzas, 2017).

4.3.2. Larva

Las larvas son de tipo escarabeiforme en forma de “C” (tipo C), con cuerpos robustos y tres pares de patas torácicas bien desarrolladas. Una de las características distintivas es la fusión completa de la gálea y la lacinia maxilar. Sus mandíbulas son hipognatas, gruesas y orientadas hacia abajo. Presentan palpos maxilares y antenas conformadas por cuatro artejos las cuatro conformadas con amplias áreas sensoriales (Cuate-Mozo et al., 2019).

4.3.3. Pupa

Cuando las larvas alcanzan el tercer instar y han completado su alimentación, eliminan el contenido intestinal y construyen una celda en el suelo donde entran en una etapa de reposo conocida como diapausa pre-crisálida que puede durar entre 5 a 6 meses. Posteriormente, se transforman en pupas de tipo exarata, con coloración variable, generalmente café pálido. Esta fase pupal dura poco mas de un mes. Al finalizarla, emergen los adultos los cuales permanecen inactivos dentro de la celda hasta que la humedad del suelo provocada por las lluvias, los estimula a emerger a la superficie (Oliveira y Frizzas, 2017).

4.3.4. Adultos

Los adultos de *Phyllophaga* son escarabajos de cuerpo ovalado y alargado, con una longitud de entre 15 y 18mm. Su coloración varía entre café rojizo y café oscuro.

Poseen antenas lameladas cuyos tres últimos segmentos están aplanados y dispuestos lateralmente. El pronoto es mas ancho que largo y las patas son moderadamente largas, con pocas o ninguna espina. Todas las uñas tarsales son bífidas y de forma uniforme. En algunos individuos, el dorso presenta setas largas (Cuate-Mozo et al., 2019).

4.4. Importancia agrícola

El complejo de insectos conocido comúnmente como “gallina ciega” representa una de las plagas de suelo más significativas en términos económicos para la agricultura de américa latina. Estas larvas afectan directamente al sistema radicular de diversos cultivos. Su impacto ha sido documentado en más de 40 especies agrícolas, donde los daños pueden ir desde síntomas iniciales como el amarillamiento foliar hasta pérdidas totales del rendimiento. En el caso del cultivo del maíz, uno de los más importantes en la región, se estima que incluso bajo un escenario conservador de afectación del 15%, las pérdidas económicas anuales ascienden a aproximadamente 135 millones de dólares. Cabe destacar que, en cultivos emergentes, aun no se cuentan con datos cuantitativos precisos sobre el nivel de daño ocasionado por este complejo, lo que dificulta su manejo y prevención (AGRICULTURA Y SENASICA, 2020).

Estudios localizados refuerzan la gravedad del problema, se han reportado niveles de daño en maíz que oscilan entre el 50 y el 90%. En general las perdidas en diversos cultivos fluctúan entre 22% y el 48% especialmente cuando no se implementan estrategias efectivas de manejo. Estos datos reflejan la urgencia de establecer programas de monitoreo, diagnóstico y control biológico del complejo de “gallina ciega”, a fin de reducir su impacto económico y garantizar la sostenibilidad de los sistemas productivos agrícolas en la región (AGRICULTURA Y SENASICA, 2020).

4.5. Métodos de control

4.5.1. Control químico

BIFENTRINA. Es un piretroide, afectando los canales de sodio del sistema nervioso causando hiperexcitación y parálisis, es eficaz contra las larvas del suelo por su alta residualidad y acción tanto de contacto como por ingestión. Es altamente persistente en el suelo, toxica para insectos benéficos del suelo, abejas y organismos acuáticos,

aunque tiene bja solubilidad, puede afectar aguas subterráneas si se usa en exceso. **CLOPIRIFOS ETIL.** Un organofosforado, bloquea la transmisión nerviosa del insecto, muy efectivos para larvas de escarabajos usado en varios cultivos de alto valor. Altamente toxico en humanos, se asocia con problemas neurológicos, también puede contaminar vegetales si no se maneja correctamente, alta persistencia en ambientes húmedos. **FIPRONIL.** Fenilpirazol, provoca un colapso en el sistema nervioso, es eficaz en tratamientos preventivos o localizados, en suelos arcillosos o con mucha materia orgánica puede acumularse fácilmente (AGRICULTURA Y SENASICA, 2020).

4.5.2. Mecánico y cultural

4.5.3. Control Mecánico

Una de las herramientas más efectivas dentro de este manejo es el uso de trampas de luz, diseñadas nada más para el monitoreo y captura de adultos. Estas trampas aprovechan el comportamiento fototáctico positivo de los escarabajos adultos, especialmente durante sus vuelos crepusculares. Consisten en un embudo acoplado a una cubeta recolectora que contiene agua mezclada con detergente. Se activa una lampara de 20W, la cual se recomienda encender alrededor de las 8:00 p.m., coincidiendo con el inicio del vuelo de los adultos, y permanecer encendida por al menos dos horas (Ruíz et al., 2012).

4.5.4. Control Cultural

Implica prácticas agronómicas destinadas a reducir la población larval antes y durante el establecimiento del cultivo.

Monitoreo del suelo previo a la siembra, consiste en la inspección aleatoria de cinco cuadrantes por hectárea cada uno de 1m² y 25cm de profundidad, para evaluar la presencia de larvas. Este muestreo debe iniciarse antes de la siembra y repetirse cada 15 días, ajustando la frecuencia a la extensión y homogeneidad del terreno. 5 larvas por cuadrante se considera un umbral crítico, superar este límite indica una situación de emergencia, que demanda la implementación inmediata de medidas de control para prevenir daños severos (Ruíz et al., 2012).

4.5.5. Control biológico a *Phyllophaga* spp.

En la agricultura “control biológico” hace referencia al uso de organismos vivos, como predadores, parásitos o patógenos, para reducir o eliminar las poblaciones de plagas que afectan a los cultivos. Es un método de regulación de plagas manejado a través del ser humano por ende la disminución del uso de plaguicidas sintéticos (Guédez et al., 2009).

Ramírez-Pabon (2020) llevó a cabo un estudio innovador enfocado en el uso de control biológico mediante aves insectívoras, evaluando su efectividad como depredadores naturales de larvas del orden *Coleoptera*, con especial énfasis en el complejo *Phyllophaga* spp, en ambiente controlado donde se simulaban parcelas agrícolas con antecedentes de alta infestación larval. En este contexto, se alimentó previamente a un grupo seleccionados de aves con larvas de escarabajos, entre ellas las pertenecientes al género *Phyllophaga*, con el objetivo de promover su reconocimiento, aceptación y consumo como fuente proteica. Posteriormente se liberaron aves entrenadas en el suelo intervenido. Observándose un comportamiento de búsqueda y escarbado, lo que permitió la detección y depredación directa de las larvas. Este comportamiento no solo evidenció la capacidad de aprendizaje de los organismos liberados, sino también su adaptación a un entorno agrícola en función del control biológico. El resultado del estudio se alcanzó una efectividad del 86% en la reducción poblacional de las larvas.

Lo que sugiere un alto potencial del uso aves como una herramienta ecológica en el manejo integrado de plagas. Este enfoque ofrece una alternativa sostenible y ambientalmente amigable, disminuyendo la dependencia de insecticidas químicos, promoviendo un equilibrio ecológico en los agroecosistemas afectados por larvas.

Solís-Perez et al (2016) evaluaron el efecto sinérgico de los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* contra *Phyllophaga vetula*, se reactivaron los hongos en medios PDA y se aplicaron en larvas, se midió la patogenicidad, virulencia e interacción de las cepas. Evidenciando que la combinación de ambos hongos logró una efectividad del 99% en la mortalidad de larvas. Estos

resultados destacan su potencial como herramienta biológica eficaz para el control de esta plaga.

4.6. Hongos entomopatógenos

Según Araujo y Albuquerque (2009) son un grupo de microorganismos diversos filogénicamente, muchos de ellos hoy día son estudiados como agentes de control biológico de insectos se conocen más de 700 de hongos entomopatógenos pero poco más de 10 han sido empleadas para el control biológico, se caracterizan, por infectar todas las etapas del ciclo de vida de los insectos, se encuentran en hábitats acuáticos, terrestres y subterráneos e invaden al insecto por vía cutánea, siendo por esta causa los únicos patógenos capaces de infectar una amplia variedad de insectos.

Por otro lado, Rodríguez y Arredondo (2007) hablan de que, entre los hongos de importancia agrícola, así como para el control biológico, son *B. bassiana*, *M. anisopliae*, poseen un amplio espectro de huéspedes dentro de los artrópodos.

4.7. *Beauveria bassiana*

B. bassiana es un hongo entomopatógeno, su taxonomía se presenta en la **Tabla 2**. Es reconocido por su capacidad de infectar y causar la muerte en una gran diversidad de insectos de importancia agrícola. Su modo de acción se basa en el contacto directo con el hospedero, donde las conidias germinan, penetran la cutícula mediante enzimas hidrolíticas (como proteasas, quitinasas y lipasas) y colonizan internamente los tejidos del insecto. Este proceso culmina con la muerte del insecto por una combinación de invasión micelial, toxinas fúngicas (beauvericina y bassianolide) y la desorganización fisiológica del sistema inmunológico del insecto. Particularmente útil contra ordenes como Coleoptera, Lepidoptera, Hymenoptera (Pedrini, 2022)

4.7.1. Taxonomía

Tabla 2
Taxonomía de Beauveria bassiana

Reino	Fungi
Sub-reino	Dikarya
Filum	Ascomicetes
Sub-filum	Pezizomycotina
Clase	Sordariomycetes
Sub-clase	Hypocreomycetidae
Orden	Hypocreales
Familia	Cordycipitaceae
Género	Cordyceps
Especie	<i>Beauveria bassiana</i>

Basado en la taxonomía de Fula y Vasquez (2018)

4.7.2. Mecanismo de acción

Adhesión de la espora a la cutícula del hospedero y germinación de la espora:

El primer contacto sucede cuando la espora del hongo se deposita en la superficie del insecto. La adhesión ocurre sucesivamente en tres etapas: Adsorción de la espora a la superficie mediante el reconocimiento de receptores específicos de naturaleza glicoproteíca en el insecto: iones divalentes como el Ca^{+2} y el Mg^{+2} reducen las fuerzas de repulsión electrostática de la superficie del insecto, y afectan la hidrofobicidad

Adhesión de la interfase entre la espora pre-germinada y la epicutícula: una vez afectada la hidrofobicidad, las adhesinas sintetizadas por el hongo, que se encuentran en la superficie de las esporas, reconozcan el receptor y se adhieran al insecto; la pre-germinación de la espora se inicia con el hinchamiento de la misma, que es favorecido

por la humedad aportada por el ambiente y el insecto (Fula y Vasquez, 2018; Wang et al., 2021; Pedrini, 2022; Chiriboga, Garcés y Gómez, 2014).

