



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

**SEDE CUENCA**

**CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA**

EVALUACIÓN DE *BEAVERIA BASSIANA* Y *METARHIZIUM SPP* FRENTE A LA PUPA DE LA MOSCA DE LA FRUTA EN *PSIDIUM FRIEDRICHSTHALIANUM L.* A NIVEL DE LABORATORIO.

Trabajo de titulación previo a la obtención del  
título de Ingeniera Biotecnóloga

AUTORAS: KAREN VERÓNICA FIGUEROA BRAVO

SOFÍA ELIZABETH JIMÉNEZ YUCTA

TUTOR: ING. VICENTE HERNÁN AVILÉS LANDÍVAR, MGTR.

Cuenca - Ecuador

2023

**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

Nosotras, Karen Verónica Figueroa Bravo con documento de identificación N° 0105322671 y Sofía Elizabeth Jiménez Yucta con documento de identificación N° 0104927405; manifestamos que:

Somos las autoras y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 21 de septiembre de 2023

Atentamente,



---

Karen Verónica Figueroa Bravo

0105322671



---

Sofía Elizabeth Jiménez Yucta

0104927405

**CERTIFICADO DE CESION DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Nosotros, Karen Verónica Figueroa Bravo con documento de identificación N° 0105322671 y Sofía Elizabeth Jiménez Yucta con documento de identificación N° 0104927405, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autoras del Trabajo experimental: “Evaluación de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium spp* frente a la pupa de la mosca de la fruta en *Psidium friedrichsthalianum L.* a nivel de laboratorio.”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera Biotecnóloga, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 21 de septiembre de 2023

Atentamente,



---

Karen Verónica Figueroa Bravo  
0105322671



---

Sofía Elizabeth Jiménez Yucta  
0104927405

**CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Yo, Vicente Hernán Avilés Landívar con documento de identificación N° 0101401040, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaró que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: EVALUACIÓN DE *BEAUVERIA BASSIANA* Y *METARHIZIUM SPP.* FRENTE A LA PUPA DE LA MOSCA DE LA FRUTA EN *PSIDIUM FRIEDRICHSTHALIANUM L.* A NIVEL DE LABORATORIO., realizado por Karen Verónica Figueroa Bravo con documento de identificación N° 0105322671 y por Sofía Elizabeth Jiménez Yucta con documento de identificación N° 0104927405, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental, que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 21 de septiembre de 2023

Atentamente,



---

Ing. Vicente Hernán Avilés Landívar, Mgtr.  
0101401040

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo de titulación a Dios por permitirme culminar la carrera. También a mis padres por brindarme todo su apoyo.

Karen

**DEDICATORIA**

Dedico mi trabajo de titulación a todas las personas que me ayudaron durante mi vida Universitaria.

## AGRADECIMIENTO

Agradezco primero a Dios por mostrarme que sus planes siempre son mejores que los míos, por guiar cada paso de mi vida, por darme la fortaleza y sabiduría necesaria para seguir adelantey culminar esta etapa.

A mi padre, Jaime Figueroa; a mi madre, Carmen Bravo y a mi hermana Mary Figueroa por todo su amor, apoyo incondicional y por ser el pilar fundamental que me sostiene, también agradezco a mi compañero de cuatro patas, el mejor regalo que Dios me brindo, Peluche Figueroa por ser mi compañía y quien alegra cada día de mi vida.

A cada uno de mis docentes que me instruyeron con sus conocimientos, siempre dispuestos a enseñar y guiar para formarme profesionalmente. Gracias a mi tutor, el Ing. Hernán Avilés por su paciencia y disposición para brindarnos su ayuda en el desarrollo del presente trabajo de titulación.

A todos mis compañeros de Biotecnología, por cada recuerdo que se queda grabado en mi corazón, a mi amiga Sofía Jiménez por ser la mejor compañera de tesis, porque sin su apoyo no hubiera sido posible alcanzar esta meta y hacer la vida universitaria mucho más llevadera.

Karen

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por brindarme fortaleza para cumplir mis metas.

Agradezco a mi familia y amigos por su apoyo incondicional, en especial agradezco a mis papás y a mi hermano que son los principales promotores para lograr cada meta que me propongo.

## RESUMEN

La mosca de la fruta es un insecto patógeno de interés en el sector agrícola, puesto que ocasiona daños severos en frutos de *-Psidium friedrichsthalianum L-* limitando su consumo y comercialización, razón por la cual dentro de las medidas llevadas a cabo para controlar este tipo de patógenos se han empleado pesticidas para que generen residuos tóxicos, ocasionando alteraciones en el ecosistema y seres humanos. Con la presente investigación se buscó evaluar la acción de los hongos *-Beauveria bassiana-* y *-Metarhizium spp-* frente a las pupas de la mosca de la fruta a nivel de laboratorio, interrumpiendo su ciclo biológico, disminuyendo así las poblaciones de este patógeno y así estudiar su efectividad. Además, se busca reemplazar los agroquímicos empleados actualmente en el sector agropecuario. Para realizar la investigación se extrajeron muestras de *-Psidium friedrichsthalianum L.-*, principal hospedero de la mosca de la fruta en el Ecuador, provincia Azuay, cantón Paute, parroquia el Cabo, sector la Estancia. Como punto de partida se preparó un medio de cultivo PDA donde se dio el crecimiento de los hongos *-Beauveria bassiana-* y *-Metarhizium spp-*, posteriormente los hongos fueron aislados y con los mismos se formularon biocontroles en tres concentraciones diferentes,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^7$  y  $1 \times 10^9$ , a continuación se puso en marcha la fase experimental donde se aplicaron los biocontroles en 32 tratamientos que contenían 10 pupas cada uno, de los cuales 8 fueron testigos, de esta manera se evidenció que los hongos *-Beauveria bassiana-* y *-Metarhizium spp-* poseen actividad entomopatógena, a su vez se comprobó que el hongo *-Metarhizium spp-* posee mayor actividad entomopatógena con un 80% frente a *B. bassiana* que tiene una efectividad del 61.66 %, con estos resultados se comprobó que los hongos mencionados pueden ser usados en el manejo integrado de plagas como la mosca de la fruta, además de ser una gran herramienta para el sector frutícola, incrementando los porcentajes de producción y optimizando las cualidades de los frutos, además permiten reducir los efectos

desfavorables producidos por los agroquímicos convencionales.

**Palabras clave:** *-Beauveria bassiana-*, Biocontrol, Hongos entomopatógenos, *-Metarhizium spp-*, Mosca de la fruta, *-Psidium friedrichsthalianum L-*

## ABSTRACT

The fruit fly is an insectopathogen of interest in the agricultural sector, since it causes severe damage to fruits of *-Psidium friedrichsthalianum L.-* limiting its consumption and commercialization, reason why within the measures carried out to control this type of pathogens, pesticides have been used to generate toxic residues, causing alterations in the ecosystem and human beings. The present research sought to evaluate the action of the fungi *-Beauveria bassiana-* and *-Metarhizium spp-* against fruit fly pupae at the laboratory level, interrupting their biological cycle, thus reducing the populations of this pathogen and studying their effectiveness. In addition, the aim is to replace the agrochemicals currently used in the agricultural sector. To carry out the research, samples were taken from *Psidium friedrichsthalianum L.*, the main host of the fruit fly in Ecuador, Azuay province, Paute canton, Cabo parish, La Estancia sector. As a starting point, a PDA culture medium was prepared for the growth of *-Beauveria bassiana-* and *-Metarhizium spp-* fungi, The fungi were subsequently isolated and biocontrols were formulated with them in three different concentrations,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^7$  and  $1 \times 10^9$ , then the experimental phase was started where the biocontrols were applied in 32 treatments containing 10 pupae each, of which 8 were controls, thus showing that the fungi *-Beauveria bassiana-* and *-Metarhizium spp-* It was also found that the fungus *-Metarhizium spp-* possesses greater entomopathogenic activity with 80% compared to *B. bassiana*, which has an effectiveness of 61.66 %, with these results it was proved that the mentioned fungi can be used in the integrated management of pests such as fruit flies, besides being a great tool for the fruit sector, increasing the percentages of production and optimizing the qualities of the fruits, in addition to reducing the unfavorable effects produced by conventional agrochemicals.

**Key words:** *-Beauveria bassiana-*, Biocontrol, Entomopathogenic fungi, *-Metarhizium spp-*,

Fruit fly, - *Psidium friedrichsthalianum* L.-.

## ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>14</b>
<b>CAPÍTULO 1</b>	<b>15</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>15</b>
1.1 Antecedentes	16
1.2 Planteamiento del problema	18
1.3 Pregunta de investigación	19
1.4 Delimitación del problema	19
1.5 Justificación	20
1.6 Objetivos	21
1.6.1 General	21
1.6.2 Específicos	21
1.7 Hipótesis	21
1.7.1 Hipótesis alternativa	21
1.7.2 Hipótesis nula	21
<b>CAPÍTULO 2</b>	<b>22</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b>	<b>22</b>
2.1 Marco conceptual	22
2.1.1 Hongos entomopatógenos	22
2.1.2 - <i>Beauveria bassiana</i> -	22
2.1.3 - <i>Metarhizium</i> spp-	23
2.1.4 Control biológico	23
2.1.5 Bioinsecticida	23
2.1.6 - <i>Psidium friedrichsthalianum</i> L.-.	23
2.1.7 Mosca de la fruta	24
2.1.8 Huevo	24
2.1.9 Larva	24
2.1.10 Pupas	24
2.2 Marco Referencial	24
2.3 Bases teóricas	27
2.3.1 - <i>Psidium friedrichsthalianum</i> L.-.	27
2.3.1.1 Clasificación taxonómica	28
2.3.1.2 Composición de la guayaba	28
2.3.1.3 Producción de guayaba en el Ecuador	29
2.3.1.4 Plagas que afectan a la guayaba	30
2.3.2 Mosca de la fruta	31
2.3.2.1 Distribución geográfica	31
2.3.2.2 - <i>Anastrepha obliqua</i> -	32

2.3.2.2.1 Clasificación taxonómica	32
2.3.2.2.2 Morfología	33
2.3.2.3 Ciclo de vida	33
Huevo	34
Larva	34
Pupa	34
Adulto	35
2.3.2.4 Mosca de la fruta en cultivos de guayaba	35
2.3.2.5 Daños que provoca la mosca de la fruta en la guayaba	36
2.3.3 Insecticidas químicos	36
2.3.3.1 Insecticidas comunes para atacar la mosca de la fruta	37
2.3.4 Control biológico	37
2.3.5 Hongos entomopatógenos	38
2.3.5.1 Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos	38
2.3.5.2 Respuesta de insectos plaga frente a los hongos entomopatógenos	40
2.3.5.3 - <i>Beauveria bassiana</i> -	41
2.3.5.3.1 Clasificación Taxonómica	41
2.3.5.3.2 Morfología	42
2.3.5.3.3 Modo de acción	42
2.3.5.4 - <i>Metarhizium spp</i> -	44
2.3.5.4.1 Clasificación Taxonómica	44
2.3.5.4.2 Morfología	44
2.3.5.4.3 Modo de acción	45
<b>CAPÍTULO 3</b>	<b>46</b>
<b>MARCO METODOLÓGICO</b>	46
3.1 Nivel de investigación	46
3.2 Diseño de investigación	46
3.2.1 Crianza de las pupas	46
3.2.2 Selección de pupas	47
3.2.3 Identificación de la mosca de la fruta	47
3.2.4 Cultivo de hongos	48
3.2.5 Concentración de esporas	49
3.2.5.1 Determinación del factor de la cámara de Neubauer:	49
3.2.6 Elaboración de los biocontroles	50
3.2.7 Patogenicidad de los hongos frente a pupas de la mosca de la fruta	51
3.3 Diseño experimental	52
3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	53
3.5 Variables	54
3.6 Métodos empleados en el manejo estadístico de datos	54
3.7 Técnicas de procesamiento y análisis de datos	54

<b>CAPÍTULO 4</b>	<b>55</b>
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
4.1 Obtención de -Beauveria bassiana-	55
4.2 Obtención de -Metarhizium spp-	55
4.3 Obtención de pupas de la mosca de la fruta	56
4.4 Identificación de la mosca de la fruta	56
4.5 Formulación de los biocontroles	58
4.6 Determinación de la efectividad de los biocontroles	59
4.6.1 Análisis de normalidad	60
4.6.2 Kruskal Walls	64
Fuente: Autoras (2023)	65
4.6.3 Interpretación de resultados	67
<b>CAPÍTULO 5</b>	<b>68</b>
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	68
5.1 Conclusiones	68
5.2 Recomendaciones	69
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>70</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>71</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo de vida de la mosca de la fruta .....	18
Figura 2: <i>Penetración de larvas en el suelo para iniciar la fase de empupamiento</i> .....	19
Figura 3: <i>Pupas recolectadas a lo largo del experimento</i> .....	20
Figura 4: <i>Mosca de la fruta vista en el estereomicroscopio</i> .....	20
Figura 5: <i>Infección del patógeno por invasión del hongo entomopatógeno</i> .....	24
Figura 6: <i>Características microscópicas de -Beauveria bassiana</i> .....	27
Figura 7: <i>Características microscópicas de -Metarhizium spp</i> .....	30
Figura 8: <i>Ubicación de la parroquia El Cabo</i> .....	32
Figura 9 : <i>Flujograma del diseño estadístico</i> .....	38
Figura 10: <i>Comparación de las alas mediante la guía de reconocimiento y foto del autor</i> .....	42
Figura 11: <i>Comparación del tórax mediante la guía de reconocimiento y foto del autor</i> .....	43
Figura 12: <i>Comparación del ovipositor mediante la guía de reconocimiento y foto del autor</i> .....	44
Figura 13: <i>Esquema de formulación de los biocontroles descritas en el punto 3.2.3</i> .....	44
Figura 14: <i>Ilustración de caja de bigotes de los resultados</i> .....	47
Figura 15: <i>Análisis de normalidad omitiendo los testigos</i> .....	48
Figura 16: <i>Ajuste de datos a distribución normal omitiendo los testigos</i> .....	49
Figura 17: <i>Distribución normal considerando los testigos</i> .....	50
Figura 18: <i>Ajuste de datos a distribución normal considerando los testigos</i> .....	51
Figura 19: <i>Ilustración de caja de bigotes</i> .....	52
Figura 20: <i>Test de Kruskal Walls representadas mediante gráficas de caja de bigotes</i> .....	53
Figura 21: <i>Test de Kruskal Walls representadas mediante gráficas de caja de bigotes</i> .....	54

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: <i>Hongos entomopatógenos empleados en el control biológico</i> .....	11
Tabla 2: <i>Clasificación taxonómica de -Psidium friedrichsthalianum L.</i> .....	13
Tabla 3: <i>Composición de los frutos de guayaba</i> .....	14
Tabla 4: <i>Principales especies de moscas de la fruta en América</i> .....	16
Tabla 5: <i>Clasificación taxonómica de la mosca de la fruta</i> .....	17
Tabla 6: <i>Clasificación taxonómica de -Beauveria bassiana</i> .....	26
Tabla 7: <i>Clasificación taxonómica de -Metarhizium spp</i> .....	28
Tabla 8: <i>Tratamiento Beauveria bassiana , número de repeticiones, concentración de esporas y número de pupas</i> .....	36
Tabla 9: <i>Tratamiento -Metarhizium spp.- , número de repeticiones, concentración de esporas y número de pupas</i> .....	36
Tabla 10: <i>Matriz de datos recopilados en la fase experimental de la aplicación de los biocontroles a diferentes concentraciones</i> .....	45

## CAPÍTULO 1

### INTRODUCCIÓN

Con el transcurso del tiempo el sector agrícola requiere constantemente de nuevas técnicas, las mismas que permitan mejorar los índices de producción agropecuaria para satisfacer y garantizar la soberanía alimentaria de los habitantes, además de generar ingresos económicos en un sector determinado. En el Ecuador uno de los objetivos principales es transformar el sector agrario en una actividad que sea sostenible y productiva (French, 2014).

Según lo que establece Morocho, (2017) Pastaza es la provincia que produce un mayor número de guayabas en un 34%, seguido por Pichincha en un 14% y Esmeraldas en un 11%. Con ello podemos argumentar que la guayaba es un fruto que tiene importancia dentro del Ecuador empleado para el autoconsumo y por lo cual es importante mantener un control eficaz de plagas como la mosca de la fruta, uno de los principales patógenos de guayaba que ocasionan daños importantes en su producción (Muñoz et al., 2021).

De forma convencional se han empleado pesticidas para realizar un control de las plagas presentes en cultivos de guayaba, con el fin de impedir el daño ocasionado por insectos como las moscas de la fruta (Ganchozo, 2015). Los agroquímicos son productos formulados a través de compuestos químicos que ocasionan alteraciones en el ecosistema y en los seres humanos. Según Ordoñez-Beltrán et al. (2019) si los pesticidas no son manipulados con las debidas precauciones pueden provocar cáncer de pulmón y de estómago (Ordoñez-Beltrán et al., 2019).

Como una alternativa más ecológica se han incluido a los hongos entomopatógenos dentro de las formulaciones de productos agrícolas para el control de plagas, los hongos *Beauveria bassiana* y *-Metarhizium spp-* poseen la facultad de producir toxinas al interior de los insectos para disminuir notablemente las poblaciones de moscas de la fruta, y mejorar los índices de producción frutícola (Tzoc et al., 2010)

## 1.1 Antecedentes

Con el avance de la industria agrícola a nivel mundial, y por consiguiente el incremento de dicha práctica, se ha generado un avance acelerado en la crisis ambiental por la expansión de la frontera agrícola en los países de todo el mundo (Nava-Pérez et al., 2012). Otro de los factores a considerar es que los sistemas productivos agrícolas actuales están supeditados a los modelos de producción “convencional”, es decir, sistemas en los cuales se usan de forma constante productos químicos o también conocidos como “agroquímicos sintéticos” (Devine et al., 2008). Debido a esto, resulta de fundamental importancia la búsqueda de métodos alternativos para el control de plagas que afectan a los cultivos.

Para Montoya & Cancino, (2004) el control biológico de plagas en los nuevos sistemas de producción debe incorporar principios ecológicos, que vayan en conjunto con el concepto de “agricultura sustentable” (Montoya & Cancino, 2004).

Estos biocontroladores buscan sustituir a los insecticidas químicos, aplicando métodos más amigables con el ambiente, y a su vez, controlar la resistencia generada por las distintas plagas que se presentan año tras año en los cultivos como resultado del uso indiscriminado y la mezcla de los productos químicos utilizados (Pacheco Hernández, Reséndiz Martínez, & Arriola Padilla, 2019).

La apuesta por el cambio en la matriz productiva, enfocado en la adopción de nuevas técnicas para contrarrestar las plagas que afectan a los sistemas agrícolas, están tomando en consideración a microorganismos benéficos como una alternativa de control. En este sentido, García & Ricalde, (2013) señalan que los *hongos entomopatógenos* (HE), *-Beauveria bassiana-*, *-Metarhizium anisopliae-*, *-Paecilomyces fumosoroseus-*, han mostrado alta efectividad para el control de plagas como la mosca de la fruta (F. R. M. García & Ricalde, 2013).

A nivel mundial, la mosca de la fruta constituye uno de los principales problemas para la fruticultura. Este insecto, provoca daños directos a las frutas lo cual ocasiona pérdidas en la producción, limitan la comercialización y exportación de frutas (FAO, 2022).

Además de los daños que estas plagas generan en los sistemas de producción, existen estudios que indican que la mosca de la fruta tiene la capacidad de transportar bacterias perjudiciales como *-E. coli*, *Salmonella-* y *-Listeria-*, desde superficies contaminadas a los alimentos que están listos para ser consumidos (Black et al., 2018).

En este contexto, la aplicación de hongos entomopatógenos para el control de plagas constituye una herramienta productiva y sostenible, importante para el sector agrícola. Los cuales al ser aplicados en dosis adecuadas pueden reemplazar a los plaguicidas, y con ello reducir el impacto ambiental, los efectos adversos en la salud humana y obtener frutos de calidad (Montoya & Cancino, 2004).

## **1.2 Planteamiento del problema**

La mosca de la fruta es considerada una de las principales plagas a nivel mundial siendo una de las principales causas que limita las exportaciones agrícolas produciendo pérdidas anuales de \$100 millones de dólares (Quiroga, 2015), debido a que estas se encuentran en todo el año especialmente en el verano y en el otoño, cuando la fruta se encuentra madura lo cual atrae a los insectos(*Moscas de la fruta | Entomology*, s. f.), los gusanos de la mosca se pueden encontrar bien en un cultivo cosechado o en las frutas ya cosechadas, en cualquiera de los casos la fruta se considera sin valor afectando su comercialización(Moawad, 2022).

En los diferentes ecosistemas de cultivo en el Ecuador se han encontrado 36 especies pertenecientes al género *-Anastrepha-* siendo las más comunes: *- A. fraterculus-*, *-A. striata-*, *- A. serpentina-*, *-A. obliqua-*, además de *-C. capitata-*.(Vilatuña et al., 2010b), las cuales causan daños como: deterioro de la pulpa, disminución de su valor, fácil ataque de los patógenos los

cuales ocasionan disminución en la producción de la fruta causando pérdidas económicas(Bueno et al., 2004).

