

## INFORME ANUAL 2025

### DEPARTAMENTO DE PROTECCIÓN VEGETAL

La Concordia – Ecuador, enero 2026

## Contenido

|                                                                                                                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Departamento/Programa:.....                                                                                                                                                                       | 3  |
| 2. Director de la Estación Experimental: .....                                                                                                                                                       | 3  |
| 3. Coordinador Nacional I+D+i: .....                                                                                                                                                                 | 3  |
| 4. Responsable del Departamento en la Estación Experimental: .....                                                                                                                                   | 3  |
| 5. Proyectos:.....                                                                                                                                                                                   | 3  |
| 6. Socios externos estratégicos para la ejecución de la I+D+i durante el 2025: .....                                                                                                                 | 3  |
| 7. Publicaciones del 2025:.....                                                                                                                                                                      | 3  |
| Artículos científicos en revistas indexadas: .....                                                                                                                                                   | 3  |
| Otras publicaciones científicas:.....                                                                                                                                                                | 3  |
| 8. Participación en eventos de difusión científica y técnica: .....                                                                                                                                  | 3  |
| 9. Hitos/actividades establecidas en el POA: .....                                                                                                                                                   | 4  |
| 9.1. Comportamiento agronómico del Híbrido INIAP-TENERA en zonas con incidencia de la anomalía PC .....                                                                                              | 4  |
| 9.2. Evaluación de la presencia de plagas en diferentes cruzamientos de Híbrido OxG .....                                                                                                            | 7  |
| 9.3. Mantenimiento y cría de colonias de <i>Galleria mellonella</i> .....                                                                                                                            | 12 |
| 9.4. Desarrollo Integral de un biopesticida a base de <i>Beauveria bassiana</i> INIAP L3B3 con biominerales para el control de <i>Rhipicephalus microplus</i> en condiciones de laboratorio. ....    | 14 |
| 9.5. Evaluación de <i>Passiflora quadrangularis</i> como portainjerto para el control de <i>Fusarium oxysporum</i> sobre materiales de maracuyá ( <i>Passiflora edulis</i> ) de alta producción..... | 36 |
| 9.6. Actividades Extra POA 2025 .....                                                                                                                                                                | 44 |
| 9.6.1. Mantenimiento de colonias de la mosca soldado negra ( <i>Hermetia illucens</i> ) en condiciones controladas de laboratorio de la Estación Experimental Santo Domingo (EESD) ..                | 44 |
| 9.6.2. Control etológico de <i>Rhynchophorus palmarum</i> en palma aceitera EESD .....                                                                                                               | 46 |
| 9.7. Proyecto de Enfermedades Letales en la Palma Aceitera en Ecuador–FIASA .....                                                                                                                    | 47 |

## INFORME ANUAL 2025

### 1. Departamento/Programa:

Protección Vegetal

### 2. Director de la Estación Experimental:

Cevallos Sandoval Víctor Javier

### 3. Coordinador Nacional I+D+i:

Vera Coello Danilo Isaac

### 4. Responsable del Departamento en la Estación Experimental:

Navarrete Párraga Mercedes Elizabeth

### 5. Proyectos:

### 6. Socios externos estratégicos para la ejecución de la I+D+i durante el 2025:

| Nombre de la institución | Siglas de la institución | Nombre de contacto o punto focal |
|--------------------------|--------------------------|----------------------------------|
|--------------------------|--------------------------|----------------------------------|

### 7. Publicaciones del 2025:

Publicaciones técnicas:

Artículos científicos en revistas indexadas:

- Coronel, B., Maldonado, M., Ávila, R., Navarrete, M., & Hidalgo, D. (2025). Optimización de una dieta para la cría masiva de *Galleria mellonella*. *Emergentes-Revista Científica*, 5(1), 922-939. DOI: <https://doi.org/10.60112/erc.v5i1.380>.
- Hidalgo, D., Ramírez, J., Navarrete, M., Cevallos, V., Ramos, M., Bravo, B., ... & Pérez de León, A. Á. (2025). Research advances in Ecuador on use of entomopathogenic fungi for control of the cattle tick, *Rhipicephalus microplus*: the case of *Beauveria bassiana* sensu lato strain INIAP L3B3. *Frontiers in Fungal Biology*, 6, 1492395.

Otras publicaciones científicas:

### 8. Participación en eventos de difusión científica y técnica:

#### Participación 1

|                                            |                                                                   |
|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Título del trabajo:                        | Capacitación sobre el manejo del cultivo de palma aceitera        |
| Nombres de autores:                        | Navarrete Párraga Mercedes Elizabeth<br>Hidalgo Mata David Adrián |
| Tipo de participación:                     | Expositor - Virtual                                               |
| Nombre del evento científico:              | Principales insectos plaga y enfermedades en palma aceitera       |
| Institución o instituciones organizadoras: | INIAP                                                             |
| Fechas del evento:                         | 15/05/2025                                                        |
| Ciudad sede del evento:                    | La Concordia                                                      |

Participación 2

|                                            |                                                                                                                         |
|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Título del trabajo:                        | Development of a fungal biopesticide for control of the cattle tick, <i>Rhipicephalus microplus</i>                     |
| Nombre del autor:                          | Hidalgo Mata David Adrián                                                                                               |
| Tipo de participación:                     | Expositor - Virtual                                                                                                     |
| Nombre del evento científico:              | III Congress of the Latin American Society of Vector Ecology & IV Congress of the Latin American Vector Control Network |
| Institución o instituciones organizadoras: | LA SOVE RELCOV                                                                                                          |
| Fechas del evento:                         | 28/10/2025                                                                                                              |
| Ciudad sede del evento:                    | La Plata, Buenos Aires, Argentina                                                                                       |

9. Hitos/actividades establecidas en el POA:

**9.1. Comportamiento agronómico del Híbrido INIAP-TENERA en zonas con incidencia de la anomalía PC**

Matriz de actividades:

| Actividades planificadas en el hito 1                                                       |                                                                                                      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Actividades                                                                                 | Indicador de Resultado                                                                               |
| 1. Evaluación de la presencia de plagas en diferentes cruzamientos del Híbrido INIAP-TENERA | - Conocer la presencia de plagas importantes en los diferentes cruzamientos del híbrido INIAP-TENERA |

Actividad 1. Evaluación de la presencia de plagas en diferentes cruzamientos del Híbrido INIAP-TENERA

|                                              |                                                                   |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Responsable:                                 | Navarrete Párraga Mercedes Elizabeth                              |
| Colaboradores:                               | Romero Pizarro Martha Alicia<br>Zambrano Marcillo Silvia Madelein |
| Nombre del proyecto que financió el estudio: | Gasto Corriente                                                   |
| Institución donante:                         | INIAP                                                             |
| Número de memorando:                         | Memorando Nro. INIAP-EESD_DIR-2020-0540-MEM                       |

Antecedentes

La palma aceitera como cualquier otro cultivo agronómico está sujeto a la presencia de insectos plaga y enfermedades en cualquier época del año; es por eso que la parte sanitaria cobra mucha importancia en este cultivo, porque si no hay un manejo adecuado podemos tener serias consecuencias en el futuro sobre todo en la producción (Seijas, 2012).

Las plantaciones de palma aceitera, por el gran tamaño que tienen algunas de ellas o por unirse unas con las otras, conforman áreas muy extensas dedicadas al monocultivo y, por ello, susceptibles a múltiples problemas fitosanitarios (Aldana et al., 1999).

Según Chinchilla, 2003, citado por González, et al, (2012) manifiesta que un programa de manejo agronómico de las plantaciones de palma aceitera, se debe considerar principalmente aquellos aspectos que permitan establecer un ambiente favorable para que la planta se desarrolle de forma vigorosa y de esta manera enfrentar con mayor posibilidad de éxito el efecto de los múltiples agentes que causan disturbios fitosanitarios.

#### Objetivo general

Evaluar la presencia de plagas en diferentes cruzamientos del Híbrido INIAP-TENERA

#### Objetivos específicos

- Determinar la incidencia de insectos plagas en cada uno de los cruzamientos del Híbrido INIAP-TENERA, en etapa de vivero y plantación establecida.
- Determinar la tolerancia a enfermedades en cada uno de los cruzamientos del Híbrido INIAP-TENERA, en etapa de vivero y plantación establecida.

#### Metodología

La metodología del estudio fue descrita en el informe anual 2020 del Departamento de Protección Vegetal.

#### Resultados

Durante el año 2025, se realizó el censo fitosanitario en las diferentes repeticiones en la plantación de palma del híbrido INIAP - TENERA sembrada en el Recinto El Almorzadero donde se determinó que existe más del 50% de la plantación ha sido afectada con Pudrición de Cogollo, así mismo se han colocado trampas para la captura de *Rhynchophorus palmarum*, obteniendo 332 insectos capturados, de los cuales el 69% corresponden a hembras y el 31% a machos (tabla 1), con un promedio de 6 insectos por trampa. De manera general se evidenció que se han hecho labores de control malezas y control fitosanitario en las diferentes tratamientos y repeticiones.

**Tabla 1**

*Número de insectos capturados de marzo a octubre 2025*

| No.<br>Monitoreo | No.<br>Hembras | No.<br>Machos | TOTAL      |
|------------------|----------------|---------------|------------|
| 1                | 44             | 18            | 62         |
| 2                | 26             | 13            | 39         |
| 3                | 13             | 8             | 21         |
| 4                | 6              | 5             | 11         |
| 5                | 14             | 1             | 15         |
| 6                | 37             | 20            | 57         |
| 7                | 16             | 7             | 23         |
| 8                | 26             | 12            | 38         |
| 9                | 27             | 7             | 34         |
| 10               | 3              | 1             | 4          |
| 11               | 11             | 4             | 15         |
| 12               | 7              | 6             | 13         |
|                  | <b>230</b>     | <b>102</b>    | <b>332</b> |

#### Conclusiones

Durante este año hubo presencia de plagas de importancia como *Rhynchophorus palmarum* y Pudrición de Cogollo.

#### Recomendaciones

Debido a la alta incidencia de PC en el ensayo no se continuará con las evaluaciones en la plantación de propiedad de la Sra. Ada Córdova, en el recinto El Almorzadero.

