



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AMBIENTAL**

“Aislamiento e identificación de *Beauveria bassiana* y su utilidad como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio.”

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
AMBIENTAL**

AUTOR

PAREDES ROALCABA, MARICARMEN ALISSA.

ASESOR

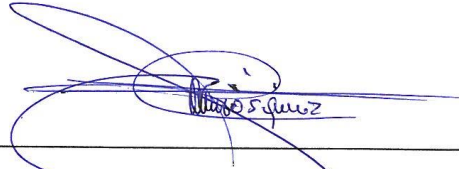
RODAS CABANILLAS, JOSÉ LUIS.

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

CONSERVACIÓN Y MANEJO DE LA BIODIVERSIDAD

PERÚ - 2016

PAGINA DEL JURADO



Mgr. José Modesto Vásquez Vásquez

Presidente



Dr. Bertha Magdalena Gallo Gallo

Secretario



M.Sc Ingrid Aracelli Cassana Huamán

Vocal

DEDICATORIA

La presente tesis está dedicada principalmente a nuestro Padre Celestial por haber bendecido el camino de la investigación.

Además le dedico a mis Padres Rodolfo Paredes Aguinaga y Karina Roalcaba Pérez quienes se esforzaron y me guiaron durante cinco años brindándome su amor el apoyo moral, y la confianza puesta en mi persona.

A mí adorado hijo Liam por ser mi motor y motivo para poder sobresalir y hacer de él una persona exitosa.

A mis abuelos, tíos y demás familiares por creer en mí y brindarme su gran amor y comprensión haciendo de mí una persona con valores que no desmayaba ante ningún obstáculo.

Maricarmen

AGRADECIMIENTO

A mi hijo hoy quiero darle mi más sincero agradecimiento, por ser el impulsor de mis sueños, gracias por la paciencia y el amor consagrado.

Además dirigido a mis padres, hermanos, abuelos y tíos porque siempre recibía motivación para no rendirme ante ningún obstáculo.

Gracias por su paciencia y apoyo constante, los tengo en mi corazón.

A mis amigas, juntas caminamos hacia la cima durante 5 años gracias por compartir momentos inolvidables y llenar mi mundo de alegría.

Debo agradecer de manera especial y muy sincera al Dr. Herry Lloclla y al Msc. Jhon García López por guiar mi proyecto de investigación.

La Autora

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

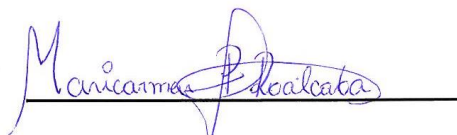
Yo, Maricarmen Alissa Paredes Roalcaba, estudiante de la Facultad de Ingeniería de la escuela académico profesional de Ingeniería Ambiental de la Universidad César Vallejo, identificado con DNI N°73569784.

Declaro bajo juramento que:

1. Soy autor de la tesis titulada "Aislamiento e identificación de *Beauveria bassiana* y su utilidad como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio."
2. La tesis no ha sido plagiada ni total, ni parcialmente, para lo cual se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.
3. La tesis presentada no atenta contra derechos de terceros.
4. Los datos presentados en resultados son reales, no han sido falsificados, duplicados, ni copiados.

Por lo expuesto, mediante la presente asumo que frente a la universidad CÉSAR VALLEJO, cualquier responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido de la tesis.

Chiclayo, 2016.



MARICARMEN ALISSA PAREDES ROALCABA

DNI: 73569784

PRESENTACIÓN

La presente investigación lleva por título “Aislamiento e identificación de *Beauveria bassiana* y su utilidad como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio”, teniendo como objetivo el aislamiento de *Beauveria bassiana*, obteniéndose de las colectas de un insecto infectado en el distrito de Chongoyape, provincia de Chiclayo del cual estamos hablando es del coleóptero *Stonodotes Sp.*

Prosiguiendo a realizarse la identificación micro y macroscópicas usando el azul de lactofenol observando en el microscopio pudiéndose encontrar la morfología que caracterizan a *Beauveria bassiana*, además el entomopatógeno se usó como biocontrolador de plagas, comprobándose el porcentaje de muerte que causaba este entomopatógeno en insectos de diferentes órdenes como lepidópteros, ortópteros, coleópteros y hemípteros obteniéndose como resultado al 100% de muertes.

Es por ello que el uso de *Beauveria bassiana* logra dar solución y disminuir el uso excesivo de los productos químicos en la agricultura ya que estos provocan efectos negativos en el suelo, el agua y el aire.

INDICE

PAGINA DEL JURADO	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	v
PRESENTACIÓN	vi
INDICE	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	13
1.1.- REALIDAD PROBLEMÁTICA.....	14
1.2.- TRABAJOS PREVIOS.....	15
1.3.- MARCO TEÓRICO:	21
1.4.- FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	26
1.5.-JUSTIFICACIÓN.....	26
1.6.- HIPÓTESIS	27
1.7. OBJETIVOS.....	27
1.7.1. Objetivo General	27
1.7.2. Objetivos Específicos.....	27
II.- MÉTODO	28
2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	28
2.2. VARIABLES Y OPERACIONALIZACION DE VARIABLES	28
2.2.1 VARIABLES:.....	28
2.2.2. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	29
2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA	30
2.3.1 POBLACIÓN.....	30
2.3.2 MUESTRA	30
2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	30
2.5 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS.....	31
2.6 ASPECTOS ÉTICOS	31
III. RESULTADOS.....	32
3.1 AISLAR E IDENTIFICAR <i>BEAUVERIA BASSIANA</i>	32

3.2 UTILIZACIÓN COMO BIOCONTROLADOR DE PLAGAS A NIVEL DE LABORATORIO.....	33
IV. DISCUSIÓN.....	46
V. CONCLUSIONES.....	47
VII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	49
ANEXOS.....	51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de <i>Beauveria bassiana</i>	22
Tabla 2. Taxonomía de <i>Spodoptera frugiperda</i>	33
Tabla 3. Características del efecto de <i>Beauveria bassiana</i> hacia <i>Spodoptera frugiperda</i>	33
Tabla 4. Taxonomía de <i>Acheta domesticus</i>	35
Tabla 5. Características del efecto de <i>Beauveria bassiana</i> hacia <i>Acheta domesticus</i>	35
Tabla 6. Taxonomía de <i>Dibolocelus palpalis</i>	37
Tabla 7. Características del efecto de <i>Beauveria bassiana</i> hacia <i>Dibolocelus palpalis</i>	37
Tabla 8. Taxonomía de <i>Dysdercus peruvianus</i>	39
Tabla 9. Características del efecto de <i>Beauveria bassiana</i> hacia <i>Dysdercus peruvianus</i> .	39
Tabla 10. Taxonomía de <i>Epilachna leopardina</i>	41
Tabla 11. Características del efecto de <i>Beauveria bassiana</i> hacia <i>epilachna leopardina</i> .	41
Tabla 12. Taxonomía de <i>Coccinella</i>	43
Tabla 13. Características del efecto de <i>Beauveria bassiana</i> hacia <i>Coccinella</i>	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evaluación del efecto de <i>Beauveria bassiana</i> frente a <i>Spodoptera frugiperda</i> ..	34
Figura 2. Porcentaje de mortalidad de <i>Spodoptera frugiperda</i>	34
Figura 3. Evaluación del efecto de <i>Beauveria bassiana</i> frente a <i>Acheta domesticus</i>	36
Figura 4. Porcentaje de mortalidad de <i>Acheta domesticus</i>	36
Figura 5. Evaluación del efecto de <i>Beauveria bassiana</i> frente a <i>Dibolocelus palpalis</i>	38
Figura 6. Porcentaje de mortalidad de <i>Dibolocelus palpalis</i>	38
Figura 7. Evaluación del efecto de <i>Beauveria bassiana</i> frente a <i>Dysdercus peruvianus</i> ..	40
Figura 8. Porcentaje de mortalidad de <i>Dysdercus peruvianus</i>	40
Figura 9. Evaluación del efecto de <i>beauveria bassiana</i> frente a <i>epilachna leopardina</i>	42
Figura 10. Porcentaje de mortalidad de <i>Epilachna leopardina</i>	42
Figura 11. Evaluación del efecto de <i>Beauveria bassiana</i> frente a <i>Coccinella</i>	44
Figura 12. Porcentaje de mortalidad de <i>Coccinella</i>	44
Figura 13. Envolvimiento de materiales con papel Graf para ser esterilizados.	54
Figura 14. Material de laboratorio colocado en el esterilizador.....	54
Figura 15. <i>Stenodontes</i> sp. infectado en laboratorio	55
Figura 16. Preparación de medio de cultivo.....	55
Figura 17. Preparacion de medio de cultivo.....	56
Figura 18. Insecto infectado por <i>Beauveria bassiana</i>	56
Figura 19. Aislamiento de <i>Beauveria bassiana</i>	57
Figura 20. Cultivo puro de <i>Beauveria bassiana</i> en agar Saboround	57
Figura 21. Cultivo puro de <i>Beauveria bassiana</i> en agar pda	58
Figura 22. Cultivo puro de <i>Beauveria bassiana</i>	58
Figura 23. Identificación microscópica de <i>Beauveria bassiana</i>	59
Figura 24. Identificación macroscópica de <i>Beauveria bassiana</i>	59
Figura 25. <i>Spodoptera frugiperda</i> infectado por <i>Beauveria bassiana</i>	60
Figura 26. <i>Acheta domesticus</i> infectado por <i>Beauveria bassiana</i>	60
Figura 27. <i>Dibolocelus palpalis</i> infectado por <i>Beauveria bassiana</i>	61
Figura 28. <i>Dysdercus peruvianus</i> y <i>Epilachna leopardina</i> infectados por <i>Beauveria bassiana</i>	61
Figura 29. <i>Coccinella</i> infectado por <i>Beauveria bassiana</i>	62

RESUMEN

El excesivo e inadecuado uso de los productos químicos en la agricultura genera una elevada contaminación de los componentes del ambiente los cuales son el aire, agua y suelo es por ello que la opción amigable con el ambiente es el uso de Hongos entomopatógenos que actúan como controladores biológicos y no son contaminantes.

El presente trabajo de investigación consiste en Aislar e identificar a *Beauveria bassiana* y utilizarlo como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio comprobando su efecto bioinsecticida en insectos que causan plagas en los cultivos agrícolas.

El método de investigación es no experimental de tipo transaccional descriptivo, ya que los hechos fueron registrados tal y como se presentaron en la realidad, la aplicación de la tesis fue por seis meses de julio a diciembre del 2016. Se aplicó un muestreo no probabilístico por conveniencia, la muestra fue de veinte insectos siendo su población cincuenta siendo colectados en los cultivos del distrito de Chongoyape, específicamente en la huerta de la Fam. Montalvo.

Se llegó a la conclusión que *Beauveria bassiana* puede utilizarse como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio, siendo una buena alternativa amigable con el ambiente, debido a que disminuiría el uso de productos químicos en la agricultura ya que estos cada vez hacen más resistentes a las plagas de cultivo y son muy contaminantes.

PALABRAS CLAVE

Aislamiento: Separar uno o más microorganismos de una muestra dada.

***Beauveria bassiana*:** Hongo entomopatógeno capaz de infectar a 200 especies de diferentes órdenes de las cuales las principales son lepidóptero, ortóptero, coleóptero y hemíptero.

Biocontrolador de plagas: Capaz de controlar plagas, malezas Y enfermedades de cultivos agrícolas.

ABSTRACT

The excessive and inadequate use of chemical products in agriculture generates a high level of contamination of the components of the environment, which are air, water and soil, which is why the environmentally friendly option is the use of entomopathogenic fungi that act as controllers biological and are not polluting.

The present research work consists of isolating and identifying *Beauveria bassiana* and using it as a pest biocontroller at the laboratory level, proving its bioinsecticidal effect on insects that cause pests in agricultural crops.

The research method is non-experimental descriptive descriptive type, since the facts were recorded as they were presented in reality, the application of the thesis was for six months from July to December 2016. A non-probabilistic sampling was applied by convenience, the sample was of twenty insects being its population fifty being collected in the crops of the district of Chongoyape, specifically in the orchard of the Fam. Montalvo.

It was concluded that *Beauveria bassiana* can be used as a biocontroller of pests at the laboratory level, being a good environmentally friendly alternative, because it would decrease the use of chemical products in agriculture since these increasingly make them more resistant to pests and are very polluting.

KEYWORDS

Isolation: Separate one or more microorganisms from a given sample.

Beauveria bassiana: Entomopathogenic fungus capable of infecting 200 species of different orders of which the main ones are lepidóptera, orthoptera, coleoptera and hemiptera.