Germinación y desarrollo hasta la formación del apresorio para comenzar la fase de penetración: la germinación es disparada por mensajeros que generalmente son carbohidratos presentes en las proteínas cuticulares del insecto, finalmente se desarrolla el apresorio por los nutrientes cedidos debido a la degradación de la cutícula. **Penetración en el hemocoele Acción combinada de dos mecanismos uno físico y uno químico:** **Físico:** presión ejercida por el haustorio (estructura fúngica) la cual se encarga de deforma inicialmente la capa cuticular rompiéndola, luego las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula. **Químico:** acción enzimática hidrolítica, de las proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales degradan el tejido en la zona de penetración, facilitando la entrada del hongo (Fula y Vasquez, 2018; Wang et al., 2021; Pedrini, 2022; Chiriboga, Garcés y Gómez, 2014).

Estudios indican que en la digestión del integumento sigue una secuencia de lipasa-proteasaquitinasa. **Replicación en el hemocoele:** Una vez dentro del insecto, el hongo prolifera formando cuerpos hifales secundarios, que se ramifican en la procutícula conformada principalmente de fibrillas lameladas de quitina embebidas en una matriz proteínica que actúa como cubierta física protectora ante el sistema inmune del insecto. Posteriormente, las hifas se encuentran con la capa epidérmica y se diseminan a través del hemocoele. Al agotarse los nutrientes, el hongo inicia un crecimiento micelial invadiendo todos los órganos del hospedero. Finalmente, las hifas penetran la cutícula desde el interior del insecto y emergen a la superficie iniciando la formación de esporas cuando la humedad relativa es adecuada (Fula y Vasquez, 2018; Wang et al., 2021; Pedrini, 2022; Chiriboga, Garcés y Gómez, 2014).

De acuerdo con Wang et al (2021) en la producción de toxinas (antibiosis) las principales de *B. bassiana* son las siguientes, tenemos beauvericina, bassianina, bassianolida, beauverolidas, tenellin, oosporeína, ácido oxálico, cristales de oxalato de calcio y muchos análogos de beauvericina. Entre ellas, la beauvericina secretada por micelio es una de las toxinas más importantes.

V. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1. Descripción del área de estudio.

El estudio se llevó a cabo en el laboratorio de hongos entomopatógenos ubicado en la Unidad de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos (UIRCB), del Área de conocimiento de Ciencias Agrarias y Veterinaria, que se encuentra de la entrada a La Ceiba 1.5 km al este en la ciudad de León (Bárcenas, Rostrán y Silva, 2017). Este laboratorio presenta una temperatura de 28°C y una humedad relativa de 70%

5.2. Tipo de investigación.

Se realizó una investigación del tipo cuantitativa con enfoque experimental, de corte longitudinal, específicamente un experimento puro, dado que se realizó una manipulación intencionada de las variables independientes (métodos de aplicación y profundidad de aplicación de *B. bassiana*) para observar su efecto en las variables dependientes. Según Hernández-Sampieri y Mendoza (2020), este tipo de estudio permite establecer relaciones de casualidad.

5.3. Descripción del Diseño experimental.

Este estudio es de tipo bifactorial, ya que se evaluaron simultáneamente dos factores: métodos de aplicación de *B. bassiana* (líquido y granulado) y profundidad de aplicación en el suelo (2cm y 14cm). Además, se incluyeron tratamientos testigos a los que se le aplicó de agua destilada a ambas profundidades, conformando un total de seis tratamientos.

Se empleó un diseño completamente al azar (DCA) con tres repeticiones por tratamientos, resultando 18 unidades experimentales (6 tratamientos x 3 repeticiones). Cada unidad experimental estuvo constituida por 7 larvas de *Phyllophaga spp*, sumando un total de 126 larvas, que constituirán el universo del estudio (**MUESTRA**)

Los tratamientos fueron asignados de manera aleatoria a las unidades experimentales, garantizando así la validez estadística del análisis.

Tabla 3*Factores (tratamientos)*

Factor a (Métodos de aplicación)				
Factor b (profundidades)				
		T1: B. bassiana (Líquido)	T2: B. bassiana (Granulado)	T3: Testigo Absoluto
	T4:2cm	B. b líquido 2cm (BL2)	B. b granulado 2cm (BG2)	Agua 2cm (A2)
	T5:14cm	B. b líquido 14cm (BL14)	B. b granulado 14cm (BG14)	Agua 14cm (A14)

Nota: La tabla muestra la distribución de los tratamientos evaluados, en un diseño bifactorial, considerando el *Factor a* (métodos de aplicación del hongo *B. bassiana*) y el *Factor b* (profundidades de suelo). Cada tratamiento combina un método y una profundidad específica, codificados, para su identificación en el diseño experimental.

Tabla 4

Diseño completamente aleatorizado (DCA) del experimento (repeticiones y tratamientos)

Repetición						
1	BL2	BG2	A2	BL14	BG14	A 14
2	BL14	A2	BG2	BG2	A14	BG14
3	BG2	B14	BL2	A14	BG14	A2

Leyenda

BL2: *B. bassiana* líquido a 2cm de profundidad.

BG2: *B. bassiana* granular a 2cm de profundidad

A2: Testigo absoluto agua a los 2cm

BL14: *B. bassiana* líquido a 14cm de profundidad

BG14: *B. bassiana* granular a 14cm de profundidad

A14: Agua a los 14cm de profundidad

5.4. Definición de los tratamientos

BL2: Aplicación del hongo entomopatógeno *B. bassiana* en formulación líquida, incorporado al suelo abriendo un surco a una profundidad de 2cm, con el objetivo de establecer contacto directo con las larvas superficiales de *Phyllophaga spp.*

BG2: Hongo en presentación granular en sustrato de arroz, aplicado a 2cm de profundidad. Este método permite una liberación lenta y sostenida de conidias en la zona, optimizando la persistencia del agente de control en la superficie del suelo.

A2: Tratamiento testigo donde se aplicó únicamente agua a 2cm de profundidad, sin presencia del agente biológico, para establecer la referencia frente a los tratamientos activos.

BL14: Hongo en formulación líquida a una profundidad de 14cm, buscando alcanzar larvas en capas edáficas profundas, evaluando su eficacia bajo condiciones de mayor cobertura y menor disponibilidad de oxígeno

BG14: se aplicó de la formulación granulada en sustrato de arroz a 14cm de profundidad, con el objetivo de liberar progresivamente las estructuras infectivas en zonas subterráneas, adaptándose al hábitat natural de las larvas de *Phyllophaga spp*

A14: Únicamente agua a 14cm de profundidad. Permite comparar los efectos biológicos con respecto a los tratamientos que contienen el agente entomopatógeno.

5.5. Definición y clasificación de las variables a evaluar

5.5.1. Mortalidad de *Phyllophaga spp.*

Representó la proporción de larvas muertas tras la aplicación de los tratamientos. Esta variable se corrigió aplicando la fórmula de Abbott (1925) tal como fue utilizada por Castillo-Altamirano et al (2003) para ajustar el efecto del tratamiento respecto al testigo, se midió mediante el conteo de larvas vivas y muertas en cada unidad experimental.

$$\text{Mortalidad corregida (\%)} = \frac{\text{Mortalidad en tratamiento (\%)} - \text{mortalidad en control (\%)}}{100 - \text{Mortalidad en control}} \times 100$$

Se consideró cuantitativa continua, ya que expresará una magnitud numérica que puede tomar cualquier valor dentro de un rango entre 0% y 100%, permitiendo, comparaciones precisas entre tratamientos. Es de naturaleza dependiente, ya que su valor dependió directamente del tipo de formulación, profundidad y combinación de los tratamientos aplicados. Su nivel de medición es proporcional, porque se expresó en porcentajes que tienen unos cero absolutos (ausencia de mortalidad y permiten operaciones matemáticas como multiplicación o división).

5.5.2. Eficacia de formulaciones x profundidad

Esta variable se refirió al efecto sinérgico generado por la interacción entre aplicación (liquida o granulada) y la profundidad de aplicación (2cm o 14cm), que fue evaluada con base en los niveles de mortalidad. Esta variable se consideró cualitativa nominal ya que es como una categórica compuesta dado que se constituye a partir de dos variables cualitativas (tipo de aplicación y profundidad) que se combinan para formar categorías únicas. Tendrá naturaleza independiente dado que su manipulación influirá sobre los niveles de mortalidad observados. Su nivel de medición será nominal, pues se conformará por categorías no numéricas que no admiten orden jerárquico, pero si permiten comparar efectos entre grupos. Se analizó estadísticamente, observando las interacciones significativas entre formulaciones y profundidad.

5.5.3. Eficiencia toxicológica de los tratamientos

Esta variable permitió establecer que tratamiento demuestra mayor eficiencia para causar efectos letales en las larvas. Fue del tipo cualitativa ordinal, ya que permitió establecer una jerarquía entre tratamientos según su eficiencia sin cuantificar exactamente cuánto mejor es uno respecto al otro. Se caracteriza de naturaleza dependiente, porque sus resultados se vieron influenciados por las características del tratamiento aplicado. Su nivel de medición es ordinal, porque los tratamientos se clasificaron del más al menos eficiente sin que existe escala numérica. Se establecerán criterios de evaluación multicriterio (mortalidad, tiempo)

5.5.4. Dinámica temporal de mortalidad

Reflejó como varía la mortalidad de *Phyllophaga spp*, a lo largo del tiempo tras la aplicación de los tratamientos, permitiendo analizar la velocidad y duración del efecto hongo. Del tipo cuantitativa continua ya que expresó como porcentajes de mortalidad, registros en diferentes momentos. Su naturaleza de tipo dependiente porque el patrón de mortalidad dependió del tratamiento, su aplicación y su profundidad de aplicación. Su medición se realizó mediante registros periódicos, graficando curvas de mortalidad por tratamiento y tiempo.