#### Referencias

- Aldana, J., Fajardo, J. y Calvache, H. (1999). Evaluación de dos diseños de trampas para la captura de adultos de *Opsiphanes cassina* Felder (Lepidoptera: Brassolidae) en una plantación de palma de aceite. Palmas 20 (2): 23-29.
- Carrillo, M., Cevallos, V., Cedeño, C., Gualoto, W., Mite, F., Navarrete, M., . . . Zambrano, W. (2015). Manual del Cultivo de la Palma Aceitera (INIAP Ed.).
- González, G., Acuña, R., Moizant, R., Maestre, R., Quintana, A., y Fariñas, J. (2012). Tecnología agronómica de la palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.) y manejo integrado de su defoliador *Opsiphanes cassina* Felder (Lepidoptera: Brassolidae) en plantaciones comerciales del estado Monagas, Venezuela. Revista Científica UDO Agrícola, 12(3), 584-598.

Seijas, P. (2012). Asistencia técnica dirigida a instalación y manejo integrado de plagas en manejo integrado de plagas en palma aceitera. Guía técnica. Pucallpa, Perú. 32 p.

### 9.2. Evaluación de la presencia de plagas en diferentes cruzamientos de Híbrido OxG

Matriz de actividades:

| Actividades planificadas en el hito 2                                             |                                                                                              |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Actividades                                                                       | Indicador de Resultado                                                                       |
| 1. Evaluación de la presencia de plagas en diferentes cruzamientos de Híbrido OxG | - Conocer la presencia de plagas importantes en los diferentes cruzamientos del híbrido OxG. |

Actividad 1. Evaluación de la presencia de plagas en diferentes cruzamientos de Híbrido OxG.

|                                              |                                                                                               |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Responsable:                                 | Navarrete Párraga Mercedes Elizabeth<br>Zambrano Sabando Walter Ramón                         |
| Colaboradores:                               | Romero Pizarro Martha Alicia,<br>Zambrano Marcillo Silvia Madelein<br>Ávila Vaca Ricardo René |
| Nombre del proyecto que financia el estudio: | FIASA (2025),<br>Gasto Corriente (2026-2035)                                                  |
| Institución donante:                         | INIAP                                                                                         |
| Número de memorando:                         | Memorando Nro. INIAP-EESD_DIR-2025-0338-MEM                                                   |

#### Antecedentes

El género *Elaeis* posee dos especies: *E. guineensis* (originaria de África occidental) y *E. oleifera* (de América Central y del Sur). Si bien la primera destaca por su mayor productividad, la segunda ofrece resistencia a enfermedades y menor altura (Singh et al., 2013). Los híbridos de *E. oleifera* (palma americana) x *E. guineensis* (palma africana) inicialmente fueron adoptados por grandes productores, sin embargo, su expansión se ha visto limitada por sus elevados costes de mantenimiento y su polinización manual, y porque la producción decrece con el paso del tiempo fluctuando cada año (Johnson, 2017).

Amblard y colaboradores (2000), citado por Bravo (2022), señalan que la Pudrición de Cogollo (PC) afecta a *Elaeis guineensis* Jacq. debido a su susceptibilidad genética. La principal estrategia para mitigar los efectos devastadores de esta enfermedad es la renovación de cultivos con variedades tolerantes, como el híbrido interespecífico OxG. Este híbrido, resultado del cruzamiento entre *Elaeis oleifera* y *Elaeis guineensis*, incorpora la tolerancia a la PC de la especie americana (*E. oleifera*) en la especie africana (*E. guineensis*).



El híbrido interespecífico *E. oleífera* x *E. guineensis* (OxG) es una alternativa para mejorar la competitividad y sostenibilidad de la agroindustria de la palma de aceite latinoamericana, debido a su resistencia parcial a enfermedades letales y a su aceite de muy alta calidad (Torres, 2017).

El Programa de Palma Africana de la Estación Experimental Santo Domingo, desde su creación de manera continua desarrolla investigaciones para obtener nuevos materiales de palma de aceite, con características deseables, tales como: alto rendimiento de fruta fresca y de aceite, tolerancia o resistencia a plagas (insectos y enfermedades), lento crecimiento, entre otras. Actualmente, ante la presencia de la anomalía conocida como Pudrición del Cogollo (PC), a través de programas de mejoramiento se está buscando individuos resistentes o tolerantes procedentes de *Oleífera* y del cruzamiento entre *Oleífera* x *Guineensis*.

### Objetivos

#### Objetivo general

Evaluar la presencia de insectos plaga y enfermedades en plantaciones de palma aceitera OxG – EESD.

#### Objetivos específicos

- Determinar la presencia de insectos plaga de importancia que afecten al cultivo de palma aceitera OxG en lotes de la EESD.
- Determinar la presencia de enfermedades de importancia que afecten al cultivo de palma aceitera OxG en lotes de la EESD.

### Metodología

#### Características de los ensayos

La presente investigación se llevará a cabo en lotes de la Estación Experimental Santo Domingo - INIAP, en plantas de palma aceitera establecidas en el 2024, las mismas que se encuentra ubicadas en el Km 38 de la vía Santo Domingo-Quinindé, en el cantón La Concordia, provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas a una Latitud 0°01'16"S y a una Longitud 79°21'24"W.

#### Factores en estudio

#### Tratamientos

Los tratamientos por evaluarse serán 11 cruzamientos del híbrido OxG, que se encuentran en los lotes 16 A, 16 B, 16 C y 6 A de la EESD y son los siguientes:



| No. | Cruzamiento      | Código  |
|-----|------------------|---------|
| 1   | 12-230 x 3B-08   | OxG     |
| 2   | 12-211 x 3B-08   | OxG     |
| 3   | 12-457 x 5-107   | (OxO)xG |
| 4   | 12-490 x 3B-08   | (OxO)xG |
| 5   | 12-459 x 13A-944 | (OxO)xG |
| 6   | 12-204 x 5-107   | OxG     |
| 7   | 12-489 x 12-366  | (OxO)xG |
| 8   | 12-119 x 13A-522 | (OxO)xG |
| 9   | 1-86 x 5-107     | OxG     |
| 10  | 12-332 x 5-133   | OxG     |
| 11  | 12-363 X 12-366  | OxG     |

Para lo cual se realizarán observaciones donde se registrará la presencia de los insectos plaga y enfermedades en cada uno de los cruzamientos.

Unidad experimental

La unidad experimental serán 30 plantas por tratamientos

Diseño experimental y análisis de datos

Se realizará un Diseño de Bloques Completos al Azar, con 11 tratamientos y 3 repeticiones.

| Variables    | GL |
|--------------|----|
| Total        | 32 |
| Tratamientos | 10 |
| Repeticiones | 2  |
| Error        | 20 |

Variables y métodos de evaluación

Objetivo Específico 1. Determinar la presencia de insectos plaga de importancia que afecten al cultivo de palma aceitera OxG en lotes de la EESD.

Porcentaje de daño de *Sagallasa vullida* y *Strategus aloeus*

Se realizarán recorridos cada cuatro meses para observar síntomas en las plantas causados por *S. valida*, y en aquellas que presenten síntomas como amarillamiento y secamiento de las hojas del tercio medio, emisión de inflorescencia masculinas en forma continua, mal anclaje y volcamiento de la planta, se realizará un muestreo de raíces que consiste en realizar junto al estípote un hoyo de 50 cm de largo, 40 cm de ancho y 30 cm de profundidad, donde se clasificarán y se contarán las raíces con daños frescos y antiguos, y mediante la siguiente fórmula obtendremos el porcentaje de daño:

$$\% \text{ de daño} = \frac{\text{Raíces con daño fresco} \times 100}{\text{Totales raíces}}$$

Para *Strategus aloeus*, se realizarán monitoreos mensuales por dos años donde se observarán perforaciones en el suelo al pie de la planta ocasionado por este insecto.

Incidencia de insectos defoliadores

Las observaciones se realizarán en cada uno de los tratamientos donde se registrarán la presencia o ausencias de estos insectos plaga.

Incidencia de *Rhynchophorus palmarum*

Se colocarán trampas cada 100 metros en los linderos, estas trampas son elaboradas en recipientes de 20 litros de capacidad, en donde se colocan trozos de caña de azúcar (500 g) más una feromona de agregación. Los monitoreos se realizarán cada 15 días, donde se contabilizan el número de insectos hembra y machos capturados por trampa.

OE2: Determinar presencia de enfermedades de importancia que afecten al cultivo de palma aceitera OxG en lotes de la EESD.

Incidencia de las principales enfermedades (Anillo rojo, marchitez sorpresiva, pudrición de cogollo, pudrición de flecha, pudrición basal, etc.)

Para cada una de estas enfermedades se realizarán recorridos mensuales y se monitorearán cada uno de los tratamientos, donde se evaluarán y registrarán la presencia o ausencia de estas enfermedades.

Para el caso de anillo rojo se erradicará la planta para observar los síntomas internos de esta enfermedad.

Para el caso de PC se evaluarán de acuerdo con la siguiente escala proporcionada por el Dr. Danilo Vera. Investigador de la EESC, siendo la escala:

0: Sin síntomas.

1: Síntoma inicial, amarillamiento de las hojas jóvenes.

2: Síntoma intermedio, amarillamiento de hojas jóvenes, quiebre de flecha.

3: Síntoma avanzado, amarillamiento de hojas intermedia, quiebre de flechas.

4: Cráter, muerte de la planta.

#### Manejo específico del experimento

Manejo del experimento (A cargo del Departamento de Producción)

Control de malezas (Chapia y corona): Los dos primeros años se realizarán cada 45 días el control de malezas, posteriormente se realizarán cada dos meses.

Control fitosanitario: Dependerá del umbral económico que represente, tanto para los principales insectos plaga y enfermedades que se presenten en el desarrollo del cultivo.

Fertilización: Se realizará de acuerdo con el resultado del análisis de suelo.

Polinización asistida: Se realizará de acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis de fruit set (Programa de Palma Africana).

#### Resultados

Se tiene aprobado el protocolo por parte del Comité Técnico y se han realizado monitoreos mensuales en cada uno de los tratamientos de los híbridos OxG. Durante estos monitoreos se ha registrado la presencia de enfermedades, específicamente anillo clorótico en los tratamientos 1, 2, 5, 6, 7, 9, en una incidencia del 3%, así como pudrición de flecha en el tratamiento 8 afectando dos plantas.

Asimismo, en ocho trampas instaladas para el monitoreo de *Rhynchophorus palmarum*, se capturaron 108 insectos en 12 monitoreos, lo que corresponde a un promedio de 1 insecto adulto por trampa. Adicionalmente, se realizaron labores de control de malezas en cada uno de los tratamientos.

#### Conclusiones

Los monitoreos realizados indican una baja incidencia de enfermedades en los híbridos OxG. El anillo clorótico se presentó en varios tratamientos con una incidencia cercana al 3%, mientras que la pudrición de flecha se observó únicamente en el tratamiento 8, afectando dos plantas, lo que sugiere un buen estado sanitario general.