Pest biocontroller: Able to control pests, weeds And diseases of agricultural crops.

I. INTRODUCCIÓN

Se sabe que los productos agroquímicos es el material que se genera en la industria para el control y manejo de plagas de cultivos como se sabe toda actividad agrícola que utiliza estos insumos provoca un impacto ya sea negativo o positivo tanto en lo social, económico, cultural y ambiental, señalando la importancia en el ambiente porque en este entorno es en el que se desarrolla, es por ello que se ha buscado alguna opción amigable con el ambiente para poder minimizar el uso de los productos químicos en los campos de cultivo.

Por ello, hoy en día que los investigadores locales, nacionales e internacionales buscan opciones naturales que no causen alguna contaminación al suelo porque este es el que se ve más afectado.

El aislamiento es un método que consiste en separar los microorganismos de los insectos, para poder obtener cultivos puros, con este proyecto se trabajó con *Beauveria bassiana* quien actúa como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio siendo este una alternativa para poder minimizar el uso de productos agroquímicos en los campos de cultivo y tratar de minimizar el impacto que causa al ambiente.

Beauveria bassiana se logró identificar según sus características micro y macroscópicas mediante el microscopio electrónico a 100X lográndose y obteniéndose la cepa pura del entomopatógeno.

Además *Beauveria bassiana* se llegó a utilizar como controlador de plagas en el laboratorio de la Universidad “Pedro Ruiz Gallo” actividad que fue supervisado por docentes altamente calificados.

Se llegó a la conclusión, que *Beauveria bassiana*, se logró aislar de un insecto infectado de los cultivos de Chongoyape, de la huerta de la Fam. Montalvo siendo encontrado el coleóptero *Stenodontes Sp.* Que presentaron características de infestación con hongos entomopatógenos.

1.1.- REALIDAD PROBLEMÁTICA.

El incremento de la población mundial, el aumento de la contaminación del ambiente y las diferentes costumbres de vida del hombre, conlleva a que el ser humano se preocupe en la búsqueda de mejores e innovadores procesos de producción agrícola que permitan satisfacer la gran demanda de alimento y materia prima; contando así con el aprovechamiento de manera responsable y sostenible del uso de recursos naturales para así poder satisfacer las necesidades humanas. Sin embargo las actividades agrícolas y su expansión traen consigo problemas sanitarios siendo, el más afectado el suelo, por el uso exagerado de productos químicos que afectan directamente a la salud de la población.

En los campos de cultivo existe una problemática que se ha venido observando, siendo las plagas, las causantes de pérdidas en las cosechas que afecta directamente a los agricultores.

El manejo correcto de los cultivos se orienta a un control adecuado de las plagas que no afecten el aspecto económico y ambiental, mediante el uso de componentes naturales preferentemente de origen microbiano.

La utilización de los productos químicos conlleva al abuso de estos para combatir las plagas, haciendo que las plagas se vuelvan resistentes a estos productos químicos, razón por la cual la búsqueda de alternativas biológicas en el manejo de plagas que garanticen el equilibrio entre el desarrollo sostenible y el cuidado del ambiente, minimizando los impactos negativos que se puedan presentar.

En 1834, por primera vez se estudió a *Beauveria Bassiana* como biocontrolador de plagas, al poder infectar al gusano de seda conocido como *Bombix mori*, es por ello que desde aquel momento comenzaron las investigaciones para poder obtener una producción limpia en los cultivos.

Siendo así que los controladores biológicos como *Beauveria Bassiana* actúan de manera positiva y eficiente, causando una reducción en el uso de productos químicos permitiendo un control más eficiente de plagas.

1.2.- TRABAJOS PREVIOS

ACOSTA (2006). Menciona que los hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium Anisopliae* fueron aislados para el control biológico del *sinfilido* *Scutigerella* teniendo como objetivo identificar cuan eficaces son como biocontroladores se realizaron las pruebas en laboratorio y en invernadero, usando como medio de cultivo para el aislamiento agar papa dextrosa; obteniéndose como resultado un 35% de mortalidad en el laboratorio y un 17% de mortalidad en el invernadero. Por lo tanto se llegó a la conclusión que los entomopatógenos son una alternativa viable para disminuir el uso de productos químicos.

ALIAGA Y CRUZ (2009). Las autoras en su tesis hacen de conocimiento que las plagas *Spodoptera frugiperda* y *Aphis Craccivora* son las causantes de pérdidas económicas en los campos de cultivo, causando malformaciones en las hojas del maíz, tomate, alcachofa entre otros cultivos. *Aphis Craccivora* provoca daños anuales irreparables; es una de las plagas más letales porque al introducirse a la hoja de cualquier cultivo produce una sustancia llamada mielecilla que esta es la causante de propagación de hongos y estos a la vez producen fumagina siendo afectado el proceso de fotosíntesis en la planta, es por ello que trataron de buscar alguna solución a estos problemas y controlar la contaminación del ambiente estas investigadoras no procedían a utilizar productos químicos porque estos son letales para el medio ambiente ya que contaminan el agua, el suelo y el aire; por lo tanto buscaron alguna alternativa amigable con el ambiente utilizando un biocontrolador biológico llamado *Beauveria bassiana*, ellas necesitaban examinar cuan susceptible es este biocontrolador a las plagas, siendo contactadas con el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), ellos le facilitaron una cepa la cual fue llamada CBLE – 265, con la finalidad de determinar las concentraciones letales al 50 % y 90 %. Se analizaron ambas plagas en laboratorio especializado con atomizadores manuales, se obtuvieron tres estadios de *Spodoptera Frugiperda* y tres estadios de *Aphis Craccivora* obteniéndose como resultado que *Beauveria bassiana* atacó de forma significativa solo a los tres estadios de *Spodoptera Frugiperda* y los estadios de *Aphis Craccivora*, no tuvo alguna significancia por lo tanto se llega a la conclusión que *Beauveria bassiana* no logro atacar a la plaga de *Aphis Craccivora*, ellas continuaran realizando investigaciones para poder concretar por qué *Beauveria bassiana* no logro infectar a *Aphis Craccivora*.

ARAYA ET AL (2009). Según los seis autores nos explican que ante las exigencias a nivel internacional se debe tomar posibles soluciones amigables con el medio ambiente, porque a tanta contaminación han tomado conciencia en tratar de buscar alguna solución de mitigación al uso de productos químicos como los plaguicidas; que es uno de los más utilizados en los campos de cultivos; en el norte de Costa Rica están utilizando los biocontroladores que estos actúan infestando a los insectos plaga; Araya y su grupo de investigadores determinaron la efectividad de *Beauveria bassiana*; *Metarhizium anisopliae*; *Trichoderma harzianum* entre otros. Obteniendo como resultados la eficacia altamente positiva de infestación entre el 20% y 100 % de control de plaga meta.

BACCA Y LAGOS (2014). El grupo de investigadores hacen mención a que para tener un buen manejo de control de plagas es indispensable la utilización de agentes del control biológico que estos a la vez son los hongos entomopatógenos y nematodos parásitos de insectos según la teoría que ellos manejan es de que utilizando ambos biocontroladores existirá relaciones de antagonismo al colonizar al mismo huésped, teniendo en cuenta lo antes mencionado en laboratorio se realizaron los ensayos de las cuales el hongo entomopatógeno es *Beauveria bassiana*; él nematodo parásito de insecto es *Steinernema Sp.* Y el insecto plaga a atacar son las larvas del lepidóptero *Galleria mellonella* llevándose a cabo de manera individual y colectiva. Cuando se realizó el muestreo en laboratorio estaba conformada por seis larvas de *Gm* que estas fueron colocados en cajas Petri y a la vez con papel filtro siendo humectado por agua estéril por la parte de *Beauveria bassiana* se tenía una concentración de 1×10^3 esporas/ml y del nematodo se utilizó la concentración de 100 juveniles infectivos por larva. Al pasar las cuarenta y ocho horas se observaron resultados de infesta pero lo observado fue que cuando se utilizan los controladores juntos se ven afectados por que ambos se encuentran en competencia por infectar al hospedero (insecto).

CARBALLO, RODRIGUEZ Y DURAND (2001). Los autores en Centroamérica, Costa Rica realizaron estudios en laboratorio con la finalidad de evaluar múltiples aislamientos de *Beauveria bassiana* (balls), para poder diferenciar los más mortales y controlar la plaga del picudo del chile, *Anthrenus eugeni* (Coleoptera: Curculionidae).

Se evaluaron diferentes concentraciones de *Beauveria bassiana* suspendido en agua y aceite, para así comprobar la concentración al 100%, siendo los métodos usados la inmersión y la aspersión. Todos los aislamientos resultaron ser totalmente patogénicos para el *Picudo*, siendo las pruebas patogénicas 447, RL9-1, 113, 9205, 9218, 9006, 35 y 290, mostrando mayor porcentaje de mortalidad, contándose en el menor tiempo siendo muy letal y el mayor rendimiento de conidios de arroz. Las suspensiones de *Beauveria bassiana* en agua como en agua mezclada con aceite al 3% desarrollaron la mortalidad del *Picudo* y redujeron el tiempo letal conforme aumentó la concentración. La concentración letal en agua fue de $1,2 \times 10^6$ conidios/ml y en aceite 2.2×10^4 conidios/ml, lo cual esto nos indica que la eficacia de *Beauveria bassiana* aumentó al añadir aceite a la suspensión.

DAMAS (2012). En su tesis indica que para combatir la cucaracha urbana (*Periplaneta urbana*) evaluó la patogenicidad de cuatro tratamientos del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, las cuales dos de ellas son cepas comerciales llamadas (C1 – C2) y los dos restantes fueron obtenidos de insectos infectados cuyos los colectaron en el país de los aztecas, a estas las llamaron (C4 y C6). Para comprobar el comportamiento de mortalidad, contra las *Periplaneta Americanas*, las cuatro muestras estuvieron evaluadas con conidios aéreos (CA) producidos por fermentación sólida obteniendo con mayor efectividad y mortalidad los aislamientos nativos (C4 – C6).

ESPAÑA (2000). La autora menciona que existe un abuso excesivo en la utilización de productos químicos para combatir las plagas de los cultivos; en su tesis trata de buscar alguna solución para combatir y controlar el escarabajo mexicano del frijol cuyo nombre científico es *Varivestis Mulsant*. Y una de las alternativas amigables con el ambiente es la utilización del controlador biológico siendo este *Beauveria bassiana* este tiene la función de infectar y atacar a los insectos que producen plagas principalmente los coleópteros por lo tanto el principal objetivo fue identificar la actividad lipasa y la virulencia de los aislamientos BbD2, BbCR, BbCOI y BbZI. De las cuales se hicieron bioensayos para determinar la lipasa siendo determinada por un halo alrededor de la colonia se obtuvo resultados desde el quinto al catorceavo día resultando con mayor patogenicidad el aislamiento BbCOI este produjo la mayor cantidad de lipasa por lo tanto la autora llega a la conclusión que los resultados que obtuvo con *B. bassiana* es

de que actúa como agente del control biológico recomendando utilizarlo para el control de *Varivestis mulsant*.

GARCÍA (2011). En su trabajo de investigación nos expone que permitió aislar y caracterizar los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, a partir de insectos infectados, realizando cuatro colectas de insectos cubiertos por hongos, en el poblado de Líbano, estado de Tabasco - México, se pudieron obtener un total de cuatro cepas de *Beauveria bassiana* y ocho cepas de *Metarhizium anisopliae*. Las cepas de *B. bassiana* fueron aislados de hemípteros y coleópteros adultos, mientras que para *M. anisopliae* de larvas de coleópteros e himenópteros, para la correspondiente caracterización se tomó en cuenta las características macroscópicas y microscópicas.

GARCIA, CAPELLO, LESHAR Y MOLINA (2011). Los publicistas nos dan a conocer que una de las mejores opciones amigables con el ambiente es el uso de hongos entomopatógenos estos son muy importantes para el control biológico es por ello que para poder atacar a los insectos utilizaremos dos hongos, de los cuales son *Beauveria bassiana* y *Metharizium Anisopliae* se recolectaron cuatro insectos de los cuales estos presentaron en su exterior cubiertos con tipo algodón blanco siendo colectados en Tabasco, para *Beauveria bassiana* se aislaron en total 5 cepas y para *Metharizium Anisopliae* 9 cepas. Por lo tanto obtuvieron *Beauveria bassiana* de coleópteros y hemípteros.