5.6. Producción del hongo

5.6.1. Cepa utilizada

La cepa utilizada en este estudio *B. bassiana* cepa 114, seleccionada por su especificidad entomopatógena hacia insectos del orden Coleóptera.

5.6.2. Preparación de PDA para reproducción de *B. bassiana*.

Se siguieron los pasos estándares para la elaboración de un medio de cultivo con valores de 1000ml, se cortaron en trozos pequeños 400g de papas, en el cual se dejaron hervir por 25 minutos. El agua de papa cocida es de los ingredientes fundamentales ya que proporcionó Carbohidratos (almidón) siendo este una de las fuentes más accesibles para el desarrollo del hongo, así también contiene minerales como potasio, magnesio y fosforo. Luego de la infusión se vació el líquido en un Erlenmeyer con ayuda de un embudo con algodón para no dejar pasar sedimentos de papa, en el Erlenmeyer se agregaron 20g de dextrosa (fuente opcional de azúcares) se mezcló con ayuda de una espátula por 1min, se agregaron 20g de agar con ayuda de una espátula se mezcló por un minuto, se le añadió una capsula y media de amoxicilina se homogenizó por un minuto, el uso de amoxicilina es importante para minimizar la presencia de bacterias en el medio de cultivo.

5.6.3. Siembra del hongo

La siembra se realizó utilizando un medio compuesto por la infusión de agua de papa cocida, dextrosa y agar, el cual fue vertido en placas Petri de vidrio. Una vez semi-

solidificado, se refrigeró y se dejó reposar por 24h. Posteriormente se tomó un inóculo del cultivo madre con un asa estéril, rozando suavemente la superficie para adherir esporas, las cuales fueron transferidas a las nuevas placas de duplicación. Estas se incubaron de 5 a 7 días hasta alcanzar un desarrollo micelial adecuado.

5.6.4. Suspensión líquida del hongo

Siguiendo la metodología adaptada de Espinoza y Vallejos (2016), se realizó la producción de una solución líquida de *B. bassiana* con el objetivo de obtener una suspensión concentrada de blastosporas, donde se utilizaron como tratamientos en los ensayos de control biológico. Inicialmente, se procedió al cultivo del hongo en medio sólido tipo PDA (papa dextrosa agar), el cual proporcionó una fuente rica en carbohidratos y otros nutrientes esenciales para estimular el desarrollo fúngico. Una vez las colonias de *B. bassiana* alcanzaron un crecimiento adecuado y uniforme, se realizaron cortes cuadrículados del crecimiento micelial, utilizando una espátula o bisturí estéril estos fragmentos miceliales se utilizaron como inóculo para el cultivo líquido. El cultivo líquido se preparó con una solución nutritiva basada en sacarosa como fuente de carbono y compuestos nitrogenados como fuente de nitrógeno, en concentraciones ajustadas para favorecer la producción de estructuras asexuales (blastosporas). Esta solución fue vertida en matraces Erlenmeyer estériles, en los cuales se introdujeron los cortes miceliales previamente obtenidos. Posteriormente los matraces se colocaron en una agitadora orbital a 130 rpm, lo que permite una aeración y homogenización adecuadas. Este proceso de agitación constante se mantendrá durante 48 horas, tiempo en el cual se espera una producción activa de blastosporas en el medio líquido. Al final de este periodo se obtuvo una suspensión concentrada de blastosporas viables del hongo.

5.6.5. Preparación de sustrato y siembra del hongo

De acuerdo con las recomendaciones de Chiriboga, Garcés y Gómez (2014), se empleó arroz precocido como sustrato sólido para la producción de *B. bassiana*. El arroz cocido previamente hasta alcanzar una textura parcialmente suave y, posteriormente, colocado en bolsas plásticas adecuadas para autoclavado. Estas bolsas se esterilizaron en autoclave a una temperatura de 121° durante 15 o 20 minutos, con el objetivo de

eliminar posibles microorganismos competidores con el hongo. Una vez finalizado el proceso de esterilización, se dejó reposar el arroz hasta alcanzar temperatura ambiente dentro de un entorno estéril. La inoculación del sustrato se realizó en una cabina de bioseguridad o cabina de flujo laminar, con el fin reducir el riesgo de contaminación cruzada. Para la inoculación, se tomó 20ml de suspensión líquida de blastosporas previamente preparada, utilizando una jeringa estéril. Esta se insertó directamente en el interior de cada bolsa de arroz a través de un orificio previamente marcado. Posteriormente, se llevó al punto de inoculación con cinta adhesiva para evitar el ingreso de contaminantes y conservar condiciones asépticas durante el proceso de incubación.

5.7. Establecimiento del Bioensayo

5.7.1. Recolección y selección de larvas de *Phyllophaga* spp.

La recolección y selección de larvas de *Phyllophaga* spp. Se llevó a cabo en los campus del área de conocimiento de Ciencias Agrarias y Veterinarias, se siguieron procedimientos dedicados y específicos, como describe Solís-Perez et al (2016). En primer lugar, se identificaron zonas del campo donde se reportó la presencia de estas larvas, eligiendo sitios con distintas características de suelo y condiciones agrícolas donde se obtuvo una muestra representativa.

La recolección se realizó entre las 7:00 y 8:00 de la mañana, momento en el que según AGRICULTURA y SENISICA (2020), las larvas se encuentran más activas y próximas a la superficie del suelo. En el sitio seleccionado, se delimitó un área de un metro cuadrado y se excavó hasta una profundidad de 20 cm. El suelo extraído se tamizó cuidadosamente para localizar las larvas.

Durante la selección, se aplicaron criterios estrictos priorizando larvas que sean activas, de tamaño uniforme (L2) y sin signos visibles de enfermedad o debilidad. Este control de calidad aseguró que los individuos utilizados en el experimento fueron adecuados y se encontraban en óptimas condiciones para su análisis posterior en el laboratorio (traslado).

5.7.2. Conteo de conidios

El conteo de conidios se realizó a partir de la suspensión líquida de blastosporas obtenida del cultivo en medio agitado. Para ello, se tomó una alícuota de la solución y se colocó en una cámara de Neubauer, la cual fue observada bajo un microscopio. El conteo se llevó a cabo en las cuadrículas específicas de la cámara, permitiendo calcular la concentración de conidios por mililitro (conidios/ml). Este procedimiento permitió estandarizar la dosis a aplicar en los tratamientos de experimento.

5.7.3. Aplicación de los tratamientos en las unidades experimentales

Los tratamientos se aplicaron a cada unidad experimental, combinando dos variables: el método de aplicación del hongo (líquido o granulado) y a la profundidad a la que será incorporado en el suelo (2cm y 14cm)

Las larvas de *Phyllophaga spp*, se ubicaron en su correspondiente unidad experimental de acuerdo con el esquema de aleatorización. Cada unidad estará conformada por un contenedor plástico de aproximadamente 21 x 21 y 15 cm de profundidad. El sustrato fue el mismo suelo del sitio de recolección, sin esterilizar, con el objetivo de conservar los microorganismos y la materia orgánica presentes en su entorno natural, elementos clave en la alimentación y comportamiento de las larvas.

Para los tratamientos con *B. bassiana* en aplicación líquida, se utilizó una suspensión preparada, a una concentración de 10^6 conidias/ml. Esta solución se aplicó mediante un atomizador manual rociando uniformemente sobre la superficie del sustrato desde una distancia aproximada de 10cm, depositando un total de 30ml de la suspensión líquida.

En el caso de la formulación granulada, se realizará un surco superficial en el sustrato contenido dentro del recipiente. Este surco se aplicará la cantidad correspondiente de *B. bassiana* en gránulos (6gr) mediante el método de voleo. Posteriormente, el surco será cubierto nuevamente con el mismo suelo previamente removido, procurando mantener la estructura del sustrato lo más natural posible

5.7.4. Cámara húmeda

Transcurridas 72 horas desde la aplicación de los tratamientos, las larvas se colocaron en una cámara húmeda, siguiendo el procedimiento de Solís-Perez et al (2016), para ello se utilizaron placas Petri en cuyo interior se colocaron discos de papel toalla previamente humedecidos con agua destilada. Adicionalmente, se empleará una solución de hipoclorito de sodio al 1% para la desinfección superficial de las larvas.

Cada larva fue sumergida en la solución clorada durante aproximadamente 4 segundos, lo que permitió eliminar posibles contaminantes externos sin afectar su integridad ni interferir con la evaluación del efecto hongo, al finalizar dicho procedimiento, con agua estéril se retiró el exceso de cloro en los individuos. Posteriormente, se colocaron cuidadosamente sobre el papel húmedo dentro de placas Petri.

Las placas fueron selladas e incubadas a temperatura ambiente, manteniendo condiciones de humedad adecuadas para validez y favoreciendo el crecimiento fúngico. En los días siguientes, se observará el desarrollo de estructuras esporulantes sobre el cuerpo de las larvas.

5.7.5. Validación de la causa de muerte del insecto (larva)

Para confirmar que la causa de muerte de las larvas fue efectivamente la infección por *B. bassiana*, se siguió el protocolo descrito en el manual de laboratorio de Barnett et al (1998). Este manual proporcionó una guía didáctica sobre las principales estructuras micológicas relevantes en el ámbito agrícola.

En particular, se consultó la página 101, donde se describen cinco estructuras microscópicas características de *B. bassiana*. Estas estructuras fueron empleadas como referencia para identificar la esporulación del hongo en los cadáveres de las larvas tratadas. La observación se realizó mediante microscopía, permitiendo validar que la muerte del insecto (larva) se debió a la acción patogénica del hongo y no a otras causas externas.