Para combatir a la mosca de la fruta en las últimas décadas se ha dado el uso de plaguicidas, los cuales causan daños negativos a la salud y al ambiente, aproximadamente 25 millones de trabajadores agrícolas en el mundo experimentan envenenamientos involuntarios de pesticidas cada año (Hernández et al., 2011). A su vez estos también causan daños al ambiente ya que al ser aplicados se dispersan, convirtiéndose en contaminantes para los sistemas bióticos y abióticos (del Puerto Rodríguez et al., 2014). Es por ello que en la actualidad se pretende minimizar el consumo de los mismos, dando paso al control biológico el cual tiene como objetivo combatir los insectos que estén atacando los cultivos y a su vez disminuir los daños en el ambiente y en la salud humana (Cueva, 2012).

Según (Partida, 2014) hoy en día se pretende controlar la mosca de la fruta mediante la incorporación de productos que sean amigables con la salud humana y con el ambiente, obteniendo productos libres de residuos tóxicos, que disminuyan el impacto negativo al ambiente y a los organismos presentes, tal es el caso de los hongos entomopatógenos, siendo los más importantes: *-Beauveria-*, *-Metarhizium-*, *-Paecilomyces-*, *-Verticillium-*, *-Rhizopus-* y *-Fusarium-*, los cuales actúan como controladores de poblaciones de artrópodos (Delgado & Murcia-Ordoñez, 2011).

La interacción hongo entomopatógeno - insecto, ha sido considerada una de las principales estrategias para el control de plagas, el modo de ataque de los hongos hacia el insecto ocurre mediante adhesión y contacto, esto sucede ya que los insectos poseen espiráculos<sup>1</sup> los cuales son vías de infección que dan paso a que el hongo se hospede, de tal

---

<sup>1</sup> Son aquellos orificios que poseen los insectos en su sistema respiratorio para ingresar oxígeno a su organismo desde el exterior a la tráquea (boletinagrario.com, 2023).

manera que ataca al insecto generando daño en él y posiblemente su muerte (Téllez-Jurado et al., 2009).

### 1.3 Pregunta de investigación

- ¿La aplicación de *-Beauveria bassiana-* y *-Metarhizium spp-* a diferentes concentraciones controla e inhibe el desarrollo de pupas de moscas de la fruta en *-Psidium friedrichsthalianum L-??*

### 1.4 Delimitación del problema

- **Espacio:** Provincia del Azuay, Cantón Cuenca
- **Tiempo:** Año 2022
- **Fenómeno a investigar:** Evaluar los hongos *-Beauveria bassiana-* y *-Metarhizium spp-* frente a la pupa de la mosca de la fruta en *-Psidium friedrichsthalianum L-*. a nivel de laboratorio.

### 1.5 Justificación

En el campo agrícola y teniendo en cuenta que existen agentes patógenos que afectan a los cultivos, es necesario contar con alternativas viables para el control de plagas, así también que estas sean eco-sustentables y que no representen una carga extra al ambiente. Una de esas alternativas, la constituye el control biológico a través del uso de microorganismos como los hongos entomopatógenos. Por ello, en el presente estudio se evaluarán los hongos *Beauveria bassiana* y *-Metarhizium spp-* para el control de la mosca de la fruta en guayaba (*Psidium friedrichsthalianum L.*), en laboratorio.

Por lo que se refiere a la mosca de la fruta, cabe mencionar que es un insecto plaga que ocasiona daños en los cultivos de guayaba, al ovipositar sus huevos, mismos que se convierten en larvas al interior de los frutos estas se alimentan de la pulpa y ocasionan que los frutos no sean aptos para el consumo humano y comercialización (Bueno et al., 2004).

En cuanto a los hongos entomopatógenos, estos son considerados como excelentes biocontroladores puesto que tienen la capacidad de invadir el organismo de los patógenos al entrar en contacto con su cutícula y segregar toxinas al interior causando enfermedades como la muscardina<sup>2</sup> (Pacheco Hernández, Reséndiz Martínez, Arriola Padilla, et al., 2019). De este modo los hongos entomopatógenos controlan las poblaciones de plagas como la mosca de la fruta (Díaz & Macías, 2006).

Actualmente, el mayor reto para el sector agropecuario es obtener un mayor número de frutos con altos estándares de calidad y a su vez preservar el ambiente y la salud humana. Con la presente investigación se busca brindar una solución a la dependencia que existe por el uso de agroquímicos en los sistemas de producción y por lo tanto determinar la efectividad de *-Beauveria bassiana-* y *-Metarhizium spp-* para el biocontrol de la mosca de la fruta.

## 1.6 Objetivos

### 1.6.1 General

Evaluar las concentraciones de *-Beauveria bassiana-* y *-Metarhizium spp-* para el control de la pupa de la mosca de la fruta en guayaba (*-Psidium friedrichsthalianum L.-*).

### 1.6.2 Específicos

- Determinar la concentración de *-Beauveria bassiana-* y *-Metarhizium spp-* a través de métodos de recuento para el biocontrol de pupas en mosca de la fruta en guayaba (*-Psidium friedrichsthalianum L.-*).
- Establecer la dosis de *-Beauveria bassiana-* y *-Metarhizium spp-* a través de modelos estadísticos para el control de la pupa en mosca de la fruta en guayaba (*-Psidium friedrichsthalianum L.-*).

---

<sup>2</sup> Es una enfermedad causada por la invasión del hongo *-Beauveria bassiana-* (Cano et al., 2004)

## **1.7 Hipótesis**

### **1.7.1 Hipótesis alternativa**

La aplicación de *-Beauveria bassiana-* y *-Metarhizium spp-*, interrumpe el ciclo de vida de la mosca de la fruta en guayaba (*-Psidium friedrichsthalianum L.-*) a nivel de laboratorio.

### **1.7.2 Hipótesis nula**

La aplicación de *Beauveria bassiana* y *-Metarhizium spp-*, no interrumpe el ciclo de vida de la mosca de la fruta en guayaba (*-Psidium friedrichsthalianum L.-*) a nivel de laboratorio.

## CAPÍTULO 2

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Marco conceptual

##### 2.1.1 Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos son de gran importancia ya que son considerados como agentes de control, estos hongos se caracterizan por causar infecciones fúngicas en poblaciones de insectos ya que se encuentran de manera dispersa en el ambiente (Díaz & Macías, 2006).

##### 2.1.2 -*Beauveria bassiana*-

Este hongo pertenece a la clase Deuteromycetes, posee la capacidad de infectar a más de 200 especies de insectos, este hongo presenta una apariencia polvosa, de color amarillento o blanco cremoso (Chiriboga et al., 2015)

##### 2.1.3 -*Metarhizium spp*-

Este hongo pertenece a la clase Hyphomycetes (*METARHIZIUM ANISOPLIAE* – *PERKINS LTDA*, s. f.), es un hongo que posee la capacidad de enfermar a insectos con el fin de matarlos, la enfermedad que es causada por este hongo se la denomina muscardina verde (Pavone, 2021).

##### 2.1.4 Control biológico

El control biológico supone la producción y suelta de enemigos naturales con el fin de acabar con los organismos que causan daño en un cultivo (Geoinnova, 2019), en si este control tiene como objetivo reducir las poblaciones de plagas, preservar el ambiente y brindar mayor seguridad tanto al agricultor como al consumidor final (agroactivo, 2021).

### **2.1.5 Bioinsecticida**

Se le puede definir como un organismo vivo (hongo, bacteria, virus), que tenga la capacidad de matar insectos, también puede ser una sustancia química, que estando presente en una determinada planta puede repeler o matar insectos (C. García, 2008).

### **2.1.6 -*Psidium friedrichsthalianum* L.-**

-*Psidium friedrichsthalianum* L.- es una especie de árbol de la familia de la guayaba, mide de 5 a 10 m de altura, crece usualmente en zonas de bosque húmedo tropical y subtropical, es una planta que puede producir frutos todo el año, sin embargo, la disminución de la precipitación, por la presencia de una estación seca, es determinante para la disminución de frutos (*Guayaba de Monte (Psidium friedrichsthalianum L.)*, s. f.).

### **2.1.7 Mosca de la fruta**

La mosca de la fruta, es un insecto holometábolo, es decir comprende cuatro estados biológicos: huevo, larva, pupa y adulto. Este insecto genera un gran impacto en la fruticultura a nivel mundial ya que causa daños directos a los cultivos lo que representa una gran pérdida económica (H. M. Gómez, 2005).

### **2.1.8 Huevo**

Los huevos son ovipositados por la mosca adulta al interior del pericarpio de la fruta, la duración en estado de huevo puede variar según la estación del año, en verano de 2 a 7 días y en invierno de 20 a 30 días, Al cabo de este tiempo los huevos surgen en larvas (Gómez, 2006).

### **2.1.9 Larva**

Las larvas se caracterizan por tener un color blanco a amarillento, su forma es vermiforme y su longitud varía de 2 a 15mm (Mosca De La Fruta | GIP Cítricos (IVIA), s. f.),

tiene un periodo de 6 a 11 días para empupar, estas se alimentan de la pulpa de la fruta causando su pudrición (Barciela, 2018).

### **2.1.10 Pupas**

Las pupas se forman cuando las larvas caen al suelo y se introducen a 2 o 3 centímetros de profundidad creando una cápsula cilíndrica, su longitud es de aproximadamente 3 a 10 mm y dura de 9 a 15 días si las condiciones son las adecuadas en cuanto a factores de temperatura y humedad; no obstante, en periodos de invierno y bajas temperaturas este tiempo puede extenderse por meses (Gómez, 2006).

## **2.2 Marco Referencial**

En la actualidad la mosca de la fruta es considerada una de las principales plagas de las especies frutales a nivel mundial causando un gran impacto de pérdidas económicas en - *Psidium friedrichsthalianum* L-. (Larriva & León, 2019), es por ello que se está dando un gran enfoque a investigaciones las cuales buscan detener el incremento de esta plaga aplicando programas de control biológico (Morin, 2020).

De forma convencional una de las claves frente al control integrado de plagas/vectores durante muchos años ha sido el uso de insecticidas, los cuales están formulados a partir compuestos químicos que se aplican en los cultivos de forma directa con el fin de controlar o aniquilar insectos portadores de enfermedades (*Los insecticidas*, s. f.). Sin embargo, la utilización de estos productos representa un daño indeterminado tanto para el ambiente como para la salud de los seres humanos y la consiguiente resistencia de plagas a las cuales se requiere controlar. Por lo que es necesario hallar una alternativa que no genere estos efectos adversos como es la aplicación de biocontroladores o bioinsecticidas basados en patógenos antagonistas naturales (hongos entomopatógenos). Este tipo de tecnologías son consideradas como las más

sostenibles y sustentables en términos ambientales, y permiten obtener frutos aptos para el consumo humano (Thomas & Read, 2007).

Existen investigaciones sobre los hongos *-Beauveria bassiana-* y *-Metarhizium spp. -* acerca de su viabilidad, patogenicidad y su fácil aplicación en campo, han aportado al desarrollo de avances que emplean controles biológicos (Maniania, 1992). Además, cabe mencionar que dichos hongos entomopatógenos poseen otras ventajas como, por ejemplo, su fácil producción y formulación, por lo que son uno de los hongos más empleados dentro del control biológico (Silva et al., 2020).

**Tabla 1**

*Hongos entomopatógenos empleados en el control biológico*

<b>GÉNERO</b>	<b>ESPECIE</b>
	<i>-M. anisopliae-</i>
<b>-Metarhizium-</b>	<i>-M. flavoviridae-</i>
	<i>-B. bassiana-</i>
<b>-Beauveria-</b>	<i>-B. brongniartii-</i>
	<i>-B. tenella-</i>
<b>-Aschersonia A.-</b>	<i>-A. aleyrodis-</i>
<b>-Entomophthora-</b>	<i>-Entomophthora spp-</i>
<b>-Zoophthora-</b>	<i>-Zoophthora spp-</i>
<b>-Erynia-</b>	<i>-Erynia spp-</i>
<b>-Eryniopsis-</b>	<i>-Eryniopsis spp.-</i>
<b>-Akanthomyces-</b>	<i>-Akanthomyces spp.-</i>
<b>-Fusarium-</b>	<i>-Fusarium spp.-</i>
<b>-Hirsutella H.-</b>	<i>-H. thompsonii-</i>
<b>-Hymenostilbe-</b>	<i>-Hymenostilbe spp-</i>
<b>-Paecilomyces-</b>	<i>-P. farinosus-</i>
	<i>-P. fumosoroseus-</i>

	- <i>P. tenuipes</i> -
	- <i>P. lilacinus</i> -
<b>-<i>Lecanicillium</i>- (<i>Verticillium</i>)</b>	- <i>L. lecanii</i> -
	- <i>L. longispoum</i> -
	- <i>L. muscarium</i> - ( <i>Verticillium lecanii</i> )
<b>-<i>Rhizopus</i>-</b>	- <i>Rhizopus spp.</i> -
<b>-<i>Cordyceps</i>-</b>	- <i>Cordyceps spp.</i> -
<b>-<i>Culicinomyces</i>-</b>	- <i>Culicinomyces spp.</i> -
<b>-<i>Lagenidium</i>-</b>	- <i>Lagenidium giganteum</i> -
<b>-<i>Nomuraea</i>-</b>	- <i>N. rileyi</i> --
<b>-<i>Gliocladium</i>-</b>	- <i>Gliocladium spp.</i> -
<b>-<i>Pochonia</i>-</b>	- <i>P. chlamidiospora</i> - ( <i>Verticillium chlamidiosporium</i> ).

**Nota:** <sup>1</sup>Hongos de mayor uso en el mundo según

**Fuente:** Elaboración propia a partir de (Téllez-Jurado et al., 2009)

## 2.3 Bases teóricas

### 2.3.1 *-Psidium friedrichsthalianum L.-*

La guayaba de nombre científico *-Psidium friedrichsthalianum L.-* es considerada como uno de los frutos más conocidos y estimados a nivel mundial (Tzec et al., 2010), es una especie autóctona de América en las regiones tropicales y su origen aproximadamente se encuentra entre México y Perú; este árbol pertenece al orden de las Rosales y a la familia de las Mirtáceas; sus flores son de color blanco y consisten de cuatro a cinco pétalos, posee hojascoriáceas de color verde oscuro brillante en el haz y verde opaco por el envés y su fruto es un abaya globular (Cárdenas, s. f.), este es considerado de buena calidad cuando presenta un buen

aspecto es decir libre de raspaduras, rozaduras, costras y que cumpla con un proceso de selección riguroso (Antonio Yam Tzec et al., 2010).

Es un planta arbórea perteneciente a las especies de las guayabas, miden entre 6 a 10 m de altura, usualmente crece en zonas de clima tropical subtropical, es considerada como un árbol que puede producir frutos todo el año siempre y cuando se encuentre en el hábitat adecuado, es una especie que posee la facultad de ser utilizada para injertos debido a su rusticidad y adaptación en diferentes climas (*Guayaba de Monte (Psidium friedrichsthalianum)*, s. f.).

### 2.3.1.1 Clasificación taxonómica

Según Fernández, (2015) la posición taxonómica del guayabo, según estudios filogenéticos recientes es:

**Tabla 2**

*Clasificación taxonómica de -Psidium friedrichsthalianum L.-*

<b>Reino</b>	Plantae
<b>Filo</b>	Tracheophyta
<b>División</b>	Angiosperma
<b>Clase</b>	Maqnoliopsodae
<b>Orden</b>	Myrtales
<b>Familia</b>	Myrtaceae
<b>Género</b>	- <i>Psidium</i> -
<b>Especie</b>	- <i>friedrichsthalianum L.</i> -

**Fuente:** Elaboración propia a partir de (Fernández, 2015)

### 2.3.1.2 Composición de la guayaba

Según análisis publicados por (Portillo, 2001) cada 100 g de frutas de guayaba aporta:

**Tabla 3**

*Composición de los frutos de guayaba*

<b>Por cada 100 g de fruto contiene:</b>	
<b>Calorías</b>	69
<b>Agua</b>	80,6%
<b>Proteínas</b>	1%
<b>Ácidos grasos</b>	0,4%
<b>Hidratos de carbono</b>	17,3%
<b>Fibra</b>	5,6%
<b>Taninos</b>	12 - 30%
<b>Calcio</b>	15 mg
<b>Fósforo</b>	24 mg
<b>Hierro</b>	0,7 mg
<b>Sodio</b>	4 mg
<b>Potasio</b>	291 mg
<b>Carotenos</b>	75 µg
<b>Tiamina</b>	0,05 mg
<b>Riboflavina</b>	0,04 mg
<b>Niacina</b>	1,10 mg
<b>Ácido ascórbico</b>	132 - 400 mg

**Fuente:** Elaboración propia a partir de (Portillo, 2001)

### **2.3.1.3 Producción de guayaba en el Ecuador**

El cultivo de guayaba se da en varias provincias del Ecuador, Pastaza es la provincia donde se produce un mayor número de guayabas en un 34%, seguido por Pichincha en un 14% y Esmeraldas en un 11% (Morocho, 2017). Es decir, muchos sectores del país dependen económicamente de la producción de guayaba y la calidad de sus frutos, por ello surge la

necesidad de llevar a cabo un control de plagas eficaz para mejorar los índices de producción y la calidad de frutos, y con ello la economía de un sector determinado.

#### **2.3.1.4 Plagas que afectan a la guayaba**

Dentro de las plagas que afectan los cultivos de guayaba cabe mencionar: la mosca de la guayaba, el enrollador de la guayaba, el picudo de la guayaba, la gallina ciega, los pulgones (Leiva, 2012b).

- **Mosca de la guayaba**

Es una de las plagas de mayor importancia en la producción de guayaba, las moscas hembras introducen su ovipositor debajo del pericarpio depositando las larvas estas a su vez se nutren de la pulpa ocasionando túneles que posteriormente culminan en necrosis parcial o total (Leiva, 2012b).

- **Enrollador de la guayaba**

Conocido también como gusano tornillo o enrollador (Carabali Muñoz et al., 2015), estos insectos generan pequeños rayones de color café oscuro en las hojas, en algunos casos también se han evidenciado perforaciones de 1 mm por donde el patógeno ingresa y se alimenta, causan amarillamiento y muerte (Canacuán Nasamuez & Carabalí-Muñoz, 2016).

- **Picudo de la guayaba**

Es un insecto tipo gorgojo de color café, puede medir de 6 a 8 mm de largo, tiene un pico en forma de gancho que le permite un mayor acceso a interior de la pulpa causando su pudrición (Leiva, 2012b). El picudo de la guayaba se caracteriza por alimentarse de las semillas de la guayaba (Lozano et al, 2002, como se citó en Leiva, 2012)

- **Gallina ciega**

Es un insecto Coleóptera, sus larvas son las principales responsables del daño en especies frutícolas puesto que se alimentan del rizoma de las plantas, disminuyendo su rendimiento y ocasionando la muerte del vegetal (N. Gutiérrez, 2014b).

- **Pulgones**

Es una plaga que afecta especialmente a las hojas de la planta ya que estos insectos se alimentan de la savia provocando daños en los vegetales como: alteraciones en el crecimiento, desfiguración en hojas, clorosis y pérdida de nutrientes (Dughetti, 2022).

### 2.3.2 Mosca de la fruta

Este insecto es considerado patógeno que pertenece al orden Díptera, y son considerados organismos holometábolos. Según Vilatuña et al., (2010) “El género -*Anastrepha*- es autóctono de Centro y Sudamérica, mientras que el género *Ceratitidis* es introducido” (Vilatuña et al., 2010). Cabe mencionar su gran capacidad de desplazamiento en diferentes ecosistemas y su adaptación a las condiciones climáticas del entorno en donde se encuentren (Aluja, 1993).

#### 2.3.2.1 Distribución geográfica

Alrededor del mundo se han podido encontrar aproximadamente 4000 especies de moscas de la fruta donde al menos 20 de ellas son consideradas plagas de carácter cuaternario por la importancia económica que estas tienen en el sector agrícola (Manyari Jiménez, 2014).