GARCÍA, VILLAMIZAR, TORRES Y COTES (2006). Estas cuatro personas nos dan a conocer su trabajo de alta investigación siendo el biocontrolador más efectivo y eficaz de los últimos tiempos, del cual estamos hablando llevando como nombre científico *Beauveria bassiana*; se seleccionó el aislamiento (Bv025) para controlar la plaga de la papa cuyo insecto es el gusano blanco *Premnotrypes vorax*; este se llevó a cabo bajo las condiciones de un laboratorio presentando cambios en sus características microbiológicas; el objetivo del presente trabajo fue determinar qué efectos de los subcultivos del aislamiento sembrados en PSA (agar papa sacarosa) sobre las características macroscópicas, de germinación y cuan veloz es en su crecimiento y que actividad entomopatógena presenta en su microorganismo, llegándose a la conclusión que las conidias del tercer subcultivo mostraron la infesta microbiológica dado por el

entomopatógono mostrando una mortalidad del 96 % recomendando que efectivamente comprobaron el efecto de bioinsecticida de *Beauveria bassiana*.

GAXIOLA (2012). Según el autor señala que experimentó en una parcela de tomate en el año 2011, las cuales artificialmente fueron infestadas por larvas de *H. virescens*, anteriormente en laboratorio se estudió y aisló de forma nativa 10 cepas siendo tres de *M. anisopliae* y siete de *Beauveria bassiana* estos a la vez fueron comparados, obteniendo como resultado que *Beauveria bassiana* tiene un mayor potencial de controlar a los insectos plaga por lo cual Gaxiola recomienda que debemos ser partícipes y utilizar de forma más continua los hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana*.

LÓPEZ, ZAYAS, FERNÁNDEZ Y TRIGUERO (1992). Los autores en su trabajo de investigación nos dan a conocer lo que se propusieron a realizar en los viñales, Pinar del Río y en Camagüey; resulta que estas personas observaron la plaga Ips spp. Que esta afecta a la población de los Pinos en diferentes ciudades ellos obtuvieron cepas nativas de *Beauveria bassiana*; por lo tanto fueron aplicadas en los campos de cultivos de los Pinos; se prepararon las cepas con concentración de 1.5×10^8 con/ml y a la vez dosis de 5 lts. /m³ para así evitar la colonización de la llamada plaga Ips spp se obtuvo como resultado que las cepas asperjadas tuvieron efectos significativos en los valles de los pinos en resumen *Beauveria bassiana* si actúa como biocontrolador de plagas a nivel de cultivos.

MALPARTIDA, NARREA Y DALE (2013). Los autores sostienen que para obtener una alternativa del manejo integrado de plagas es recomendable utilizar hongos entomopatógenos la cual estos investigadores desearon determinar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* para uso potencial atacando como biocontrolador a las larvas del tercer estadio del llamado “defoliador del maracuyá” *Dione Juno* siendo este de clase lepidóptera es una plaga que causa daños y desarreglos a la planta del maracuyá; se realizaron aislamientos cuyas cepas pertenecen a la sub dirección de control biológico – SENASA son cepas comerciales que se aplicaron directamente a las suspensiones 10^6 , 10^7 y 10^8 conidias ml⁻¹; registrándose de tal manera que existió una mortalidad del 20 % y 84 % al cuarto día de ser infestados; los investigadores llegaron a la conclusión que la

cepa comercial de *Beauveria bassiana* llamada (CCB-LE 262) actuó como potencial controlador biológico de la plaga del maracuyá siendo este *Dione Juno* más conocido como el “gusano defoliador del maracuyá”.

Native strains of *Beauveria bassiana* for the control of *Rhipicephalus sanguineus* (2015) en su artículo concluye que las cepas nativas de *B. bassiana* son altamente virulenta en todas las etapas del ciclo de vida de *R. sanguineus* S.L., lo que sugiere que el uso de este hongo puede ser eficaz en el control de las poblaciones de garrapatas en el ambiente. Sin embargo, además de laboratorio se requieren estudios de campo para determinar la mejor ruta para la aplicación y la frecuencia de tratamiento para el uso de este hongo como agente de control biológico. Además, este hongo también podría ser utilizado en combinación con productos químicos para el control de infestaciones de garrapatas en los refugios de animales, hacia la reducción los riesgos relacionados con el uso excesivo de productos químicos.

NUSSENBAUM (2014). La autora en su tesis doctoral hace referencia que, en Argentina se encuentra una plaga importante que causa daños al algodón; sosteniendo que para poder atacar de manera biológica al Picudo *Anthonomus Grandis* según bibliografía investigada la opción más viable es la utilización de hongos entomopatógenos de los cuales Laura, creyó conveniente realizar aislamientos nativos de estos de los cuales escogió a *Beauveria bassiana* y *Metarhizium Anisopliae* estos pueden ser alguna alternativa para combatir al Picudo del algodón, en laboratorio realizo veintiocho aislamientos de *M. Anisopliae* y 66 aislamientos de *B. bassiana*, obteniéndose como resultados que dos de los aislamientos de *B. b* resultaron ser los más letales con una concentración media de $1,13 \times 10^7$ y $1,20 \times 10^7$.

RODRIGUEZ (2009). Este investigador fundamentó en su trabajo de investigación que obtuvo dos cepas de *Beauveria bassiana*, para el control del coleóptero *Tenebrio molitor*, por lo cual fue evaluando los fenotipos hallando una cepa mutante y otra cepa silvestre siendo cultivadas en placas Petri a temperaturas y condiciones de cultivo adecuadas por lo tanto se llegó a la conclusión que ambas produjeron enzimas hidrolíticas degradadoras de la cutícula del coleóptero y además produciendo letargo en sus movimientos llegando a la mortalidad.

1.3.- MARCO TEÓRICO:

Hongos Entomopatógenos: Tal como su nombre indica (entom: insecto, pathos: enfermedad, gennan: engendrar) la cual significa enfermedad de los insectos causados por hongos, estos crecen de manera natural, en restos de cultivo, plantas, suelos fértiles, estiércol, en lugares con mucha humedad y con poco sol. Estos Hongos Entomopatógenos son eficientes en el control biológico, de insectos que causan plagas. Por lo tanto la mayoría de insectos causantes de producir plagas son sensibles a las enfermedades que causan estos hongos. Los Hongos Entomopatógenos según los investigadores; se conocen 100 géneros y 700 especies de las cuales son los más importantes: *Beauveria bassiana*, *Metharizium*, *Aschersonia*, *Akanthomyces*, entre otras especies. Estos Hongos poseen un amplio rango de hospederos esto es debido a su alto diversidad genética, infectan a insectos de diferentes órdenes: Hemíptera, Díptera, Coleoptera, Lepidóptera, Himenóptera y Ortóptera. **MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS, 2001.**

Beauveria Bassiana: Este es uno de los Hongos Entomopatógenos que ataca principalmente a artrópodos (insectos, arácnidos, crustáceos y miriápodos). Podemos encontrarlo en plantas, suelos con estiércol y en insectos infectados, causándoles hasta la muerte según indica la bibliografía que se ha encontrado atacando a muchas especies de insectos siendo estos de diferentes órdenes cuyas principales son coleópteros, hemípteros y ortópteros. Los insectos muertos infectados con *Beauveria bassiana* presentan una cubierta blanca algodonosa sobre el cuerpo, la cual se encuentra formada por el micelio y esporas del hongo. En nuestro País han optado por utilizar este hongo entomopatógeno para poder disminuir el uso de productos químicos. **ALIAGA Y CRUZ, 2009.**

Tabla 1. Taxonomía de *Beauveria bassiana*.

Fuente: Gaxiola, I. 2012

Taxonomía de *Beauveria bassiana*

CLASE	Sordadimycetes
ORDEN	Hypocreales
FAMILIA	Cordycipitaceae
GENERO	Cordyceps
ESPECIE	<i>Beauveria bassiana</i>

Características Morfológicas de *Beauveria bassiana*: Este Hongo Entomopatógeno a los quince días de ser sembrado en medio PDA (Agar Papa Dextrosa) y SABOROU se forma un micelio con características algodonosa de color blanco. Con el pasar del tiempo este va tomando un color amarillento, la enfermedad producida por *Beauveria bassiana* es llamada “muscardina blanca” por lo que los insectos al ser infectados alrededor de su cuerpo se torna con morfología algodonosa polvosa. El micelio se ramifica y forma conidióforos simples e irregulares que estos en sus vértices tienen forma de racimos. **AMES Y CAÑEDO, 2004.**

Plagas Susceptibles: *Beauveria bassiana*, es el hongo más utilizado para atacar plagas agrícolas de importancia económica a nivel internacional las cuales son: *Bemisia tabaci* (mosca blanca), *Anthonomus eugenni* (picudo del chile), *Anthonomus Grandis* (picudo del algodonero), *Epicaerus cognatus Sharp* (picudo de la papa), *Anastrepa ludens loew* (mosca mexicana de la fruta), *Phyllophaga sp.* (la gallina ciega), *Epilachna varivestis muls* (la conchuela del frijol), *Ostrinia nubilalis Hubner* (perforador europeo del maíz). **LABERLAM, 2007.**

Además se sabe que este ataca eficazmente contra *Hypothenemus Hampei* (la broca del café), siendo este el causante de los problemas fitosanitarios generando pérdidas del 80% en los cultivos cafeteros. **DELGADO 2000.**

Sin embargo existen fuentes de *Beauveria bassiana* atacando a más de doscientas especies de insectos, siendo estos de diferentes órdenes conteniendo las de las plagas

más importantes de las cuales se detallan a continuación: *Mythimna unipunctata* (gusano cortador), *Lymanthria dispar* (oruga de los pinos), *Estigmene acrea* (gusano peludo) , *Leptinotarsa decemlineata* Say (escarabajo de la papa), *Trichoplusia ni* Hubner (gusano de la col), *Thrips palmi* Karny (trips del melón), *Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero) (*Spodoptera frugiperda*), *Blissus leucopterus* (chinche de la raíz del arroz), *Turpilia opaca* (saltamontes verde), *Musca domestica linnaeus* (mosca común), *Mocis latipes* (gusano medidor del arroz), *Chrysodeixis includens* (gusano falso medidor) **LABERLAM, 2007.**

Sin embargo cabe señalar que *Beauveria bassiana* ha sido usada en contra de los insectos, que producen enfermedades a las personas las cuales son: Malaria, Dengue, filariosis, fiebre amarilla, enfermedad de Chagas, leishmaniosis. A continuación detallamos los géneros de los insectos con mayor impacto a la naturaleza, *Aedes Meigen*, *Triatoma Laporte*, *Anopheles Meigen*, *Rhodnius Stal* y *Culex Linnaeus*. **ARRUDA, 2005.**

Así como las plagas ecológicas como las cucarachas, mariquitas, hormigas y termitas, además algunas que causan daños a la salud pública como *Boophilus microplus* (garrapatas) **HOLDER, 2005.**

Ciclo de Vida: *Beauveria bassiana* al querer infectar a algún hospedero específico, pero este se encuentra ausente desarrolla el ciclo saprobio o vegetativo, determinándose por sus características particulares y por su permanencia en el ambiente, resistiendo condiciones hostiles como la falta de nutrientes, luz ultravioleta, altas temperaturas, y baja humedad relativa. Para poder pasar al ciclo patogénico, se produce por un sin número de transducciones que le permite al hongo diferenciar cual insecto es el correcto para que pueda iniciar con el proceso de infestación hasta generar su muerte, y nuevamente reiniciar con el proceso. **GILLESPIE Y CLAYDON, 1989.**

Según nos señala un investigador **POZADA, 2005.** Realizo ensayos en laboratorio con óptimas condiciones, donde la fase patogénica de *Beauveria bassiana* sobre el coleóptero *Hampei Ferrari* tuvo una duración de cuatro días y la saprobica de 6.2 días, mientras diferentes autores en la fase patogénica reportan de tres a catorce días en

campo, pero a la vez dependen del estado de salud del insecto, cepa, ubicación geográfica del hongo, temperatura y humedad. **MONZON, 2011.**

Modo de acción: El desarrollo de *Beauveria bassiana* se divide en diferentes etapas de las cuales a continuación las describimos. **(INTAGRI, 2016)**

Adhesión: Es el primer contacto entre *Beauveria bassiana* y el insecto, sucede cuando la espora (conidio) es depositada en la superficie del insecto. **(INTAGRI, 2016)**

Germinación: El conidio inicia el desarrollo de su tubo germinativo y un órgano sujetador (llamado apresorio), que le permite fijarse a la superficie del insecto. Para una germinación adecuada se requiere una humedad relativa del 92 % y temperatura de entre 23 a 25 °C. **(INTAGRI, 2016)**