5.8. Análisis de los resultados

Para el procesamiento y análisis de los datos obtenidos en el estudio, se utilizó el software IBM SPSS Statistics, el cual ofreció una amplia gama de herramientas estadísticas adecuadas para variables de distinta naturaleza. Inicialmente, se aplicaron pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas para determinar si los datos cumplen con los supuestos necesarios para realizar análisis paramétricos. En este caso cumplieron con dichos supuestos, se procedió con análisis como el ANOVA, permitiendo identificar diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. Asimismo, el software permitió explorar asociaciones, patrones de comportamiento y dinámicas temporales, facilitando el abordaje estadístico de todas las variables planteadas en los objetivos de investigación, tanto en sus dimensiones cuantitativas como cualitativas, de forma robusta y objetiva.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES

El índice de mortalidad corregida de Abbott representó la proporción de larvas muertas tras la aplicación de los diferentes tratamientos. Esta variable se corrigió aplicando la fórmula propuesta por Abbott (1925), tal como fue utilizada por Castillo-Altamirano et al (2003), con el fin de ajustar el efecto del tratamiento respecto a los testigos. La mortalidad se midió mediante el conteo de larvas vivas y muertas en cada unidad experimental.

De acuerdo con los resultados presentados en la **Tabla 5**, los valores obtenidos mostraron una clara variación en la efectividad de los tratamientos a lo largo del tiempo de exposición. A las 72 horas todos los tratamientos presentaron valores nulos (0), lo que indica que en esta etapa temprana no existió un efecto significativo sobre la normalidad mortalidad de las larvas. Sin embargo, a partir de las 120 horas, comenzaron a observarse diferencias marcadas entre los tratamientos.

En particular, los tratamientos BG2 y BG14 alcanzaron índices de Abbott de 14.79 y 19.17, respectivamente, mientras que los tratamientos A2 y A14 reflejaron un valor de 0, sugiriendo una baja y nula efectividad en esta fase. Los tratamientos BL2 y BG2 mostraron una mortalidad intermedia con valores de 9.77 y 4.76, respectivamente.

Con el incremento del tiempo, los resultados fueron más contrastantes. A las 144 horas, se evidenció un aumento en la efectividad de los tratamientos BG2 (34.14) y BG14 (39.21), en contraste con los valores nulos mantenidos con los tratamientos testigos en A2 y A14 (0). Los tratamientos BL2 y BL14 presentaron un efecto moderado con 18.95 y 24.01, respectivamente.

Finalmente, a las 168 horas, se observaron los valores más altos de mortalidad corregida. El tratamiento BG14 alcanzó el índice mayor (74.40) seguido por BG2 (43.25), mientras que BL2 (23.20) y BL14 (33.44) mantuvieron valores intermedios. Los tratamientos A2 y A14 nuevamente al ser testigos absolutos se mantienen con una efectividad nula (0).

Tabla 5*Índice de Abbott*

Horas	Trat	Abbott
00:00	A14	0
00:00	A2	0
00:00	BG14	0
00:00	BG2	0
00:00	BL14	0
00:00	BL2	0
72:00:00	A14	0
72:00:00	A2	0
72:00:00	BG14	0
72:00:00	BG2	0
72:00:00	BL14	0
72:00:00	BL2	0
120:00:00	A14	0
120:00:00	A2	0
120:00:00	BG14	19.17
120:00:00	BG2	14.79
120:00:00	BL14	4.76
120:00:00	BL2	9.77
144:00:00	A14	0
144:00:00	A2	0
144:00:00	BG14	39.21
144:00:00	BG2	34.14
144:00:00	BL14	24.01
144:00:00	BL2	18.95
168:00:00	A14	0
168:00:00	A2	0
168:00:00	BG14	74.4
168:00:00	BG2	43.25
168:00:00	BL14	33.44
168:00:00	BL2	23.2

Nota: Los valores presentados corresponden al promedio de mortalidad de *Phyllophaga spp* por repetición, ajustados mediante la fórmula de Abbott, con el fin de corregir la mortalidad natural observada en el testigo.

El análisis de varianza (**Tabla 6**) indica que existen diferencias significativas en la mortalidad de larvas entre los grupos evaluados. La media cuadrática entre grupos $MC=10.027$ es considerable superior a la media cuadrática dentro de los grupos ($MC=1.756$), lo que se traduce en un estadístico F elevado ($F=5.711$). este valor refleja que la variabilidad explicada por los tratamientos supera ampliamente la variabilidad residual. Además, el nivel de significancia ($P=0.000$) confirma que estas diferencias son estadísticamente robustas. Lo que permite rechazar hipótesis nula de igualdad entre grupos. En consecuencia, se concluye que al menos uno de los tratamientos tiene un efecto diferencial sobre la mortalidad larval.

Tabla 6

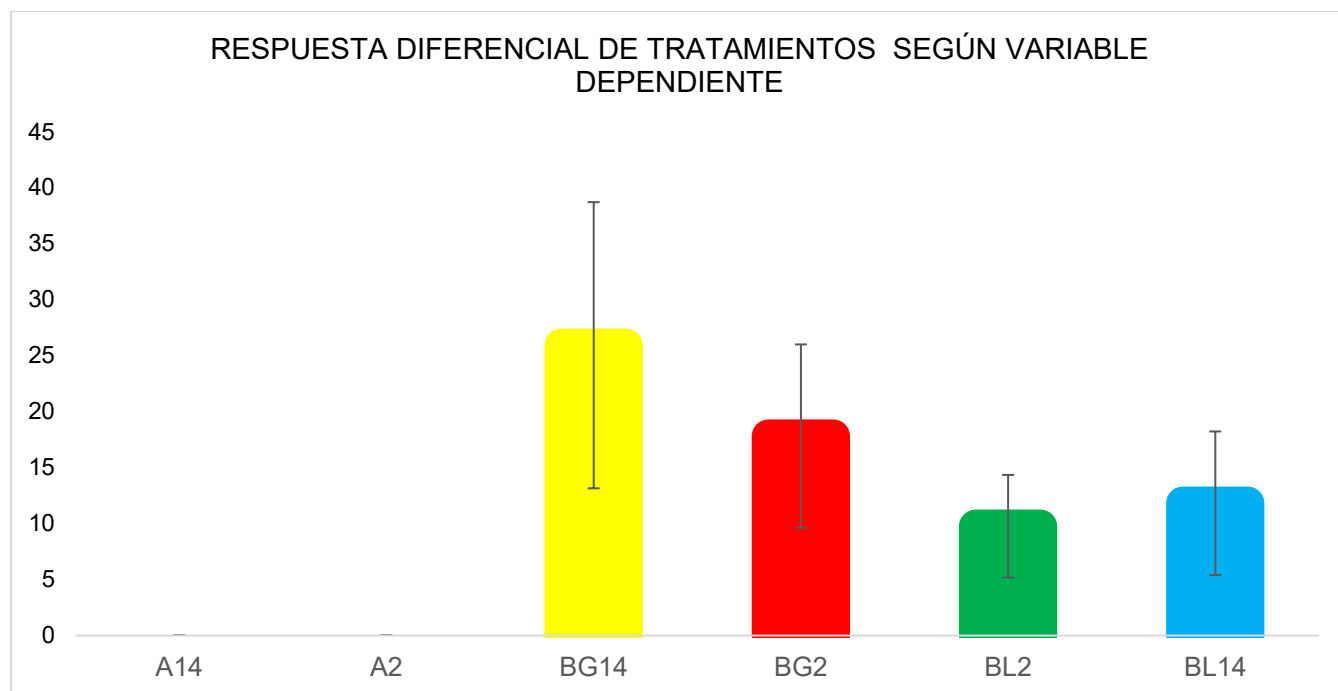
ANOVA de un factor

ANOVA					
Larvasmuertas	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	50.133	5	10.027	5.711	0.000
Dentro de grupos	147.467	84	1.756		
Total	197.600	89			

Nota: ANOVA de un factor, mostrando diferencias al menos para uno de los tratamientos.

Figura 1

Respuesta diferencial de tratamientos según variable dependiente



Nota: Los tratamientos muestran respuestas diferenciadas en la variable evaluada, con variabilidad moderada según los errores estándar. Destacan BG14 y BG2 por sus valores superiores.

Los resultados en la **Figura 1** se observa una diferencia en la eficacia de los tratamientos aplicados sobre la mortalidad larvaria. Tal como muestran los valores corregidos en el índice de Abbott en la **Tabla 5**, los tratamientos granulados (BG14 y BG2) presentan los porcentajes de mortalidad más elevados. En particular, BG14 alcanzó un 74.4% de desempeño en 168 horas, seguido por BG2 con un 43.25%, lo que indica que ambos métodos granulares fueron los más efectivos en comparación con los líquidos y los testigos.

En contraste, los tratamientos líquidos (BL2 y BL14) muestran niveles de mortalidad menores. En el caso de BL2, el índice de Abbott máximo apenas alcanzó 23.2%, mientras que BL14 alcanzó un 33.44% de Abbott. Estos valores, aunque superiores al testigo evidencian un efecto considerablemente menor frente a las formulaciones granulares.

Respecto a los testigos (A2 y A14), como era de esperarse no se registraron diferencias significativas, manteniéndose en un 0% de mortalidad durante todo el periodo de evaluación, lo cual valida el efecto diferencial de los tratamientos evaluados

Un aspecto relevante para considerar son los valores de error estándar **Figura 1**. Muestran cierta dispersión en los tratamientos más efectivos (BG14 y BG2), alcanzando errores de 12.78% y 8.19% respectivamente, lo que indica que existió variabilidad en las repeticiones. En cambio, en los tratamientos líquidos (BL2 y BL14) el error es relativamente menor.

Sin embargo, es importante aclarar que un error elevado no significa un fallo en los datos, sino que refleja la variabilidad biológica entre repeticiones. En este caso, los errores más grandes se asocian a tratamientos con alta eficiencia, como BG14 **Tabla 5 y Figura 1**, donde la mortalidad alcanzó niveles superiores a 80% en ciertos momentos del ensayo, generando una amplitud mayor en la respuesta.