#### Recomendaciones

Continuar con las respectivas evaluaciones en cada uno de los tratamientos y eliminar plantas afectadas por virus.

#### Referencias

- Bravo, V., Solórzano, O., Calixto, B. y Bastidas, J. (2022). Aplicación de polen y ácido  $\alpha$ -naftalenacético en híbrido OxG en Ecuador. ¿Polinizar sin mezclarlos genera beneficios? Palmas, 43(1), 10-20.
- Johnson, A. (2017). Pudrición del Cogollo and the (Post-)Neoliberal Ecological Fix in Ecuador's Palm Oil Industry. Geoforum, (80), 13-23.
- Singh, Rajinder, Ong-Abdullah, Meilina, Low, Leslie, Arif Abdul Manaf, Mohamad et al. (2013). Oil Palm Genome Sequence Reveals Divergence of Interfertile Species in Old and New Worlds. Nature, (500), 335-339.
- Torres, E. (2017). Comportamiento del híbrido interespecífico OxG, Coari x La Mé en Palmeras del Ecuador. Revista Palmas, 37, 294-298.

### 9.3. Mantenimiento y cría de colonias de *Galleria mellonella*

Matriz de actividades:

| Actividades planificadas en el hito 3                                                                                     |                                                                                                         |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Actividades                                                                                                               | Indicador de Resultado                                                                                  |
| 1. Mantenimiento de colonias de <i>Galleria mellonella</i> como posible hospedante de insectos biocontroladores de plagas | - Obtener colonias de <i>Galleria mellonella</i> para desarrollo de biocontroladores de insectos plaga. |

Actividad 1. *Mantenimiento de colonias de *Galleria mellonella* como posible hospedante de insectos biocontroladores de plagas.*

|                                              |                                                                 |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Responsable:                                 | Hidalgo Mata David Adrián                                       |
| Colaboradores:                               | Navarrete Párraga Mercedes Elizabeth<br>Ávila Vaca Ricardo René |
| Nombre del proyecto que financió el estudio: | Gasto Corriente                                                 |
| Institución donante:                         | INIAP                                                           |
| Número de memorando:                         | Memorando Nro. INIAP-EESD_DIR-2020-0716-MEM                     |

#### Antecedentes

En el campo del Control Biológico, las larvas de *Galleria mellonella* son empleados como insectos trampa para recuperación de microorganismos y nematodos entomopatógenos (Galán, 2012), desarrollar una metodología de cría económica representa una base para la producción de

nematodos entomopatógenos apropiada para países en desarrollo, por lo que Realpe et al., (2008) optimizó un método de cría en Colombia evaluando el ciclo bajo tres temperaturas (20 ,25 y 30 C) y cuatro densidades de parejas de polillas (50, 100, 150 y 200) por jaula de 50cm<sup>3</sup>.

*G. mellonella* (polilla de la cera mayor o polilla del panal) es utilizada para el estudio de infecciones microbianas. Las larvas de *G. mellonella* pueden obtenerse en grandes cantidades de forma fácil y económica, y son fáciles de usar, ya que no requieren equipo de laboratorio especial. No existen restricciones éticas y su corto ciclo de vida las hace ideales para estudios a gran escala. Si bien los insectos carecen de una respuesta inmunitaria adaptativa, su respuesta inmunitaria innata muestra notables similitudes con la respuesta inmunitaria de los vertebrados Tsai, Loh, & Proft (2016).

#### Objetivo

- Mantener la cría de *G. mellonella* como base productiva para desarrollo de nematodos entomopatógenos.

#### Metodología

La metodología del estudio fue descrita en el informe anual 2020 del Departamento de Protección Vegetal.

#### Resultados

En condiciones de laboratorio se estableció y mantuvo la cría de *Galleria mellonella* en sus diferentes estadios de desarrollo (huevo, larva, pupa y adulto), empleando polen de abeja y alimento canino (DOGCHOW) como dieta artificial sustituta del panal de abeja, lo que permitió la obtención de 12 generaciones durante el 2025.

#### Conclusiones

Se tienen colonias estables de *G. mellonella* las que serán utilizadas para futuras investigaciones en la cría de nematodos entomopatógenos.

#### Recomendaciones

Continuar con el mantenimiento de *Galleria mellonella* para el desarrollo de tecnologías aplicable al control de insectos plaga de interés.

## Referencias

- Galán Franco, L. (2012). Aislamiento e identificación de hongos entomopatógenos de las diferentes zonas citrícolas de México (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León). Obtenido de: <https://bit.ly/2za6xDC>
- Realpe, F. J., Bustillo, A. E., y López, J. C. (2008). Optimización de la cría de *Galleria mellonella* L para la producción de nematodos entomopatógenos parásitos de la broca del café. Obtenido de: <https://bit.ly/3exM37W>
- Tsai, C. J.-Y., Loh, J. M. S., & Proft, T. (2016). *Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing. *Virulence*, 7(3), 214–229. <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1135289>

### 9.4. Desarrollo Integral de un biopesticida a base de *Beauveria bassiana* INIAP L3B3 con biominerales para el control de *Rhipicephalus microplus* en condiciones de laboratorio

Matriz de actividades:

| Actividades planificadas en el hito 4                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                               |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Actividades                                                                                                                                                                                | Indicador de Resultado                                                                                                                                        |
| 1. Desarrollo Integral de un biopesticida a base de <i>Beauveria bassiana</i> INIAP L3B3 con biominerales para el control de <i>Rhipicephalus microplus</i> en condiciones de laboratorio. | - Desarrollar formulaciones eficaces, estables y sostenibles de <i>Beauveria bassiana</i> como biopesticida para el control de <i>Rhipicephalus microplus</i> |

Actividad 1. Desarrollo Integral de un biopesticida a base de *Beauveria bassiana* INIAP L3B3 con biominerales para el control de *Rhipicephalus microplus* en condiciones de laboratorio.

|                                              |                                                                 |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Responsable:                                 | Hidalgo Mata David Adrián                                       |
| Colaboradores:                               | Navarrete Párraga Mercedes Elizabeth<br>Ávila Vaca Ricardo René |
| Nombre del proyecto que financió el estudio: | Gasto Corriente                                                 |
| Institución donante:                         | INIAP                                                           |
| Número de memorando:                         | Memorando Nro. INIAP-EESD_DIR-2025-0484-MEM                     |

## Antecedentes

La ganadería ecuatoriana enfrenta una seria amenaza por la infestación del ácaro *Rhipicephalus microplus*, especie de alto impacto económico y amplia distribución en el país, con crecientes reportes de resistencia a acaricidas sintéticos (Pérez, 2019; Rodríguez et al., 2017). Ante este



escenario, se ha intensificado la búsqueda de alternativas sostenibles basadas en el control biológico.

En este contexto, en 2019 Hidalgo sentó las bases para la pelletización de *Beauveria bassiana* utilizando tierra de diatomeas y talco industrial, sentando un precedente técnico en el desarrollo de formulaciones sólidas viables para campo. La Estación Experimental Santo Domingo del INIAP ha liderado una línea estratégica en micoplaguicidas, consolidada con la publicación del Manual para la producción de hongos entomopatógenos y análisis de calidad de bioformulados (Hidalgo y Tello, 2022). En este marco, se aisló y caracterizó la cepa *B. bassiana* INIAP L3B3, cuya eficacia contra garrapatas y sinergia con acaricidas químicos ha sido validada en múltiples estudios (Hidalgo, 2019; Bravo y Carranza, 2022; Romero et al., 2024; Herrera et al., 2024; Ligña et al., 2024; Hidalgo et al., 2025).

Paralelamente, una colaboración internacional con la Universidad Estatal de Carolina del Norte permitió explorar el uso de biominerales como alternativas no químicas para el control de ácaros. Se evaluaron materiales como la tierra de diatomeas (Celite 610), compuesta por sílice amorfo de origen fósil, e Imergard™ WP, un biomineral derivado de roca volcánica calcinada. Ambos actúan mediante un mecanismo físico-mecánico: al adherirse a la cutícula del ácaro, absorben las ceras superficiales y obstruyen los espiráculos, induciendo deshidratación y asfixia. Su alta eficacia ha sido demostrada contra ninfas de *Ixodes scapularis* y *Haemaphysalis longicornis*, con tiempos letales medianos (LT<sub>50</sub>) inferiores a 80 minutos tras exposiciones de solo 1–4 segundos (Richardson et al., 2022; Garshong et al., 2024). Gracias a esta colaboración, el INIAP incorporó muestras de Celite 610, Imergard™ WP y una tierra de diatomeas comercial nacional, Sio Premium, para su evaluación en formulaciones integradas.

Se exploró el potencial de la quitina como modulador de la virulencia de *B. bassiana*. Este polisacárido, componente estructural clave en artrópodos y hongos, estimula la producción de quitinasas por parte del hongo, enzimas que facilitan la degradación de la cutícula del hospedador y potencian su capacidad infectiva. Estudios han demostrado que la adición de quitina mejora significativamente la efectividad de *B. bassiana* contra plagas como *Conopomorpha cramerella* (Nurhangga et al., 2024) y *Cylas formicarius* (Saputro et al., 2019). Asimismo, su inclusión en formulaciones de alginato en forma de pellets incrementa la estabilidad y actividad del hongo (Gerdin-González et al., 2007), y cepas genéticamente mejoradas que sobre expresan quitinasas muestran una mayor patogenicidad (Fan et al., 2007). Estos hallazgos respaldan el uso estratégico de la quitina como agente sinérgico en formulaciones bioinsecticidas.

En 2024, se realizaron trabajos preliminares para integrar estos avances —biominerales, quitina y *B. bassiana*—en formulaciones tipo pellet. El presente protocolo tiene como objetivo documentar, estandarizar y validar este sistema innovador, con miras a su publicación científica, escalamiento productivo y aplicación efectiva en condiciones de campo.



## Objetivos

### Objetivo general

Desarrollar y evaluar formulaciones eficaces, estables y sostenibles de *Beauveria bassiana* como biopesticida para el control de *Rhipicephalus microplus*, mediante la integración de estrategias de producción, reactivación de virulencia, análisis molecular, formulación con biominerales y evaluación de eficacia en condiciones controladas de laboratorio.

### Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la reactivación de la cepa *Beauveria bassiana* INIAP L3B3 mediante la suplementación del medio de cultivo con extracto de cebolla y levadura de cerveza sobre la producción, viabilidad y calidad fisiológica de las conidias, así como su estabilidad durante el almacenamiento.
- Determinar el efecto de 3 biominerales como agentes formulantes sobre la estabilidad físico-química, la viabilidad de esporas y la eficacia acaricida de las formulaciones granuladas de *Beauveria bassiana*.
- Evaluar el impacto de dos condiciones térmicas de almacenamiento (8°C y 23°C) sobre la viabilidad y estabilidad de las conidias de *Beauveria bassiana* durante un período de 120 días.
- Analizar la compatibilidad y posibles interacciones (sinérgicas, aditivas o antagónicas) entre la formulación fúngica de *Beauveria bassiana* y un acaricida químico comercial (cipermetrina + etion) en el control *in vitro* de *Rhipicephalus microplus*.
- Evaluar el efecto protector del aceite de girasol frente a la radiación UV-B en formulaciones de *Beauveria bassiana*, incluyendo su tolerancia a diferentes tiempos de exposición (0, 2 y 4 horas), y determinar el impacto en la viabilidad y actividad biológica de las conidias.

## Materiales y Métodos

### Metodología

#### Características de los ensayos

Los ensayos se desarrollarán en condiciones controladas de laboratorio en las instalaciones de la Estación Experimental Santo Domingo del INIAP, entre agosto del 2025 y octubre del 2026. Todos los experimentos serán realizados bajo diseño completamente al azar (DCA), con tres repeticiones por tratamiento y tres repeticiones en el tiempo. Las actividades incluirán:

- Producción masiva de conidias de *Beauveria bassiana* INIAP L3B3.

- Reactivación de virulencia mediante quitina y suplementación nutricional.
- Formulación granulada con biominerales (Sio Premium, Imergard, Diafil 610).
- Evaluación de estabilidad físico-química y viabilidad de esporas durante almacenamiento.
- Bioensayos acaricidas *in vitro* contra larvas y adultos de *Rhipicephalus microplus*.
- Ensayos de resistencia a UV-B con protección de aceite de girasol.
- Análisis transcriptómico dual (hongo-garrapata) en interacciones patógeno-huésped.

Las condiciones ambientales se mantendrán estables: temperatura  $25 \pm 2$  °C, humedad relativa  $70 \pm 5$  % y fotoperiodo 12:12 h (luz / oscuridad). La viabilidad de los pellets se evaluará con dos temperaturas de almacenamiento (8°C y 23°C).

Los factores se describen en la tabla 1. No todos los factores se prueban simultáneamente; se aplican según el objetivo específico.

**Tabla 1**

*Factores principales y sus interacciones*

| Factor (F) | Nombre del Factor                                   | Niveles Experimentales                                                                                                                         | Objetivo asociado                                                                                                                                                                                                                              |
|------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| F1         | Reactivación de virulencia y producción de conidias | 1. Extracto de cebolla (2%) + levadura de cerveza (2,5%)<br>2. Testigo (medio PDA estándar)                                                    | Evaluar el efecto de la reactivación de la cepa <i>Beauveria basiana</i> INIAP L3B3 mediante la adición de quitina de camarón y suplementación con extracto de cebolla y levadura de cerveza sobre la producción de conidias y su estabilidad. |
| F2         | Tipo de biomineral en formulación                   | 1. Sio Premium, 2. Imergard, 3. Diafil 610, 4. Testigo sin biomineral                                                                          | Evaluar el efecto de diferentes biominerales como portadores o estabilizantes en la formulación fúngica.                                                                                                                                       |
| F3         | Condición de almacenamiento                         | 8°C - 23°C (temperatura ambiente controlada)                                                                                                   | Evaluar la viabilidad y estabilidad de las conidias durante el almacenamiento bajo diferentes condiciones térmicas.                                                                                                                            |
| F4         | Tratamiento acaricida combinado                     | 1. Formulación fúngica sola<br>2. Fúngico + mezcla comercial (cipermetrina + ethion)<br>3. Acaricida solo (testigo positivo) 4. Agua destilada | Evaluar la compatibilidad y efecto combinado entre la formulación fúngica y un acaricida químico comercial.                                                                                                                                    |
| F5         | Presencia de aceite de girasol                      | 1. Con aceite (5% v/v)<br>2. Sin aceite                                                                                                        | Evaluar el efecto del aceite de girasol como adyuvante en la formulación, mejorando adherencia, protección UV o viabilidad del hongo.                                                                                                          |
| F6         | Tiempo de exposición a UV-B                         | 1. 0 h (control)<br>2. 2 h<br>3. 4 h                                                                                                           | Evaluar la tolerancia de las formulaciones fúngicas a la radiación UV-B y su efecto sobre la viabilidad de las conidias.                                                                                                                       |

## Tratamientos

Los tratamientos se definieron según los diferentes factores en estudio (F1–F6) y se asignaron de acuerdo con los objetivos específicos del proyecto. Se aplicarán distintas combinaciones experimentales distribuidas en varios ensayos independientes, todos bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA), con tres repeticiones por tratamiento y tres repeticiones en el tiempo.

**Ensayo 1:** Evaluación de modificaciones en el método de producción de conidias de *Beauveria bassiana* INIAP L3B3 sobre sustrato sólido de arroz.

Este ensayo tiene como objetivo evaluar el efecto de la reactivación de la cepa y la suplementación del sustrato con extracto de cebolla y levadura de cerveza sobre la producción, viabilidad y estabilidad de conidias. Los tratamientos a evaluar son:

**Tabla 2**

*Tratamientos para la producción de conidias de B. bassiana*

|    |                                                                                                                                                                                                                 |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| T1 | <b>Testigo:</b> conidias producidas en arroz sin reactivación ni suplementación (cepa mantenida en PDA estándar).                                                                                               |
| T2 | <b>Tratamiento modificado:</b> cepa reactivada en larvas de <i>Rhipicephalus microplus</i> , producción en PDA suplementado con 2% de extracto de cebolla y arroz suplementado con 2,5% de levadura de cerveza. |

La producción se realizará en fundas de arroz (800 g), previamente lavado, esterilizado y enfriado, inoculado con 5 mL de suspensión de conidias ( $1 \times 10^6$  conidias/mL) en solución de Tween 80 al 0,1%. Las fundas se incuban durante 15 días a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , con remoción manual cada 72 horas para homogenizar el crecimiento micelial.

Posteriormente, el sustrato se seca durante 7 días a temperatura ambiente ( $23^\circ\text{C}$ ), se cosecha, envasa y almacena a  $8^\circ\text{C}$ . La concentración de conidias (conidias/g), viabilidad (UFC/g y germinación %) y estabilidad durante almacenamiento (0, 30, 60 y 90 días) serán las variables evaluadas.

**Ensayo 2:** Evaluación del efecto de la reactivación de virulencia y concentración de quitina sobre la producción y viabilidad de conidias.

Este ensayo tiene como finalidad evaluar el impacto de la reactivación de virulencia en *Beauveria bassiana* INIAP L3B3 mediante la suplementación de quitina de camarón en el sustrato de producción. A su vez, las garrapatas empleadas en bioensayos se enviarán a USDA ARS en EEUU para evaluación de transcriptomas.

**Tabla 3**

*Tratamientos a evaluar reactivación de virulencia*

| Trat | Descripción del tratamiento                                         |
|------|---------------------------------------------------------------------|
| T1   | Hongo atenuado (control base).                                      |
| T2   | Hongo reactivado (control para comparar el efecto de reactivación). |
| T3   | Hongo atenuado + 5% de quitina de camarón.                          |
| T4   | Hongo atenuado + 10% de quitina de camarón.                         |
| T5   | Hongo atenuado + 15% de quitina de camarón.                         |
| T6   | Hongo atenuado + 20% de quitina de camarón.                         |

**Ensayo 3:** Evaluación de formulaciones granuladas con biominerales y su combinación con acaricidas químicos

Con el fin de evaluar la eficacia acaricida *in vitro* de las formulaciones granuladas solubles en agua y su posible sinergia con acaricidas, se establecieron los siguientes 14 tratamientos:

**Tabla 4**

*Tratamientos a evaluar (determinación de DL50 y DL90 en garrapatas)*

| Trat. | Descripción del Tratamiento                                  |
|-------|--------------------------------------------------------------|
| T1    | Agua destilada (Testigo absoluto)                            |
| T2    | Cipermetrina + Ethion (0.8 ml/l)                             |
| T3    | Pellet Fórmula 1 (sin <i>B. basiana</i> )                    |
| T4    | Pellet Fórmula 1 + Cipermetrina + Ethion                     |
| T5    | Pellet Fórmula 1 + <i>B. basiana</i>                         |
| T6    | Pellet Fórmula 1 + <i>B. basiana</i> + Cipermetrina + Ethion |
| T7    | Pellet Fórmula 2 (sin <i>B. basiana</i> )                    |
| T8    | Pellet Fórmula 2 + Cipermetrina + Ethion                     |
| T9    | Pellet Fórmula 2 + <i>B. basiana</i>                         |
| T10   | Pellet Fórmula 2 + <i>B. basiana</i> + Cipermetrina + Ethion |
| T11   | Pellet Fórmula 3 (sin <i>B. basiana</i> )                    |
| T12   | Pellet Fórmula 3 + Cipermetrina + Ethion                     |
| T13   | Pellet Fórmula 3 + <i>B. basiana</i>                         |
| T14   | Pellet Fórmula 3 + <i>B. basiana</i> + Cipermetrina + Ethion |

Composición de los pellets:

- **Pellet Fórmula 1:** 60% Sio Premium, 30% talco industrial, 10% almidón.
- **Pellet Fórmula 2:** 55% Diafil 610 (Celite), 30% talco industrial, 15% almidón.
- **Pellet Fórmula 3:** 50% Imergard Aethna, 30% talco industrial, 20% almidón.

La suspensión fúngica se aplica por impregnación directa sobre los pellets, utilizando una concentración de  $1 \times 10^9$  conidias/mL, seguida de secado controlado durante 4 horas a temperatura ambiente. El acaricida se aplica como solución acuosa al momento del bioensayo.

#### Ensayo 4: Evaluación de la estabilidad de las formulaciones durante el almacenamiento

Este ensayo evaluará la viabilidad de esporas y estabilidad físico-química de las formulaciones frente a dos condiciones de temperatura de almacenamiento. Se consideran solo las formulaciones con *B. bassiana* reactivado (T2 del Ensayo 1), formuladas con cada biomineral.