Penetración: Después de la fijación mediante mecanismos físicos (acción de presión sobre la superficie de contacto) y químicos (acción de enzimas: proteasas, lipasas y quitinasas), el hongo ingresa en el insecto a través de las partes blandas. **(INTAGRI, 2016)**

Producción de toxinas. Dentro del insecto, el hongo ramifica sus estructuras y coloniza las cavidades de hospedante. Produce la toxina llamada Beauvericina que ayuda a romper el sistema inmunológico del patógeno, lo que facilita la invasión del hongo a todos los tejidos. Otras toxinas que secreta son beauvericin, beauverolides, bassianolide, isarolides, ácido oxálico y los pigmentos tenellina y bassianina que han mostrado cierta actividad insecticida. El propósito de las toxinas es evitar el ataque a las estructuras invasivas del hongo. **(INTAGRI, 2016)**

Muerte del insecto. En esta etapa se da la muerte del patógeno y marca fin de la fase parasítica, dando así inicio a la fase saprofitica. Multiplicación y crecimiento. Después de la muerte del insecto, el hongo multiplica sus unidades infectivas (hifas) y estas de manera simultánea crecen, terminando por invadir todos los tejidos del insecto y haciéndose resistente a la descomposición, aparentemente por los antibióticos segregados por el hongo. Después de la completa invasión, el desarrollo posterior del

hongo sobre el insecto depende de la humedad relativa, y en caso de no contar con las condiciones idóneas el insecto permanece con apariencia de momia. **(INTAGRI, 2016)**

Penetración del interior hacia el exterior: Esta penetración se da solo si las condiciones del ambiente y las características del insecto lo permiten, si *Beauveria bassiana* logra infectar este penetra las partes blandas del insecto y va hasta el exterior. **(INTAGRI 2016)**

Producción de nuevas unidades reproductivas: Cuando se cuenta con un ambiente adecuado se inicia la reproducción de nuevos conidios reproductivos. **(INTAGRI 2016).**

Aislamiento: Es la separación de un determinado microorganismo de los demás que lo acompañan; debiendo estar libre de contaminantes ,utilizando técnicas microbiológicas de laboratorio como la cámara húmeda para transferir de una muestra a otra teniendo como finalidad su crecimiento para la respectiva identificación. **(DAMAS, 2012)**

Identificación: Es el reconocimiento de las estructuras del hongo que mayormente, las tiene muy ramificadas y estas a la vez forman un talo vegetativo **(GARCIA, 2011).**

Biocontrolador de plagas: Su acción consiste en controlar las enfermedades que causan las plagas en los cultivos, estos se tratan de los organismos vivos o microorganismos aquellos que no causan ningún daño al ambiente no son contaminantes, es por eso que hoy en día los investigadores optan por utilizar biocontroladores, que estos reemplazan a los productos químicos, disminuyendo el impacto negativo al ambiente. Para la población la principal e importante actividad económica es la agricultura, es por ello que se debe mantener buena producción y alta calidad de los productos reduciendo la dependencia al uso de insecticidas químicos. **(MONZON 2001).**

1.4.- FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

¿Cómo realizar el aislamiento e identificación de *Beauveria bassiana* y para ser utilizado como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio?

1.5.-JUSTIFICACIÓN

La presente investigación se realizó para determinar el aislamiento e identificación de *Beauveria bassiana*; con la finalidad de obtener un biocontrolador de plagas a partir del hongo entomopatógeno, comprobando a nivel de laboratorio, siendo este capaz de infectar a insectos que causan plagas en los cultivos agrícolas es por ello que se realizó una serie de pasos para poder obtener un controlador biológico, iniciando con el aislamiento de insectos infectados con presencia algodonosa, seguido por una identificación de *Beauveria bassiana*, se consideró sus características morfológicas macro y microscópicas las cuales ayudaron a identificar al entomopatógeno.

Se identifica con este proyecto porque se trata de reducir el uso constante y exagerado de productos químicos, utilizando para ello organismos biológicos que van a ayudar a reducir la población de plagas y patógenos que afectan a los cultivos sin dañar el suelo y las plantas. Es por ello la utilización de estos entomopatógenos se convierte en una alternativa para mantener el equilibrio ecológico y la protección del ambiente, jugando un papel importante dentro de la estrategia del control integrado de plagas.

Los hongos entomopatógenos son microorganismos capaces de infectar a insectos mediante el tegumento, así como *Beauveria bassiana* antes de envenenar al insecto causa una serie de síntomas infecciosos los cuales son: pérdida de sensibilización, falta de coordinación, letargo, inapetencia.

Esta investigación se debe realizar porque; es una imagen viable ya que se cuenta con fuentes informativas y averiguaciones previas en el tema del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* que sirven de mucha ayuda, además se cuenta con la infraestructura adecuada para poder realizar los análisis microbiológicos con profesionales expertos en la materia, anhelándose el aislamiento, identificación y aplicación como biocontrolador biológico de *Beauveria bassiana*.

1.6.- HIPÓTESIS

Si se aísla e identifica a *Beauveria bassiana* entonces podrá ser utilizado como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio.

1.7. OBJETIVOS

1.7.1. Objetivo General

Aislar e identificar *Beauveria bassiana* para utilizarlo como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio

1.7.2. Objetivos Específicos

- Recolectar insectos de orden coleópteros, hemípteros y ortópteros.
- Aislar *Beauveria bassiana* en los insectos infectados.
- Identificar *Beauveria bassiana* según sus características micro y macroscópicas, a partir de muestras extraídas del insecto infectado recolectado en campo.
- Aplicar *Beauveria bassiana* como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio.
- Determinar el porcentaje de mortalidad de insectos debido a la aplicación de *Beauveria bassiana*.

II.- MÉTODO

2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El diseño de investigación del presente trabajo es no experimental de tipo transaccional, descriptivo; ya que no se manipulo una de las variables. Se describió las características, parámetros tal cual se presentaron en un tiempo real.

2.2. VARIABLES Y OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

2.2.1 VARIABLES:

Las variables fueron las siguientes:

V1 = Biocontrolador de plagas

V2 = Aislamiento e identificación de *Beauveria bassiana*.

2.2.2. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADORES	Clasificación de la variable	ESCALA DE MEDICIÓN
BIOCONTROLADOR DE PLAGAS V. DEPENDIENTE	Es la acción que consiste en controlar plagas, enfermedades y malezas utilizando organismos vivos que no causan daño al ambiente.	Es una acción inhibitoria que se puede medir por el porcentaje y frecuencia a través de insectos muertos.	Porcentaje de mortalidad en plagas.	Cuantitativa discreta	De Razón
AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE <i>Beauveria bassiana</i>. V. INDEPENDIENTE	En la naturaleza, los hongos entomopatógenos pueden ser aislados de distintas fuentes. El suelo es uno de los sitios más comúnmente utilizado para el aislamiento de hongos.	El aislamiento e identificación de <i>Beauveria bassiana</i> se realizara utilizando la cámara húmeda.	Características morfológicas de las colonias en medios de cultivo.	Cualitativa nominal	Nominal

2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

2.3.1 POBLACIÓN

La población, se consideró a los insectos recolectados de diferentes órdenes como coleópteros, hemípteros, lepidóptera y ortópteros, que los obtuve en los campos de cultivo del distrito de Chongoyape de los cuales en total fueron 50 insectos.

2.3.2 MUESTRA

La muestra es la pequeña porción de insectos representativa seleccionada de la población. El tamaño fue de 20 insectos.

Muestro no probabilístico es la técnica por conveniencia, que obedecen criterios propios del investigador.

2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

2.4.1. Recolección y traslado de muestras

Se realizaron colectas de insectos en diferentes campos de cultivo del distrito de Chongoyape y el insecto infectado se recolecto de la Huerta de la Fam. Montalvo a orillas del Badén Juana Ríos se recogió los insectos con características de infestación por algún entomopatógeno, se realizó cuidadosamente se capturaron los insectos de orden coleóptera, lepidóptera, hemíptera y ortóptera.

2.4.2. Obtención de información

La información que se recolecto en la ejecución del presente proyecto de tesis fue registrada en documentos de Excel contando con sus características y actividades que se presentaron en la aplicación del presente trabajo de investigación.

2.4.3. Instrumento para recolectar datos

El principal instrumento que se utilizó para procesar la información recolectada fue el microscopio compuesto, para observar la morfología de *Beauveria bassiana*, además se contó con material de laboratorio como medios de cultivo para observar el crecimiento en placa del hongo entomopatógeno.

2.4.4. Instrumentos de campo y laboratorio

El presente proyecto utilizó los siguientes instrumentos en campo y en laboratorio.

Bolsas zíper: Para realizar las colectas de los insectos.

Guantes: Para realizar el aislamiento del insecto infectado.

Lupa: Para reconocer e identificar al insecto.

Placas Petri: Para realizar el crecimiento del Hongo en estudio.

Matraz: Para preparar el Agar Saboround.

Agar PDA: Este sirve como medio de cultivo especialmente para hongos.

Agar Saboround: Este sirve como medio de cultivo especialmente para hongos.

Mechero de alcohol: Para poder esterilizar la tapa de la placa Petri.

Asa Bacteriológica: Para poder realizar la siembra.

Papel filtro: Para insertar en la caja Petri junto al insecto.

Microscopio: Para observar la morfología de *Beauveria bassiana*.

Tubos de ensayo: Para realizar el crecimiento de *Beauveria bassiana*.

2.5 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

Los datos obtenidos representados en tablas y figuras serán procesados en el programa Excel, calculando porcentajes de frecuencia. Se utilizarán los programas de Microsoft Office Word y Excel versión 2013.

2.6 ASPECTOS ÉTICOS

La presente investigación cuenta con fuentes verídicas y confiables de investigadores y universidades reconocidas a nivel internacional, además se contó con el asesoramiento de profesionales altamente capacitados, siendo todos mis resultados verdaderos, el cual le da un valor agregado a mi trabajo de investigación.

III. RESULTADOS.

3.1 AISLAR E IDENTIFICAR *BEAUVERIA BASSIANA*

Para aislar *Beauveria bassiana* tuve que realizar colectas de insectos infectados de campos de cultivo del distrito de Chongoyape específicamente de la Huerta de la Fam. Montalvo, de los cuales recolecté de diferentes órdenes como coleóptera, lepidóptera, hemíptera y ortóptera; porque así lo muestra la literatura llevándolos al laboratorio de microbiología de la universidad Pedro Ruiz Gallo, uno de los insectos de clase coleóptera el cual fue *Stenodontes* Sp. Presento las características físicas de *Beauveria bassiana* el insecto se encontraba envuelto con apariencia algodonosa blanca amarillenta las cuales a simple vista son características del hongo entomopatógeno, para realizar el reconocimiento utilice la tinción con azul de lactofenol que este se emplea para el reconocimiento de hongos luego el porta objeto fue llevado al microscopio observándose a 100X y efectivamente presentaba en su morfología los raquis en forma de racimos de uva que fueron comparados con bibliografía, al ser observado por mi persona se procedió a realizar el aislamiento de *Beauveria bassiana*, este fue aislado muy cuidadosamente tomando en cuenta el lugar en el cual realizaba los análisis estuvo libre de contaminantes.

Se prosiguió a tener un aislamiento de los cuales se cultivaron en las cajas Petri llegando a obtener cultivos puros, luego se prosiguió a identificar según sus características micro y macroscópicas comparando con investigaciones previas de fuentes confiables, confirmando su morfología luego se prosiguió con la infestación de insectos causantes de plagas.

3.2 UTILIZACIÓN COMO BIOCONTROLADOR DE PLAGAS A NIVEL DE LABORATORIO

Tamaño de muestra.

Se tomaron 20 insectos en distintos periodos del ensayo contando con la cepa aislada del coleóptero *Stenodontes Sp.*

Tabla 2. Taxonomía de *Spodoptera frugiperda*

Orden	<i>Lepidóptera</i>
Familia	<i>Noctuidae</i>
Género	<i>Spodoptera</i>
Especie	<i>Frugiperda</i>
Nombre común	<i>Cogollero del maíz</i>

Fuente: Intagri, 2016.