En los primeros centímetros del suelo ubicado en el recipiente plástico se encontraba la mayor densidad de raíces y tejidos jóvenes de plantas nativas del suelo, que son el principal recurso alimenticio de larvas; por ello, la probabilidad de encuentro hospedero-inóculo es mayor en capas superficiales (CONAFOR, 2018). En este contexto, BG2 añade un plus de actuar como micro-reservorio: el grano libera conidios de forma sostenida y mantiene un banco de esporas en el horizonte donde las larvas transitan y se alimentan aumentando la tasa de encuentros efectivo-infección por roce (Araujo y Albuquerque, 2009).

El soporte sólido protege a los conidios de desecación y radiación, amortigua fluctuaciones térmicas y retiene humedad capilar alrededor del gránulo; esa corona húmeda favorece la germinación y penetración cuticular (López, 2025; Espinoza y Vallejos, 2016; Solís-Perez et al., 2016). Por contraste, las formulaciones líquidas se absorben rápidamente a coloides, se lixivian con pulsos de agua y pierden viabilidad mas pronto, reduciendo el tiempo de exposición efectiva a las larvas (Araujo y Albuquerque, 2009).

Que BG14 supere a BG2 al final del ensayo sugiere un segundo mecanismo: en capas más profundas el microclima es más estable, lo que prolonga la viabilidad del hongo; además, las larvas de *Phyllophaga spp* realizan movimientos verticales siguiendo humedad y recursos, incrementando la probabilidad de contacto con focos granulares persistentes (Wang et al., 2021; Pedrini, 2022; Chiriboga, Garcés y Gómez, 2014).

Así, la combinación “granular + microclima estale” potencia su desempeño a 144-168h, coherente con los picos de Abbott de BG14 en la **Tabla 5**.

Parte de la bibliografía reporta mejor desempeño de formulaciones líquidas en otras plagas o escenarios (Dávila y Kevin, 2020). Dado la evidencia de estos resultados contrastan la generalización y muestra que, para *Phyllophaga spp*, la persistencia y la retención espacial del inóculo pesan más que la disponibilidad instantánea. La diferencia es razonable *Phyllophaga spp* es hipogea, con contacto prolongado con el sustrato; por ende, el reservorio granular ofrece más encuentros acumulados en el tiempo que un pulso líquido de corta vida en el suelo.

En conjunto **Tabla 5** y **Figura 1** sostienen que los granulares especialmente BG14 y BG2 son la opción más robusta para el manejo de *Phyllophaga spp*, combinan persistencia, exposición acumulada y coincidencia espacial con la zona de forrajeo larvario.

Este hallazgo contribuye a llenar un vacío científico en el conocimiento del desempeño de *B. bassiana* en relación con la interacción entre formulación, profundidad y hábitat de la plaga. La mayoría de los estudios previos han comparado la eficacia de cepas o concentraciones, pero no existe un evaluado de la influencia conjunta de la formulación y la profundidad del suelo en la mortalidad de *Phyllophaga spp*. En este sentido, los resultados de este trabajo no solo refuerzan la importancia de la bioformulación, sino que también aportan evidencia que puede guiar decisiones prácticas en programas de manejo integrado, optimizando el uso de bioplaguicidas en función de la biología de la plaga y las características edáficas locales.

Figura 2

Larvas muertas en función horas/exposición



La **Figura 2** muestra que durante las primeras 72 horas de exposición la mortalidad de larvas de *Phyllophaga spp*, fue prácticamente nula, mientras que a partir de este punto la curva comienza a ascender de manera progresiva y constante hasta alcanzar su máximo valor cercano a las 168 horas, donde la media de mortalidad supera las 2.5 larvas por unidad experimental. Ese patrón temporal es característico de los hongos entomopatógenos en insectos coleópteros, el proceso infeccioso no es inmediato, sino que sigue una fase de latencia, correspondiente al tiempo necesario para que los conidios germinen, penetren la cutícula, colonicen la hemolinfa y finalmente provoquen la muerte del insecto hospedero (Wang et al., 2021)

La ausencia de muertes en las primeras horas indica que la infección no es instantánea. Según Téllez-Jurado et al (2009); la germinación de conidios sobre la cutícula de coleópteros es más lenta que en lepidópteros o himenópteros debido a la composición lipídica

A partir de las 72h, los conidios ya han atravesado la cutícula y ha colonizado el interior larvario, iniciando la fase de mortalidad acumulada. En este lapso, la curva de la **Figura 2** muestra un crecimiento lineal, lo que sugiere un desempeño sostenido del inoculo. Este comportamiento concuerda con lo descrito por Chiriboga, Garcés y Gómez (2014); Real-Baca et al (2025) quienes describen que el 80% de las mortalidades en insectos ocurren entre las 70 y 168 horas al ser infectadas por *B. bassiana*

El ascenso progresivo también refleja que la densidad de esporas viables en el suelo se mantuvo estable en este rango temporal, lo cual se atribuye a condiciones adecuadas.

El análisis de varianza de un factor **Tabla 6** evidenció la existencia de diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos evaluados, lo que confirma que la aplicación de *Beauveria bassiana* en sus diferentes formulaciones y profundidades influyó en la mortalidad de larvas de *Phyllophaga spp.* Para profundizar en estos resultados, se realizó una prueba de comparación de medias, cuyos resultados se presentan en la **Tabla 7**.

En esta tabla de grupos **Tabla 7** se muestran de manera clara los tratamientos que conformaron categorías homogéneas y, al mismo tiempo, los que resultaron significativamente diferente en contraste con los testigos. Estos resultados permiten identificar las combinaciones de formulación y profundidad que generaron un efecto mas notorio sobre la mortalidad larval

Los resultados muestran un patrón diferencial en función tanto de la formulación (granular vs la líquida) como de la profundidad de aplicación (2cm y 14cm). La eficiencia toxicológica de los tratamientos se refleja en la capacidad diferencial de cada combinación para generar mortalidad significativa respecto a los testigos (A2 y A14, ambos con 0.00). De acuerdo con la prueba de Tukey, se identifican tres subgrupos.

Subgrupo 1: A2, A14 (0.00) – sin efecto

Subgrupo 2: BL2 (0.93) y BL14 (1.07) – baja eficiencia

Subgrupo 3: BG2 (1.60) y BG14 (2.00) – alta eficiencia

Esto sugiere que la eficiencia toxicológica está directamente asociada al tipo de formulación, siendo la granular la que presenta mayor capacidad de mantener la viabilidad y acción patogénica del hongo en tiempo.

Como indican estudios previos, la estructura de los gránulos permite un microambiente favorable para la sobrevivencia de las esporas, protegiéndolas de la desecación, factores que en suelos agrícolas pueden limitar severamente la acción de las formulaciones líquidas

Finalmente, la eficiencia toxicológica alcanzada por los tratamientos granulados se podría considerar una alternativa viable para programas de manejo integrado, ya que combina persistencia, adaptación edáfica y un espectro de acción compatible con el ciclo de vida del insecto.

Tabla 7

Prueba de Tukey (subconjuntos)

Larvas Muertas				
HSD Tukey^a				
Tratamientos	N	Subconjunto para-alfa = .5		
		1	2	3
A2	15	0.00		
A14	15	0.00		
BL2	15		0.93	
BL14	15		1.07	
BG2	15			1.60
BG14	15			2.00
Sig.		1.000	0.740	0.962

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Nota: Subconjuntos de medias (Mortalidades por combinación)

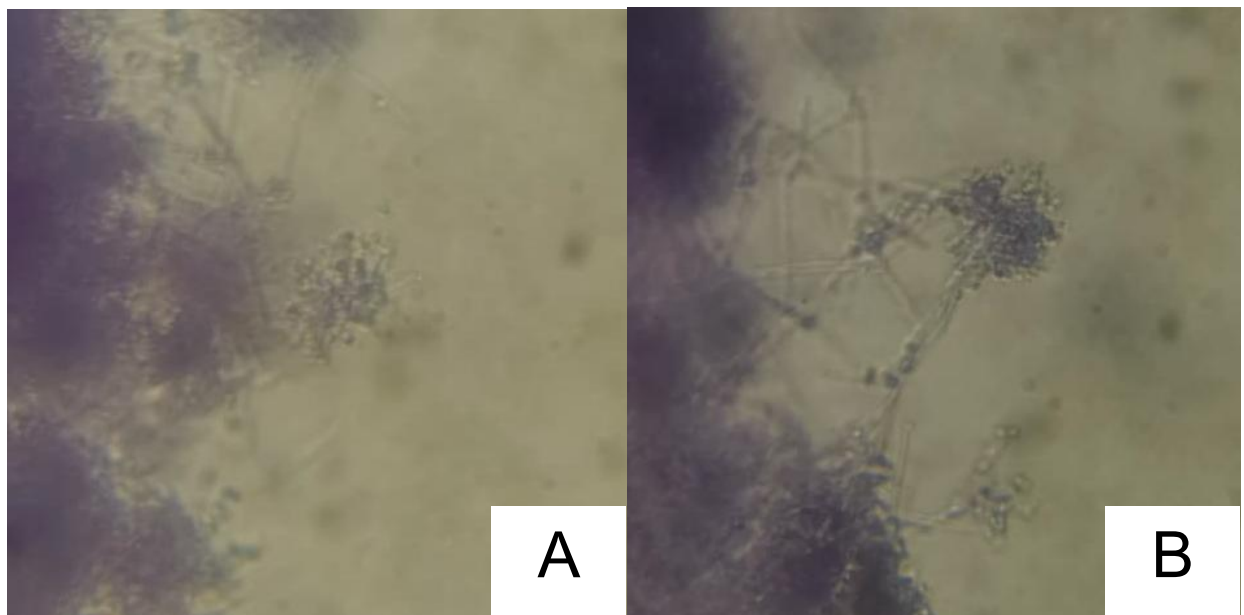
En la **Figura 3** se observa la validación de la causa de muerte del insecto mediante la presencia de estructuras reproductivas del hongo *B. bassiana*.