**Tabla 4**

*Principales especies de moscas de la fruta en América*

Especie	Número de países
<i>-Ceratitidis capitata-</i>	20
<i>-Anastrepha fraterculus-</i>	21
<i>-A. ludens-</i>	20
<i>-A. oblicua-</i>	26
<i>-A. serpentina-</i>	26
<i>-A. striata-</i>	12
<i>-A. suspensa-</i>	13
<i>-A. grandis-</i>	5
<i>-Toxotrypana curvicauda-</i>	10

<b>-Bactrocera dorsalis-</b>	1
<b>-B. carambolae-</b>	2

**Fuente:** Elaboración propia a partir de (Gutiérrez, 2003)

### 2.3.2.2 -*Anastrepha obliqua*-

Es un insecto que pertenece al orden Díptera, se encuentra en climas tropicales, es ponderado un patógeno ya que ataca a cultivos de frutales, causando daños en los mismos reduciendo los índices de producción. ocasionando un daño económico (Santos Murgas et al., 2022)

#### 2.3.2.2.1 Clasificación taxonómica

**Tabla 5**

*Clasificación taxonómica de la mosca de la fruta*

<b>Reino</b>	<b>animalia</b>
<b>Clase</b>	insecta
<b>Orden</b>	Díptera
<b>Familia</b>	Tephritidae
<b>Género</b>	- <i>Anastrepha</i> -
<b>Especie</b>	- <i>obliqua</i> -

**Fuente:** Elaboración propia a partir de (Basantes, 2021)

#### 2.3.2.2.2 Morfología

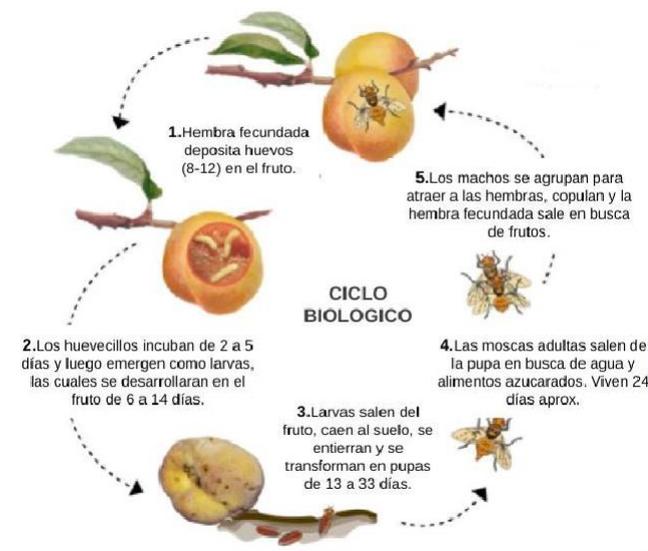
La mosca -*Anastrepha obliqua*- posee características como: tamaño de 8.5 a 9mm, color naranja - amarillo, en su parte central del tórax se encuentra franjas de color crema, sus alas son de color naranja- amarillo - café oscuro, ovipositor mide 1,3 a 1,6 mm de longitud (M. Arias & Jines, 2004) mosca

### 2.3.2.3 Ciclo de vida

La fase de desarrollo del patógeno estudiado puede variar según las condiciones ambientales del entorno donde se encuentra, factores como humedad y temperatura son claves para su correcto desarrollo biológico, este insecto plaga es un organismo holometábolo, conformado por cuatro fases: huevo, larva, pupa y mosca (H. M. Gómez, 2005).

#### Figura 1

*Ciclo de vida de la mosca de la fruta*



Fuente: (Rizobacter, 2021)

#### Huevo

Poseen coloración blanco cremoso, miden alrededor de 2 mm . En esta fase se da el inicio del ciclo de vida, la hembra fecundada deposita sus huevos bajo la cáscara del fruto. La duración de esta fase del desarrollo puede influir según las condiciones climáticas, siendo de 2 a 7 días en climas cálidos y de 20 a 30 días en temperaturas bajas, transcurrido este tiempo nacen las larvas (Obregón, 2017).

## Larva

Miden entre 3 a 15 mm, esta fase dura entre 6 a 11 días, siendo su principal fuente de alimento el mesocarpio de la fruta hospedera, transcurrido este tiempo la larva cae al suelo penetrándolo de 2 a 3 centímetros para alcanzar el estado de pupa (H. M. Gómez, 2005).

## Figura 2

*Penetración de larvas en el suelo para iniciar la fase de empupamiento.*



**Realizado por:** Autoras (2023)

## Pupa

Una vez en el suelo deben transcurrir de 9 a 15 días en condiciones de clima cálido, por otro lado, si la temperatura baja esta fase puede durar varios meses. Finalmente, al interior de las pupas la mosca adulta rompe una membrana llamada ptilinum posibilitando su liberación (Obregón, 2017).

## Figura 3

*Pupas recolectadas a lo largo del experimento*



**Realizado por:** Autoras (2023)

### **Adulto**

Una vez eclosionada la pupa, la mosca adulta es liberada. Miden aproximadamente de 4 a 5 mm, su coloración es café, naranja, negro y amarillo, sus alas poseen iluminaciones de coloración negro y amarillo. Puede vivir de 1 a 6 meses según las condiciones del entorno (Triadani & Buxmann, 2019).

### **Figura 4**

*Mosca de la fruta vista en el estereomicroscopio*



**Realizado por:** Autoras (2023)

#### **2.3.2.4 Mosca de la fruta en cultivos de guayaba**

Según estudios realizados por (Vilatuña et al., 2016) en AGROCALIDAD pudieron determinar que las moscas de la fruta son una de las plagas más importantes dentro de las especies frutales, puesto que generan grandes consecuencias a nivel económico. Una vez que

estos insectos atacan a los frutos, se alojan al interior del pericarpio convirtiéndolo en un producto no aprovechable. Es por esto que AGROCALIDAD implantó un Proyecto Nacional de Manejo de Moscas de la Fruta (PNMMF) aplicable en 17 provincias del Ecuador, con el objetivo de mitigar las poblaciones de estos insectos patógenos e incentivar la exportación de productos (Vilatuña et al., 2016).

De forma general estos patógenos atacan aquellos frutos que tienen un pericarpio blando, lugar propicio donde la mosca hembra puede depositar los huevos y completar su desarrollo biológico (Arévalo et al., 2018). Los hospederos que poseen un mayor número de ciclos de fructificación son más vulnerables a la invasión de estos insectos plaga (Zart, 2008).

#### **2.3.2.5 Daños que provoca la mosca de la fruta en la guayaba**

Esta plaga es considerada como un insecto carpófago<sup>3</sup>, el cual se alimenta de frutos, causando daños en los mismos, ya que produce oxidación, pudrición del fruto y maduración temprana, de tal manera que afecta a su comercialización causando pérdida económica en los sectores frutícolas (Leiva, 2012a)

#### **2.3.3 Insecticidas químicos**

Según Chirinos et al. (2019) los insecticidas químicos representan el 27% de los plaguicidas los cuales son considerados peligrosos ya que tienen un alto porcentaje de toxicidad el cual afecta a los humanos y al ambiente. Son empleados para el manejo de insectos invasores de cultivos agrícolas y a su vez son portadoras de enfermedades, se encuentran en diferentes presentaciones entre los más comunes están: polvos humectables, gases, soluciones oleosas, concentrados emulsionables, aerosoles entre otros (Chirinos et al., 2019).

Los insecticidas químicos poseen aspectos negativos ya que son perjudiciales para la salud humana causando enfermedades, atacan tanto a insectos malos como a los beneficiosos,

---

<sup>3</sup> Los insectos carpófagos son aquellos que se alimentan de los frutos (Barioglio, 2006)

contaminan el ambiente ya que estos al ser aplicados se esparcen de diferentes maneras: aire, suelo, agua (gruposacsa, 2016).

### **2.3.3.1 Insecticidas comunes para atacar la mosca de la fruta**

La industria de productos agrícolas ha formulado diversos tipos de insecticidas, donde la mayoría son eficaces para combatir a la mosca de la fruta, esto se debe a que el patógeno es muy susceptible a los químicos, sin embargo, los productos permitidos para combatir al patógeno son el spinosad GF 120 y el malathion (N. Gutiérrez, 2014a).

El insecticida spinosad GF 120 ha sido autorizado dado que contiene un 0.2% de Spinosad (E. Gómez, 2014) y además, no genera un gran impacto en insectos que no son blanco como otros productos (Cisneros et al., 2002; Williams et al., 2003, como se citó en Gómez, 2014). Así también, el malathion ha sido usado ampliamente en el sector agrícola por ser de fácil manejo y producir un impacto ambiental mínimo (CESVO, 2015).

### **2.3.4 Control biológico**

El control biológico es un método en cual se aplican principios ecológicos para el control de plagas agrícolas permitiendo obtener productos libres de residuos tóxicos, a su vez ayuda a minimizar el impacto negativo al ambiente y a organismos que se encuentren en el entorno natural (Partida, 2014), de igual manera el control biológico de los patógenos que atacan a las especies vegetales son vistas como un impacto de tipo adverso hacia los cultivos que son atacados por estos agentes de tipo externo (Morin, 2020).

Los enemigos naturales utilizados como antagonistas dentro del control de plagas, es una técnica que ha sido apreciada desde hace cientos de años atrás, lo que conlleva a un Manejo Integrado de Plagas (MIP), con el uso de recursos naturales, logrando mantener así un equilibrio en términos de ecología y economía. Uno de los pilares fundamentales del MIP es el control biológico, siendo la clave para entender cómo funciona el MIP (Naranjo et al., 2015).

Dentro del control biológico se han utilizado diversos recursos naturales que permiten lograr un resultado óptimo como los agentes fúngicos, los mismos que han demostrado tener una respuesta favorable después de su aplicación en los cultivos. Debido a que se encuentran en el suelo de manera natural, su extracción y aislamiento se considera una tarea sencilla de realizar. *-Beauveria bassiana-* y *-Metarhizium anisopliae-* son hongos con capacidades entomopatógenas más importantes para insectos del tipo díptero (Murtaza et al., 2022).

### **2.3.5 Hongos entomopatógenos**

Los hongos entomopatógenos conforman un grupo de microorganismos que forman parte del control biológico frente a plagas a su vez también aportan a los sistemas agroecológicos, estos hongos forman parte de un numeroso grupo que contiene alrededor de 750 especies que se encuentran dispersas en el ambiente causando daños a nivel fúngico a diferentes familias de artrópodos (Delgado & Murcia-Ordoñez, 2011), dentro de los género más importantes de los hongos capaces de causar enfermedades a insectos plaga se pueden citar: *-Metarhizium-*, *-Beauveria-*, *-Paecilomyces-*, *-Verticillium-*, *-Rhizopus-* y *-Fusarium-* (Nari et al., 2003).

Según lo que establece Urra, (2015) “los hongos entomopatógenos combaten a insectos de diferentes grupos como son *-Coleoptera-*, *-Lepidoptera-*, *-Diptera-*, *-Hymenoptera-*, *-Hemiptera-* y *-Orthoptera-*” (Urra, 2015). Así mismo los hongos *-Beauveria bassiana-* y *-Metarhizium-* son capaces de atacar a diferentes especies de insectos de forma específica (Bugeme et al., 2009).

#### **2.3.5.1 Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos**

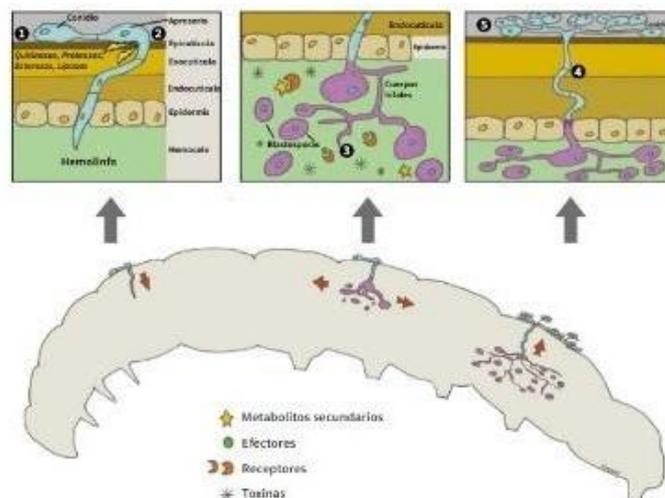
Según Sinha et al., (2016) la mayoría de los hongos que infectan a los insectos tienen un modo de acción por contacto. La respuesta adaptativa en los patógenos incluye la formación de estructuras infectivas, enzimas extracelulares (proteasa y lipasa) y producción de toxinas, que en última instancia matan a los insectos plaga (Sinha et al., 2016).

Los insectos se infectan cuando las esporas del hongo se adhieren a la cutícula del insecto. El hongo germina al recibir señales de la superficie de la cutícula. Los tubos germinativos producen una serie de enzimas que degradan la cutícula (Pucheta Díaz et al., 2006).

La función combinada de las enzimas y la presión mecánica de los tubos germinativos rompen la cutícula y, en cuanto las hifas fúngicas alcanzan la hemolinfa<sup>4</sup>, se producen blastosporas<sup>5</sup> que se dispersan por el organismo del insecto, la muerte se produce por el agotamiento de nutrientes, la toxicidad relacionada con el hongo, la interrupción del sistema circulatorio y la alteración de órganos, tras la muerte, emergen hifas fúngicas que pueden permanecer en tejidos altos del cuerpo del insecto y esporular de nuevo cuando las condiciones ambientales lo permiten, las nuevas conidias aéreas se dispersan entonces en el ambiente por el aire o el agua (Mantzoukas et al., 2022).

### Figura 5

*Infección del patógeno por invasión del hongo entomopatógeno*



**Nota:** Imagen obtenida de Intagri (s. f.)

<sup>4</sup> Es el líquido que circula en el organismo de ciertos invertebrados, tiene la función de transportar nutrientes, oxígeno y hormonas (Lozano, 2005).

<sup>5</sup> Son esporas de origen tóxico, producidas por ciertos hongos para atacar insectos patógenos (Solis-Soto et al., 2006).

### 2.3.5.2 Respuesta de insectos plaga frente a los hongos entomopatógenos

Tras la infección, los insectos activan una serie de respuestas inmunitarias que se distinguen entre humorales y celulares en cuanto a su modo de acción. La primera consiste en la activación de la fagocitosis, el encapsulamiento o la nodulación de los patógenos, mientras que la segunda estimula la producción de péptidos antimicrobianos (AMP) o desencadena la melanización y la coagulación en el hospedador. Las vías de señalización inmunitaria se activan al reconocer los rasgos moleculares del patógeno (hongo) activa las respuestas celular y humoral en los insectos hospedadores e induce su muerte (Zhang et al., 2017).

El contacto directo de los conidios con el insecto, la penetración, la infección de la hemolinfa y la muerte final constituyen pasos sucesivos que presuponen una serie de procesos metabólicos y químicos, la tasa de mortalidad depende de la cepa fúngica, la interacción hospedador-patógeno, la especificidad del hongo para el hospedador y otros factores (Mantzoukas & Grammatikopoulos, 2020). El proceso de infección por un hongo también manifiesta varios síntomas que generan cambios en el comportamiento y los parámetros de crecimiento del insecto hasta su muerte final y marcadores morfológicos de infección (Vega & Blackwell, 2005).

### 2.3.5.3 -*Beauveria bassiana*-

Este hongo pertenece a la clase Deuteromycetes, crece de forma natural en los suelos, posee un aspecto polvoriento de color amarillento cremoso o blanco, según (Castillo et al., 2012)“presenta células conidiógenas globosas a sub-globosas (2-3 x 2.0-2.5  $\mu\text{m}$ ) con un cuello muy corto, las estructuras conidiógenas forman grandes grupos conidióforos apiñados formando sinnemas<sup>6</sup>” (Castillo et al., 2012); tiene la capacidad de atacar a más de 200 especies de insectos(Chiriboga et al., 2015), es uno de los agentes más importantes dentro del control biológico en el sector agrícola.

---

<sup>6</sup> Aglomeración de varios conidióforos que forman estructuras en forma de filas (Madrid et al., 2017).

### 2.3.5.3.1 Clasificación Taxonómica

**Tabla 6**

*Clasificación taxonómica de -Beauveria bassiana-*

<b>Reino</b>	<b>Fungi</b>
<b>División</b>	Ascomycota
<b>Clase</b>	Sordariomycetes
<b>Orden</b>	Hypocreales
<b>Familia</b>	Clavicipitaceae
<b>Género</b>	<i>-Beauveria-</i>
<b>Especie</b>	<i>-bassiana-</i>

**Fuente:** Elaboración propia a partir de (Noboa & Quelal, 2015)

### 2.3.5.3.2 Morfología

#### Características macroscópicas

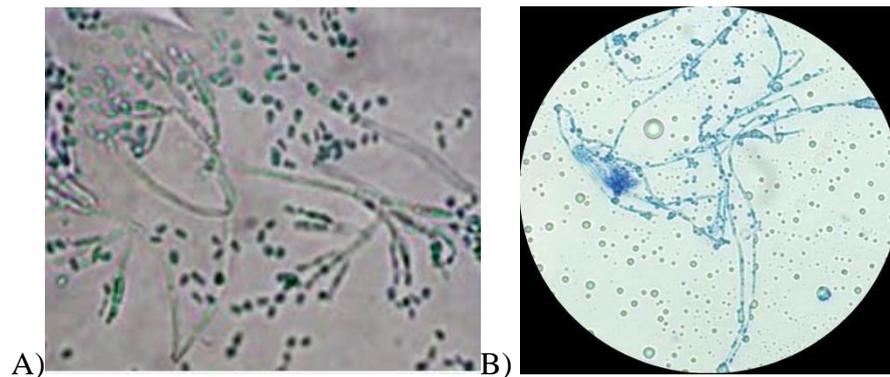
Según lo estudiado por Fianna, (2012) al cabo de 14 días posterior a la siembra en medio PDA, las colonias de *B. bassiana* tienen apariencia polvosa, algodonada y blanca, pero con el paso de los días se tornan de color amarillo pastoso (Fianna, 2012). Por otro lado García et al., (2011) argumenta que dicha apariencia se debe a la presencia de numerosos conidios lo que le otorga una textura suave. El tamaño de las colonias puede variar según su desarrollo, generalmente se encuentra en una escala de 0.6 a 2.3 cm de diámetro (García et al., 2011)

#### Características microscópicas

A lo largo del tiempo se han realizado diversos aislamientos de esporas de *B. bassiana* en donde se han podido analizar ciertos aspectos a nivel microscópico que son propios de este hongo. Castillo et al., (2012) expone que las esporas “se caracterizaron por ser globosas, hialinas y lisas; con células conidióforas anchas en la parte basal, con un raquis en forma de “zigzag” de donde emergen las esporas” (Castillo et al., 2012).

#### Figura 6

*Características microscópicas de -Beauveria bassiana-*



**Nota:** A) Conidias y conidióforos de *B. bassiana* (Zambrano et al., 2013). B) Observación microscópica de *B. bassiana* por autoras (2023)

**Fuente:** (Zambrano et al., 2013) y Autoras (2023)

### 2.3.5.3.3 Modo de acción

El mecanismo de acción de *B. bassiana* se da en 6 fases:

1. **Adhesión:** es la primera unión que se da entre el hongo y el patógeno, el hongo deposita sus esporas sobre la cutícula del insecto que va a infectar(Intagri, s. f.).
2. **Germinación:** una vez que el conidio entra en contacto con el insecto, éste despliega un tubo de tipo germinativo y un órgano apresorio, mismo que le otorgará la capacidad de fijación al patógeno. La fase de germinación ocurre bajo condiciones determinadas de humedad relativa a un 92 % y a una temperatura que oscila entre 23 y 25 °C(Intagri, s. f.).
3. **Penetración:** se da a partir de procesos físicos que incluye la generación de una tensión en la capa más externa del insecto plaga, y mediante procesos químicos donde actúan enzimas como la quitina, lipasa y la proteasa. Es así como el hongo penetra el insecto atravesando sus zonas más blandas(Intagri, s. f.).
4. **Producción de toxinas:** al interior del insecto el hongo forma ramificaciones e invade todos los rincones en el organismo del patógeno para producir componentes tóxicos

como la Beauvericina que vulnera el sistema inmunitario favoreciendo el ingreso del hongo a los tejidos. Además, segregan otras toxinas como: beauverolides, beauvericin, bassianolide, ácido oxálico, isarolides, bassianina y pigmentos de tenellina que poseen cualidades similares a los pesticidas e impiden que el organismo del patógeno atraviese las estructuras invasoras del hongo(Intagri, s. f.).

5. **Muerte del insecto:** en esta fase culmina la etapa de parasitación e inicia la etapa saprofítica(Intagri, s. f.).
6. **Multiplicación y crecimiento:** seguido de la muerte del patógeno, el hongo inicia la multiplicación de hifas de tipo infectivas las mismas que se desarrollan de forma sincronizada e ingresan al resto de tejidos, resistiendo la descomposición del insecto gracias a los antibióticos que produce. Finalmente, el desarrollo del hongo sobre patógeno se sujeta a factores como la humedad relativa, de lo contrario el insecto mantiene un aspecto de momia (Intagri, s. f.).

#### 2.3.5.4 -*Metarhizium spp*-

Este hongo forma parte de los Sordariomycetes, posee la capacidad de infectar a los insectos, a esta enfermedad se le denomina como la muscardina verde, este hongo a su vez transporta nitrógeno a través de las raíces, siendo un nutriente fundamental para las plantas, este elemento es obtenido a partir de la parasitación de los insectos, también activa el sistema natural de defensa de las plantas alterando los porcentajes de sales minerales presentes (L. J. H. Gutiérrez & Guerrero, 2015).

##### 2.3.5.4.1 Clasificación Taxonómica

**Tabla 7**

*Clasificación taxonómica de -Metarhizium spp-*

<b>Reino</b>	<b>Fungi</b>
<b>Filo</b>	Ascomycota

<b>Clase</b>	Sordariomycetes
<b>Orden</b>	Hipocreales
<b>Familia</b>	Clavicipitaceae
<b>Género</b>	<i>-Metarhizium-</i>
<b>Especie</b>	<i>-M. spp -</i>

**Fuente:** Elaboración propia a partir de (Britto et al., 2016)

#### **2.3.5.4.2 Morfología**

##### **Características macroscópicas**

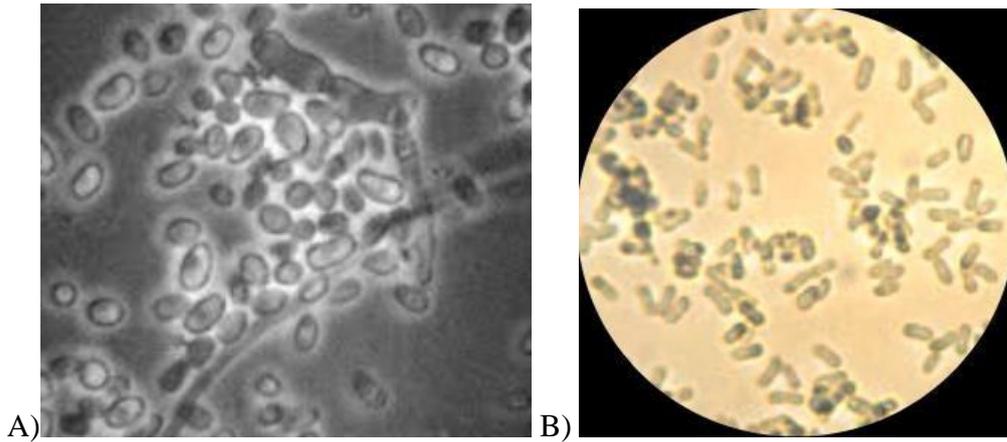
Las colonias de *-Metarhizium spp-* presentan diversas tonalidades de verde claro y verde oscuro como consecuencia de la maduración y el desarrollo de los conidios, así también poseen una apariencia lanosa, su textura es inconstante y su superficie es llana (García et al., 2011).