Tabla 3. Características del efecto de *Beauveria bassiana* hacia *Spodoptera frugiperda*

Temperatura	25 °C
Días de infestación	Diez días.
Total de infectados	Cinco
A prueba	Cinco

Figura 1. Evaluación del efecto de Beauveria bassiana frente a Spodoptera frugiperda

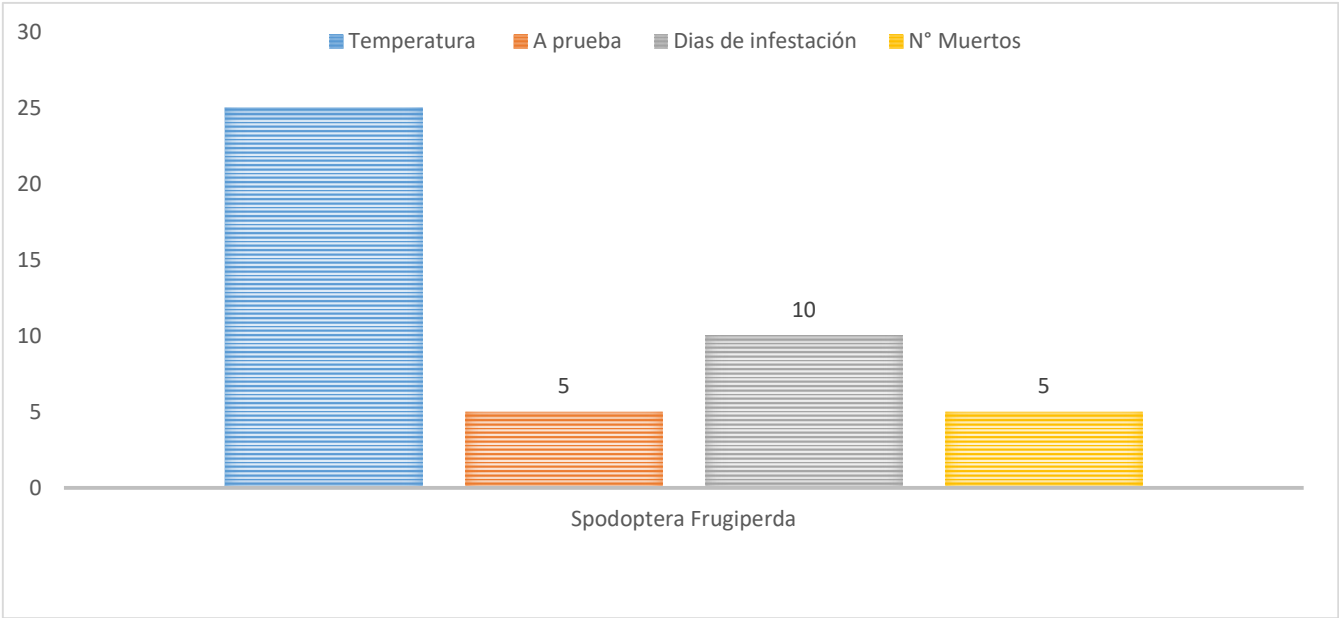
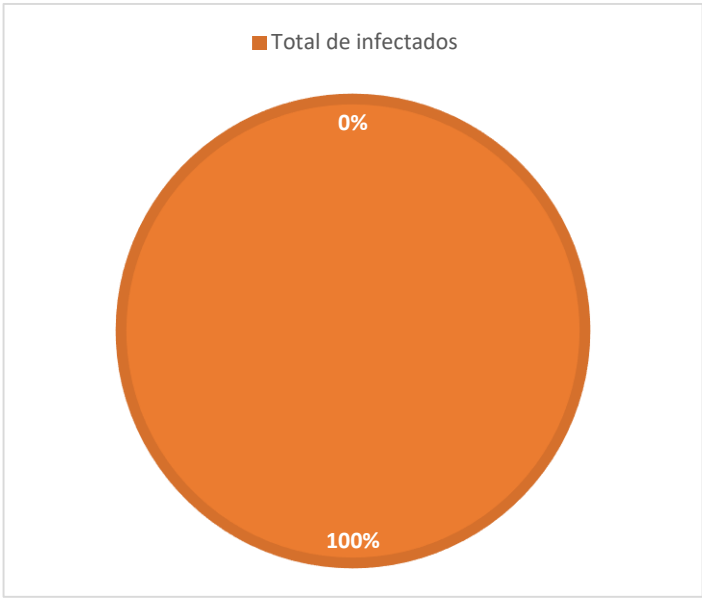


Figura 2. Porcentaje de mortalidad de Spodoptera frugiperda



INTERPRETACIÓN 1: Se eligió cinco insectos de *Spodoptera frugiperda* este pertenece a la orden lepidóptera; de los cuales *Beauveria bassiana* infecto de manera eficiente y positiva al 100% en un total de diez días a una temperatura de 25 °C, los lepidópteros mostraron en su exterior una capa blanca algodonosa, reconociendo sus características microscópicas siendo este confirmado que se infesto por el hongo entomopatógeno.

Tabla 4. Taxonomía de *Acheta domesticus*

Orden	Ortóptera
Familia	Gryllidae
Género	Acheta
Especie	<i>Acheta domesticus</i>
Nombre común	Grillo

Fuente: Intagri, 2016.

Tabla 5. Características del efecto de *Beauveria bassiana* hacia *Acheta domesticus*.

Temperatura	25 °C
Días de infestación	Ocho días.
Total de infectados	Dos
A prueba	Dos

Figura 3. Evaluación del efecto de *Beauveria bassiana* frente a *Acheta domesticus*.

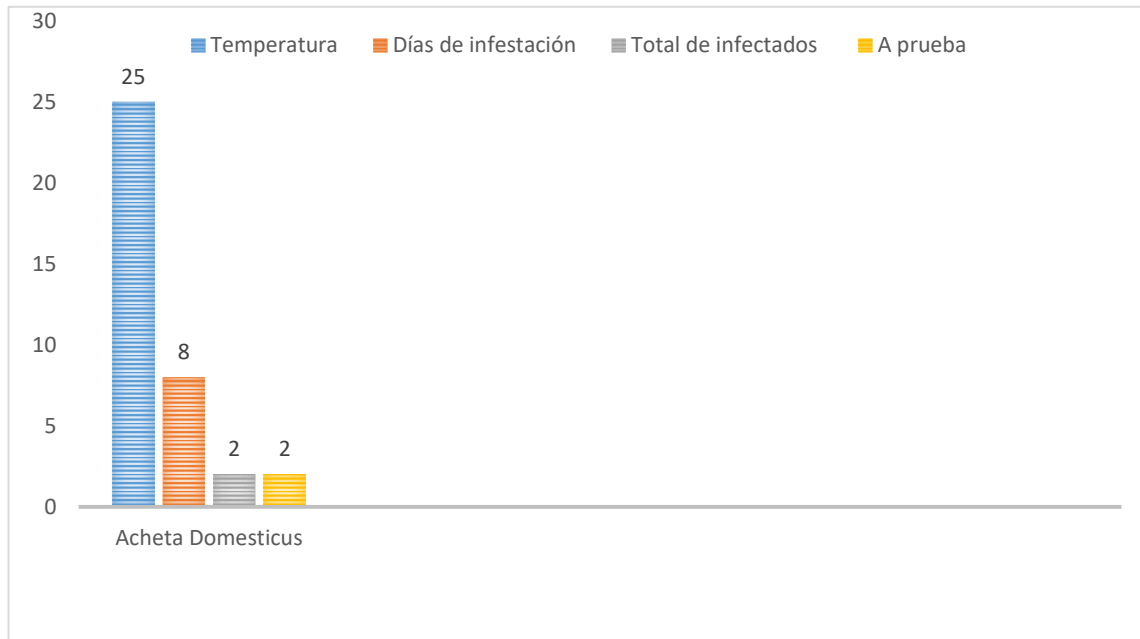
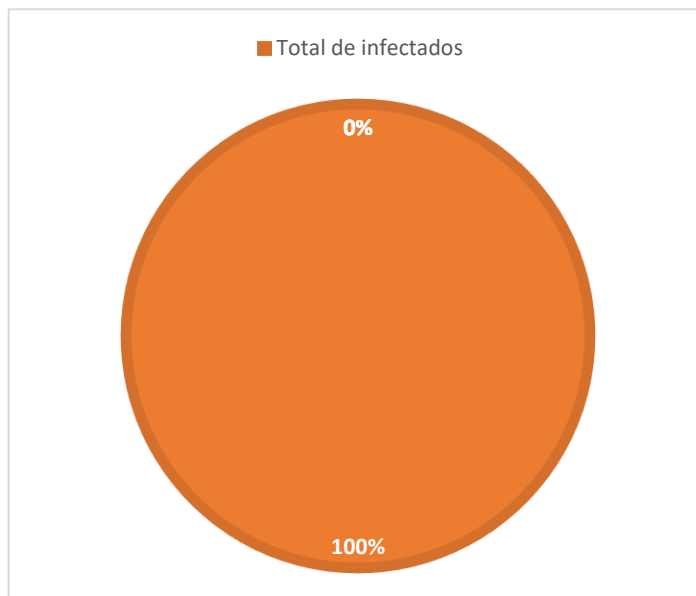


Figura 4. Porcentaje de mortalidad de *Acheta domesticus*



INTERPRETACION 2: Se colectaron dos insectos *Acheta domesticus* estos pertenecen a la orden ortóptera de los cuales *Beauveria bassiana* infecto de manera eficiente y positiva al 100% en un total de ocho días a una temperatura de 25 °C, los Ortópteros mostraron en su exterior una capa blanca algodonosa, reconociendo sus características microscópicas siendo este confirmado que se infesto por el hongo entomopatógeno.

Tabla 6. Taxonomía de *Dibolocelus palpalis*

Orden	Coleoptera
Familia	Hydrophilidae
Género	Hydrophilus
Especie	Hydrophilus palpalis
Nombre común	Escarabajo

Fuente: Intagri, 2016.

Tabla 7. Características del efecto de *Beauveria bassiana* hacia *Dibolocelus palpalis*.

Temperatura	25 °C
Días de infestación	Catorce días.
Total de infectados	Tres
A prueba	Tres

Figura 5. Evaluación del efecto de *Beauveria bassiana* frente a *Dibolocelus palpalis*

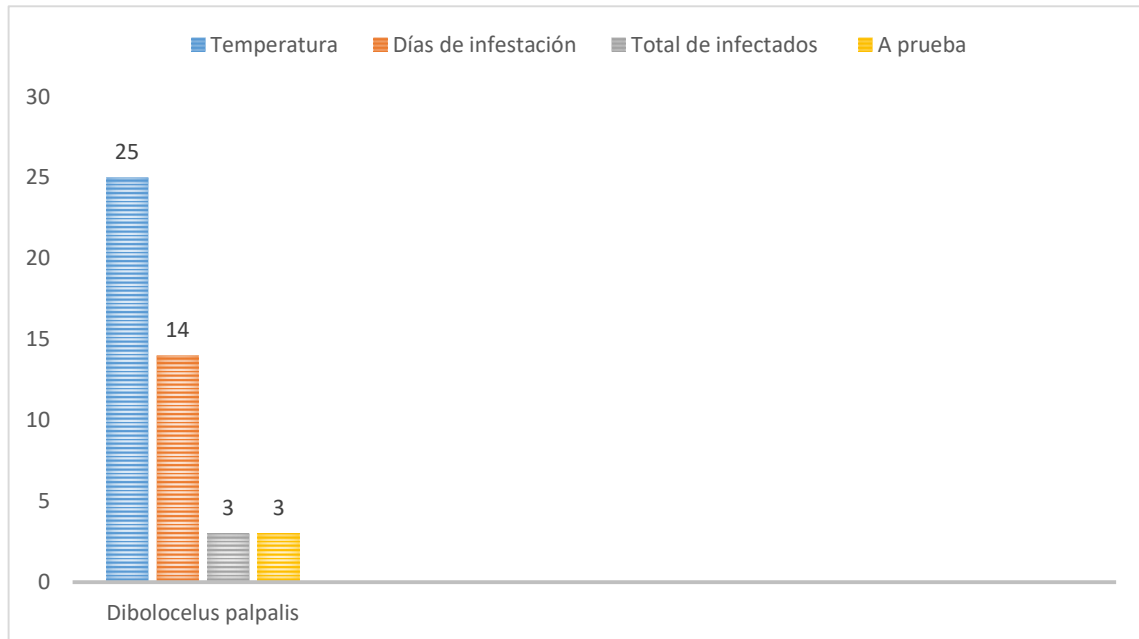
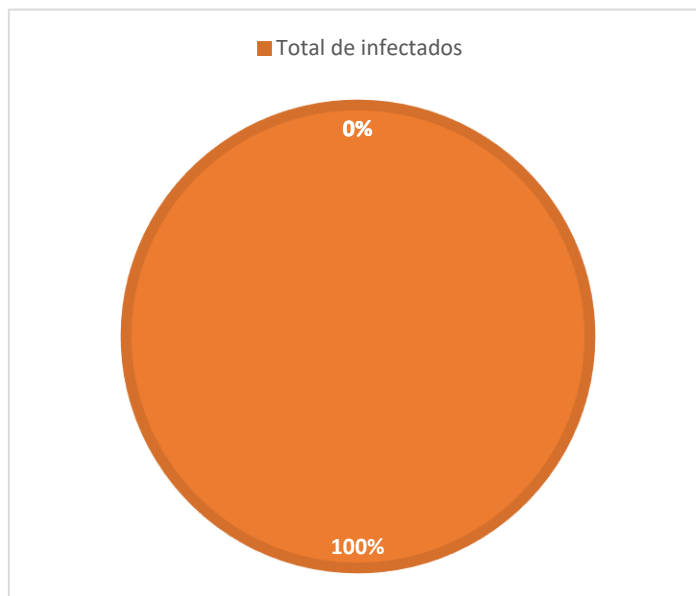


Figura 6. Porcentaje de mortalidad de *Dibolocelus palpalis*



INTERPRETACION 3: Se colectaron tres insectos *Dibolocelus palpalis*, estos pertenecen a la orden coleóptero, de los cuales *Beauveria bassiana* infecto de manera eficiente y positiva al 100% en un total de catorce días a una temperatura de 25 °C, los coleóptera mostraron en su exterior una capa blanca algodonosa, reconociendo sus características microscópicas siendo este confirmado que se infesto por el hongo entomopatógeno.