Las imágenes muestran claramente la formación de hifas y conidióforos, lo que confirma que el agente causador de la mortalidad larvaria fue la colonización fúngica.

Esto significa que el hongo logró germinar sobre la cutícula del insecto, invadir sus tejidos internos y, posteriormente, desarrollarse en su superficie, completando el ciclo de infección. La visualización de estas estructuras reproductivas es la evidencia directa de que la muerte de las larvas no se debió a factores externos, sino al efecto entomopatógeno de *B. bassiana*.

Figura 3

Validación de causa de muerte del insecto. A y B estructuras reproductivas de B. bassiana



Nota: Estas figuras son de origen propio, extracción y revelación realizadas por el investigador.

VII. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio evidencian que la eficacia de *B. bassiana* sobre las larvas de *Phyllophaga spp* está determinada tanto por la formulación utilizada como por la profundidad de aplicación.

Las combinaciones BG14 y BG2 demostraron un desempeño sobresaliente, alcanzando mortalidades corregidas de 74.40 y 43.25 a las 168 horas, respectivamente, lo que los posiciona como los tratamientos más eficientes.

Esta tendencia es evidenciada por prueba de Tukey, el cual agrupó a los granulados en el subgrupo de mayor eficiencia toxicológica, en contraste con los testigos y los líquidos. De acuerdo con los resultados estadísticos, se rechaza la hipótesis nula al encontrarse diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, lo que confirma que tanto la formulación como la profundidad influyen de manera determinante en la mortalidad de las larvas

El patrón diferencial de desempeño entre las combinaciones se explica por las propiedades fisicoquímicas de cada sistema de aplicación. Los gránulos actúan como micro-reservorios que liberan conidios de forma sostenida, protegiéndolos frente a desecación, radiación y fluctuaciones térmicas, además de retener humedad capilar, lo que favorece la germinación y la infección.

Estos hallazgos no solo refuerzan el potencial de *Beauveria bassiana* como herramienta dentro de los programas de manejo integrado de plagas, sino que también brindan lineamientos prácticos para optimizar su aplicación en campo, privilegiando formulaciones granulares y profundidades intermedias a profundas como estrategia para maximizar el control de *Phyllophaga spp*. Además, los resultados se alinean con las directrices de prácticas agrícolas sostenibles promovidas en Nicaragua, orientadas a reducir la huella ambiental de los sistemas productivos y fomentar un manejo responsable de los recursos naturales, en concordancia con los principios de la agricultura sin huella.

VIII. RECOMENDACIONES

Incrementar el tiempo de mezcla y homogenización de las suspensiones de *B. bassiana* durante la preparación, con el fin de lograr una mayor concentración de inóculo viable

Implementar pruebas a nivel de campo, en donde los factores ya no sean simulados (temperatura, humedad y radiación solar). Permitirá con mayor certeza la viabilidad del uso de *B. bassiana*.

Explorar la aplicación del hongo en diferentes formulaciones (líquidas, granuladas, encapsuladas o en combinación con otros sustratos orgánicos ya que posiblemente pueda variar según la presentación utilizada

Desarrollar investigaciones de persistencias que midan al hongo viable a lo largo del tiempo.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AGRICULTURA y SENISICA. (2020). *Phyllophaga spp.*, *Macroductylus spp.*, *Anomala spp.* Complejo Gallina Ciega [Archivo PDF]. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/847747/Ficha_tcnica_Complejo_gallina_ciega.pdf.
- Araujo-Albuquerque, E y Albuquerque-Maranhão, E. (2009). Hongos entomopatógenos: importante herramienta para el control de “moscas blancas” (*homoptera: aleyrodidae*) [Archivo PDF]. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/25735/1/Maranhao.pdf>
- Argüello-Chávez, H. (2017). Aspectos bioecológicos y de manejo de “gallina ciega” (*Phyllophaga spp.*), en la producción de cacao (*Theobroma cacao*) en Río San Juan, Nicaragua. *LA CALERA* 17(29), 63-67. <https://doi.org/10.5377/calera.v17i29.6526>
- Bárcenas, M., Rostrán, J. y Silva, P. (2017). Condiciones climáticas del Campus Agropecuario 2017: *Boletín climático* No. 1. <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/5445>
- Barnett y Hunter. (1998). Claves Taxonómicas. <https://www.scribd.com/document/478453438/claves-taxonomicas-Barnett-y-Hunter-1998-pdf>
- Castillo-Altamirano, P, M., Moreno-Mayorga, L, F y Espino-Cruz, E, R. (2003). Evaluación de la eficacia de control de *Beauveria bassiana*. *RIUL*, 864(1). <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/864/1/187582.pdf>
- Chiriboga, P, H., Garcés E, K. y Gómez, B, G. (2014). Protocolos para formulación y aplicación del bio-insumo *Beauveria bassiana*, hongo entomopatógeno para el control biológico de hormigas cortadoras (ysaú) [Archivo PDF]. <https://hdl.handle.net/11324/2646>.

- CONAFOR. (2018). *Phyllophaga* spp. http://sivicoff.cnf.gob.mx/ContenidoPublico/08%20Gu%C3%ADas%20de%20s%C3%ADntomas%20y%20da%C3%B1os/Gu%C3%ADas%20de%20s%C3%ADntomas%20y%20da%C3%B1os%20nativas/Phyllophaga_Version%20Larga.pdf
- Cuate-Mozo, V, A., Aragón-García, G. A., Lugo-García, M. Aragón-Sánchez, B, C., Pérez Torres y Juárez, R. (2019). Comparación morfológica de larvas de tercer estadio de *Phyllophaga* y *Listrochelus* (Coleoptera: Melolonthidae). *Entomología mexicana*, 6(1) 660-666. SM 660-666.pdf
- Dávila, G y Kevin, W. (2020). Eficacia de la aplicación líquida y sólida del hongo *Beauveria bassiana* para el control del picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) y del picudo rayado (*Metamasius hemipterus*) en condiciones de laboratorio y campo. <https://repositorio.uteq.edu.ec/items/082bfb1f-81a3-456a-808b-1c49196866c7>
- EPPO. (2002). *Phyllophaga* sp. (PHYGSP). <https://gd.eppo.int/taxon/PHYGSP>.
- Espinoza-Ruiz, G y Vallejos-Tremínio, F. (2016). Desarrollo de formulaciones bioplaguicidas a base de *Beauveria bassiana* (Bals & Vuils) con materiales sólidos y líquidos. tnh10e77.pdf
- Fula, J y Vasquez, N. (2018). Revisión documental sobre *Beauveria bassiana* Y *Bacillus Thuringensis*, en el control biológico de lepidópteros en forrajes ganaderos. <https://repositorio.unicolmayor.edu.co/bitstream/handle/unicolmayor/4780/REVISI%C3%93N%20DOCUMENTAL%20SOBRE%20Beauveria%20bassiana%20Y%20Bacillus%20Thuringensis%2C%20EN%20EL%20CONTROL%20BIOL%C3%93GICO%20DE%20.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Gallardo-Tapia, A y Hidalgo-López, L. (2021). Gallina ciega ¿Plaga o aliado?, Centro internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. <https://idp.cimmyt.org/gallina-ciega-plaga-o-aliado/>
- Guédez, C., Castillo, C., Cañizales, L., & Olivar, R. (2009). Control biológico: una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. *Academia*, 7(13), 50-74.

(PDF) Control Biológico: Una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible

Hernández-Sampieri, R., & Mendoza, C. (2020). Metodología de la investigación: las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. Metodología de la investigación - Sexta Edición

INEC. (2018). Encuesta Nacional Agropecuaria. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos de Nicaragua. <https://www.inide.gob.ni/docu/cenagro/aspectosmeto.htm>

López, R. (2025). *Beauveria bassiana*: Un Aliado Natural en el Control Biológico de Plagas [Archivo PDF]. [beauveria-bassiana-control-biologico-plagas](#)

Oliveira, C, M. y Frizzas, R, M. (2017). How climate influences the biology and *behaviour* of *Phyllophaga capillata* (Coleoptera: Melolonthidae) in Brazilian Cerrado. *Austral Entomology*, 58(2) DOI:10.1111/aen.12309

Pedrini, N. (2022). The Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* Shows Its Toxic Side within Insects: Expression of Genes Encoding Secondary Metabolites during Pathogenesis. *J. Fungi*, 8(5) 488. <https://doi.org/10.3390/jof8050488>

Ramírez-Pabon, O, C. (2020) Implicaciones del uso de larvas en la alimentación avícola [Archivo PDF]. [coramirezpabon.pdf](#)

Real-Baca, C. I., Silva-Illescas, P. F., Moreno-Mayorga, L. F., Castro-Ulloa, O. M., & Romero-González, B. A. (2025). *Beauveria bassiana* 114 para el manejo del picudo negro del plátano (*Cosmopolites sordidus* Germar, 1824). *Rev. Iberoam. Bioecon. Cambio Clim.*, 10(19), 2406–2413. <https://doi.org/10.5377/ribcc.v10i19.20641>

Ritu, A., Anjali, C., Nidhi, T., Sheetal, P y Deepak, B. (2012). Biopesticidal Formulation of *Beauveria Bassiana* Effective against Larvae of *Helicoverpa Armigera*. *Journal of Biofertilizers & Biopesticides*, 3(3). 10.4172/2155-6202.1000120

Rodríguez-del Bosque L. y Arredondo-Bernal H. (2007). Teoría y aplicación del control biológico [Archivo PDF]. http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Zoologia_Agricola/

Manejo_Integrado/Material_Interes/Libro_CB_Aredondo-Rodriguez_2007_Control_Biologico.pdf