**Tabla 5**

*Tratamientos para determinar tiempo de stock*

| Trat. | Descripción del tratamiento                  | Temperatura |
|-------|----------------------------------------------|-------------|
| T1    | Hongo reactivado $10^{10}$ + 50% Imergard    | 8°C         |
| T2    | Hongo reactivado $10^{10}$ + 50% Imergard    | 23°C        |
| T3    | Hongo reactivado $10^{10}$ + 55% Diafil 610  | 8°C         |
| T4    | Hongo reactivado $10^{10}$ + 55% Diafil 610  | 23°C        |
| T5    | Hongo reactivado $10^{10}$ + 60% Sio Premium | 8°C         |
| T6    | Hongo reactivado $10^{10}$ + 60% Sio Premium | 23°C        |
| T7    | Hongo reactivado $10^{10}$                   | 8°C         |
| T8    | Hongo reactivado $10^{10}$                   | 23°C        |

La viabilidad se evaluará periódicamente (0, 30, 60, 90 y 120 días) mediante recuento de conidias viables (UFC/mL) y germinación de esporas.

#### Ensayo 5: Evaluación del efecto protector del aceite de girasol frente a UV-B

Para determinar el efecto protector del aceite de girasol (5% v/v) en formulaciones de *B. bassiana* expuestas a radiación UV-B, se evaluarán los siguientes tratamientos:

**Tabla 6**

*Tratamientos para evaluar UFCs a exposición solar*

| Trat. | Código | Descripción del tratamiento                  |
|-------|--------|----------------------------------------------|
| T1    | D0     | Diafil 610 (0 h, sin UV-B)                   |
| T2    | D2     | Diafil 610 (2 h UV-B)                        |
| T3    | D4     | Diafil 610 (4 h UV-B)                        |
| T4    | D2A    | Diafil 610 + aceite de girasol 5% (2 h UV-B) |
| T5    | D4A    | Diafil 610 + aceite de girasol 5% (4 h UV-B) |
| T6    | I0     | Imergard (0 h, sin UV-B)                     |
| T7    | I2     | Imergard (2 h UV-B)                          |
| T8    | I4     | Imergard (4 h UV-B)                          |

|     |     |                                                                             |
|-----|-----|-----------------------------------------------------------------------------|
| T9  | I2A | Imergard + aceite de girasol 5% (2 h UV-B)                                  |
| T10 | I4A | Imergard + aceite de girasol 5% (4 h UV-B)                                  |
| T11 | S0  | Sio Premium (0 h, sin UV-B)                                                 |
| T12 | S2  | Sio Premium (2 h UV-B)                                                      |
| T13 | S4  | Sio Premium (4 h UV-B)                                                      |
| T14 | S2A | Sio Premium + aceite de girasol 5% (2 h UV-B)                               |
| T15 | S4A | Sio Premium + aceite de girasol 5% (4 h UV-B)                               |
| T16 | T   | Testigo (hongo sobre arroz + plato Petri cubierto con papel aluminio – 4 h) |

Posterior a la exposición, se evaluará la germinación de esporas *in vitro* y la mortalidad de huevos de *R. microplus* para determinar el grado de protección conferido por el aceite.

#### Factores en estudio

Los factores evaluados en este estudio se han definido en función de los objetivos específicos del proyecto, con el fin de optimizar la producción, formulación, estabilidad y eficacia acaricida de la cepa *Beauveria bassiana* INIAP L3B3. No todos los factores se evalúan simultáneamente, sino que se aplican de manera selectiva en diferentes ensayos experimentales, según el proceso biológico o tecnológico que se investigue. A continuación, se detallan los seis factores principales, sus niveles y el objetivo asociado a cada uno.

#### F1: Reactivación de virulencia y producción de conidias

- **Objetivo:** Evaluar el efecto de la reactivación de la cepa *Beauveria bassiana* INIAP L3B3 mediante la adición de quitina de camarón y la suplementación del sustrato de cultivo con extracto de cebolla y levadura de cerveza sobre la producción de conidias viables, su calidad fisiológica y su estabilidad durante el almacenamiento. Este factor es central en los ensayos de producción masiva y constituye la base para la obtención de inóculo de alta viabilidad.

- **Niveles:**
  1. Suplementación con extracto de cebolla (2%) + levadura de cerveza (2,5%)
  2. Testigo (medio PDA estándar)

#### F2: Tipo de biomineral en formulación

- **Objetivo:** Determinar el efecto de diferentes biominerales como agentes de formulación granulada sobre la estabilidad físico-química, la viabilidad de esporas y la eficacia acaricida de las formulaciones fúngicas. Este factor se evalúa en los Ensayos 3, 4 y 5, donde los biominerales actúan como portadores y posibles protectores contra factores ambientales adversos.

- **Niveles:**



1. Sio Premium
2. Imergard
3. Diafil 610
4. Testigo sin biomineral

#### F3: Condición de almacenamiento

- Objetivo: Evaluar el impacto de las condiciones térmicas de almacenamiento sobre la viabilidad y estabilidad de las conidias a lo largo del tiempo. Este factor es clave en el Ensayo 4, donde se monitorea la supervivencia fúngica durante 120 días bajo condiciones de refrigeración y ambiente controlado.

- Niveles:
  1. 8 °C
  2. 23 °C (temperatura ambiente controlada)

#### F4: Tratamiento acaricida combinado

- Objetivo: Analizar la compatibilidad entre la formulación fúngica y acaricidas químicos, así como identificar posibles efectos sinérgicos, aditivos o antagónicos en el control de *Rhipicephalus microplus*. Este factor se investiga principalmente en el Ensayo 3 mediante bioensayos *in vitro*.

- Niveles:
  1. Formulación fúngica sola
  2. Formulación fúngica + mezcla comercial (cipermetrina + ethion)
  3. Acaricida solo (testigo positivo)
  4. Agua destilada (testigo negativo)

#### F5: Presencia de aceite de girasol

- Objetivo: Evaluar el papel del aceite de girasol como adyuvante en la formulación, enfocado en su capacidad para mejorar la adherencia, proteger las conidias frente a la radiación UV-B y mantener la viabilidad del hongo. Este factor se prueba en el Ensayo 5, donde se analiza su efecto protector bajo exposición controlada a UV-B.
- Niveles:
  1. Con aceite de girasol (5% v/v)
  2. Sin aceite

#### F6: Tiempo de exposición a UV-B

- Objetivo: Determinar la tolerancia de las formulaciones fúngicas a la radiación ultravioleta tipo B, un factor limitante para la aplicación en campo, y evaluar cómo los biominerales y el aceite de

girasol influyen en la protección de las conidias. Este factor se aplica en el Ensayo 5, en combinación con F2 y F5.

- Niveles:

1. 0 h (control sin exposición)
2. 2 h
3. 4 h

Nota metodológica:

Cada factor se evaluará dentro de un diseño experimental completamente al azar (DCA), con tres repeticiones por tratamiento y tres repeticiones en el tiempo. La selección de factores y su combinación en tratamientos específicos responde a un enfoque modular, permitiendo analizar de forma independiente y rigurosa cada componente del proceso de producción, formulación y aplicación del hongo entomopatógeno.

Unidad experimental

La unidad experimental se definirá de acuerdo con el tipo de ensayo y la variable respuesta principal a evaluar, garantizando condiciones uniformes de manejo, exposición y medición. En todos los experimentos, se adoptó un enfoque estandarizado para asegurar la validez, reproducibilidad y comparabilidad de los resultados. A continuación, se detalla la unidad experimental para cada uno de los ensayos realizados:

**Ensayo 1:** Evaluación de modificaciones en el método de producción de conidias

- Unidad experimental: Una funda de 800 g de arroz esterilizado, inoculada con 5 mL de suspensión homogénea de conidias ( $1 \times 10^6$  conidias/mL).
- Cada funda constituye una repetición independiente y se considera una unidad de producción fúngica.
- Las evaluaciones de producción, viabilidad y estabilidad se realizan a partir de muestras compuestas tomadas del sustrato al finalizar el periodo de incubación y durante las diferentes fases de almacenamiento.

**Ensayo 2:** Evaluación del efecto de la reactivación de virulencia y concentración de quitina

- Producción de inóculo (fermentación en estado sólido):

Cada unidad experimental consiste en una funda plástica con 800 gramos de arroz esterilizado, inoculado con 5 mL de una suspensión homogénea de *Beauveria bassiana* a una concentración de  $1 \times 10^6$  conidias/mL.

Las fundas se incuban en condiciones controladas:  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 5\%$  de humedad relativa, y un fotoperiodo de 12:12 h (luz:oscuridad). Cada funda representa una repetición.

- Ensayos de mortalidad y viabilidad en garrapatas adultas:

Se utilizan 1.260 teleóginas distribuidas en 14 tratamientos, cada uno con 3 repeticiones y 3 tiempos de evaluación (temporales), resultando en un total de 9 unidades experimentales por tratamiento (14 tratamientos  $\times$  9 unidades = 126 unidades experimentales en total).

Cada unidad experimental está compuesta por un grupo de teleóginas expuestas a un tratamiento específico, evaluadas bajo condiciones controladas.

- Ensayo de eficacia larvica (DL50 y DL90):

Cada unidad experimental consiste en una caja de Petri conteniendo 100 larvas de *Rhipicephalus microplus* expuestas a un tratamiento específico.

La mortalidad larval se evalúa a las 72, 96 y 120 horas post-exposición, con una lectura final a los 7 días para determinar la letalidad del tratamiento aplicado.

- Ensayos de oviposición y producción de huevos/larvas:

Para los ensayos relacionados con la oviposición, se utilizarán un total de 1.460 teleóginas distribuidas en tres experimentos: 100 se colocarán individualmente en caja de Petri para evaluar la capacidad oviposicional; 1.260 se agruparán en 126 unidades experimentales (10 teleóginas por unidad) para los ensayos de inhibición de oviposición; y aproximadamente 100 adicionales se emplearán para cuantificar la producción de huevos y larvas bajo condiciones controladas.

### **Ensayo 3:** Evaluación de formulaciones granuladas con biominerales y combinación con acaricidas

Unidad experimental:

- Ensayos biológicos de mortalidad y viabilidad en teleoginas:

Se emplean 1.260 teleoginas distribuidas en 14 tratamientos, con 3 repeticiones y 3 tiempos de evaluación por tratamiento, lo que resulta en un total de 9 unidades experimentales por tratamiento (14  $\times$  9 = 126 unidades experimentales).

- Producción de huevos y larvas:

Para evaluar la oviposición se utilizan 100 teleoginas distribuidas individualmente en cajas de Petri, y para los ensayos de inhibición de oviposición se emplean 1.260 teleoginas adicionales, distribuidas en 126 unidades experimentales (10 teleoginas por unidad experimental).