Tabla 8. Taxonomía de *Dysdercus peruvianus*

Orden	Hemíptera
Familia	Pyrrhocoridae
Género	Dysdercus
Nombre común	Culi culi

Fuente: Intagri, 2016

Tabla 9. Características del efecto de *Beauveria bassiana* hacia *Dysdercus peruvianus*.

Temperatura	25 °C
Días de infestación	Seis días.
Total de infectados	Tres
A prueba	Tres

Figura 7. Evaluación del efecto de *Beauveria bassiana* frente a *Dysdercus peruvianus*.

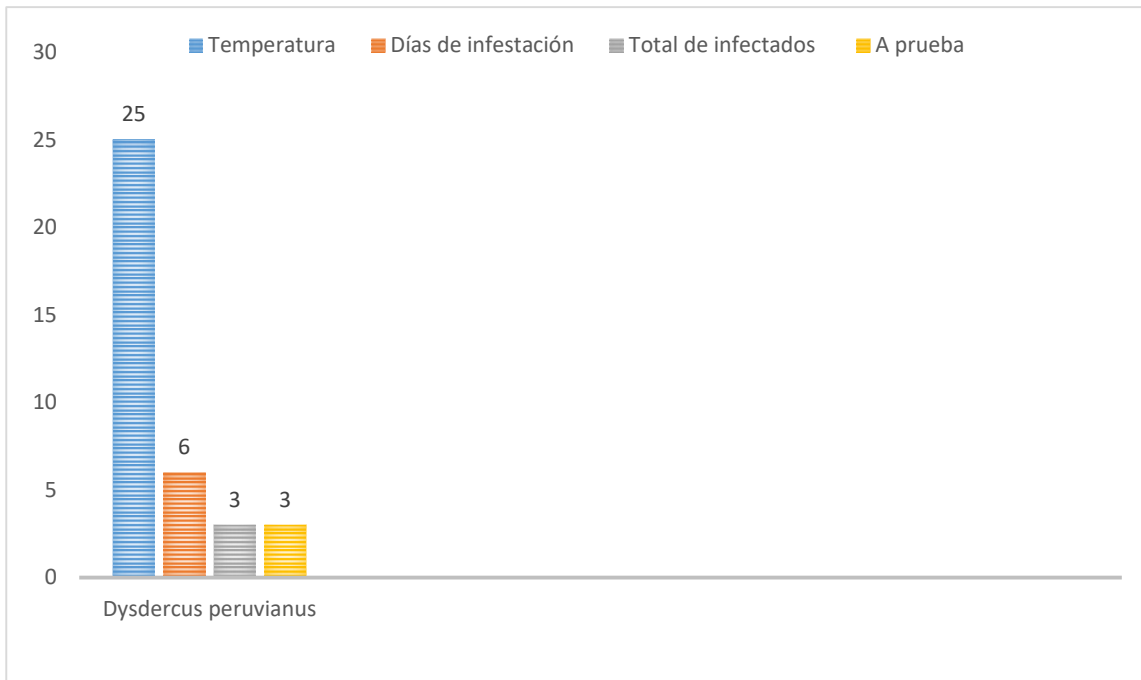
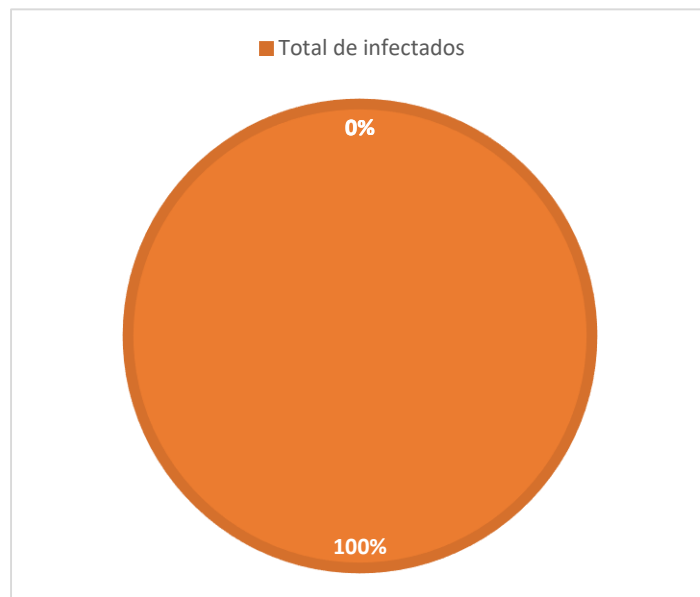


Figura 8. Porcentaje de mortalidad de *Dysdercus peruvianus*



INTERPRETACION 4: Se colectaron tres insectos *Dysdercus peruvianus* este pertenece a la orden hemíptera de los cuales *Beauveria bassiana* infecto de manera eficiente y positiva al 100% en un total de seis días a una temperatura de 25 °C, los hemíptera mostraron en su exterior una capa blanca algodonosa, reconociendo sus características microscópicas siendo este confirmado que se infesto por el hongo entomopatógeno.

Tabla 10. Taxonomía de *Epilachna leopardina*

Orden	Coleóptera
Familia	Meloidae
Nombre común	Uriburu

Fuente: Intagri, 2016.

Tabla 11. Características del efecto de *Beauveria bassiana* hacia *epilachna leopardina*

Temperatura	25 °C
Días de infestación	Doce días.
Total de infectados	Tres
A prueba	Tres

Figura 9. Evaluación del efecto de *beauveria bassiana* frente a *epilachna leopardina*

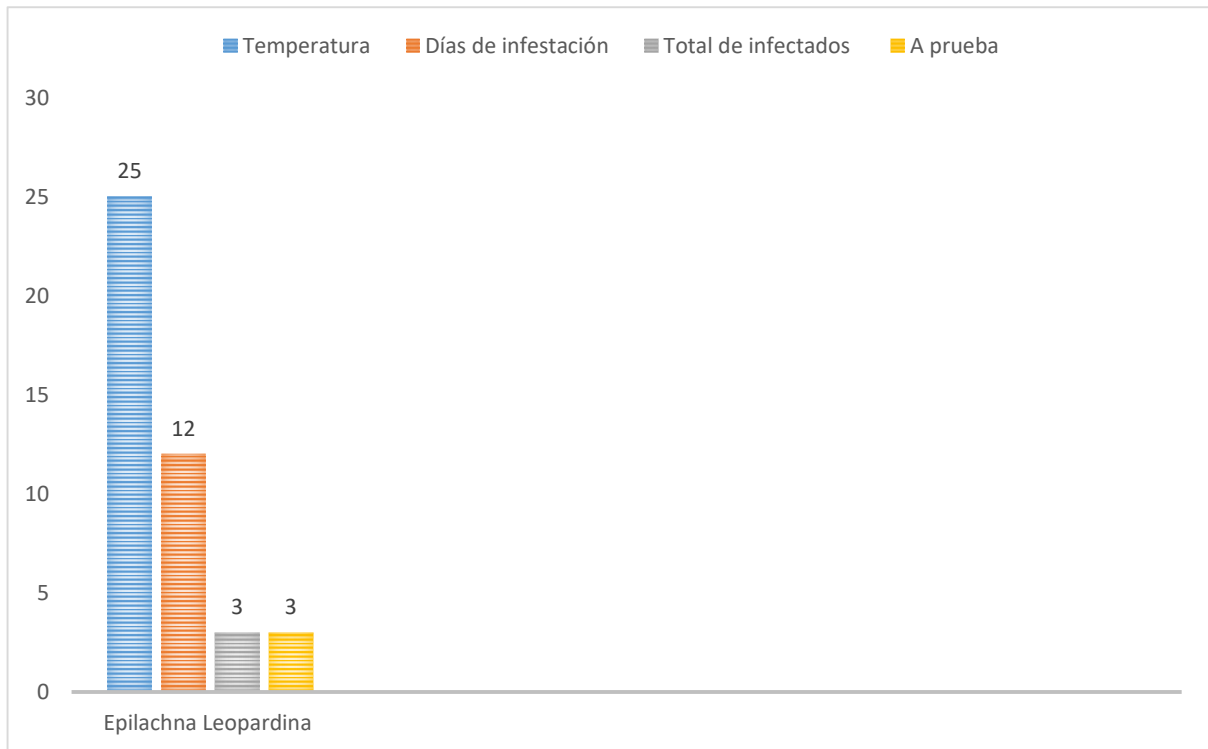
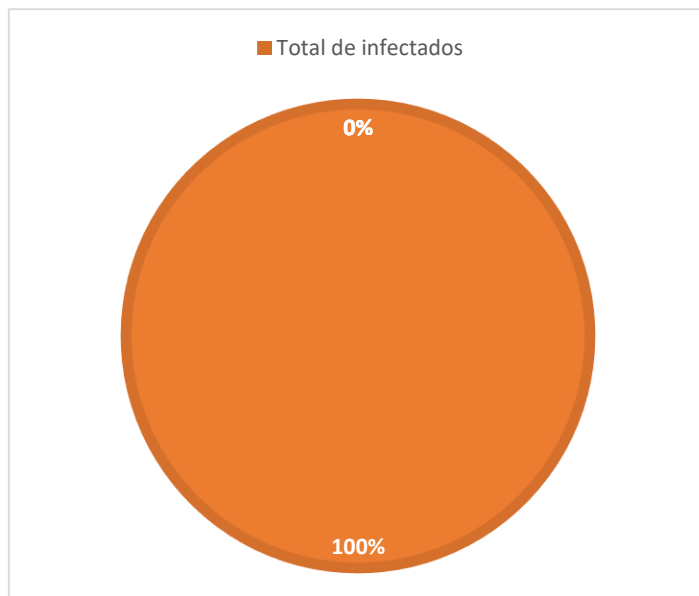


Figura 10. Porcentaje de mortalidad de *Epilachna leopardina*



INTERPRETACION 5: Se colectaron tres insectos *Epilachna leopardina*, estos pertenecen a la orden coleóptero, de los cuales *Beauveria bassiana* infecto de manera eficiente y positiva al 100% en un total de doce días a una temperatura de 25 °C, los coleóptera mostraron en su exterior una capa blanca algodonosa, reconociendo sus características microscópicas siendo este confirmado que se infesto por el hongo entomopatógeno.

Tabla 12. Taxonomía de *Coccinella*

Orden	Coleóptera
Familia	Coccinellidae
Nombre común	Mariquita

Fuente: Intagri, 2016.

Tabla 13. Características del efecto de *Beauveria bassiana* hacia *Coccinella*

Temperatura	25 °C
Días de infestación	Seis días.
Total de infectados	Cuatro
A prueba	Cuatro

Figura 11. Evaluación del efecto de *Beauveria bassiana* frente a *Coccinella*.