- Ruíz-Vega, J., Aquino-Bolaños, T., Silva-Rivera, M. E., y Pablo, S, G. (2012). Control integrado de la gallina ciega *Phyllophaga vetula* Horn (Coleoptera: Melolonthidae) con agentes entomopatógenos en Oaxaca, México. *UDO Agrícola*, 12(3), 609-616.
- Control integrado de la gallina ciega *Phyllophaga vetula* Horn (Coleoptera: Melolonthidae) con agentes entomopatógenos en Oaxaca, México
- Solís-Perez, O., Castillo-Gutierrez, A., Peña-Chora, G., Alvear-Garcia, A., Serrano-Morales, M, M., Suarez-Rodriguez, R., Hernandez-Velazquez, V, M. (2016). Pathogenicity, Virulence and the Interaction of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Phyllophaga vetula* (Coleoptera: Melolonthidae). *J Pure Appl Microbiol*, 10(4) 2607-2612. doi: 10.22207/JPAM.10.4.16
- Téllez-Jurado, A., Cruz-Ramírez, M. G., Mercado-Flores., Asaff-Torres, A., y Arana-Cuenca, A. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos [Archivo PDF]. *Revista Mexicana de Micología*, 30(1), 73-80. Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos
- Wang, H., Peng, H., Li, W., Cheng, P y Gong, M. (2021) *Beauveria bassiana* and the Strategies to Improve Their Virulence to Insects. *Microbiol.* 12 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.705343>
- Zhang, X., Lei, Z., Reitz, S. R., Wu, S., & Gao, Y. (2019). Laboratory and Greenhouse Evaluation of a Granular Formulation of *Beauveria bassiana* for Control of Western Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Insects*, 10(2), 58. <https://doi.org/10.3390/insects10020058>

X. ANEXOS

Tabla 8

Índice de Abbott para todos los tratamientos y repeticiones

HORAS	TRAT	ABBOTT
00:00	BL2	0
00:00	BG2	0
00:00	A2	0
00:00	BL14	0
00:00	BG14	0
00:00	A14	0
72:00:00	BL2	0
72:00:00	BG2	0
72:00:00	A2	0
72:00:00	BL14	0
72:00:00	BG14	0
72:00:00	A14	0
120:00:00	BL2	9.77443609
120:00:00	BG2	39.8496241
120:00:00	A2	0
120:00:00	BL14	9.77443609
120:00:00	BG14	39.8496241
120:00:00	A14	0
144:00:00	BL2	24.0121581
144:00:00	BG2	54.4072948
144:00:00	A2	0
144:00:00	BL14	39.2097264
144:00:00	BG14	54.4072948
144:00:00	A14	0
168:00:00	BL2	23.1950845
168:00:00	BG2	53.9170507
168:00:00	A2	0
168:00:00	BL14	38.5560676
168:00:00	BG14	53.9170507
168:00:00	A14	0
00:00	BL2	0
00:00	BG2	0
00:00	A2	0
00:00	BL14	0
00:00	BG14	0
00:00	A14	0
72:00:00	BL2	0
72:00:00	BG2	0
72:00:00	A2	0
72:00:00	BL14	0

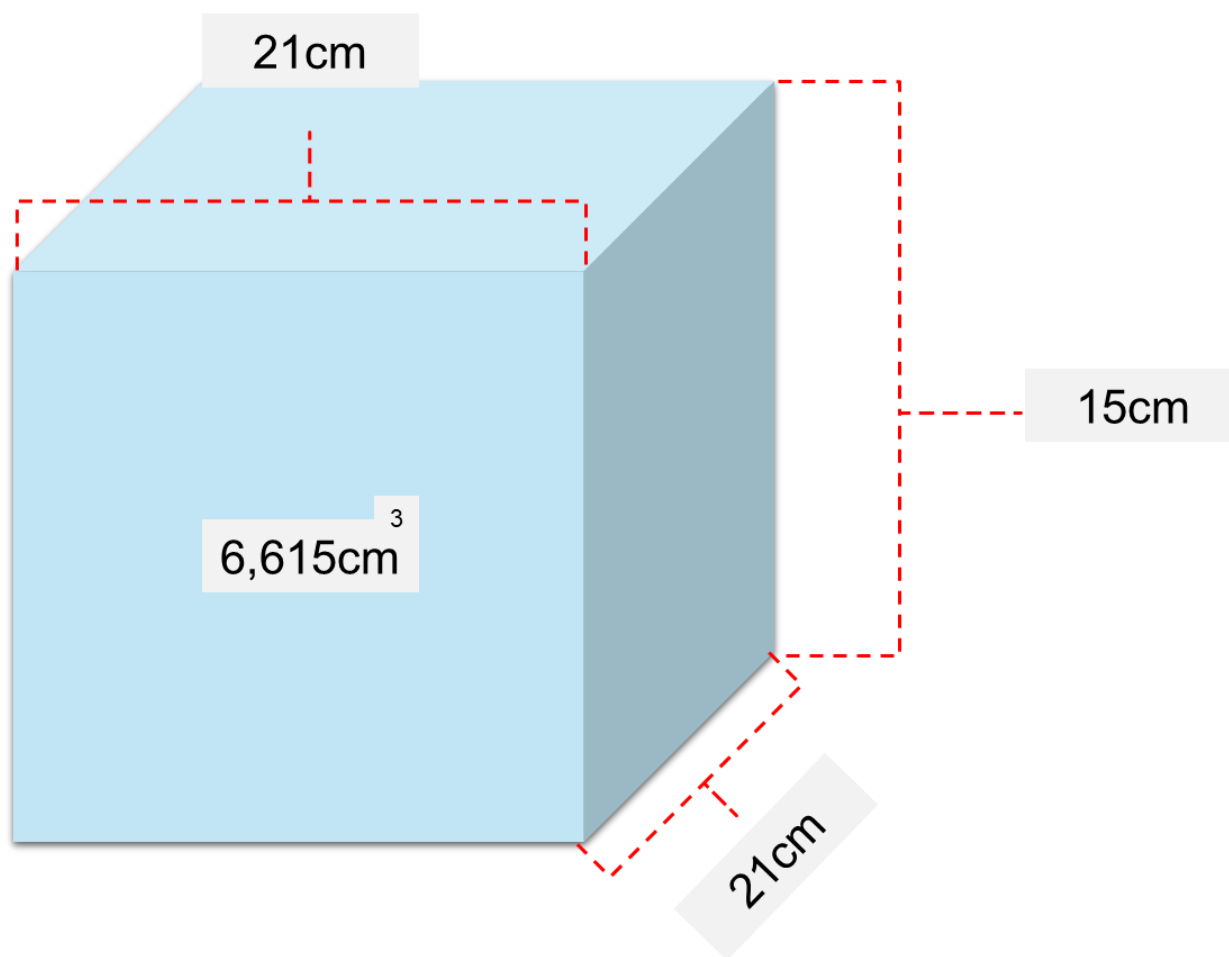
72:00:00	BG14	0
72:00:00	A14	0
120:00:00	BL2	9.77443609
120:00:00	BG2	0
120:00:00	A2	0
120:00:00	BL14	9.77443609
120:00:00	BG14	9.77443609
120:00:00	A14	0
144:00:00	BL2	8.81458967
144:00:00	BG2	39.2097264
144:00:00	A2	0
144:00:00	BL14	24.0121581
144:00:00	BG14	39.2097264
144:00:00	A14	0
168:00:00	BL2	23.1950845
168:00:00	BG2	37.2759857
168:00:00	A2	0
168:00:00	BL14	38.5560676
168:00:00	BG14	84.6390169
168:00:00	A14	0
00:00	BL2	0
00:00	BG2	0
00:00	A2	0
00:00	BL14	0
00:00	BG14	0
00:00	A14	0
72:00:00	BL2	0
72:00:00	BG2	0
72:00:00	A2	0
72:00:00	BL14	0
72:00:00	BG14	0
72:00:00	A14	0
120:00:00	BL2	9.77443609
120:00:00	BG2	9.77443609
120:00:00	A2	0
120:00:00	BL14	0
120:00:00	BG14	7.89473684
120:00:00	A14	0
144:00:00	BL2	24.0121581
144:00:00	BG2	8.81458967
144:00:00	A2	0
144:00:00	BL14	8.81458967
144:00:00	BG14	24.0121581
144:00:00	A14	0
168:00:00	BL2	23.1950845
168:00:00	BG2	38.5560676

168:00:00	A2	0
168:00:00	BL14	23.1950845
168:00:00	BG14	84.6390169
168:00:00	A14	0

Nota: Índice de Abbott, todos los tratamientos y repeticiones, resaltando a BG2 y BL14 como los mejores.

Figura 4

Ilustración dimensional (recipiente plástico)