De forma complementaria, se destinan aproximadamente 100 teleoginas adicionales para establecer la media de puesta de huevos y la producción estimada de larvas por hembra.

- Ensayo de dosis letal en larvas:

Cada caja de Petri con 100 larvas constituye una unidad experimental.

- Evaluación de mortalidad larval:

La mortalidad se registrará a las 72, 96 y 120 horas post-exposición, con una lectura final a los 7 días.

**Ensayo 4:** Evaluación de la estabilidad de las formulaciones durante el almacenamiento

- Unidad experimental: Un frasco de vidrio ámbar de 500 mL con tapa hermética, que contiene 30 g de formulación granulada de *Beauveria bassiana* INIAP L3B3 (pellet con biomineral), almacenado a 8°C o 23°C según el tratamiento asignado.
- Cada frasco representa una unidad experimental independiente correspondiente a un tipo de pellet y condición de almacenamiento. En cada punto temporal de evaluación (0, 30, 60, 90 y 120 días), se colectan 3 g de muestra para análisis.
- Las muestras recolectadas se utilizarán para realizar el recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/mL) y la evaluación *in vitro* de la tasa de germinación de conidias.

**Ensayo 5:** Evaluación del efecto protector del aceite de girasol frente a UV-B

- Para el análisis de germinación de conidias: Una caja Petri con medio PDA suplementado con benomil al 0.002% p/v. Cada caja se inoculará con la suspensión fúngica correspondiente a un tratamiento y se utiliza para cuantificar el porcentaje de conidias germinados.
- Para el análisis de mortalidad de huevos: Una caja Petri conteniendo un grupo de huevos de *Rhipicephalus microplus* expuestos a una suspensión de conidias. Cada caja representa una unidad de análisis independiente para evaluar la eficacia ovicida del tratamiento.

5.2.1. Diseño experimental y análisis de datos

El diseño experimental y el análisis estadístico se estructurarán de acuerdo con los objetivos específicos de cada ensayo, con el fin de garantizar rigor científico, reproducibilidad y validez en las inferencias. Todos los experimentos se desarrollarán bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA), con tres repeticiones por tratamiento y tres repeticiones en el tiempo (evaluaciones longitudinales), salvo que se especifique lo contrario. A continuación, se detallará el diseño y la metodología de análisis para cada uno de los ensayos.

Diseño experimental

**Ensayo 1:** Evaluación de modificaciones en el método de producción de conidias

- Se empleará un diseño completamente al azar (DCA) con dos tratamientos (T1 y T2).
- Cada funda de arroz (800 g) inoculada constituirá una unidad experimental, con tres repeticiones por tratamiento.
- Las evaluaciones de producción, viabilidad y estabilidad se realizarán a los 0, 30, 60 y 90 días de almacenamiento, considerando el tiempo como un factor repetido.

**Ensayo 2:** Evaluación del efecto de la reactivación de virulencia y concentración de quitina

- Se aplicará un DCA con seis tratamientos correspondientes a diferentes concentraciones de quitina de camarón y condiciones de reactivación (Tabla 2).
- Cada caja de Petri o frasco con sustrato de arroz suplementado representará una unidad experimental, con tres repeticiones por tratamiento.
- La incubación se mantendrá durante 15 días bajo condiciones controladas.

**Ensayo 3:** Evaluación de formulaciones granuladas y su combinación con acaricidas químicos

- Se utilizará un DCA con 14 tratamientos, distribuidos según tipo de formulación, presencia de hongo y combinación con acaricida químico.
- Cada unidad experimental consistirá en un recipiente con 1 g de formulación reconstituida y 50 larvas de *Rhipicephalus microplus*.
- La mortalidad larval se registrará a intervalos regulares (72, 96, 120 y 168 horas).

**Ensayo 4:** Evaluación de la estabilidad de las formulaciones durante el almacenamiento

- Se implementará un diseño factorial (biomineral × temperatura × tiempo) bajo DCA.
- Se evaluarán tres biominerales, dos temperaturas (8 °C y 23 °C) y cinco tiempos de muestreo (0, 30, 60, 90 y 120 días).
- Cada frasco de almacenamiento (10 g de formulación) constituirá una unidad experimental, con tres repeticiones por combinación tratamiento-tiempo.

**Ensayo 5:** Evaluación del efecto protector del aceite de girasol frente a UV-B

- Se aplicará un diseño factorial (biomineral × presencia de aceite × tiempo de exposición a UV-B) en esquema DCA.
- Cada caja de Petri con formulación expuesta a radiación UV-B será una unidad experimental, con tres repeticiones por tratamiento.
- Las exposiciones se programarán a 0, 2 y 4 horas, con y sin aceite de girasol (5% v/v).

**Análisis de datos**

Los datos se analizarán utilizando los softwares estadísticos R v4.3.1 y Infostat v2023, aplicando las siguientes metodologías:

a) Evaluación de supuestos estadísticos:

- Se verificará la normalidad de los residuos mediante la prueba de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de varianzas con la prueba de Levene.
- En caso de no cumplirse los supuestos, se procederá a transformar los datos (raíz cuadrada, logaritmo o transformación angular) o se utilizarán pruebas no paramétricas.

b) Análisis de varianza (ANOVA):

- Se realizará ANOVA de uno o más factores según el diseño experimental.
- Cuando se detecten diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), se aplicará la prueba de comparación múltiple de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) para identificar diferencias entre medias.

c) Modelos lineales mixtos para datos longitudinales:

- En los ensayos con medidas repetidas en el tiempo (Ensayos 1 y 4), se ajustará un modelo lineal mixto (LMM), considerando el tiempo como factor fijo y la repetición como efecto aleatorio, mediante estimación por máxima verosimilitud restringida (REML).

d) Regresión logística y cálculo de dosis letales (DL):

- Para el Ensayo 3, se utilizará regresión logística para modelar la relación entre la concentración de formulación/acaricida y la mortalidad larval.
- Se estimarán las dosis letales DL50 y DL90 con sus intervalos de confianza del 95%, empleando el software POLO Plus o funciones equivalentes en R.

e) Análisis de correlación y regresión:

- Se calcularán coeficientes de correlación de Pearson para evaluar relaciones entre variables cuantitativas (ej. producción de conidias vs. viabilidad, tiempo de UV-B vs. germinación).
- Se ajustarán modelos de regresión lineal o no lineal según el patrón de los datos.

f) Análisis transcriptómico dual (hongo-garrapata): Los datos de RNAseq de muestras expuestas (procesadas en colaboración con USDA ARS) se analizarán mediante bioinformática avanzada:

- Control de calidad de lecturas (FastQC, Trimmomatic).
- Mapeo al genoma de referencia (*Beauveria bassiana* y *Rhipicephalus microplus*).
- Cuantificación de la expresión génica (HTSeq o featureCounts).
- Identificación de genes diferencialmente expresados con DESeq2.
- Análisis de enriquecimiento funcional (ontología génica - GO y rutas KEGG).

Consideraciones éticas y control de calidad

- Se incluirán testigos positivos y negativos en todos los bioensayos para validar la respuesta biológica.
- Se implementarán protocolos estrictos de asepsia y control de contaminación durante la producción y formulación del hongo.
- Las condiciones ambientales (temperatura, humedad relativa) se monitorearán y registrarán continuamente.

### 5.3. Variables y métodos de evaluación

Esta sección describe las variables de respuesta y las metodologías estandarizadas que se emplearán para evaluar los efectos de los tratamientos en cada uno de los objetivos específicos del proyecto. Todas las evaluaciones se realizarán en condiciones controladas de laboratorio, siguiendo protocolos validados para hongos entomopatógenos, formulaciones biológicas y bioensayos acaricidas *in vitro*.



#### 5.3.1. Objetivo específico 1

Evaluar el efecto de la reactivación de la cepa *Beauveria bassiana* INIAP L3B3 mediante quitina de camarón y suplementación del sustrato de cultivo con extracto de cebolla (2%) y levadura de cerveza (2,5%), sobre la producción de conidias viables y su estabilidad durante el almacenamiento.

#### Variables para evaluar

- Producción de conidias (conidias/g de sustrato): Se extraerán las conidias de 1 g de sustrato (arroz) mediante agitación en 10 mL de solución de Tween 80 al 0,1%. Se realizarán diluciones seriadas y siembra por gotas en medio SDA + antibióticos. Tras 48–72 h de incubación a  $25 \pm 2$  °C, se contabilizarán las UFC y se expresarán como conidias viables por gramo. La concentración total se validará con hemocitómetro.
- Viabilidad de esporas (%): Se empleará la técnica de germinación *in vitro*. Se colocarán 100 µL de suspensión ( $1 \times 10^5$  conidias/mL) en cavidades de lámina o cajas de microcultivo con SDA, incubadas 24 h a 25 °C y HR >90%. Se contabilizarán al microscopio (400x) las conidias con tubo germinativo > longitud del conidio. Viabilidad (%) =  $(\text{Total contadas} / \text{Conidias germinadas}) \times 100$
- Estabilidad durante el almacenamiento (viabilidad en el tiempo): Las conidias se almacenarán en frascos ámbar herméticos a 8 °C y 23 °C. Se evaluará la viabilidad (UFC/g) a los 0, 30, 60, 90 y 120 días; Se ajustará un modelo de decaimiento para determinar la vida media de las conidias y se compararán las tasas de supervivencia entre tratamientos.
- Calidad morfológica del micelio y conidias  
Método: Se realizará observación microscópica (óptica y, si es posible, electrónica de barrido) para evaluar uniformidad, esporulación y estado físico del micelio.

#### Diseño y análisis

- Diseño: DCA con 2–6 tratamientos (según ensayo), 3 repeticiones y 3 bloques temporales.
- Análisis: ANOVA, prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ) y modelos mixtos para datos longitudinales.

#### 5.3.2. Objetivo Específico 2

Evaluar el efecto de diferentes biominerales (Sio Premium, Imergard, Diafil 610) como agentes formulantes en la estabilidad físico-química y viabilidad de esporas de formulaciones granuladas de *Beauveria bassiana*.

#### Variables a evaluar

- a) Viabilidad inicial de conidias en formulación (UFC/g): Se extraerán conidias de 1 g de formulación con solución Tween 80 al 0,1%, se diluirán y se sembrarán en SDA. Se contabilizarán UFC tras 72 h.
- b) Estabilidad físico-química de la formulación. Las variables son:
- Humedad: pérdida por peso en estufa a 105 °C hasta peso constante.
  - pH: suspensión 1:10 en agua destilada, medido con pH-metro.
  - Dispersabilidad: tiempo de sedimentación en agua destilada (método de cono de Hall).
  - Fluidez: ángulo de reposo y velocidad de flujo por embudo.
- c) Viabilidad durante almacenamiento (UFC/g a lo largo del tiempo): Se almacenarán formulaciones a 8 °C y 23 °C y se evaluará la viabilidad a 0, 30, 60, 90 y 120 días.
- d) Tasa de liberación de conidias en solución acuosa: Se disolverán 1 g de formulación en 100 mL de agua destilada bajo agitación suave. Se tomarán muestras a los 5, 15, 30 y 60 minutos para determinar UFC/mL.