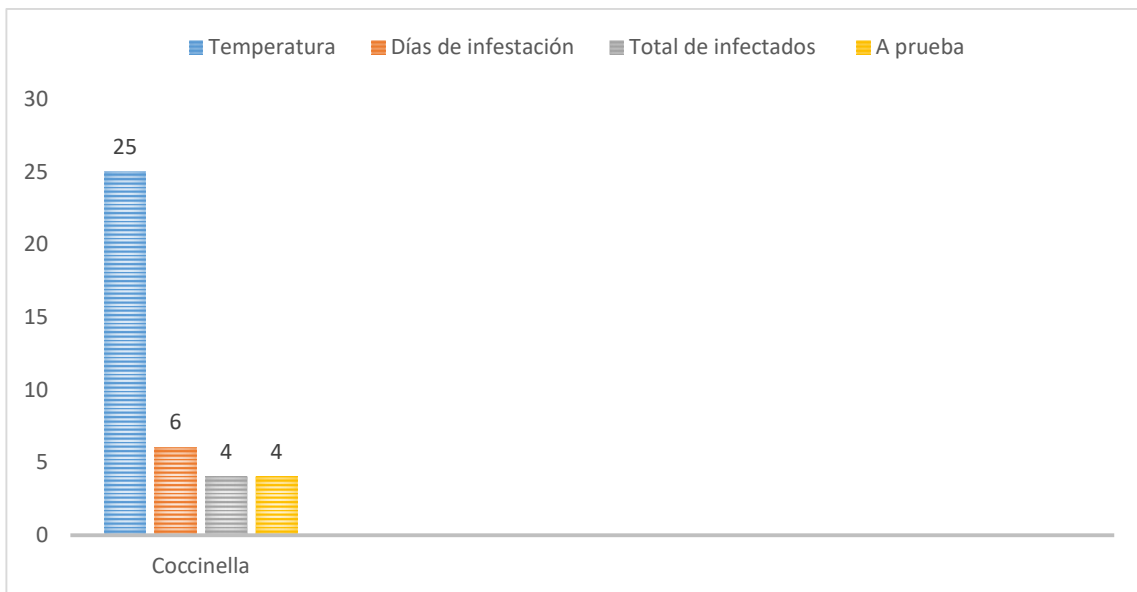
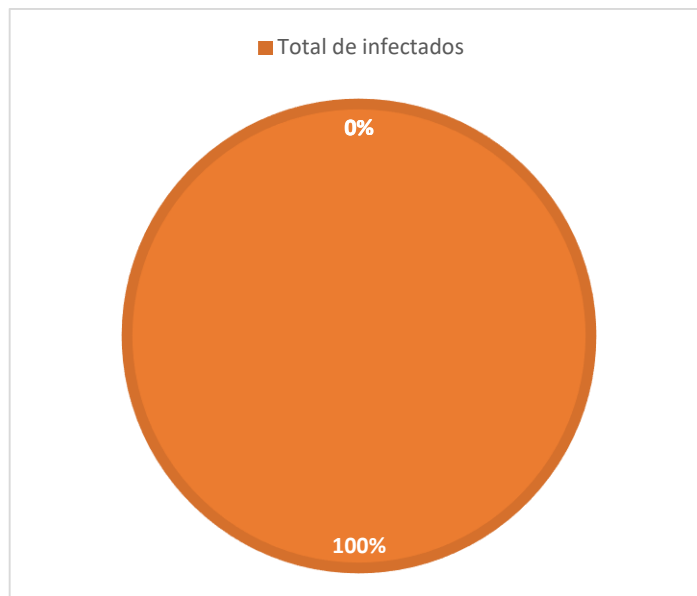


Figura 12. Porcentaje de mortalidad de *Coccinella*



INTERPRETACION 6: Se colectaron cuatro insectos de *Epilachna leopardina* estos pertenecen a la orden coleóptero de los cuales *Beauveria bassiana* infecto de manera eficiente y positiva al 100% en un total de seis días a una temperatura de 25 °C, los coleóptera mostraron en su exterior una capa blanca algodonosa, reconociendo sus características microscópicas siendo este confirmado que se infesto por el hongo entomopatógeno.

IV. DISCUSIÓN.

GARCÍA, Manuel. Aislamiento y caracterización morfológica de los hongos entomopatógenos *Beauveria Bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. *SALUD PÚBLICA*, (2): pp. 21, 2011. En el presente trabajo permitió aislar y caracterizar los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, a partir de insectos infectados, realizando cuatro colectas de insectos adultos del orden hemíptera y coleóptera cubiertos por hongos, en el poblado de Líbano, estado de Tabasco - México, obteniéndose un total de cuatro cepas de *Beauveria bassiana*.

Para el trabajo de investigación realizado podemos mencionar que dentro de la metodología de colecta se pudo obtener un insecto infectado del genero *Stenodontes Sp* que presentaba signos de estar infectado con *Beauveria bassiana* siendo encontrado en el distrito de Chongoyape, provincia de Chiclayo, encontrándose más insectos infectados, los mismos que fueron colocados en envases estériles y llevados al laboratorio para su identificación para luego ser replicados en diferentes medios de cultivo obteniéndose cepas puras de *Beauveria bassiana*.

En las investigaciones de GAXIOLA, Luis. Evaluación de aislamientos nativos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control del gusano del fruto *Heliothis virescens*. Se evaluaron en laboratorio 10 aislamientos nativos de hongos entomopatógenos, tres de *M. anisopliae* y siete de *B. bassiana* sobre larvas de segundo y tercer estadio de gusano del fruto (*Heliothis virescens*) provenientes de una cría anémica, los dos aislamientos más patogénicos fueron *B. bassiana* con clave B1 Y B2, por presentar mortalidad de larvas superior a 90 %. Haciendo una comparación con lo realizado se concluye que se obtuvo aislamiento nativo de *Beauveria bassiana* comprobándolo su patogenicidad en laboratorio con insectos de diferentes órdenes de los cuales son coleópteros, hemípteros, entre otros.

V. CONCLUSIONES

- Se logró aislar *Beauveria bassiana* a partir de insectos infectados como es el del coleóptero *Stenodontes Sp.*; siendo este colectado en los campos de cultivo de la Familia Montalvo en el distrito de Chongoyape; se obtuvo cepas puras sembradas en placa y en tubos de ensayo del hongo entomopatógeno.
- Se realizó la Identificación microscópica siendo observado el hongo a través del microscopio electrónico a 100X quien presentó en su morfología raquis y conidias hialinas y además *Beauveria bassiana* fue sembrada en placa Petri y tubos de ensayo observándose como se expandía de forma algodonosa polvosa a esto se le llama identificación macroscópica.
- Se Aplicó *Beauveria bassiana* como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio comprobando su patogenicidad en insectos de diferentes órdenes como lepidóptero, ortóptero, coleópteros, hemípteros actuó al 100% atacando a todos los insectos estos fueron infectados envolviendo al interior y exterior del cuerpo en forma algodonosa.
- Conclusión final es que *Beauveria bassiana* fue utilizado como biocontrolador de plagas en laboratorio; se realizó el aislamiento de un coleóptero infectado en el distrito de Chongoyape, seguidamente de la identificación de sus características morfológicas siendo observadas en el microscopio compuesto.

VI .RECOMENDACIONES

- Seguir realizando estudios sobre *Beauveria bassiana*, ya que es una alternativa amigable con el ambiente disminuyendo el impacto negativo que causa el uso y aplicación de productos agroquímicos en el control de las plagas agrícolas.
- Establecer procedimientos de siembra masiva de *Beauveria bassiana* para atender las necesidades de los agricultores, en el manejo integrado de plagas agrícolas.
- Se debe masificar el uso de *Beauveria bassiana* en campo y además establecer la dosificación óptima para poder controlar las plagas agrícolas.
- Crear conciencia ambientalista en los agricultores para el uso y manejo de controladores biológicos, con la finalidad de disminuir los efectos contaminantes de los productos agroquímicos.

VII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

BOUCIAS, D.; Pendland, J. 1991. Microorganismos patogénicos de insectos: caracterización y modos de acción. Seminario sobre patología de insectos. Medellín, Colombia. 58p.

CARBALLO, Manuel. Evaluación de *Beauveria bassiana* para el control del picudo del chile en laboratorio. Trabajo de titulación. (Master en biotecnología). Chile. 2001 161p.

DAMAS, Gabriela. Aislamiento y efectividad de *beauveria bassiana* para el control biológico de la cucaracha urbana *periplaneta americana* L. Trabajo de titulación (Doctor en Ciencias). México: Facultad de Ciencias biológicas, 2012. 141p.

ESPIÑOZA, A.; Cuba; I. Resultados del uso de *Bacillus thuringiensis* y *Beauveria bassiana* para control de plagas en la empresa de cultivos variados Taguasco, Sancti Spiritus. Mem. IV. Encuentro Nacional Científico – Técnico de Bioplaguicidas, INISAV, La Habana, 15-16 octubre 1996: 101.

FARGUES, J. and Remaudiere, G. 1979. Considerations on the specificity of entomopathogenic fungi. *Mycopathology*. 62:31- 37 pp.

GARCÍA, Manuel. Aislamiento y caracterización morfológica de los hongos entomopatógenos *Beauveria Bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. *SALUD PÚBLICA*, (2): pp. 25-28, 2011.

HAJEK, A. And R. J. St Leger. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect host. *Annual Review Entomology*. 39: 293-322 pp.

HERNÁNDEZ, D.F y Linares B. 2002. Introducción de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionide) para controlar *Spodoptera Frugiperda* (Lepidóptera Noctuidae) en Yaritagua, Venezuela. *Agronomía tropical* 39: 45-61 pp.

INTAGRI, J. Determinación de la efectividad de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. megacephala* en el control de *Cosmopolites sordidus* en banano. Informe final, 2016, Resultado 518.04.08. INISAV: 24.

LEZAMA. G. R., Díaz .H.S.A. Patogenicidad de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Phaeoelomyces fumosoreseus* (Hyphomycetes) en adultos de *Tetranychus urticae* (Acari- tetranychidae) Congreso Mexicano de Entomología 2007. Pp. 540-545.

LÓPEZ, M.L. 2010. Cría masiva del gusano cogollero del maíz *Spodoptera Frugiperda* en laboratorio Tesis de licenciatura. Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte. pp 62.

MONZÓN Arnulfo. Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No Sintéticos [en línea]. Costa rica : 2001 – [Fecha de consulta: 22 abril 2016].

Native strains of *Beauveria bassiana* for the control of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato [en línea]. Italia: 2015 – [Fecha de consulta: 03 mayo 2016]

NUSSENBAUM, Ana Laura. Aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* virulentos para el control del picudo del algodón, *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae). Trabajo de titulación (Doctor en ciencias biológicas). Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires, 2013. 184p.

RODRÍGUEZ, D. A. Estudios iniciales sobre *Metarhizium anisopliae* (Mitch) Sorokin y pruebas de sensibilidad de *Ancognata* sp. en: Congreso Sociedad Colombiana De Entomología (9: 1984: Cali) Resúmenes IX Congreso Nacional Sociedad Colombiana de Entomología. Cali, Colombia. Socolen. 1984.31p.

RODRÍGUEZ, Divanery. Caracterización fisiológica de una cepa silvestre de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Y su mutante resistente a 2-desoxiglucosa. Trabajo de titulación (Doctor en biotecnología). México: Universidad Autónoma Metropolitana, 2011. 126p.

ROSAS, A. 1999 XXIX Congreso nacional de entomología y asamblea anual de la Southwestern Branco. E. S. A. Oaxaca, México. 163p.

STEINHAUS, E. A. 1986. Actividad biocontroladora de hongos entomopatógenos contra *Premnotrypes vorax* (Coleoptera: curculionidae) mediante su utilidad industrial y combinada. Revista Colombiana de Entomología. 25(3-4): 121-129 pp.

ANEXOS

Matriz de operacionalización

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	OPERACIONALIZACION			
			VARIABLES	INDICADORES	MEDIDAS	MÉTODO
<p>¿Se realizará el aislamiento e identificación de <i>Beauveria bassiana</i> y podrá ser utilizado como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio?</p>	<p>Objetivo General</p> <p>Realizar el aislamiento e identificación de <i>Beauveria bassiana</i> y utilizarlo como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio</p>	<p>Si se realizará el aislamiento e identificación de <i>Beauveria bassiana</i> y podrá ser utilizado como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio.</p>	<p>V. dependiente</p> <p>Biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio.</p>	<p>Determinar la eficiencia como biocontrolador.</p>	<p>Aumento de la mortalidad del insecto.</p>	<p>Se utilizara cámara húmeda</p>
	<p>Objetivos específicos</p> <p>Aislar <i>Beauveria bassiana</i> a partir de insectos infectados. Identificación microscópica de <i>Beauveria bassiana</i>, a partir de muestras extraídas de insectos infectados. Aplicar <i>Beauveria bassiana</i> como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio.</p>		<p>V. independiente</p> <p>Aislamiento e identificación de <i>Beauveria bassiana</i></p>	<p>Según sus características micro y macroscópicas</p>	<p>Crecimiento de la colonia en placa con medio de cultivo PDA y Saboround</p>	<p>Se llevara a cabo según y siembras en caldo puro.</p>

VALIDACION DE DATOS MICROBIOLÓGICOS

El que suscribe, PAREDES ROALCABA MARICARMEN ALISSA por medio de la presente hago constar que los análisis microbiológicos, fueron realizados en el laboratorio de la Universidad Pedro Ruiz Gallo para la investigación "Aislamiento e identificación de *Beauveria bassiana* y su utilidad como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio", el cual retiene los requisitos suficientes y necesarios para ser considerado valido y confiable, por lo tanto apto para ser aplicado en el logro de la investigación.