Nota: Ilustración digital del recipiente utilizado para este estudio

Figura 5

(A) Recipientes utilizados (dimensiones). (B) Medición de humedad volumétrica

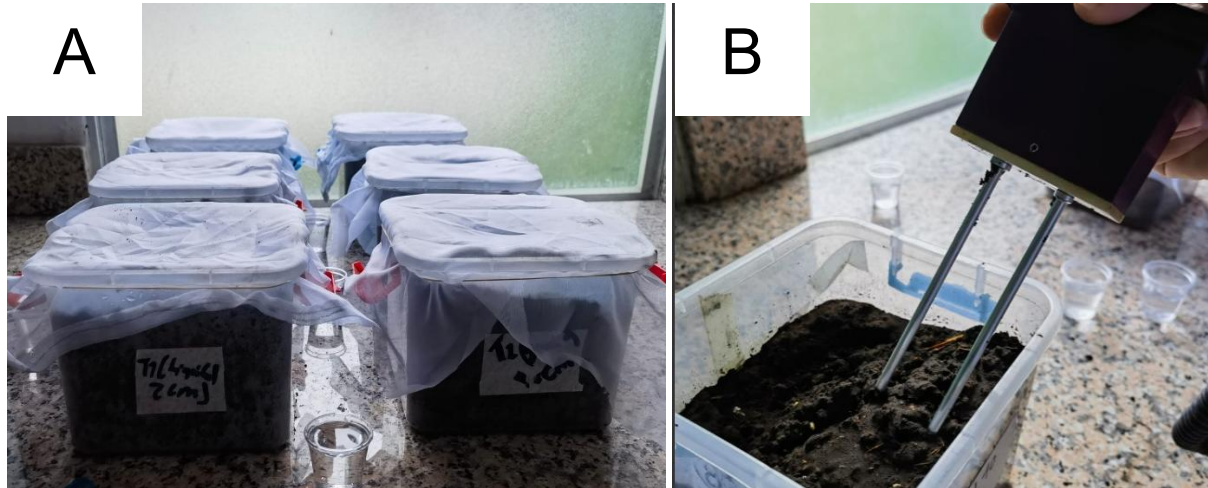
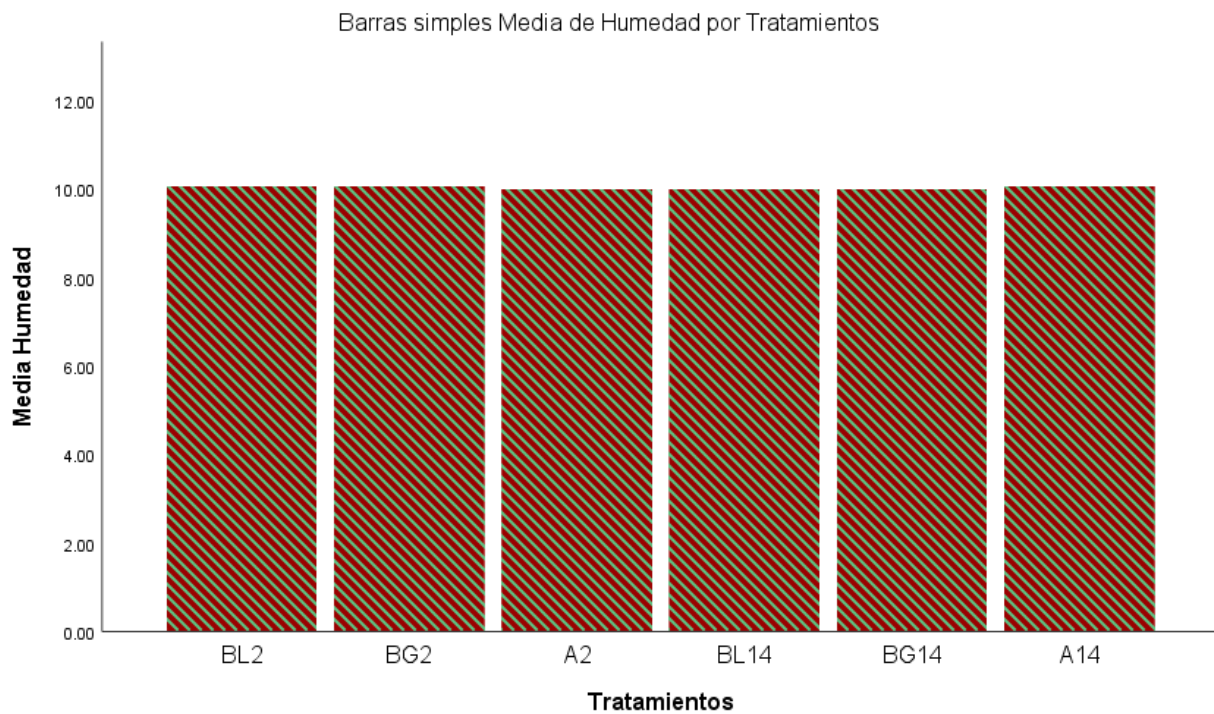


Figura 6

Humedad volumétrica en cada combinación a lo largo del estudio



Nota: Se observa que todas las combinaciones tienen la misma media de %volumétrico (agua)

Figura 7

(A) Papas precocidas, (B) Agar, (C) Dextrosa



Figura 8

(A) Arroz precocido (sustrato), (B) generación de blastosporas, (C) Bolsas térmicas

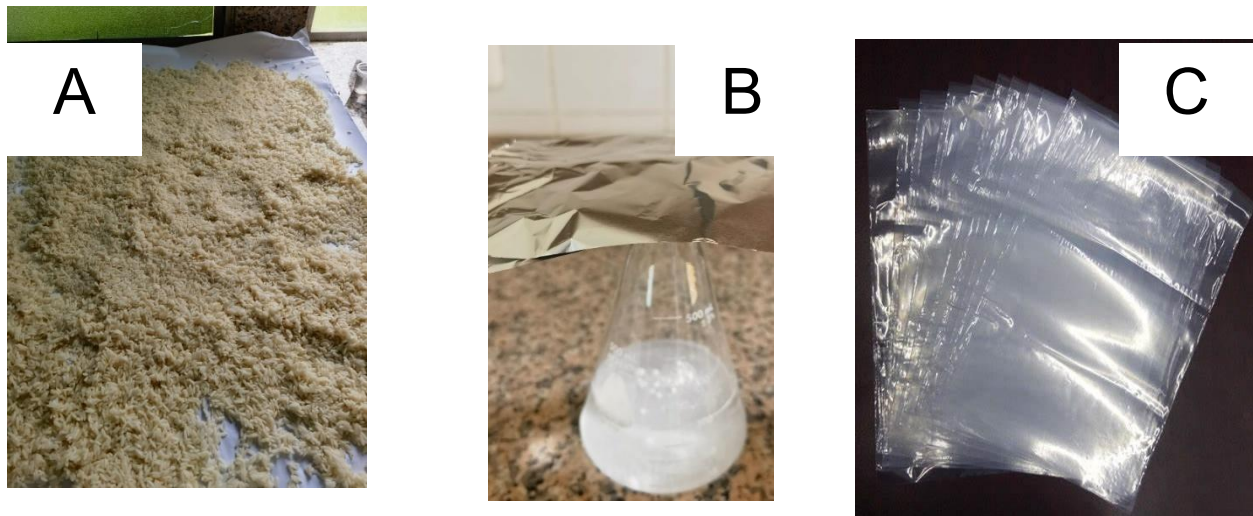
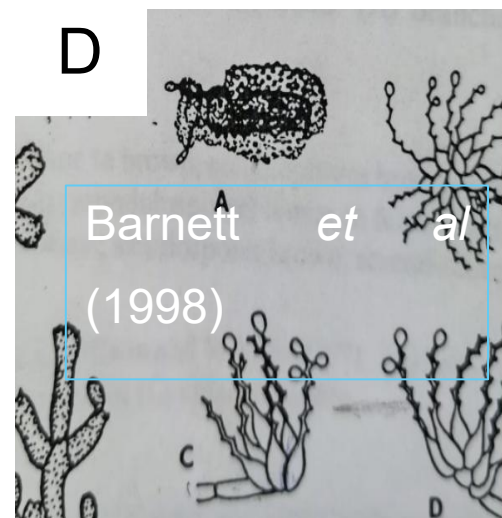
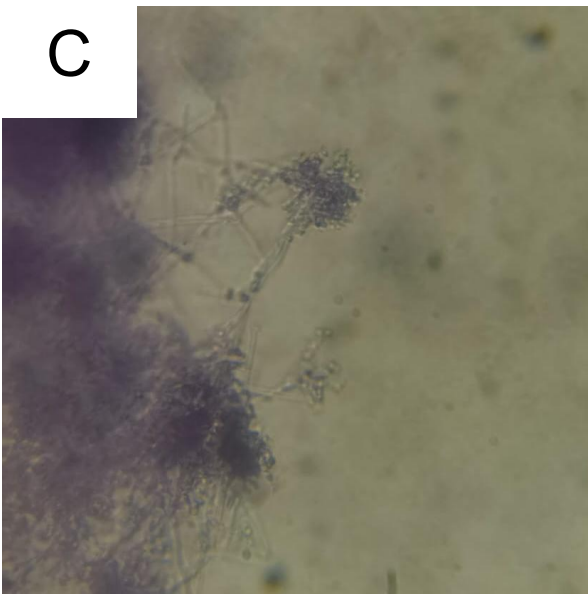
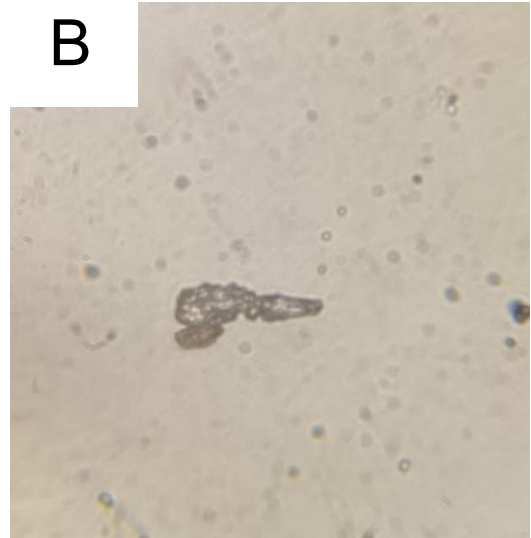
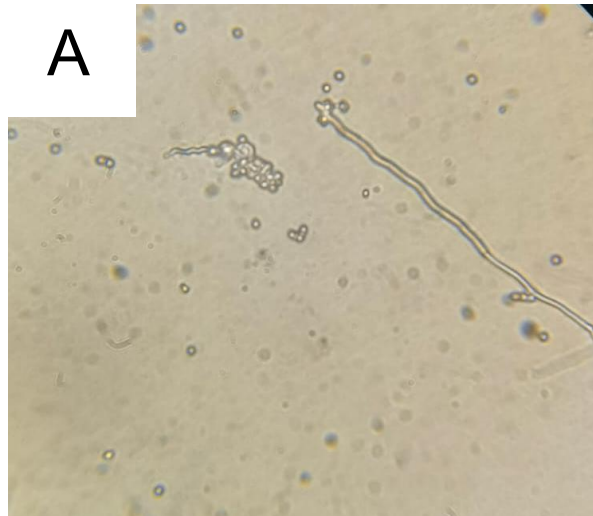


Figura 9

(A) Hifas y conidios de *B. bassiana*, (B) Estructura de *B. bassiana*, (C) Estructura de *B. bassiana*, (D) Libro guía



Nota: Revelación, tinción y proceso de impresión de esporas realizadas por el investigador

Figura 10

(A) larvas desinfectadas por cloro, y enjuague previo, (B) colocación en cámara húmeda, (C y D) larvas infectadas y muertas, (E y F) revelación de estructuras *B. bassiana*