##### **Características microscópicas**

El borde de sus conidios presenta forma circular lisa, algunos se encuentran aglomerados en secuencias de forma regular por la adición y extensión de sus conidios, el tamaño va desde 5.2 - 7.7 x 1.4 - 3.1  $\mu\text{m}$  (García et al., 2011).

#### **Figura 7**

*Características microscópicas de -Metarhizium spp-*



**Nota:** A) Conidios de *-Metarhizium spp-* (Altamirano, 2021) B) Observación microscópica de *-Metarhizium spp-* por autoras (2023)

Fuente: (Altamirano, 2021) y Autoras (2023)

#### **2.3.5.4.3 Modo de acción**

El hongo ataca al insecto por medio de sus esporas mitóticas cuando estas entran en contacto con el cuerpo del insecto huésped, para que el hongo logre penetrar se necesita que el mismo germine de tal manera que produzca gran cantidad de enzimas hidrolíticas las cuales son las encargadas de degradar la cutícula del insecto, una vez que el hongo ingreso al interior del insecto éste se desarrolla de manera que infecta al insecto provocando su muerte después de algunos días (Pavone, 2021) .

## CAPÍTULO 3

### MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1 Nivel de investigación

La presente investigación posee un nivel de investigación de tipo experimental y de orden cuantitativo, en el cual se abordarán e interpretarán los resultados obtenidos durante la fase de desarrollo de la investigación, dando a conocer los efectos positivos que tiene la aplicación de hongos entomopatógenos *-Beauveria bassiana-* y *-Metarhizium spp-* frente a las pupas de la mosca de la fruta. Además, se aplicarán varios modelos estadísticos los mismos que proporcionarán información veraz sobre la efectividad que posee cada uno de los hongos entomopatógenos estudiados en el biocontrol.

#### 3.2 Diseño de investigación

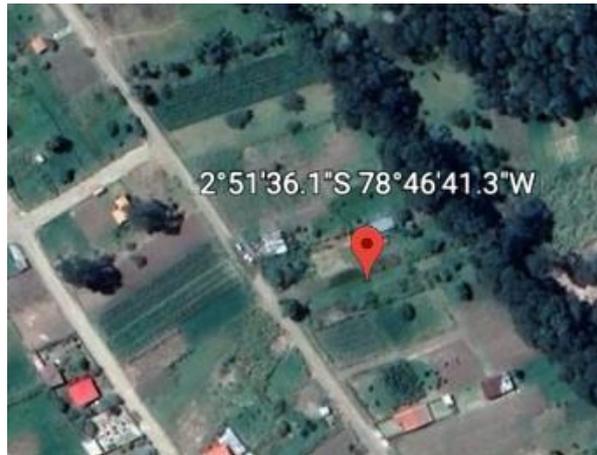
La investigación planteada se desarrolla bajo la siguiente metodología:

##### 3.2.1 Crianza de las pupas

Como punto de partida se recolectó frutos de *Psidium friedrichsthalianum L.* con larvas en su interior causadas por el patógeno en la parroquia el Cabo sector la Estancia. A continuación se estableció un entorno propicio en cajas plásticas a las mismas que fueron adicionadas 10 cm de suelo del sector El Cabo, donde fueron depositados los frutos y cubiertos por una malla fina que permitía el paso de oxígeno, se almacenaron durante 1 mes controlando factores como la humedad y manteniendo una temperatura de  $20 \pm 5$  °C donde se llevó a cabo la metamorfosis de las moscas llegando a su estado adulto en el cual ovipositan sus huevos al interior del fruto, permitiendo obtener un mayor número de larvas y por ende un mayor número de pupas.

#### Figura 8

*Ubicación de la parroquia El Cabo*



**Nota:** Imagen obtenida de Google Earth (2023)

### 3.2.2 Selección de pupas

Una vez transcurridos 20 días desde la fecha de almacenamiento de los frutos, se procedió a tamizar el suelo, de tal manera que facilitó la recolección de pupas. La selección de pupas se basó en su tonalidad, siendo el color beige un indicador del estado inmaduro de la pupa, del mismo modo el color marrón indica que la pupa ha llegado a su estado de madurez (Gómez, 2006).

### 3.2.3 Identificación de la mosca de la fruta

Para la identificación de moscas de la fruta que se encontraban en los cultivos de guayaba del presente estudio se basó la guía técnica “Guía de campo para el reconocimiento de moscas de la fruta del género *Anastrepha*” que recopila las características claves para poder identificar la especie determinada, conjuntamente con la ayuda de un entomólogo.

Para llevar a cabo este procedimiento se seleccionaron 10 moscas adultas al azar del criadero principal, partiendo con la observación del insecto en un estereomicroscopio dentro de los laboratorios de Ciencias de la Vida en la Universidad Politécnica Salesiana. Este microscopio permite obtener imágenes tridimensionales de la mosca, con lo cual se pudieron diferenciar estructuras claves del cuerpo como: alas, cabeza, tórax y ovopositor, permitiéndonos determinar que se trató de un género *Anastrepha* especie *-oblicua-*.

### 3.2.4 Cultivo de hongos

#### **-*Beauveria bassiana*-**

La obtención de este hongo se basó en el protocolo aplicado por Rojas, (2019), como punto de partida se empleó una cepa de la empresa de biotecnología Biology Works, posteriormente se llevó a cabo el aislamiento a través de una siembra de forma directa en un medio de Agar Papa Dextrosa, el mismo que fue llevado a incubación a una temperatura de  $25 \pm 2$  °C durante 7 días, donde se llevará a cabo el desarrollo para su identificación.

Finalizado este periodo y, a partir de este medio de cultivo se realizaron dos siembras más de tal manera que nos permita obtener un cultivo puro, estos cultivos puros fueron conservados en agua estéril y Tween 80 al 0.1 % para la aplicación de las posteriores pruebas. A continuación, se procedió a realizar la identificación del hongo, esto es posible gracias a las pruebas macroscópicas y microscópicas. En cuanto a las pruebas microscópicas se utilizaron láminas con azul de lactofenol, que nos permite observar características como: su forma, tamaño y distribución de los conidios, por otro lado, para realizar las pruebas de forma macroscópica se analizaron las tonalidades y cambios de coloración tanto a nivel posterior y anterior.

#### **-*Metarhizium spp*-**

Para la obtención de este hongo se partió de una cepa de *-Metarhizium spp-* misma que fue obtenida de la “Bolsa de Productos”, a continuación, fue sembrada en cajas Petri en un medio PDA para ser incubadas a  $27 \pm 2$  grados Celsius por 10 días, finalizado este periodo se realizó dos aislamientos adicionales para obtener un hongo más puro y se procedió a identificar el hongo en el microscopio.

Para determinar la especie del hongo analizado se planteó identificar las características microscópicas propuestas por Arias et al., (2020) “ hifas septadas, ramificadas, hialinas, conidióforos individuales ampliamente ramificados y de longitud variable”. Además, se

estudiaron las características macroscópicas como el color que varía entre tonalidades de verde claro y oscuro por la presencia de conidios en estado de maduración, también sobresalen características como su textura de algodón y su superficie plana (García et al., 2011).

### 3.2.5 Concentración de esporas

Según Chiriboga et al., (2015) la cámara de Neubauer posee dos retículos uno en la parte superior y otro en la parte inferior, cada uno tiene nueve cuadrados de 1 mm al cuadrado cada uno, de manera que cada retículo tiene un total de 9 mm al cuadrado. El cuadrado que se encuentra en el centro está subdividido en 25 cuadrantes, y este a su vez en 16 cuadrantes más pequeños.

El recuento de las esporas se determina sumando los 25 cuadrantes centrales de la cámara de Neubauer.

#### 3.2.5.1 Determinación del factor de la cámara de Neubauer:

$$\text{Volumen} = \text{ancho} \times \text{largo} \times \text{profundidad}$$

$$\text{Volumen} = 1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm} \times 0,1 \text{ mm}$$

$$\text{Volumen} = 0,1 \text{ mm}^3 (\text{volumen del cuadrante donde se realiza el conteo de esporas})$$

El resultado de la cantidad de esporas se adquiere en ml, por consiguiente, se realiza la conversión de  $\text{mm}^3$  a  $\mu\text{l}$ :

$$\begin{array}{r} 1 \text{ ml} \text{ ---} \\ x \text{ ---} \\ \hline 10^3 \text{ mm}^3 \\ 0,1 \text{ mm}^3 \times 10^3 \text{ mm}^3 \\ = 0,1 \times 10^3 \\ x = 10^{-1} \times 10^{-3} = 10^4 \mu\text{l} \quad (\text{factor de la cámara}) \end{array}$$

A continuación, se aplica la siguiente fórmula para la concentración de esporas:

$$C = N \times \text{dilución empleada} \times \text{factor de cámara}$$

Donde:

$$N = \text{número promedio de esporas}$$

$$C = \text{concentración a conocer}$$

### 3.2.6 Elaboración de los biocontroles

**Biocontrol a partir de *Beauveria bassiana***

Para formular el biocontrol se ejecutó una metodología propuesta por Rojas, (2019) para ello se preparó una suspensión de esporas partiendo de los cultivos puros, donde se efectuó un raspado de la parte superior del cultivo para obtener esporas, las mismas que fueron suspendidas en agua destilada en una concentración del 0,02 % de Tween 80, las concentraciones fueron determinadas mediante el conteo de esporas en la cámara de Neubauer. Finalmente se formularon las diluciones en agua destilada estéril, obteniendo concentraciones de  $1 \times 10^5/\text{ml}$ ,  $1 \times 10^7/\text{ml}$  y  $1 \times 10^9/\text{ml}$  a partir de la siguiente fórmula:

$$C = N \times \text{dilución empleada} \times \text{factor de cámara}$$

$$C = 50 \times 0,2 \mu\text{l} \times 10^4 \mu\text{l} = 1 \times 10^5$$

$$C = 50 \times 20 \mu\text{l} \times 10^4 \mu\text{l} = 1 \times 10^7$$

$$C = 50 \times 2000 \mu\text{l} \times 10^4 \mu\text{l} = 1 \times 10^9$$

#### **Biocontrol a partir de *-Metarhizium spp.-***

Guiándonos en la metodología propuesta por Valle et al., (2021) se obtienen los conidios realizando una manipulación de forma aséptica de la parte superior de las cajas de Petri que fueron incubadas durante 20 días, para ello se cubren las cajas con 10 mL de agua destilada estéril y Tween 80 de 0,1% , luego se realiza un raspado con la ayuda de un asa de siembra en las zonas donde hay presencia de esporas. A continuación, se filtra la suspensión que contiene los conidios empleando un papel filtro para descartar los micelios. Una vez obtenida la suspensión pura de conidios se da vórtex por 10 minutos.

Para calcular la concentración de conidios se utilizó la cámara de Neubauer, donde finalmente se formularon soluciones con agua destilada en concentraciones de  $1 \times 10^5/\text{ml}$ ,  $1 \times 10^7/\text{ml}$  y  $1 \times 10^9/\text{ml}$ .

$$C = N \times \text{dilución empleada} \times \text{factor de cámara}$$

$$C = 50 \times 0,2 \mu\text{l} \times 10^4 \mu\text{l} = 1 \times 10^5$$

$$C = 50 \times 20 \mu\text{l} \times 10^4 \mu\text{l} = 1 \times 10^7$$

$$C = 50 \times 2000 \mu\text{l} \times 10^4 \mu\text{l} = 1 \times 10^9$$

### 3.2.7 Patogenicidad de los hongos frente a pupas de la mosca de la fruta

Para determinar la patogenicidad de los hongos entomopatógenos frente a las pupas de la mosca de la fruta, se trabajó con 32 tratamientos, siendo 8 de ellos testigos (t) y 24 de tipo experimental, 12 de los tratamientos experimentales fueron tratados con *-Beauveria bassiana-* a concentraciones de  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^7$  y  $1 \times 10^9$ , mientras los 12 restantes fueron tratados con *-Metarhizium spp-* a concentraciones de  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^7$  y  $1 \times 10^9$ , en los testigos no se aplicaron biocontroles, puesto que estos sirvieron como tratamientos de referencia, este procedimiento se realizó por cuatro veces de maneras completamente diferentes para obtener datos más precisos de la efectividad de los biocontroles.

**Tabla 8**

*Tratamiento Beauveria bassiana , número de repeticiones, concentración de esporas y número de pupas*

Tratamiento	Número de repeticiones	Concentración del biocontrol	Número de pupas
<b>T0</b>			
<b>T1</b>	4	Testigo (agua)	10
<b>T2</b>	4	$1 \times 10^5$	10
<b>T3</b>	4	$1 \times 10^7$	10
<b>T4</b>	4	$1 \times 10^9$	10

**Fuente:** Autores (2023)

**Tabla 9**

*Tratamiento -Metarhizium spp.- , número de repeticiones, concentración de esporas y número de pupas*

Tratamiento	Número de repeticiones	Concentración del biocontrol	Número de pupas
<b>T0</b>			
<b>T1</b>	4	Testigo (agua)	10
<b>T2</b>	4	$1 \times 10^5$	10
<b>T3</b>	4	$1 \times 10^7$	10

---

<b>T4</b>	4	1x10 <sup>9</sup>	10
-----------	---	-------------------	----

---

**Fuente:** Autores (2023)

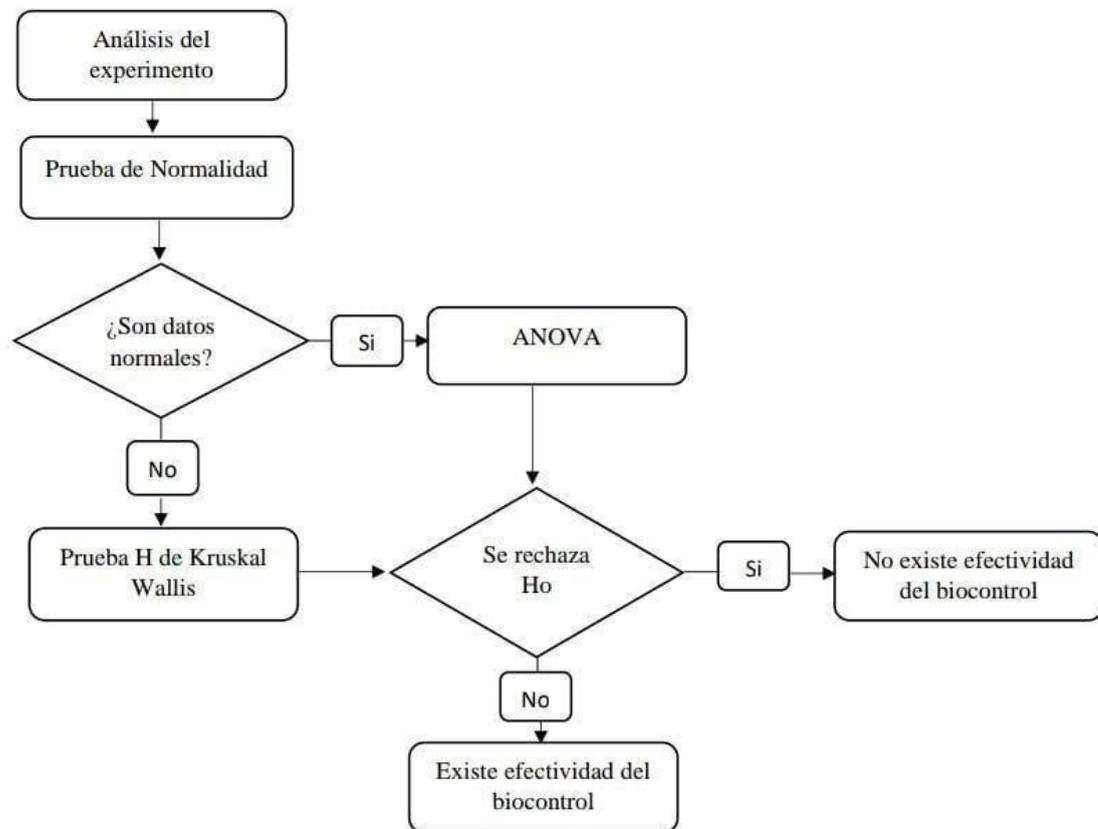
Los biocontroles fueron aplicados mediante aspersión en cada tratamiento, se realizaron observaciones periódicas durante 20 días, registrando los datos obtenidos sobre la mortalidad de las moscas de la fruta ante la invasión de los hongos contenidos en los biocontroles y comparando dichos datos con los registrados en los testigos que carecen del bioinsumo formulado.

### **3.3 Diseño experimental**

De acuerdo a la información obtenida se determinó seguir un esquema para el análisis estadístico basándose en el siguiente flujograma:

#### **Figura 9**

*Flujograma del diseño estadístico*



**Fuente:** Autores (2023)

### 3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Para el desarrollo de esta investigación se utilizó una técnica de inducción y deducción fundamentada en estudios ya realizados por otros autores (Osorio-Fajardo & Canal, 2011), este experimento fue llevado a cabo a nivel de laboratorio de la Universidad Politécnica Salesiana donde se trabajó con tres concentraciones diferentes de cada hongo ( $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^9$ ).

Para seleccionar los instrumentos que serán empleados para la recolección de datos, se partió de revisiones bibliográficas, revistas, artículos científicos, tesis, manuales científicos e investigaciones con relación a la presente investigación. Los datos obtenidos en la fase experimental fueron registrados en una matriz de datos, de la misma manera se tomaron fotos

de la parte experimental como evidencia de la investigación, el conjunto de los datos recolectados nos ayudó para aplicar los análisis estadísticos empleando métodos como: Shapiro Wilks, Wilcox y Kruskal en el software R studio.

### **3.5 Variables**

#### **-Variables dependientes:**

- Número de pupas que sobrevivieron a los tratamientos.

#### **-Variables independientes:**

- Concentración de esporas de cada biocontrolador.
- Aplicación a diferentes concentraciones de biocontrolador en los respectivos tratamientos.

#### **-Variables intervinientes**

- Temperatura

### **3.6 Métodos empleados en el manejo estadístico de datos**

Los datos generados en la fase experimental fueron registrados en una matriz en Excel para su posterior análisis estadístico, en donde se usaron métodos estadísticos como: Shapiro Wilks que permitió determinar la normalidad de la investigación, Wilcoxon se aplica para comparar las medias de una distribución no normal y Kruskal-Wallis en el software R studio, para determinar si la información obtenida es estadísticamente normal se realizó un test de Shapiro Wilks. Con dicho resultado establecido se pudo optar por un método paramétrico o en su defecto no paramétrico. Para el caso de métodos paramétricos se pone en marcha la técnica de análisis de varianza ANOVA y para los métodos no paramétricos se aplica el método Kruskal-Wallis.

### **3.7 Técnicas de procesamiento y análisis de datos**

Se propuso un diseño acorde a la información obtenida siguiendo el diagrama propuesto en la Figura 9, este esquema fue planteado para determinar la eficiencia de cada biocontrol aplicados en las pupas de la mosca de la fruta.

Los datos recabados de la investigación son el resultado de los 32 tratamientos con 4 repeticiones diferentes de cada tipo y concentración de hongo. Los datos se han agrupado en el método estadístico Kruskal-Wallis el cual recolecta información obtenida de la matriz ya generada previniendo factores de ruido.

## CAPÍTULO 4

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Obtención de *-Beauveria bassiana-*

El hongo *-Beauveria bassiana-* se obtuvo al cabo de 21 días, ya que se realizaron 3 resiembras para obtener un mayor porcentaje de pureza del hongo, el tiempo de cada siembra fue de 7 días, en cada cultivo se observó que transcurrido los 5 días de estar en la cámara de crecimiento a una temperatura de  $25 \pm 2$  °C se formaron colonias con apariencias de color blanco cremoso, se puede considerar que *B. bassiana* posee un crecimiento rápido ya que al séptimo día se observó el crecimiento del hongo a nivel de toda la caja Petri, facilitando realizar el conteo de esporas y continuar con la elaboración del biocontrol, las características en cuanto al crecimiento del hongo observadas dentro de este experimento concordó con lo dicho por (Bermeo, 2022).

#### 4.2 Obtención de *-Metarhizium spp-*

Su obtención se realizó al cabo de 24 días ya que previamente fueron sembrados tres veces, con la finalidad de obtener cultivos más puros, en cada uno se pudo analizar que transcurrido un periodo de 5 días en la cámara de crecimiento en condiciones de temperatura de  $25 \pm 2$  °C, formaron colonias de color verde con aspecto algodonoso y una superficie plana como lo mencionó (Valle-Ramírez et al., 2022). Las condiciones en las que se proliferó el hongo no coinciden con los datos propuestos por (García et al., 2011) en el que señala que los días de crecimiento de las colonias fueron a partir del día 10 a una temperatura de 20°C.