- **RESULTADOS:** Se logró aislar *Beauveria bassiana* de un insecto infectado *Stonodontes sp.* El cual fue hallado en los campos de cultivo de Chongoyape obteniéndose cultivos puros; prosiguiendo a ser identificado según sus características micro y macroscópicas siendo comparado con bibliografía confiable, además este hongo fue utilizado como biocontrolador de plagas a nivel de laboratorio siendo puesto a prueba en 20 insectos de órdenes , lepidóptera, ortópteros, coleópteros y hemípteros, obteniéndose que los veinte insectos fueron atacados por *Beauveria bassiana* porque presentaron, características propias de infestación de este hongo siendo la principal el envolvimiento del cuerpo del insecto de material algodonoso polvoso de color blanco que va tornándose amarillento.



Msc. JHON WISTON GARCIA LOPEZ

FOTOGRAFÍAS

Figura 13. Envolvimiento de materiales con papel Graf para ser esterilizados.



Figura 14. Material de laboratorio colocado en el esterilizador



Figura 15. *Stenodontes* sp. infectado en laboratorio



Figura 16. Preparación de medio de cultivo



Figura 17. Preparacion de medio de cultivo

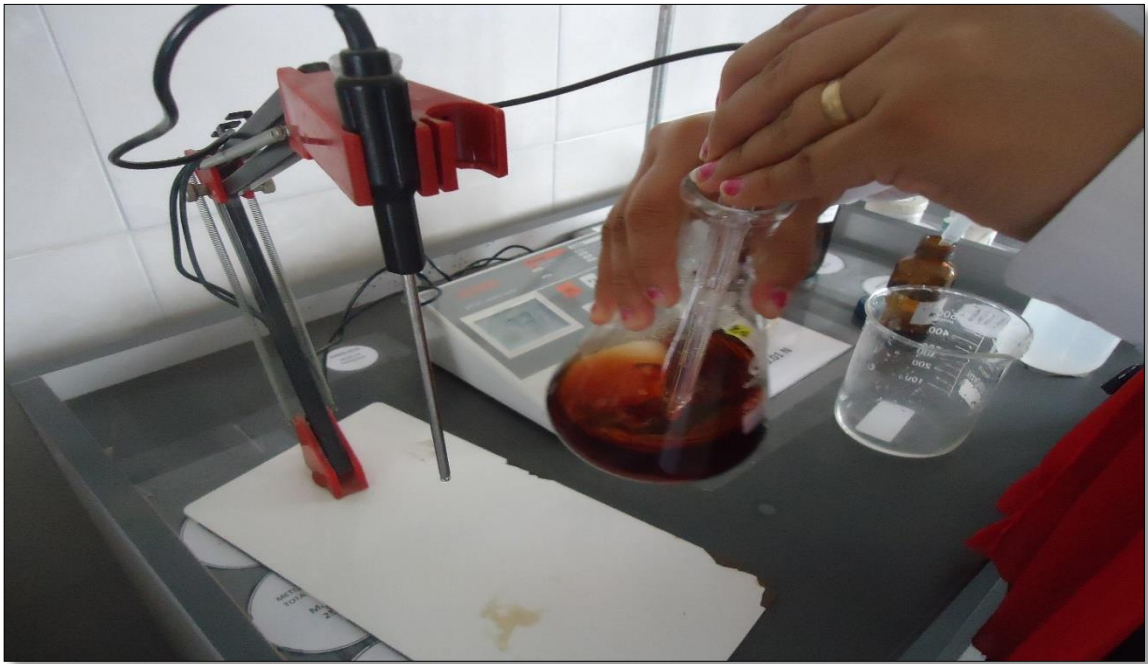


Figura 18. Insecto infectado por *Beauveria bassiana*



Figura 19. Aislamiento de *Beauveria bassiana*



Figura 20. Cultivo puro de *Beauveria bassiana* en agar Saboround



Figura 21. Cultivo puro de *Beauveria bassiana* en agar pda



Figura 22. Cultivo puro de *Beauveria bassiana*

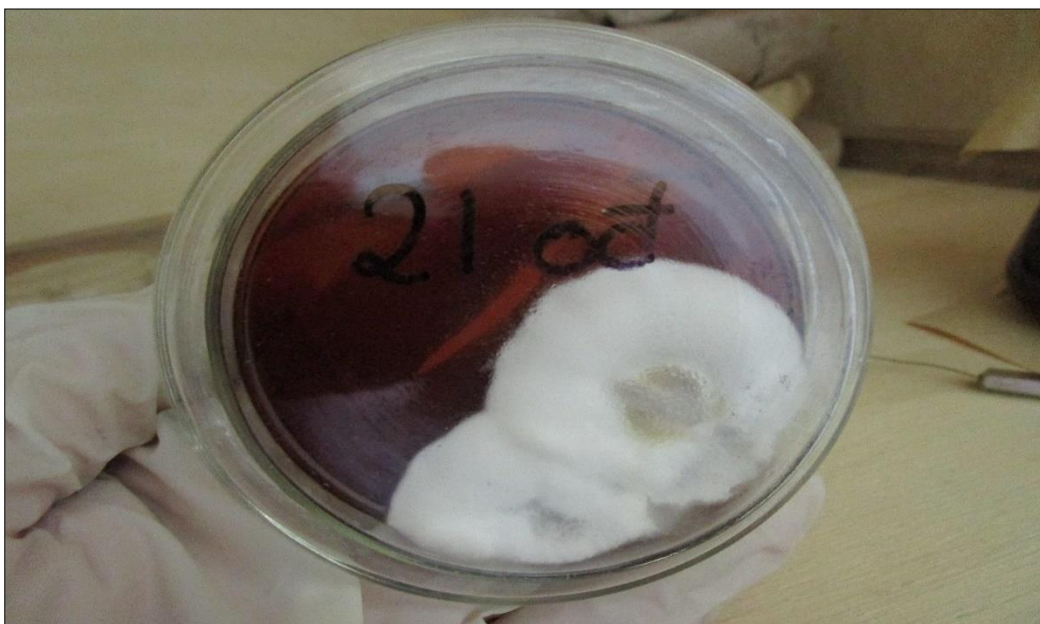


Figura 23. Identificación microscópica de *Beauveria bassiana*.

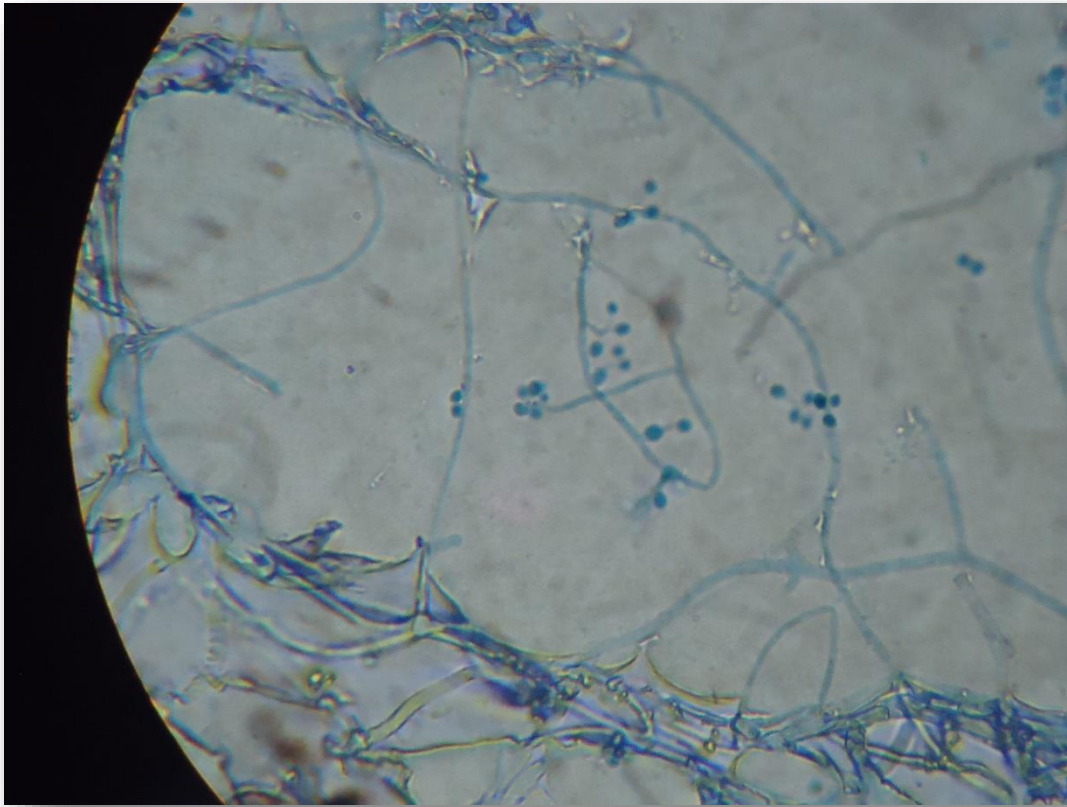


Figura 24. Identificación macroscópica de *Beauveria bassiana*

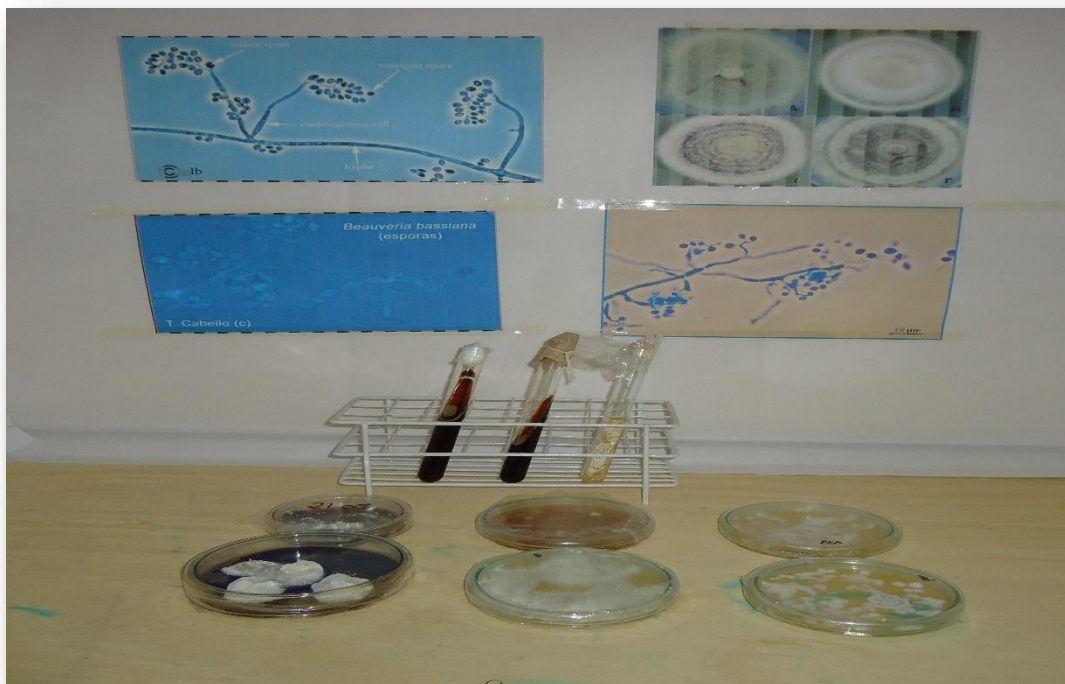


Figura 25. *Spodoptera frugiperda* infectado por *Beauveria bassiana*



Figura 26. *Acheta domesticus* infectado por *Beauveria bassiana*



Figura 27. *Dibolocelus palpalis* infectado por *Beauveria bassiana*



Figura 28. *Dysdercus peruvianus* y *Epilachna leopardina* infectados por *Beauveria bassiana*



Figura 29. Coccinella infectado por *Beauveria bassiana*