#### Diseño y análisis

- Diseño: DCA factorial: biomineral (3 niveles) × temperatura (2 niveles) × tiempo (5 niveles).
- Análisis: ANOVA multifactorial, modelos mixtos, comparaciones múltiples (Tukey).

#### 5.3.3. Objetivo Específico 3

Determinar la eficacia acaricida in vitro de formulaciones granuladas de *B. bassiana* y su compatibilidad con acaricidas químicos (cipermetrina + ethion).

#### Variables a evaluar

- a) Mortalidad larval (%) de *Rhipicephalus microplus*:
- Se expondrán grupos de 50 larvas no alimentadas (7–10 días post-eclosión) a 10 mL de solución formulada (1 g de formulación reconstituida).
  - Se mantendrán en cámaras BOD (27 °C, HR >80%, oscuridad).
  - La mortalidad se registrará a las 72, 96, 120 y 168 h.
  - Se considerará como muerta a la larva que no responda a estímulos mecánicos.
- b) Tiempo letal (TL<sub>50</sub> y TL<sub>90</sub>): Se estimarán mediante análisis de regresión logística y modelos de sobrevivencia (Kaplan-Meier) usando el software SPSS o R.
- c) Dosis letal (DL<sub>50</sub> y DL<sub>90</sub>): Se ajustará una curva dosis-respuesta con regresión logística (probit o log-log) utilizando POLO Plus o funciones en R.
- d) Índice de compatibilidad (IC): Se calculará según la escala de Wadleigh & Sterling (1986), comparando la mortalidad observada con la esperada bajo aditividad.

#### Diseño y análisis

- Diseño: DCA con 14 tratamientos, 3 repeticiones.
- Análisis: ANOVA, comparaciones múltiples, regresión logística, análisis de supervivencia.

#### 5.3.4. Objetivo Específico 4

Evaluar la estabilidad de las formulaciones fúngicas durante el almacenamiento bajo diferentes condiciones de temperatura.

#### Variables a evaluar

a) Viabilidad de esporas durante el almacenamiento (UFC/g): Muestreo destructivo a 0, 30, 60, 90 y 120 días de almacenamiento a 8 °C y 23 °C. Extracción y conteo de UFC en SDA.

b) Porcentaje de germinación de esporas: Evaluación *in vitro* como se describe en 5.2.1, en cada punto de muestreo.

c) Cambios físico-químicos en la formulación: Humedad, pH, aglomeración, color. Los métodos se detallan en 5.2.2.

d) Tasa de pérdida de viabilidad (semivida de esporas): Ajuste de modelo exponencial de decaimiento:

$$N_t = N_0 \cdot e^{-kt}$$

Donde:

$N_t$  = viabilidad (porcentaje de conidias viables) en el tiempo  $t$ ,

$N_0$  = viabilidad inicial (en  $t=0$ ),

$e$  = constante de Euler (2.71828),

$k$  = tasa de decaimiento exponencial,

Semivida ( $t_{1/2}$ ) =  $\ln(2)/k$

#### Diseño y análisis

- Diseño: DCA factorial: biomineral × temperatura × tiempo.
- Análisis: Modelos lineales mixtos, ANOVA repetido, comparaciones de pendientes entre tratamientos.

#### 5.3.5. Objetivo Específico 5

Evaluar el efecto protector del aceite de girasol frente a la radiación UV-B en formulaciones de *Beauveria bassiana* y su impacto en la viabilidad y actividad biológica.

#### Variables a evaluar

a) Viabilidad post-exposición a UV-B (UFC/mL): Se expondrán cajas con formulación a lámpara UV-B (intensidad controlada:  $\sim 6.5 \text{ W/m}^2$ ) durante 0, 2 y 4 horas. Post-exposición, se suspenderán las conidias y se sembrarán en SDA para conteo de UFC.

b) Porcentaje de germinación de esporas: Evaluación microscópica tras 24 h de incubación *in vitro*.

c) Mortalidad de huevos de *R. microplus*

- Se tratarán grupos de 50 huevos (=24 h de edad) con suspensión de conidias post-UV.
- Se incubarán a 27 °C y HR >80% durante 14 días.
- Se evaluará la eclosión y se calculará la mortalidad corregida con la fórmula de Abbott.

d) Índice de protección del aceite de girasol: IP (%) = ((Viabilidad con aceite / Viabilidad sin aceite) - 1) × 100

#### Diseño y análisis

- Diseño: DCA factorial: biomineral (3) × aceite (2) × tiempo UV-B (3).
- Análisis: ANOVA de tres vías, interacciones significativas, comparaciones múltiples.

#### Diseño y análisis

- Diseño: DCA factorial: biomineral (3) × aceite de girasol (2) × tiempo de exposición UV-B (3).
- Análisis: ANOVA de tres vías, análisis de interacciones significativas, comparaciones múltiples de Tukey ( $p < 0.05$ ), regresión para modelar la relación dosis-respuesta con tiempo de exposición.

#### 5.4. Manejo específico del experimento

Los experimentos se llevarán a cabo de forma rigurosa y estandarizada entre agosto de 2025 y octubre de 2026 asegurando condiciones uniformes en la producción, formulación, almacenamiento y evaluación de *Beauveria bassiana* INIAP L3B3.

##### 5.4.1. Producción de conidias

#### Sustrato y preparación:

- Se utilizará arroz blanco partido (800 g por funda), previamente lavado con agua potable, remojado durante 12 h

y esterilizado en autoclave a 121 °C y 15 psi durante 60 minutos. Post-esterilización, el sustrato se enfriará a temperatura ambiente (25 °C) antes de la inoculación.

- Inóculo:

Se preparará una suspensión de conidias a una concentración de  $1 \times 10^6$  conidias/mL en solución de Tween 80 al 0,1%. Se aplicarán 5 mL de suspensión por funda mediante aspersión uniforme.

- Incubación: Las fundas se mantendrán en cámaras de incubación a  $25 \pm 2$  °C, con humedad relativa de  $70 \pm 5$  % y fotoperiodo 12:12 h (luz/oscuridad).

- o Se realizará agitación manual cada 72 horas para promover una colonización homogénea del sustrato.

- o El periodo de incubación será de 15 días, tiempo en el cual se completará la esporulación masiva.
- Cosecha y secado: Al final de la incubación, el sustrato se extenderá en bandejas de acero inoxidable y se secará a temperatura ambiente (25 °C) durante 7 días, protegido de la luz directa y contaminación ambiental.  
Posteriormente, se triturrará suavemente y se tamizará (malla 40) para separar las conidias del micelio y residuos.
- Almacenamiento inicial: Las conidias se envasarán en frascos ámbar herméticos y se almacenarán a 4 °C hasta su uso en formulación o evaluación.

#### 5.4.2. Reactivación de la cepa y suplementación del medio

- Reactivación de virulencia: La cepa *B. bassiana* INIAP L3B3 se reactivará mediante pasaje biológico en larvas de *Rhipicephalus microplus*; se expondrán grupos de 100 larvas a una suspensión de conidias ( $1 \times 10^6$  conidias/mL) durante 2 h; Las larvas infectadas se mantendrán en cámaras húmedas hasta su muerte (7–10 días); el micelio emergente se aislará en medio PDA suplementado con antibióticos (gentamicina 50 mg/L) para obtener cultivos purificados.
- Suplementación del medio: Al medio de cultivo PDA, se añadirá extracto de cebolla al 2% (v/v). El extracto se preparará por cocción de cebolla triturada (100 g/L) durante 30 minutos, filtrado y esterilizado por filtración; en el sustrato de arroz, se incorporará levadura de cerveza al 2,5% (p/p) antes de la esterilización; para tratamientos con quitina, se adicionará quitina de camarón molido al 5–20% (p/p) al arroz antes de la esterilización.

#### 5.4.3. Formulación granulada

##### a) Composición de formulaciones:

Se prepararán tres formulaciones granuladas basadas en biominerales:

- Fórmula 1: 60% Sio Premium, 30% talco industrial, 10% almidón.
- Fórmula 2: 55% Diafil 610, 30% talco, 15% almidón.
- Fórmula 3: 50% Imergard, 30% talco, 20% almidón.

##### b) Impregnación con hongo:

- Se preparará una suspensión de conidias a  $1 \times 10^9$  conidias/mL en solución Tween 80 al 0,1%.
- Se asperjará uniformemente sobre 100 g de mezcla formulada, en proporción de 1:1 (v:w).
- La mezcla se mezclará suavemente y se secará a temperatura ambiente durante 4 horas en cabina de flujo laminar.

##### c) Adición de aceite de girasol:

- En tratamientos específicos, se incorporará aceite de girasol al 5% (v/v) durante la impregnación del hongo.

- Se evaluará su efecto como adyuvante protector frente a UV-B.

#### 5.4.4. Almacenamiento de formulaciones

Condiciones de almacenamiento:

- Las formulaciones se envasarán en frascos de vidrio ámbar con tapa hermética.
- Se almacenarán bajo dos condiciones:
  - o 8 °C (refrigeración controlada).
  - o 23 °C (temperatura ambiente controlada, HR 60 ± 5 %).
- Los frascos se protegerán de la luz directa y se rotularán con fecha, tratamiento y condiciones.

Muestreos programados: Se realizarán muestreos destructivos a los 0, 30, 60, 90 y 120 días para evaluar viabilidad, germinación y propiedades físico-químicas.

#### 5.4.5. Bioensayos acaricidas *in vitro*

a) Fuente de garrapatas: Se utilizarán larvas no alimentadas de *Rhipicephalus microplus*, criadas en condiciones de laboratorio a partir de huevos obtenidos de garrapatas adultas ingurgitadas. Las larvas se usarán entre los 7 y 10 días post-eclosión.

b) Protocolo de exposición: Se prepararán soluciones reconstituidas con 1 g de formulación en 10 mL de agua destilada (o solución acaricida, según tratamiento); Grupos de 50 larvas se colocarán en recipientes herméticos con 1 mL de solución, asegurando contacto uniforme; Se mantendrán en cámaras BOD (27 °C, HR >80%, oscuridad) durante 7 días.

c) Evaluación de mortalidad: Se registrarán las respuestas a las 72, 96, 120 y 168 h. Se aplicará estímulo mecánico (pinchazo suave con aguja) para confirmar estado de vida/muerte.