#### 4.3 Obtención de pupas de la mosca de la fruta

Como punto de partida se recolectaron frutos de guayaba contaminadas encontrándose larvas en las mismas, causadas por el patógeno, estos frutos fueron almacenados en un entorno propicio similar al de su hábitat natural a nivel de campo, al transcurso de 20 días se procedió

a la recolección de pupas en estado maduro, siendo un indicador de ello su coloración marrón o café oscuro como lo señaló Gómez, (2006).

#### 4.4 Identificación de la mosca de la fruta

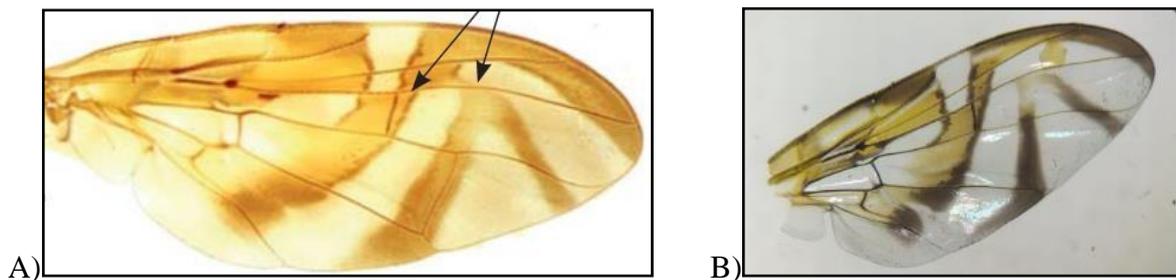
Como punto de partida se tomaron 10 insectos adultos al azar del criadero de moscas de la fruta, para determinar que la especie estudiada pertenecía al género *Anastrepha obliqua*- se procedió a observar en el estereomicroscopio, se hicieron tomas de cada una de las partes más diferenciadas del patógeno como: tórax, alas y ovopositor, y se llevaron a cabo las comparaciones pertinentes según la guía técnica “Guía de campo para el reconocimiento de moscas de la fruta del género *Anastrepha*-”.

##### Comparación de alas:

Según la guía de reconocimiento elaborada por López et al., (2010), las alas poseen una coloración amarilla y café oscuro, sus bandas Costal, S y V se encuentran unidas. Con la observación propia llevada a cabo se pudo constatar que las características de las moscas tanto del atlas como las que fueron tomadas para el estudio coincidieron.

#### Figura 10

*Comparación de las alas mediante la guía de reconocimiento y foto del autor*



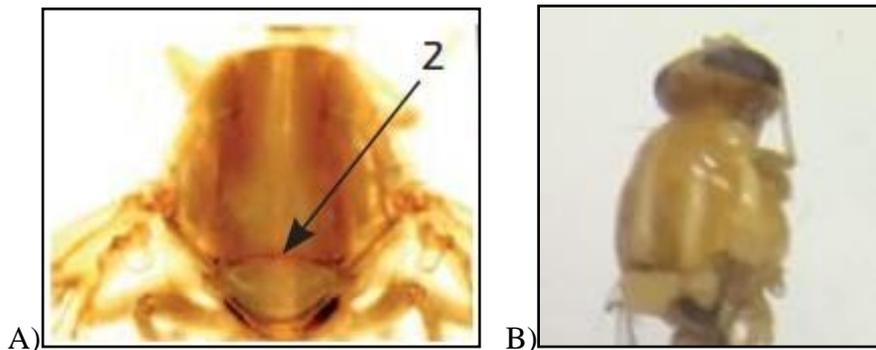
**Nota:** A) Imagen tomada de la guía de reconocimiento (López et al., 2010). B) Imagen tomada por las autoras.

##### Comparación de tórax:

Empleando la guía de reconocimiento se puede establecer comparaciones con mosca observada en el estereomicroscopio, y podemos argumentar que en las dos tomas poseen líneas de color cremas y amarillas como se puede observar en la Figura 11.

### Figura 11

*Comparación del tórax mediante la guía de reconocimiento y foto del autor*



**Nota:** A) Imagen tomada de la guía de reconocimiento (López et al., 2010). B) Imagen tomada por las autoras.

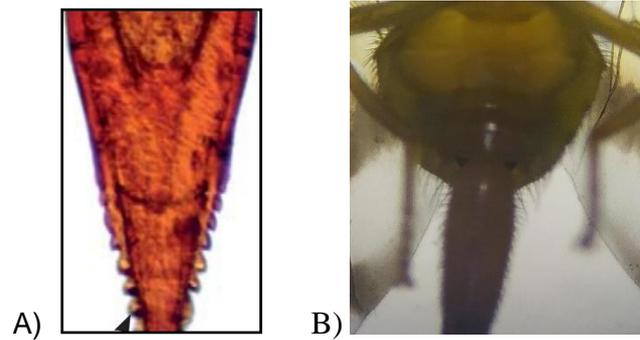
Fuente: (López et al., 2010) y Autoras (2023)

### Comparación del ovipositor:

En la guía de López et al., (2010) se manifiesta y observa que el ovipositor tiene una longitud de 1.4 - 1.7 mm y este es más largo que su abdomen, además se encuentra provisto de dientes grandes y finos, así también con la vista que obtuvimos del microscopio se pudo evidenciar que el ovipositor posee finos dientes y que sus características mencionadas son las mismas que las observadas.

### Figura 12

*Comparación del ovipositor mediante la guía de reconocimiento y foto del autor*



**Nota:** A) Imagen tomada de la guía de reconocimiento (López et al., 2010). B) Imagen tomada por las autoras.

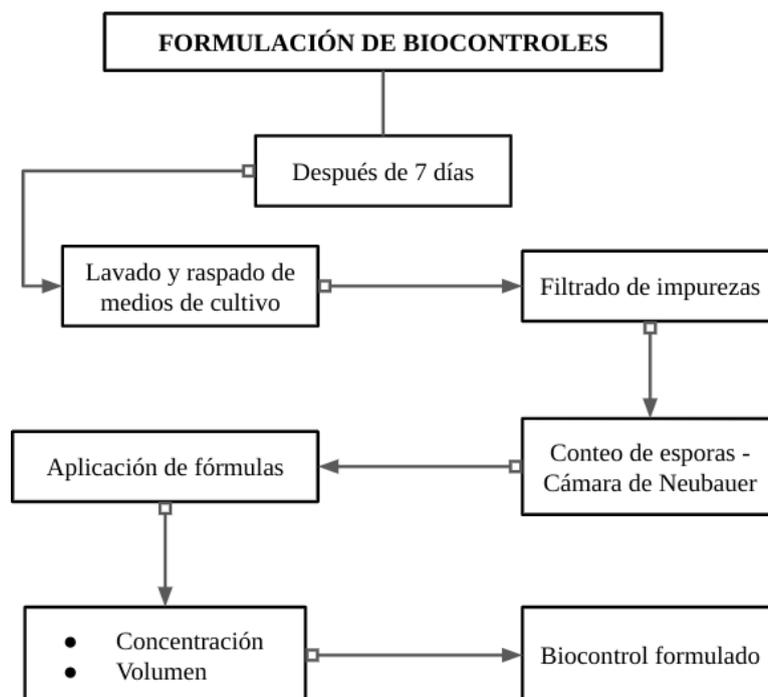
**Fuente:** (López et al., 2010) y Autoras (2023)

#### 4.5 Formulación de los biocontroles

Los biocontroles fueron formulados a partir de los hongos entomopatógenos mediante el conteo de esporas de los mismos en la cámara de Neubauer con su respectiva dilución, así mismo se consideró el factor de cámara para obtener las concentraciones propuestas en el estudio.

#### Figura 13

*Esquema de formulación de los biocontroles descritas en el punto 3.2.3*



**Nota:** Formulación de biocontroles descrito en el punto 3.2.3

**Realizado por:** Autoras (2023)

$$C = N \times \text{dilución empleada} \times \text{factor de cámara}$$

$$N = 50 \times 0,2 \mu\text{l} \times 10^4 \mu\text{l} = 1 \times 10^5$$

$$N = 50 \times 20 \mu\text{l} \times 10^4 \mu\text{l} = 1 \times 10^7$$

$$N = 50 \times 2000 \mu\text{l} \times 10^4 \mu\text{l} = 1 \times 10^9$$

#### 4.6 Determinación de la efectividad de los biocontroles

Para establecer la efectividad del biocontrol frente al patógeno se aplicó los biocontroles formulados en los 32 tratamientos que contenían las pupas de *-Anastrepha obliqua-*, al cabo de 20 días se observaron tanto los testigos como los tratamientos, siendo los testigos un punto referencial puesto que en este se completó el periodo de metamorfosis mientras que en los tratamientos se hizo visible la acción de los hongos ya que no todas las pupas eclosionaron.

Seguidamente se expone la matriz de datos tomados durante la fase de experimentación:

**Tabla 10**

*Matriz de datos recopilados en la fase experimental de la aplicación de los biocontroles a diferentes concentraciones.*

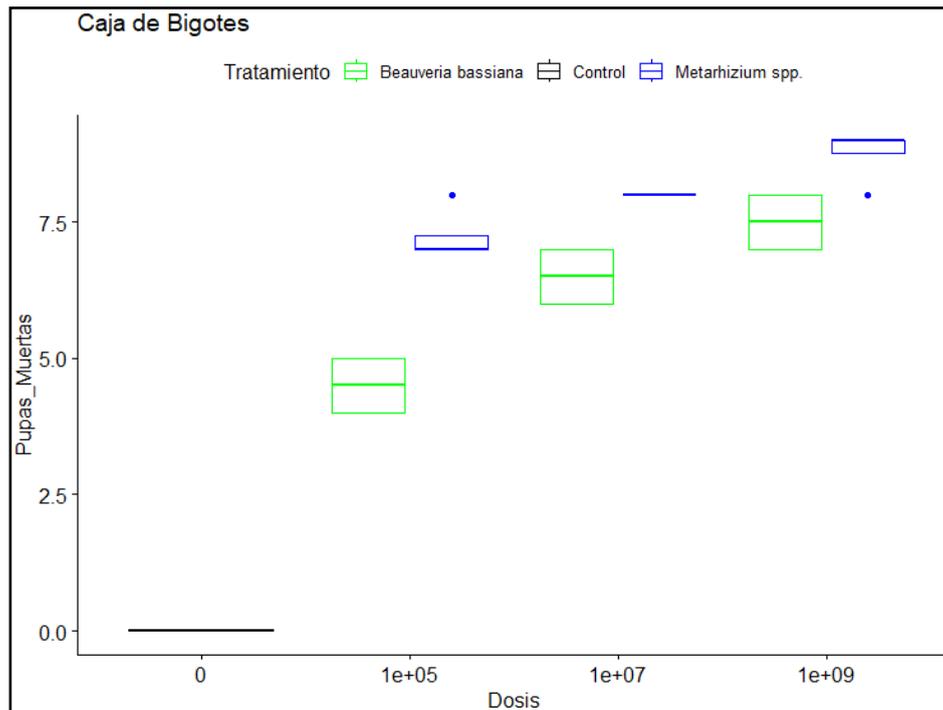
	HONGO	CONCENTRACION DEL BIOCONTROL	NUMERO INICIAL DE PUPAS	NUMERO DE PUPAS MUERTAS	NUMERO DE MOSCAS	TEMPERATURA	Tiempo total de estudio
<b>TESTIGO 1</b>	NINGUNO	NINGUNO	10	0	10	20°C+- 5°C	15-
<b>APLICACION 1</b>	<i>-Beauveria bassiana-</i>	1*10 <sup>5</sup>	10	5	5	20°C+- 5°C	20días
		1*10 <sup>7</sup>	10	7	3		
		1*10 <sup>9</sup>	10	8	2		
<b>TESTIGO 2</b>	NINGUNO	NINGUNO	10	0	10	20°C+- 5°C	15-
<b>APLICACION 2</b>	<i>-Beauveria bassiana-</i>	1*10 <sup>5</sup>	10	4	6	20°C+- 5°C	20días
		1*10 <sup>7</sup>	10	7	3		
		1*10 <sup>9</sup>	10	8	2		
<b>TESTIGO A3</b>	NINGUNO	NINGUNO	10	0	10	20°C+- 5°C	15-20días

<b>APLICACION 3</b>	-	1*10 <sup>5</sup>	10	5	5	20°C+- 5°C	15-20días		
	<i>Beauveria bassiana-</i>	1*10 <sup>7</sup>	10	6	4				
		1*10 <sup>9</sup>	10	7	3				
<b>TESTIGO A4</b>	NINGUNO	NINGUNO	10	0	10				
<b>APLICACION 4</b>	<i>-Beauveria bassiana-</i>	1*10 <sup>5</sup>	10	4	6				
		1*10 <sup>7</sup>	10	6	4				
		1*10 <sup>9</sup>	10	7	3				
<b>TESTIGO A1</b>	NINGUNO	NINGUNO	10	0	10			20°C+- 5°C	15-20días
<b>APLICACION 1</b>	-	1*10 <sup>5</sup>	10	7	3			20°C+- 5°C	15-20días
	<i>Metarhizium spp-</i>	1*10 <sup>7</sup>	10	8	2				
		1*10 <sup>9</sup>	10	8	2				
<b>TESTIGO A2</b>	NINGUNO	NINGUNO	10	0	10				
<b>APLICACION 2</b>	-	1*10 <sup>5</sup>	10	8	2	20°C+- 5°C	15-20días		
	<i>Metarhizium spp-</i>	1*10 <sup>7</sup>	10	8	2				
		1*10 <sup>9</sup>	10	9	1				
<b>TESTIGO A3</b>	NINGUNO	NINGUNO	10	0	10				
<b>APLICACION 3</b>	-	1*10 <sup>5</sup>	10	7	3				
	<i>Metarhizium spp-</i>	1*10 <sup>7</sup>	10	8	2				
		1*10 <sup>9</sup>	10	9	1				
<b>TESTIGO A4</b>	NINGUNO	NINGUNO	10	0	10				
<b>APLICACION 4</b>	-	1*10 <sup>5</sup>	10	7	3			20°C+- 5°C	15-20días
	<i>Metarhizium spp-</i>	1*10 <sup>7</sup>	10	8	2				
		1*10 <sup>9</sup>	10	9	1				

Para el análisis de los datos de la matriz obtenida durante la fase de experimentación, se procedió a realizar un diagrama de caja de bigotes o box plot, en el cual se determinó que existe una natalidad del 100% de pupas en el testigo en el cual no se aplicó ningún tratamiento, de la misma manera se pudo observar en primera instancia que el hongo *-Metarhizium spp-* tiene mayor efectividad que *-Beauveria bassiana-* para el control de pupas, para lo cual se emplearon índices y así confirmar las hipótesis preliminares.

#### Figura 14

*Ilustración de caja de bigotes de los resultados.*



**Fuente:** Autoras (2023)

#### 4.6.1 Análisis de normalidad

Se aplicó un test de Shapiro Wilks para verificar si los datos obtenidos dentro del estudio cumplen con el parámetro de normalidad.

Para el estudio de normalidad se propone las siguientes hipótesis:

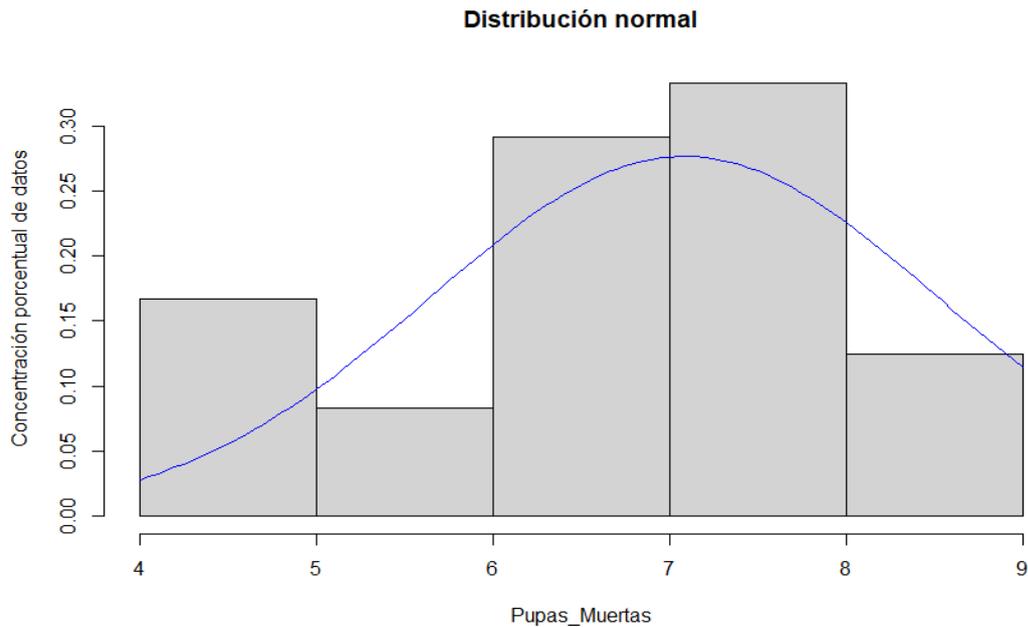
- Ho: representa una distribución normal
- H1: representa una distribución no normal

Se utilizó un 95% de confiabilidad, lo cual determinó una distribución normal, los resultados obtenidos indicaron un valor  $p = 0.01185$  cuando no se considera el grupo de control y un valor  $p = 2.889 e^{-05}$  cuando se considera el grupo de control, mismos que son inferiores a 0.05, por ende se considera una distribución estadísticamente no normal como lo dictaminó nuestra hipótesis alternativa (Porrás, 2016; Herrera et al., 2012, como se citó en Vélez, 2022).

Este resultado fue respaldado mediante un análisis visual, empleando los gráficos en el siguiente diagrama de barras en el que se mostró la curva de distribución normal ajustado a los resultados obtenidos de los datos de las pupas muertas.

### Figura 15

*Análisis de normalidad omitiendo los testigos*



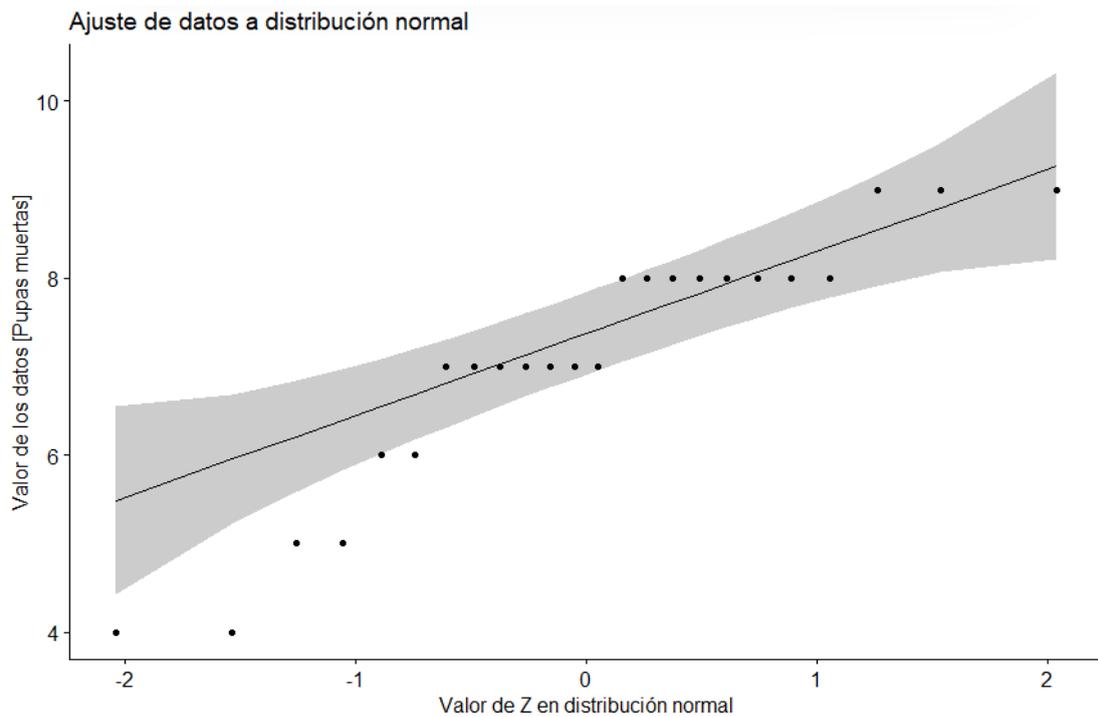
**Nota:** Esta gráfica se obtuvo eliminando los testigos

**Fuente:** Autoras(2023)

En la Fig. 16 se analizó la gráfica de ajuste de datos de pupas muertas a la concentración de valores esperados en una distribución normal con un nivel de confianza del 95%.

### Figura 16

*Ajuste de datos a distribución normal omitiendo los testigos*



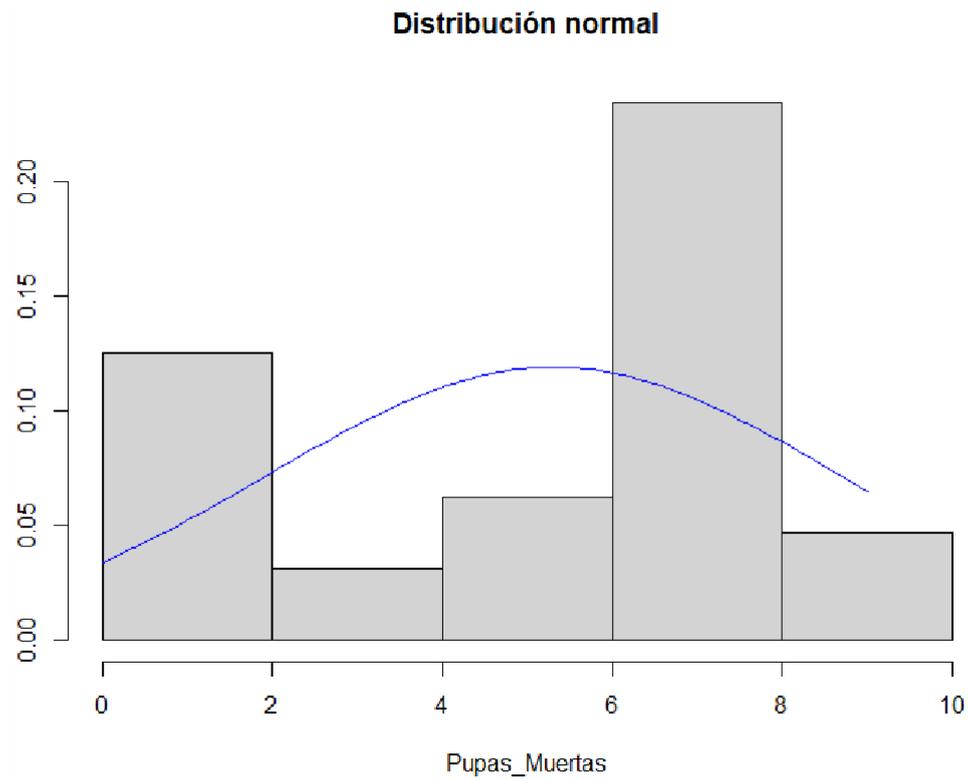
**Nota:** Esta gráfica se obtuvo eliminando los testigos

**Fuente:** Autoras (2023)

En la Fig. 17 se observó que los datos obtenidos no son normales, no obstante, existen técnicas para intentar corregir este comportamiento, es decir, ajustar estos datos de una distribución no normal a una distribución normal; este proceso no es el enfoque del presente trabajo, por lo que se procede al utilizar test aplicados a muestras con distribución no normal.

### **Figura 17**

*Distribución normal considerando los testigos*

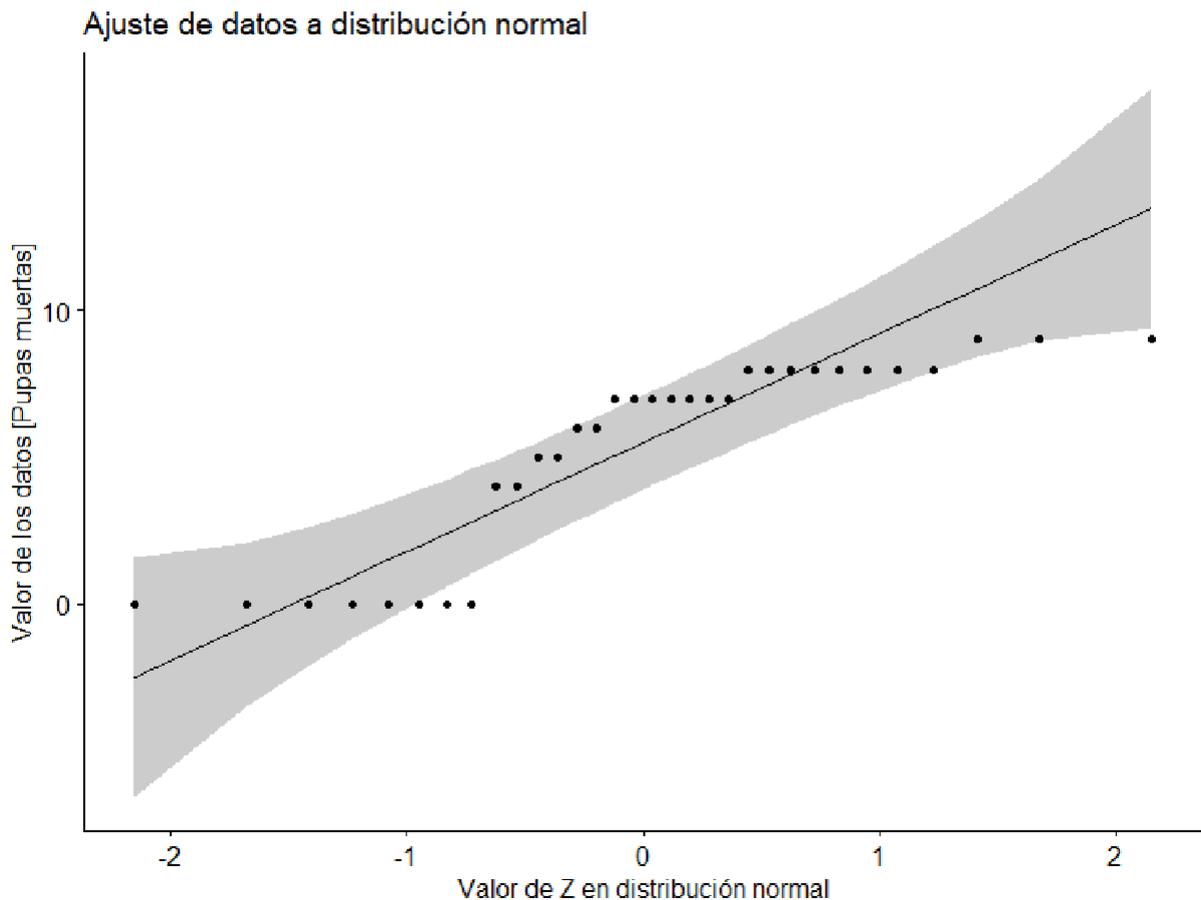


**Nota:** Para la realización de esta gráfica se consideraron los testigos.

**Fuente:** Autoras (2023)

**Figura 18**

*Ajuste de datos a distribución normal considerando los testigos*



**Nota:** Para la realización de esta gráfica se consideraron los testigos.

**Fuente:** Autoras

#### 4.6.2 Kruskal Walls

Al no evidenciar normalidad en nuestros datos, se procedió a realizar la efectividad del hongo mediante un test de Kruskal Walls de varios factores para determinar la efectividad de los biocontroles frente a las pupas. Para ello se planteó las siguientes hipótesis:

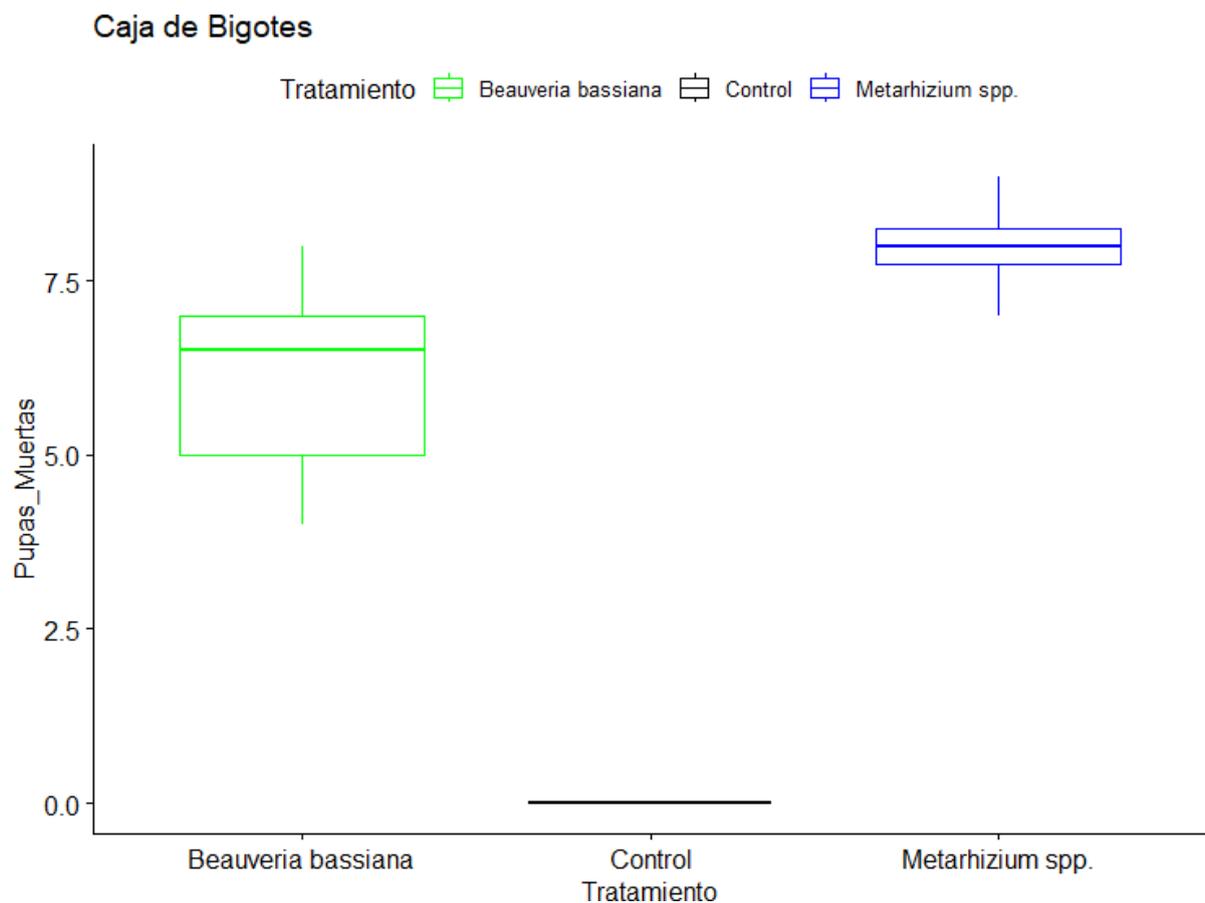
- $H_0$ : la información obtenida muestra medias de tratamientos iguales.
- $H_1$ : la información obtenida no representa similitud entre las medias de los tratamientos.

Cabe mencionar que, para el proceso descrito, anteriormente se fundamentó en un nivel del 95% de confianza.

Para el análisis de las efectividades de los biocontroles se utilizó el método Kruskal Walls, en este caso no es importante considerar los testigos ya que completan su ciclo de vida al 100% debido a que no fue aplicado ningún tipo de biocontrol por ende cumplen su natalidad al 100%, siendo así que el valor de  $P= 6.165e-06$ , sin embargo se consideró que la información obtenida no representa similitud entre las medias de los tratamientos como lo dictaminó nuestra hipótesis alternativa; es decir existe diferencia entre los tratamientos empleados sin considerar las dosis aplicadas pudiendo concluir que el hongo *-Metarhizium spp-* independientemente de la concentración empleada tiene un mejor desempeño que *-Beauveria bassiana-*.

**Figura 19**

*Ilustración de caja de bigotes*

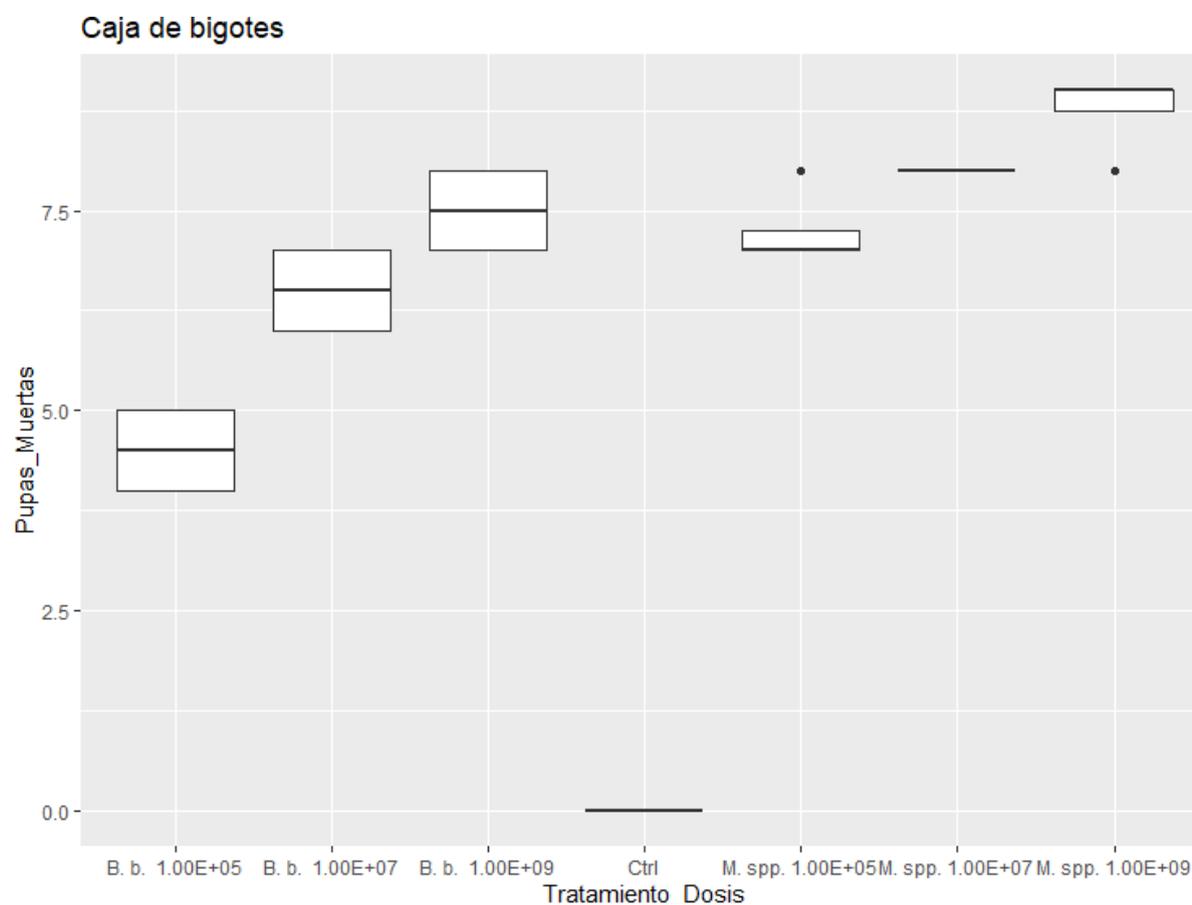


**Fuente:** Autoras (2023)

Al emplear la misma métrica que en el caso anterior, se procedió a comparar las dosis empleadas en cada una de los tratamientos, es decir se verificó si existen diferencias entre las dosis de los diferentes hongos, es así que al realizar el test de Kruskal Walls se obtuvieron  $P = 5.396 e^{-05}$  y  $P = 0.001308$ , esto al realizar los tests considerando los grupos de control y sin considerar el grupo de control respectivamente, lo cual puede respaldarse con las imágenes a continuación, al igual que en el caso anterior se puede concluir que existen diferencias entre los diferentes tratamientos a diferentes dosis, por lo tanto se acepta la hipótesis alternativa.

**Figura 20**

*Test de Kruskal Walls representadas mediante gráficas de caja de bigotes*

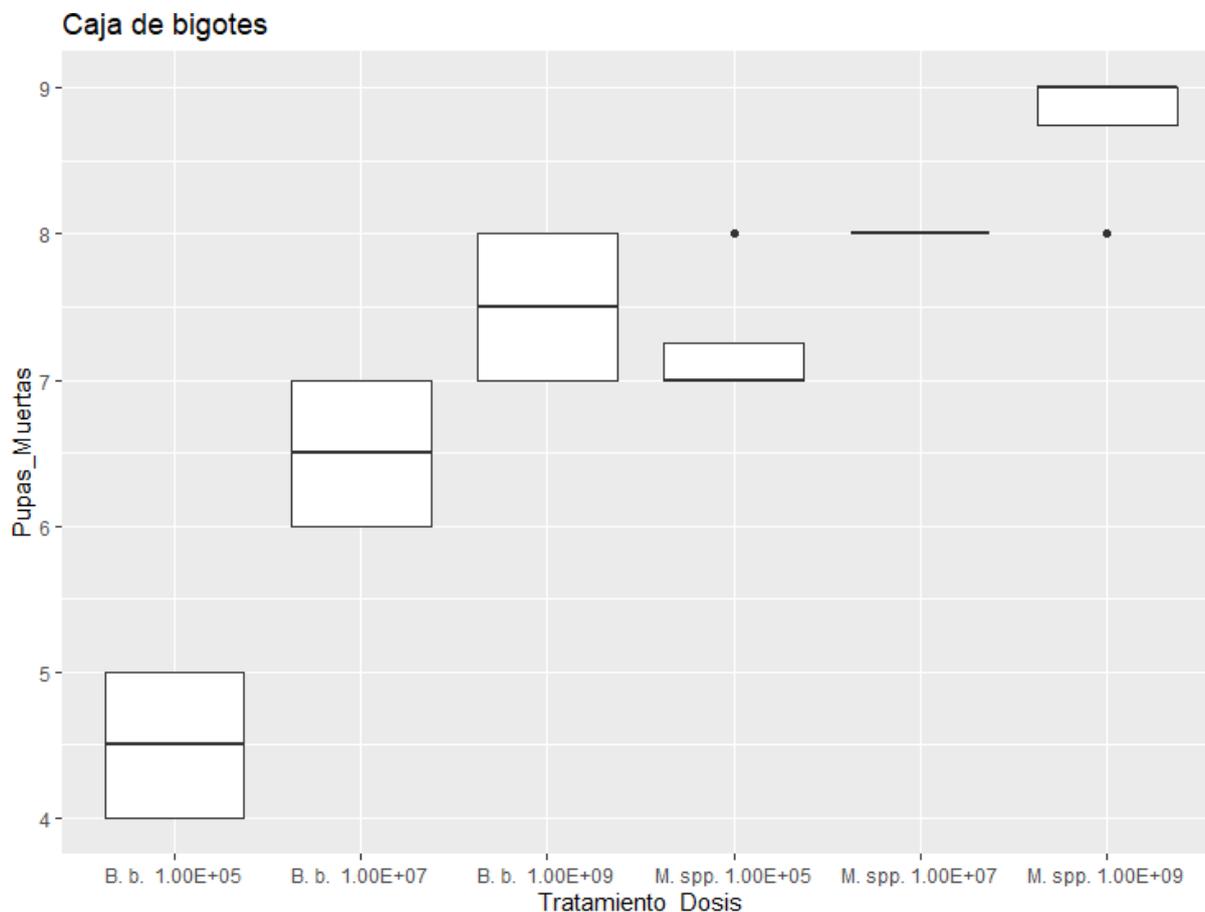


**Nota:** Para la realización de esta gráfica se consideraron los testigos.

**Fuente:** Autoras (2023)

**Figura 21**

Test de Kruskal Walls representadas mediante gráficas de caja de bigotes



**Nota:** Para la realización de esta gráfica se omiten los testigos.

**Fuente:** Autoras (2023)

#### 4.6.3 Interpretación de resultados

Primero se realizó un test de normalidad tanto con ausencia y presencia del testigo (Ver en Fig. 15, Fig.16, Fig. 17 y Fig. 18), en el que se evidenció que los datos no son normales, al no evidenciar normalidad se realizó un test de Kruskal Walls (Ver figura 19), en el cual pudimos observar que no existió similitud entre las medias de los tratamientos, es decir existió diferencias entre los tratamientos empleados sin considerar la dosis aplicada; pudiendo concluir que el hongo *-Metarhizium spp-* ataca de mejor manera al patógeno que *-Beauveria bassiana-*. A continuación, se realizó otro test de Kruskal Walls para comparar las dosis empleadas de

los diferentes tratamientos, es decir si existieron diferencias entre las dosis, concluyendo que existen diferencias entre los diferentes tratamientos a diferentes dosis (Verse en figura 20).

## CAPÍTULO 5

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

Con la presente investigación se planteó determinar la efectividad de los biocontroles obtenidos a partir de los hongos entomopatógenos *-Beauveria bassiana-* y *-Metarhizium spp.-* frente a las pupas de la mosca de la fruta en *-Psidium friedrichsthalianum L.-*, con lo cual se pudo concluir que es una excelente alternativa para el control de la misma, además de ser sustentable y sostenible con el ambiente y la salud humana.

Por otro lado, se pudo evidenciar en cuanto a las dosificaciones aplicadas en los tratamientos a partir de los hongos entomopatógenos en ambos casos, que la concentración  $1 \times 10^9$  fue la que más inhibió el crecimiento del patógeno demostrando ser la más efectiva para combatir a la mosca de la fruta en guayaba.

Finalmente, en base a análisis estadísticos aplicados se determinó la efectividad de *-Beauveria bassiana-* en un 61.66 % y *-Metarhizium spp-* con un 80% de frente a la mosca de la fruta, teniendo como resultado que el hongo *-Metarhizium spp-* es más eficiente ya que inhibe el desarrollo de un mayor número de pupas.

#### 5.2 Recomendaciones

- Realizar investigaciones previas acerca de los temas que se abordan en el presente estudio, con el objetivo de aplicar una metodología adecuada dependiendo el campo de estudio y por ende alcanzados resultados confiables.
- Se recomienda realizar los medios de cultivos de los hongos en tubos de ensayo para reducir el índice de contaminación y obtener una mayor concentración de esporas.
- Se sugiere realizar un esquema donde se incluyan los diferentes métodos estadísticos para elegir el test más acorde de acuerdo a los datos obtenidos en la investigación y así lograr un resultado confiable.

- Se propone llevar a cabo más repeticiones de la aplicación de los biocontroles para generar más información en cuanto al número de datos y obtener un resultado más fidedigno.

,

## BIBLIOGRAFÍA

- agroactivo. (2021, agosto 11). CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS Y ENFERMEDADES. *Agroactivo*. <https://agroactivocol.com/manejo-integrado-y-preventivo-de-plagas/control-biologico-de-plagas-y-enfermedades/>
- Altamirano, E. (2021). *Microencapsulación de conidios de Metarhizium anisopliae mediante secado por aspersión y gelificación iónica* [Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano]. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/697f3696-7f47-4ec8-8a21-a4fbaaf3129a/content>
- Aluja, M. (1993). *Manejo integrado de la mosca de la fruta* (Google Books; p. 251). [https://etrillas.mx/libro/manejo-integrado-de-la-mosca-de-la-fruta\\_5049](https://etrillas.mx/libro/manejo-integrado-de-la-mosca-de-la-fruta_5049)
- Antonio Yam Tzec, J., Villaseñor Perea, C. A., Romantchik Kriuchkova, E., Soto Escobar, M., & Peña Peralta, M. Á. (2010). Una revisión sobre la importancia del fruto de Guayaba (*Psidium guajava* L.) y sus principales características en la postcosecha. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 19(4), 74-82.
- Arévalo, R. E. A., Morales, D. M. M., & Troya, I. H. (2018). —VALIDACIÓN DE TRAMPAS CASERAS Y ATRAYENTES NATURALES PARA EL MANEJO INTEGRADO DE MOSCA DE LA FRUTA EN LA PARROQUIA EL TAMBOI. <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/21557/1/Roberth%20Estuardo%20Ar%C3%A9valo%20Mar%C3%ADn.pdf>
- Arias, L. J. C., Cárdenas, H. C. M., Pardey, A. E. B., & Villa, G. A. S. (2020). *Identificación morfológica y molecular de aislamientos del género Metarhizium, aislados de insectos plaga de la palma de aceite en Colombia*.
- Arias, M., & Jines, A. (2004). *Características morfológicas para identificar adultos de mosca de la fruta de importancia económica en el Litoral ecuatoriano*. <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/2045/1/iniaplsbt94.pdf>
- Barciela, P. (2018, febrero 7). *Un modelo de organismo: La mosca de la fruta*. Un modelo de organismo: la mosca de la fruta.

[https://www.lavozdegalicia.es/noticia/lavozdelaescuela/2018/02/07/modelo-organismo-mosca-fruta/0003\\_201802SE7P7991.htm](https://www.lavozdegalicia.es/noticia/lavozdelaescuela/2018/02/07/modelo-organismo-mosca-fruta/0003_201802SE7P7991.htm)

Barioglio, C. F. (2006). *Diccionario de Las Ciencias Agropecuarias*. Editorial Brujas.

Basantes, M. (2021). "DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DEL GÉNERO *Anastrepha* EN LA PROVINCIA DE COTOPAXI" [Universidad Técnica de Cotopaxi].

<http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/7629/1/MUTC-000924.pdf>

Bermeo, D. (2022). "Determinación de la actividad entomopatógena del hongo *Beauveria Bassiana* (Bals.) Vuill. Sobre el gusano blanco de la papa (*Premnotypes Vorax* H.)".

Black, E. P., Hinrichs, G. J., Barcay, S. J., & Gardner, D. B. (2018). Fruit Flies as Potential Vectors of Foodborne Illness. *Journal of Food Protection*, 81(3), 509-514.

<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-255>

boletinagrario.com. (2023, enero 28). *ESPIRÁCULO - ¿Qué es espiráculo? - Significado, definición, traducción y sinónimos para espiráculo*. boletinagrario.com;

boletinagrario.com. <https://boletinagrario.com/ap-6,espiraculo,397.html>

Britto, L., Ramos Katherine, & Simanca, I. (2016). *Hongos Entomopatogenos*.

<https://es.slideshare.net/adrianasandon/ya-libro-hongos-entomopatogenos>

Bueno, L. N., Santos, R. G., Guarín, G., & León, G. (2004). Moscas de las frutas (Díptera: Tephritidae) y parasitoides asociados con *Psidium guajava* L. y *Coffea arabica* L. en tres municipios de la Provincia de Vélez (Santander, Colombia). Parte 1: Índices de infestación y daño por moscas de las frutas (Díptera: Tephritidae). *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 5(1), 5-12.

Bugeme, D. M., Maniania, N. K., Knapp, M., & Boga, H. I. (2009). Effect of temperature on virulence of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates to *Tetranychus evansi*. En J. Bruin & L. P. S. van der Geest (Eds.), *Diseases of Mites and Ticks* (pp. 275-285). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9695-2\\_22](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9695-2_22)

Canacuán Nasamuez, D. E., & Carabalí-Muñoz, A. (2016). *Strepsicrates smithiana*

(Walsingham, 1891), enrollador de hojas de *Psidium guajava*. Identificación, daño y ciclo biológico. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 16(2), 279-292.

[https://doi.org/10.21930/rcta.vol16\\_num2\\_art:373](https://doi.org/10.21930/rcta.vol16_num2_art:373)

- Cano, E., Carballo, M., Chaput, P., Fernández, O., Gonzáles, L., Gruber, A., Guharay, F., Hildago, E., Narváez, C., López, J. A., Rizo, C., Rodríguez, A., Rodríguez, C., & Salazar, D. (2004). *CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS AGRÍCOLAS* (1.ª ed.). [https://www.ciaorganico.net/documypublic/525\\_CONTROL\\_BIOLÓGICO\\_DE\\_PLAGAS\\_AGRÍCOLAS.pdf](https://www.ciaorganico.net/documypublic/525_CONTROL_BIOLÓGICO_DE_PLAGAS_AGRÍCOLAS.pdf)
- Carabali Muñoz, A., Canacuan, D., Burbano, O., & Pulido Blanco, V. (2015). *Insectos Plagas de importancia económica en el cultivo de la guayaba y sus estrategias de control Bogotá, Colombia 2015*.
- Cardenas, J. V. T. (s. f.). *Agente de Extensión Agraria*.
- Castillo, C. E., Cañizalez, L. M., Valera, R., Godoy, C., Guedez, C., Olivar, R., & Morillo, S. (2012). *CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE BEAUVERIA BASSIANA, AISLADA DE DIFERENTES INSECTOS EN TRUJILLO - VENEZUELA MORPHOLOGICAL CHARACTERISATION OF BEAUVERIA BASSIANA ISOLATES FROM DIFFERENT INSECTS IN TRUJILLO STATE, VENEZUELA*.
- CESVO. (2015). *Campaña contra moscas nativas de la fruta*. Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Oaxaca. <https://www.cesvo.org.mx/contra-mosca-nativa-fruta/control-quimico.html>
- Chiriboga, H., Gómez, G., & Garcés, K. (2015). *BEAUVERIA BASSIANA, HONGO ENTOMOPATOGENO PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE HORMIGAS CORTADORAS*. <https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2646/BVE17038724e.pdf>
- Chirinos, D. T., Castro, R., Cun, J., Castro, J., Peñarrieta Bravo, S., Solís, L., & Geraud-Pouey, F. (2019). Los insecticidas y el control de plagas agrícolas: La magnitud de su uso en cultivos de algunas provincias de Ecuador: la magnitud de su uso en cultivos de algunas provincias de Ecuador. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 21(1), 1-16. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol21\\_num1\\_art:1276](https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num1_art:1276)
- Cueva, F. D. (2012). El control biológico como estrategia para apoyar las exportaciones

- agrícolas no tradicionales en Perú: Un análisis empírico. *Contabilidad y Negocios*, 7(14), 81-100.
- del Puerto Rodríguez, A. M., Suárez Tamayo, S., & Palacio Estrada, D. E. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 372-387.
- Delgado, P. A. M., & Murcia-Ordoñez, B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 6(2), 77-90. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.187>
- Devine, G. J., Eza, D., Ogusuku, E., & Furlong, M. J. (2008). USO DE INSECTICIDAS: CONTEXTO Y CONSECUENCIAS ECOLÓGICAS. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.*, 27.
- Díaz, M. P., & Macías, A. F. (2006). *MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS*. 31.
- Dughetti, A. (2022). *CLAVE PARA IDENTIFICAR LAS FORMAS ÁPTERAS QUE ATACAN A LOS CEREALES*.
- FAO. (2022). *Una técnica nuclear evita una emergencia por la mosca de las frutas en México*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/fao-stories/article/es/c/1539688/>
- Fernández, E. B. (2015). *Revisión bibliográfica MEJORAMIENTO GENÉTICO DE GUAYABO (Psidium guajava L.)*. 36.
- Fianna, J. (2012). *INOCULACIÓN Y ESTABLECIMIENTO ENDOFÍTICO DE CEPAS DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae Y Lecanicillium lecanii EN PLANTAS DE FRÍJOL (Phaseolus vulgaris)*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.13603.66083>
- French, V. P., Karen Montiel, James. (2014, junio 14). *La innovación en la agricultura: Un proceso clave para el desarrollo sostenible*. Engormix. <https://www.engormix.com/agricultura/articulos/innovacion-agricultura-proceso-clave-t31215.htm>

- Ganchozo, E. (2015). *EFICACIA DE DIFERENTES ATRAYENTES ALIMENTICIOS PARA LA CAPTURA DE MOSCAS DE LA FRUTA (Diptera: Tephritidae) EN EL CULTIVO DE NARANJA (Citrus sinensis L.) EN LA ZONA DE QUINSALOMA*.  
<https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/1269/6/T-UTEQ-0017.pdf>
- García, C. (2008, septiembre 23). *Bioinsecticidas*. Bioinsecticidas.  
<https://www.fps.org.mx/portal/index.php/notas/544-bioinsecticidas>
- García, F. R. M., & Ricalde, M. P. (2013). Augmentative Biological Control Using Parasitoids for Fruit Fly Management in Brazil. *Insects*, 4(1), Art. 1.  
<https://doi.org/10.3390/insects4010055>
- García, M. A. G., García, S. C., Gordillo, J. M. L., & Martínez, R. F. M. (2011). Aislamiento y caracterización morfológica de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *metarhizium anisopliae*. *HORIZONTE SANITARIO*, 10.
- Geoinnova, A. (2019, febrero 13). *Control biológico, alternativa ecológica para la gestión de plagas*. Geoinnova. <https://geoinnova.org/blog-territorio/control-biologico-alternativa-ecologica-para-la-gestion-de-plagas/>
- Gómez, E. (2014). *Impacto del cebo tóxico GF-120 NF Naturalyte (Spinosad) sobre abejas sin aguijón y Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae)* [El Colegio de la Frontera Sur].  
[https://ecosur.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1017/1750/1/100000053410\\_documento.pdf](https://ecosur.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1017/1750/1/100000053410_documento.pdf)
- Gomez, H. (2006). *Las moscas de la fruta*. Produmedios.
- Gómez, H. M. (2005). *Moscas de la fruta.pdf*. Instituto Colombiano Agropecuario ICA.
- gruposacsa. (2016, junio 26). Desventajas que tiene el uso de pesticidas Químicos. *Grupo SACSA*. <https://www.gruposacsa.com.mx/desventajas-que-tiene-el-uso-de-pesticidas-quimicos/>
- Guayaba de Monte (Psidium friedrichsthalianum)*. (s. f.). iNaturalist Panamá. Recuperado 14 de enero de 2023, de <https://panama.inaturalist.org/taxa/278243-Psidium-friedrichsthalianum>
- Gutiérrez, J. (2003). *Importancia de la familia Tephritidae en la fruticultura*.

- Gutierrez, L. J. H., & Guerrero, I. E. P. (2015). Localización del hongo *Metarhizium* spp. En su asociación con la planta *Sorghum vulgare*. *JÓVENES EN LA CIENCIA*, 1(2), Art. 2.
- Gutierrez, N. (2014a). *Control de moscas de la fruta | Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural*. Agricultura y Desarrollo Rural. <https://sader.jalisco.gob.mx/fomento-agricola-hortofruticola-e-inocuidad/600>
- Gutierrez, N. (2014b). *Gallina ciega: Plaga que afecta las raíces de las plantas | Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural*. <https://sader.jalisco.gob.mx/fomento-agricola-hortofruticola-e-inocuidad/613>
- Hernández, A. F., Parrón, T., & Alarcón, R. (2011). Pesticides and asthma. *Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology*, 11(2), 90-96.  
<https://doi.org/10.1097/ACI.0b013e3283445939>
- Intagri. (s. f.). *Los Entomopatógenos, Control Biológico de Plagas*. Recuperado 20 de noviembre de 2022, de <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/los-entomopatogenos-control-biologico-de-plagas>
- Larriva, W., & León, F. (2019). PARASITOIDES ASOCIADOS A MOSCA DE LA FRUTA EN ESPECIES FRUTALES EN LA MICROCUENCA DEL RÍO MAGDALENA PAUTE - ECUADOR. *ECUADOR ES CALIDAD*, 6(1), Art. 1.  
<https://revistaecuadorestcalidad.agrocalidad.gob.ec/revistaecuadorestcalidad/index.php/revista/article/view/67>
- Leiva, L. C. (2012a). Manejo fitosanitario del cultivo de guayaba. *ica*.  
<https://www.ica.gov.co/getattachment/00295b79-bcb0-4ab2-80f9-b6e3ab7218b8/-nbspc;Manejo-fitosanitario-del-cultivo-de-guayaba.aspx>
- Leiva, L. C. (2012b). *Manejo fitosanitario del cultivo de la guayaba (Psidium guajava, L.): medidas para la temporada invernal*.  
[https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/2286/45178\\_61376.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/2286/45178_61376.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- López, L., López, J., Hernández, E., Martínez, G., Gutiérrez, J., & Hernández, R. (2010).

*Guía de campo para el reconocimiento de moscas de la fruta del género Anastrepha.*

7.

Los insecticidas. (s. f.). Recuperado 1 de enero de 2023, de

<https://www.insp.mx/avisos/4736-insecticidas.html>

Lozano, J. de la C. (2005). *ENTOMOLOGÍA MORFOLOGÍA Y FISIOLOGÍA DE LOS INSECTOS* [Universidad Nacional de Colombia].

[https://www.bfa.fcnym.unlp.edu.ar/catalogo/doc\\_num.php?explnum\\_id=2992](https://www.bfa.fcnym.unlp.edu.ar/catalogo/doc_num.php?explnum_id=2992)

Madrid, H., Lafourcade, M., & Tapia, C. (2017). *Phialocephala* sp. *Revista chilena de infectología*, 34(2), 141-142. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182017000200007>

Maniania, N. K. (1992). Potential of some fungal pathogens for the control of pests in the tropics. *Insect Science and Its Application (ICIPE)*.

[https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=Potential+of+some+fungal+pathogens+for+the+control+of+pests+in+the+tropics&author=Maniania%2C+N.K.+%28International+Centre+of+Insect+Physiology+and+Ecology+%28ICIPE%29%2C+Nairobi+%28Kenya%29%29&publication\\_year=1992](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Potential+of+some+fungal+pathogens+for+the+control+of+pests+in+the+tropics&author=Maniania%2C+N.K.+%28International+Centre+of+Insect+Physiology+and+Ecology+%28ICIPE%29%2C+Nairobi+%28Kenya%29%29&publication_year=1992)

Mantzoukas, S., & Grammatikopoulos, G. (2020). The effect of three entomopathogenic endophytes of the sweet sorghum on the growth and feeding performance of its pest, *Sesamia nonagrioides* larvae, and their efficacy under field conditions. *Crop Protection*, 127, 104952. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104952>

Mantzoukas, S., Kitsiou, F., Natsiopoulos, D., & Eliopoulos, P. A. (2022). Entomopathogenic Fungi: Interactions and Applications. *Encyclopedia*, 2(2), Art. 2.

<https://doi.org/10.3390/encyclopedia2020044>

Manyari Jimenez, M. H. (2014). Servicios profesionales prestados en el ministerio de agricultura y riego Servicio nacional de sanidad agraria—Area de sanidad vegetal—Sub—Componente mosca de la fruta región Arequipa (2010 – 2012). *Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa*.

<http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/4131>

*METARHIZIUM ANISOPLIAE – PERKINS LTDA.* (s. f.). Recuperado 20 de octubre de 2022,

- de <http://perkinsltda.com.co/services/metarhizium-anisopliae/>
- Moawad, H. (2022, diciembre 30). *Can fruit flies make you sick?* [Artículo]. Sermo.  
<https://www.sermo.com/blog/insights/can-fruit-flies-make-sick/>
- Montoya, P., & Cancino, Y. J. (2004). CONTROL BIOLÓGICO POR AUMENTO EN MOSCAS DE LA FRUTA (DIPTERA: TEPHRITIDAE). *Folia Entomológica Mexicana*, 43(3), Art. 3.
- Morin, L. (2020). Progress in Biological Control of Weeds with Plant Pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 58(1), Art. 1. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-010820-012823>
- Morocho, M. (2017). *ESTUDIO DE FACTIBILIDAD PARA LA IMPLEMENTACIÓN DE UNA PLANTA PROCESADORA DE NÉCTAR DE GUAYABA, (Psidium guajaba L) Y SU COMERCIALIZACIÓN EN EL CANTÓN CENTINELA DEL CÓNDOR, PROVINCIA DE ZAMORA CHINCHIPE.*
- Mosca De La Fruta | GIP Cítricos (IVIA)*. (s. f.). Recuperado 15 de enero de 2023, de <http://gipcitricos.ivia.es/area/plagas-principales/dipteros/mosca-de-la-fruta>
- Moscas de la fruta | Entomology*. (s. f.). Recuperado 20 de enero de 2023, de <https://entomology.ca.uky.edu/ef621esp>
- Muñoz, A. C., Nasamuez, D. E. C., Prado, M. M., Deantonio-Florido, L. Y., Suárez, J. C. L., Holguín, C. M., Bernal, A. N. S., & Laverde, A. J. (2021). *Plagas y enfermedades de la guayaba (Psidium guajava) en Colombia* [Text.Chapter]. Editorial AGROSAVIA.  
<https://editorial.agrosavia.co/index.php/publicaciones/catalog/view/194/181/1239-1>
- Murtaza, G., Naeem, M., Manzoor, S., Khan, H. A., Eed, E. M., Majeed, W., Makki, H. A., Ramzan, U., & Ummara, U. E. (2022). Biological control potential of entomopathogenic fungal strains against peach Fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae). *PeerJ*, 10, e13316.  
<https://doi.org/10.7717/peerj.13316>
- Naranjo, S. E., Ellsworth, P. C., & Frisvold, G. B. (2015). Economic Value of Biological Control in Integrated Pest Management of Managed Plant Systems. *Annual Review*

- of *Entomology*, 60(1), Art. 1. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-021005>
- Nari, A., Eddi, C., Martins, J., & Benavides, E. (2003). *Resistencia a los antiparasitarios: Estado actual con énfasis en América Latina. Estudio FAO Producción y Sanidad Animal* 157.
- Nava-Pérez, E., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J. R., & Vázquez-Montoya, E. L. (2012). Bioplaguicidas: Una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*, 17-30. <https://doi.org/10.35197/rx.08.03.e2.2012.03.en>
- Noboa, G., & Quelal, A. (2015). *DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE UN PROTOCOLO PARA MEJORAR LA PRODUCCIÓN Y CONSERVACIÓN DE Beauveria Bassiana Y Trichoderma Jarzianum COMO APORTE A LOS PRODUCTORES DE CAFÉ ORGÁNICO DE LA ASOCIACIÓN «RÍO INTAG», CANTÓN COTACACHI. [UNIVERSIDAD POLITECNICA SALESIANA].*  
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9400/1/UPS-QT07115.pdf>
- Obregón, L. (2017). *Tesis Mosca de La Fruta | PDF | Plaga (organismo) | Mosca*. Scribd.  
<https://es.scribd.com/document/395351014/Tesis-Mosca-de-La-Fruta>
- Ordoñez-Beltrán, V., Frías-Moreno, M. N., Parra-Acosta, H., & Martínez-Tapia, M. E. (2019). Estudio sobre el uso de plaguicidas y su posible relación con daños a la salud. *Revista de Toxicología*, 36(2), 148-153.
- Osorio-Fajardo, A., & Canal, N. A. (2011). Selección de Cepas de Hongos Entomopatógenos para el Manejo de *Anastrepha obliqua* (Macquart, 1835) (Diptera: Tephritidae) en Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 64(2), 6129-6139.
- Pacheco Hernández, M. de L., Reséndiz Martínez, J. F., & Arriola Padilla, V. J. (2019). Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México: Una revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 10(56), Art. 56. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.496>
- Pacheco Hernández, M. de L., Reséndiz Martínez, J. F., Arriola Padilla, V. J., Pacheco Hernández, M. de L., Reséndiz Martínez, J. F., & Arriola Padilla, V. J. (2019).

- Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México: Una revisión. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 10(56), 4-32. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.496>
- Partida, J. (2014). *Control de moscas de la fruta | Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural* [Artículo]. CONTROL DE MOSCAS DE LA FRUTA. <https://sader.jalisco.gob.mx/fomento-agricola-hortofruticola-e-inocuidad/600>
- Pavone, D. (2021, septiembre 4). *Metarhizium spp: Hongo endófito de plantas y patógeno de insectos plaga. TECNOVITA.* <https://tecnovitaca.com/metarhizium-endofito-patogeno-insectos/>
- Portillo, A. (2001). Guayabo. *Offarm*, 20(5), 191.
- Pucheta Díaz, M., Flores Macías, A., Rodríguez Navarro, S., & de la Torre, M. (2006). Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *Interciencia*, 31(12), 856-860.
- Quiroga, I. (2015). *Moscas de la Fruta y del Botón Floral.* CropLife Latin America. <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/moscas-de-la-fruta-y-del-boton-floral>
- Rizobacter. (2021). *Manejo y control integrado de dípteros [MOSCAS] en Ecuador.* Rizobacter. <https://rizobacter.com.ec/2022/03/14/manejo-y-control-integrado-de-dipteros-moscas-en-ecuador/>
- Rojas, R. A. B. (2019). *Evaluación de Beauveria bassiana en el control biológico de larvas de la polilla Oidaematophorus espeletiae.* <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1062&context=biologia>
- Santos Murgas, A., Osorio, M. A., Abrego Lezcano, J., Garrido Trujillo, A., Wilkie, E., & Rivera, J. (2022). Oviposición de *Anastrepha obliqua* (Macquart, 1835) (Diptera: Tephritidae) sobre frutos de *Spondias purpurea* L. (Sapindales: Anacardiaceae). *Manglar: Revista de Investigación Científica*, 19(3), 257-261.
- Silva, R. R. D., Vargas-Flores, J., Sánchez-Choy, J., Oliva-Paredes, R., Alarcón-Castillo, T., Panduro, P. P. V., Silva, R. R. D., Vargas-Flores, J., Sánchez-Choy, J., Oliva-

- Paredes, R., Alarcón-Castillo, T., & Panduro, P. P. V. (2020). *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* como controladores compatibles y eficientes de insectos plaga en cultivos acuapónicos. *Scientia Agropecuaria*, 11(3), 419-426.  
<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.14>
- Sinha, K. K., Choudhary, A. Kr., & Kumari, P. (2016). Chapter 15—Entomopathogenic Fungi. En Omkar (Ed.), *Ecofriendly Pest Management for Food Security* (pp. 475-505). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803265-7.00015-4>
- Solis-Soto, A., García-Gutierrez, C., Aldonado, G.-M., & Edrano-Roldán, H. M. (2006). *TOXICIDAD DE BLASTOSPORAS DE BEAUVERIA BASSIANA (VUILL) CONTRA PALOMILLA DEL MANZANO CYDIA POMONELLA L. (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE)*. <https://www.redalyc.org/pdf/424/42445210.pdf>
- Téllez-Jurado, A., Cruz Ramírez, M. G., Mercado Flores, Y., Asaff Torres, A., & Arana-Cuenca, A. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista mexicana de micología*, 30, 73-80.
- Thomas, M. B., & Read, A. F. (2007). Can fungal biopesticides control malaria? *Nature Reviews Microbiology*, 5(5), Art. 5. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1638>
- Triadani, C., & Buxmann, E. (2019, mayo 29). *La Mosca de la Fruta (Ceratitis capitata)*. INTA. <https://inta.gob.ar/documentos/la-mosca-de-la-fruta-ceratitis-capitata>
- Tzec, J. A. Y., Perea, C. A. V., & Kriuchkova, E. R. (2010). *Una revisión sobre la importancia del fruto de Guayaba (Psidium guajava L.) y sus principales características en la postcosecha*. 19(4).
- Urra, F. (2015). *Hongos entomopatógenos como control de plagas de insectos | Museo Nacional de Historia Natural*. Museo Nacional de Historia Natural.  
<https://www.mnhn.gob.cl/noticias/hongos-entomopatogenos-como-control-de-plagas-de-insectos>
- Valle, S., Carrera, K., Alemán, R., & Caicedo, W. (2021). *Caracterización de aislamientos nativos de Metarhizium spp. Para el control de Mahanarva andigena en el cultivar de caña de azúcar POJ93 en la Amazonia ecuatoriana*. 39.

<https://www.scielo.cl/pdf/idesia/v39n1/0718-3429-idesia-39-01-69.pdf>

- Valle-Ramírez, S. B., Torres-Gutiérrez, R., Caicedo-Quinche, W. O., Abril-Saltos, R. V., & Sucoshañay-Villalba, D. J. (2022). Aislamiento y caracterización de *Metarhizium* spp. de cultivos de caña de azúcar y su patogenicidad contra *Mahanarva andigena* (Hemiptera: Cercopidae). *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 23(1), Art. 1. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol23\\_num1\\_art:2361](https://doi.org/10.21930/rcta.vol23_num1_art:2361)
- Vega, F. E., & Blackwell, M. (2005). *Insect-Fungal Associations: Ecology and Evolution*. Oxford University Press.
- Vélez, G. (2022). *Evaluación de la aplicación del bioinsecticida obtenido de: Santa María (Tanacetum parthenium L.) para el biocontrol de: Gorgojo de maíz (Sitophilus zeamais M.) en granos almacenados*.
- Vilatuña, J., Sandoval, D., & Tigrero, J. (2010a). *MANEJO Y CONTROL DE MOSCAS DE LA FRUTA*. 2.
- Vilatuña, J., Sandoval, D., & Tigrero, J. (2010b). Manejo y control de moscas de la fruta.pdf. *AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DE AGRO*, 147.
- Vilatuña, J., Valenzuela, P., Bolaños, J., Hidalgo, R., & Mariño Frías, A. (2016). HOSPEDEROS DE MOSCAS DE LA FRUTA ANASTREPHA SPP. Y CERATITIS CAPITATA (DIPTERA: TEPHRITIDAE) EN ECUADOR. *ECUADOR ES CALIDAD - Revista Científica Ecuatoriana*, 3. <https://doi.org/10.36331/revista.v3i1.16>
- Zambrano, C. C., Duarte, F. L., & Reyes, L. C. (2013). Evaluación del efecto de *Beauveria bassiana* en el control biológico de *Varroa destructor*, parásito de la abeja melífera (*Apis mellifera*) en la finca Felisa en el municipio de los Patios, Norte de Santander. *INNOVACIONIA*, 1(1). <https://doi.org/10.15649/2346075x.211>
- Zart, M. (2008). *BIOECOLOGIA DE Anastrepha fraterculus (WIEDEMANN, 1830) (DIPTERA: TEPHRITIDAE) EM VIDEIRA*.
- Zhang, W., Meng, J., Ning, J., Qin, P., Zhou, J., Zou, Z., Wang, Y., Jiang, H., Ahmad, F., Zhao, L., & Sun, J. (2017). Differential immune responses of *Monochamus alternatus*

against symbiotic and entomopathogenic fungi. *Science China Life Sciences*, 60(8), 902-910. <https://doi.org/10.1007/s11427-017-9102-y>

## ANEXOS

### Anexo A. Recolección de los frutos de guayaba afectados por la mosca de la fruta.



**Nota:** Los frutos que fueron recolectados para esta investigación se encontraban en la superficie del área del cultivo.

### Anexo B. Tamizado del suelo para usar en cada uno de los tratamientos



**Nota:** Un menor tamaño en las partículas del suelo permite una mejor apreciación de las pupas.

**Anexo C.** Almacenamiento de los frutos de *Psidium friedrichsthalianum* L. en cajas



**Nota:** Se controlaron factores como humedad y temperatura para garantizar el desarrollo de las larvas.

**Anexo D.** Fase de desarrollo y crecimiento de las moscas de la fruta



**Nota:** Una vez obtenido un número adecuado de moscas de la fruta, estas se alimentan de las frutas de guayaba y ovipositan más huevos, por lo tanto se obtiene un mayor número de pupas.

**Anexo E:** Larvas en estado previo a empupar

**Nota:** A través de suaves movimientos las larvas se entierran a una profundidad aproximada de 3 cm.

**Anexo F:** Luego de 20 días las larvas llegan a la fase de pupa y son recolectadas.



**Nota:** Las pupas son clasificadas en recipientes independientes para la posterior aplicación del bioinsumo.

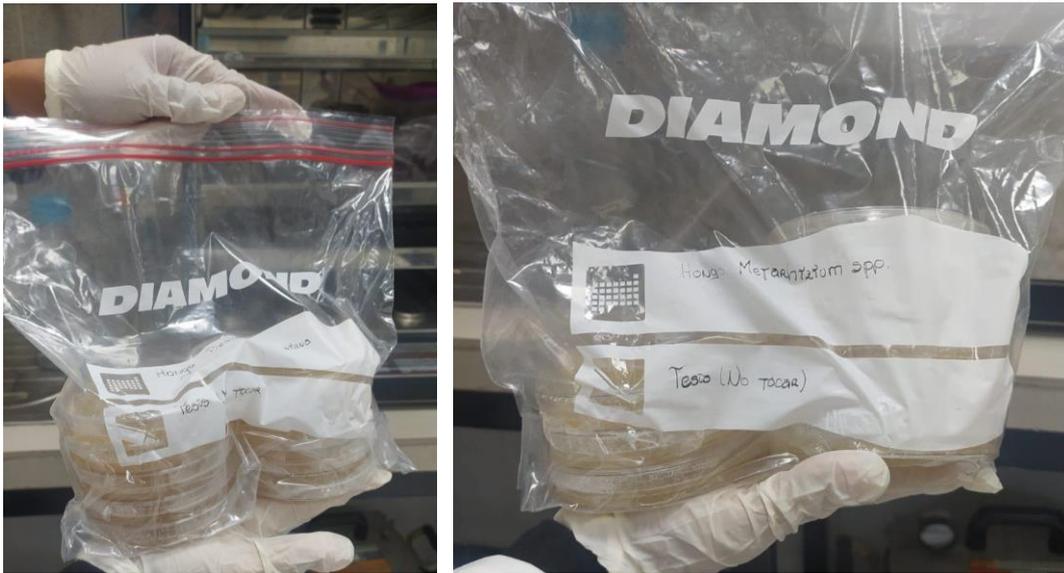
**Anexo G:** Preparación del medio PDA para los cultivos in vitro.

**Nota:** El medio PDA contiene sustratos idóneos para el normal desarrollo de los hongos entomopatógenos.

**Anexo H:** Preparación de las cajas de Petri y siembra de los hongos entomopatógenos.

**Nota:** En cada caja de Petri se adicionaron 10 ml del medio PDA.

**ANEXO I:** Hongos entomopatógenos sembrados, sellados y rotulados para su posterior incubación.



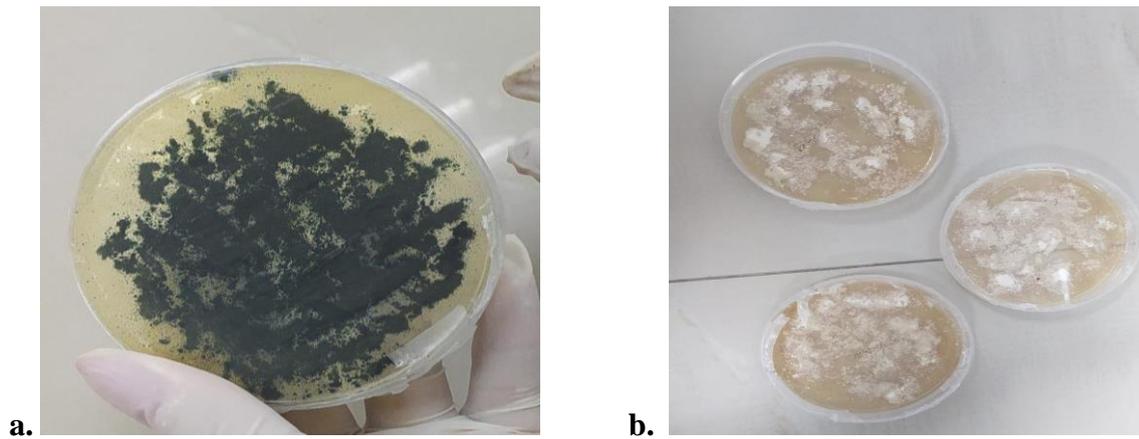
**Nota:** Los cultivos fueron separados en bolsas plásticas herméticas para evitar cualquier tipo de contaminación.

**ANEXO J:** Incubación de los cultivos a 25 °C



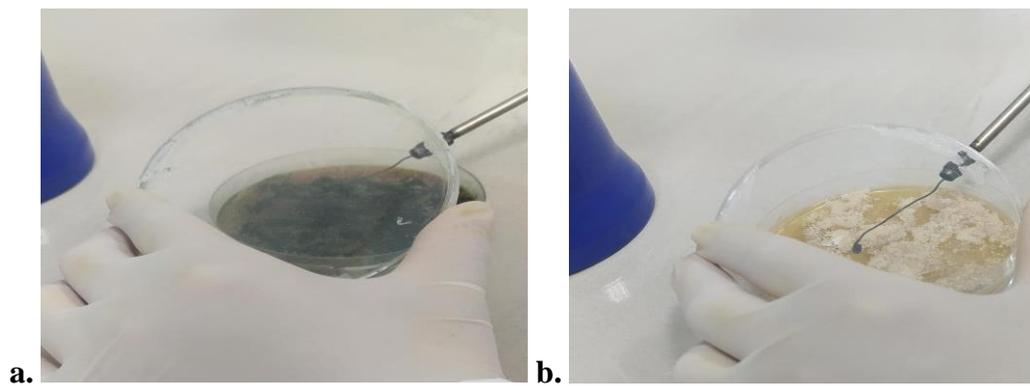
**Nota:** Los hongos fueron incubados por 7 días, luego de ese tiempo se pudieron evidenciar la presencia de colonias.

**ANEXO K:** Formación de colonias de: a) *-Metarhizium spp-* y b) *Beauveria bassiana*



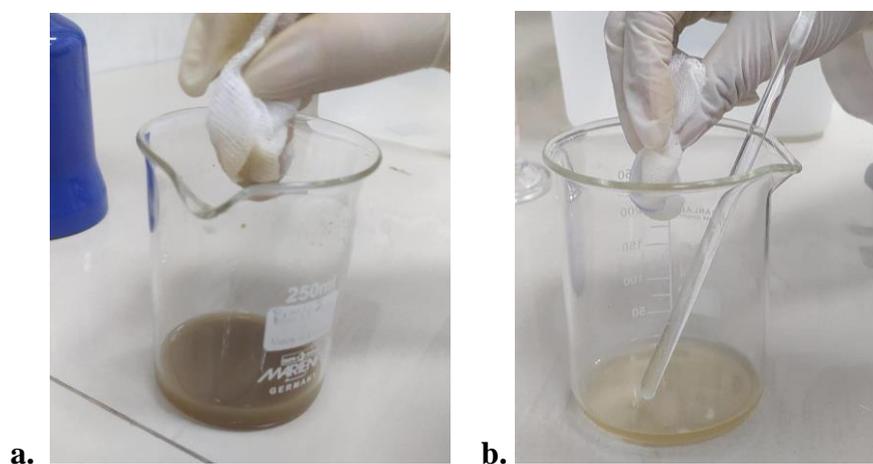
**Nota:** Una vez que se obtiene gran cantidad de colonias se procederá a realizar las diluciones correspondientes.

**ANEXO L:** Raspado de colonias



**Nota:** a) Raspado de colonias del cultivo de *-Metarhizium spp-* b) Raspado de colonias del cultivo de *-Beauveria bassiana-*.

**ANEXO M:** Filtrado de los medios de cultivos.



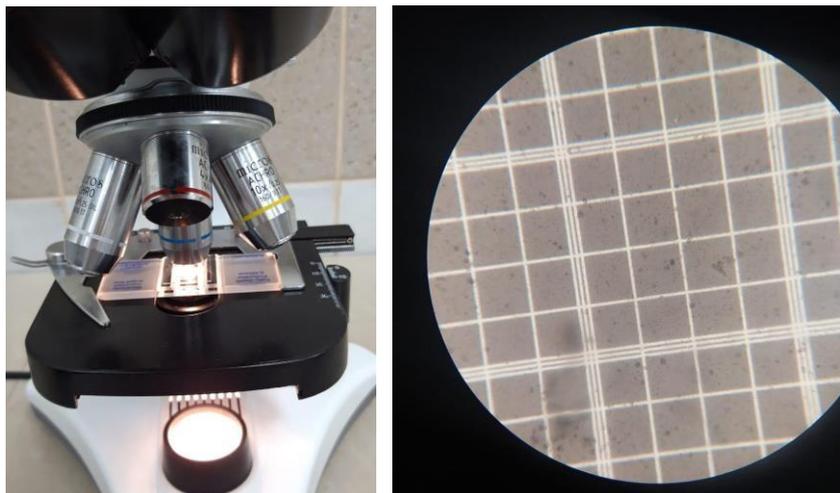
**Nota:** una vez obtenida la solución procedente del raspado de las colonias, es filtrado con la finalidad de eliminar residuos del medio a) *-Metarhizium spp-* b) *-Beauveria bassiana-*.

#### ANEXO N: Preparación y carga de muestras sobre la cámara Neubauer



**Nota:** sobre la cámara de Neubauer se depositaron 10  $\mu$ l, dicho volumen se desplaza hacia la cámara debido a la capilaridad que posee.

#### ANEXO O: Recuento de esporas en la cámara de Neubauer.



**Nota:** Una vez depositadas las muestras en la cámara de Neubauer estas son observadas a través del microscopio para determinar la concentración de esporas.

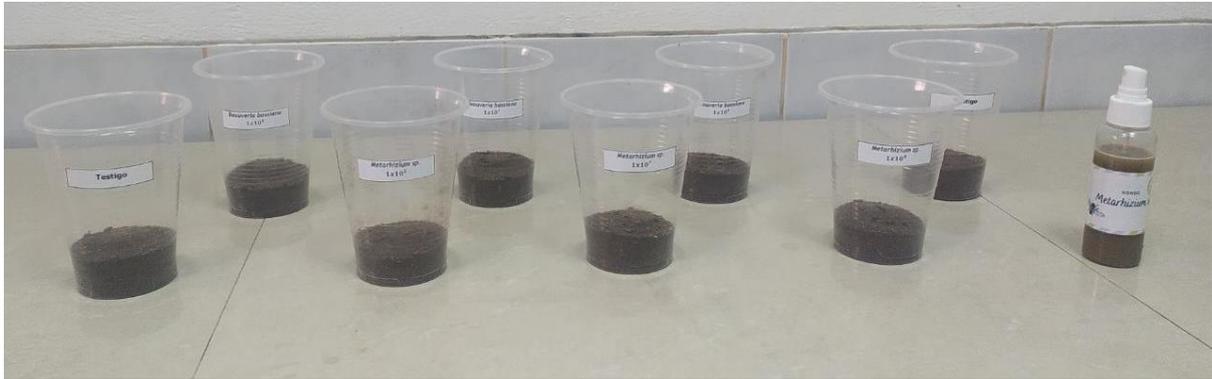
**ANEXO P:** Formulación de los biocontroles.

**Nota:** Los biocontroles fueron almacenados en atomizadores para facilitar la aplicación de los mismos mediante técnicas de aspersión.

**ANEXO Q:** Preparación de los tratamientos para el desarrollo de la fase experimental.

**Nota:** En cada uno de los vasos fueron depositadas 10 pupas para la obtención de datos.

**ANEXO R:** Aplicación de los biocontroleros sobre cada uno de los tratamientos a diferentes concentraciones.



**Nota:** Las aplicaciones se realizaron mediante aspersión para conseguir una distribución uniforme del producto adicionado.

**ANEXO S:** Identificación de la mosca de la fruta en el estereomicroscopio



**Nota:** El estereomicroscopio es un equipo especial para especies e insectos que permite obtener

imágenes tridimensionales.

**ANEXO T:** Identificación de alas de la mosca -*Anastrepha obliqua*-



**Nota:** Para identificar las alas del insecto se observaron las bandas Costal, S y V

**ANEXO U:** Identificación del tórax de la mosca -*Anastrepha obliqua*-



**Nota:** Según la guía de reconocimiento del autor se observaron similitudes en las bandas verticales.

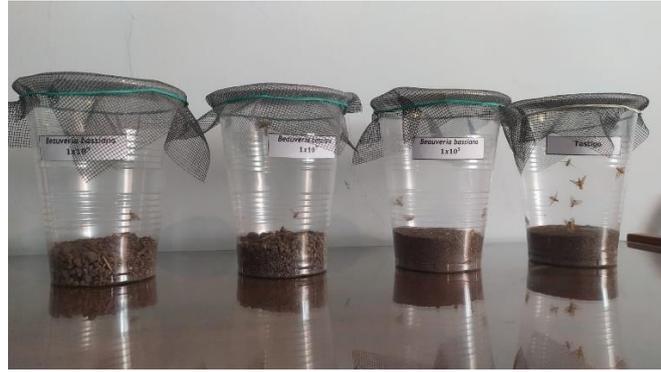
**ANEXO U:** Aplicación de los biocontroles





**ANEO V:** Resultados obtenidos de la aplicación del biocontrol a partir de *-Beauveria bassiana-*





**ANEXO W:** Resultados obtenidos de la aplicación del biocontrol a partir de *-Metarhizium spp-*