#### 5.4.6. Exposición a radiación UV-B

Fuente de radiación: Se utilizará una lámpara germicida UV-B (280–320 nm, intensidad promedio 6.5 W/m<sup>2</sup>), calibrada con radiómetro. Las cajas con formulación se colocarán a 30 cm de distancia de la fuente.

Tratamientos de exposición: 0 h (control), 2 h y 4 h de exposición continua. Se incluirán tratamientos con y sin aceite de girasol (5% v/v).

Post-exposición: Inmediatamente después, se procederá a extracción de conidias y evaluación de viabilidad (UFC/mL) y germinación *in vitro*.

#### 5.4.7. Manejo de datos y bioseguridad

Registro de datos: Todos los resultados se registrarán en formatos digitales estandarizados y se almacenarán en el servidor seguro del INIAP. Se implementará un sistema de trazabilidad por lote de producción y formulación.



Bioseguridad: El manejo de *B. bassiana* se realizará en cabina de flujo laminar (Clase II). Se usarán EPP (bata, guantes, mascarilla, gafas) en todas las etapas. Los residuos orgánicos se autoclavarán antes de su disposición final. El uso de acaricidas químicos se realizará en campana de extracción, con manejo según fichas de seguridad (FDS).

## Resultados

La reactivación del hongo entomopatógeno se está evaluando mediante la suplementación del medio de cultivo con extracto de cebolla y quitina de camarón, conforme a la metodología descrita en el protocolo, donde comparamos las variables paramétricas frente a un testigo absoluto (hongo sin reactivar y sin suplementación) y un testigo relativo (hongo reactivado suplementado al 2% de cebolla).

## Conclusión

Se han iniciado las actividades planificadas para el cumplimiento del objetivo uno.

## Recomendaciones

Continuar con la ejecución de los objetivos específicos planteados y los respectivos ensayos, conforme a lo aprobado en el protocolo “Desarrollo Integral de un Biopesticida a Base de *Beauveria bassiana* INIAP L3B3: Producción, Reactivación de Virulencia, Formulación con Biominerales, Evaluación de Estabilidad y Eficacia contra *Rhipicephalus microplus* en Condiciones de Laboratorio”.

## Referencias

- Bravo, B., & Carranza, K. (2022). Uso de hongos entomopatógenos como alternativa en el control biológico de garrapatas en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Manabí]. Repositorio INIAP. <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5846>
- Fan, Y., Fang, W., Guo, S., Pei, X., Zhang, Y., Xiao, Y., Li, D., Jin, K., Bidochka, M. J., & Pei, Y. (2007). Increased insect virulence in *Beauveria bassiana* strains overexpressing an engineered chitinase. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(1), 295–302. <https://doi.org/10.1128/AEM.01974-06>
- Garshong, R. A., Hidalgo, D., Ponnusamy, L., Watson, D. W., & Roe, R. M. (2024). Non-chemical control of nymphal longhorned tick, *Haemaphysalis longicornis* Neumann 1901 (Acari: Ixodidae), using diatomaceous earth. *Insects*, 15(11), 844. <https://doi.org/10.3390/insects15110844>
- Gerdin-González, M., France, A., Sepúlveda, M. E., & Campos, J. (2007). Use of chitin to improve a *Beauveria bassiana* alginate-pellet formulation. *Biocontrol Science and Technology*, 17(2), 105–110. <https://doi.org/10.1080/09583150600937717>

- Herrera Montero, L. M., Romero Peláez, A. B., Gómez Mendoza, G. A., Navarrete Párraga, M. E., & Hidalgo Mata, D. A. (2024). Control de garrapatas mediante *Beauveria bassiana* cepa INIAP L3B3 en combinación con moléculas orgánicas y químicas. *Emergentes - Revista Científica*, 4(2), 583–596. <https://doi.org/10.60112/erc.v4i2.166>
- Hidalgo Mata, D. A. (2019). Desarrollo de una metodología de pelletización para *Beauveria bassiana* con insumos peruanos [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Repositorio Institucional UNALM. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/4347>
- Hidalgo Mata, D. A., & Tello Chancay, C. (2022). Manual para la producción de hongos entomopatógenos y análisis de calidad de bioformulados (Manual N° 128). Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/6434>.
- Hidalgo Mata, D., Ramírez, J. L., Navarrete, M., Cevallos, V., Ramos, M., Bravo, B., Carranza, K., Montes, V., & Pérez de León, A. Á. (2025). Research advances in Ecuador on use of entomopathogenic fungi for control of the cattle tick, *Rhipicephalus microplus*: The case of *Beauveria bassiana* sensu lato strain INIAP L3B3. *Frontiers in Fungal Biology*, 6, 1492395. <https://doi.org/10.3389/ffunb.2025.1492395>
- Ligña Sangucho, K. D., Gómez Mendoza, G. A., Ávila Vaca, R. R., Navarrete Párraga, M. E., & Hidalgo Mata, D. A. (2024). Efecto ovicida de *Beauveria* spp. sobre huevos de garrapata *Rhipicephalus microplus* en invernadero. *Emergentes - Revista Científica*, 4(2), 597–610. <https://doi.org/10.60112/erc.v4i2.167>
- Nurhangga, E., Nawfetriyas, W., Djamars, N., & Jufri, A. (2024). The effect of chitin on the effectiveness of *Beauveria bassiana* formulation product to control cocoa pod borer in vitro. *Menara Perkebunan*, 92(1), 24–32. <https://doi.org/10.22302/iribb.jur.mp.v92i1.550>
- Pérez Otañez, X. F. (2019). Distribución de la resistencia a los acaricidas, ivermectina y alfacipermetrina en garrapatas *Boophilus microplus* y posibles factores de riesgo asociados  $\pm 0.5$  grados de latitud de la línea ecuatorial, Ecuador [Tesis de maestría, Universidad Central del Ecuador]. Repositorio Digital UCE. <http://dspace.uce.edu.ec/handle/25000/19532>
- Richardson, E. A., Ponnusamy, L., & Roe, R. M. (2022). Mechanical acaricides active against the blacklegged tick, *Ixodes scapularis*. *Insects*, 13(8), 672. <https://doi.org/10.3390/insects13080672>
- Rodríguez-Hidalgo, R., Pérez-Otañez, X., Garcés-Carrera, S., Vanwambeke, S. O., Madder, M., & Benítez Ortiz, W. (2017). The current status of resistance to alpha-cypermethrin, ivermectin, and amitraz of the cattle tick (*Rhipicephalus microplus*) in Ecuador. *PLOS ONE*, 12(4), e0174652. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174652>
- Romero Suarez, J. M., Santos Pazmiño, J. P., Gómez Mendoza, G. A., Navarrete Párraga, M. E., & Hidalgo Mata, D. A. (2024). Optimización de sustratos sólidos para la producción de conidias de *Beauveria* spp. e *Isaria* spp. *Emergentes - Revista Científica*, 4(2), 611–626. <https://doi.org/10.60112/erc.v4i2.168>
- Saputro, T. B., Prayogo, Y., Rohman, F. L., & Alami, N. H. (2019). The virulence improvement of *Beauveria bassiana* in infecting *Cylas formicarius* modulated by various chitin-based compounds. *Biodiversitas*, 20(9), 2486–2493. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200909>

**9.5. Evaluación de *Passiflora quadrangularis* como portainjerto para el control de *Fusarium oxysporum* sobre materiales de maracuyá (*Passiflora edulis*) de alta producción**

Matriz de actividades:

| Actividades planificadas en el hito 5                                                                                                                                                                    |                                                                                |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| Actividades                                                                                                                                                                                              | Indicador de Resultado                                                         |
| 1. <i>Presentación de protocolo Evaluación de Passiflora quadrangularis como portainjerto para el control de Fusarium oxysporum sobre materiales de maracuyá (Passiflora edulis) de alta producción.</i> | - Obtener plantas de maracuyá tolerantes o resistentes a <i>F. oxysporum</i> . |

**Actividad 1. Mantenimiento**

|                                              |                                                         |
|----------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Responsable:                                 | Navarrete Párraga Mercedes Elizabeth                    |
| Colaboradores:                               | Romero Pizarro Martha Alicia<br>Ávila Vaca Ricardo René |
| Nombre del proyecto que financió el estudio: | Gasto Corriente                                         |
| Institución donante:                         | INIAP                                                   |
| Número de memorando:                         | Memorando Nro. INIAP-EESD_DIR-2025-0959-MEM             |

**Antecedentes**

El cultivo de maracuyá reviste gran importancia en Ecuador, sustentando a cerca de 10.000 pequeños y medianos productores y ocupando una vasta superficie agrícola. Su desarrollo agroindustrial permite procesar y agregar valor al 95% de la producción nacional, consolidando al país como uno de los principales productores de fruta y exportadores de concentrado de maracuyá a nivel mundial. No obstante, la inestabilidad de los precios internacionales ha provocado en ocasiones la disminución de la superficie sembrada (Valarezo et al., 2014).

La familia Passifloraceae cuenta con 17 géneros y aproximadamente 900 especies distribuidas en las zonas tropicales en cuatro continentes desde las zonas costeras hasta los 4.100 m en los límites de los páramos o punas en la región Andina (Ulmer & MacDougal, 2004). *Passiflora*, es el género con mayor importancia económica, por poseer cerca de 610 especies distribuidas principalmente en el continente americano (96%) y con cerca de 80 especies reportadas con fruto comestible incluyendo al maracuyá (Ocampo et al., 2021).

Los usos del maracuyá son diversos, y van desde el consumo como fruta fresca hasta sus variadas formas en la industria de bebidas como jugo simple o concentrado (Coppens, 2003).

Entre las especies relacionadas o parientes silvestres se destacan la gulupa (*P. edulis* f. *edulis*), el maracuyá de caatinga (*P. cincinnata*), el maypop (*P. incarnata*), la cholupa (*P. maliformis*), la maracua (*P. alata*), la badea (*P. quadrangularis*) y el maracuyá perola (*P. setacea*) entre otras. Estas especies deben ser tenidas en cuenta en programas de fitomejoramiento por poseer genes de interés que pueden ser transferidos al maracuyá para el mejoramiento del cultivo (Ocampo et al., 2022).

La propagación por injerto es una técnica utilizada para evitar enfermedades radiculares causadas por patógenos del suelo como *Fusarium* spp., que pueden ser letales para la planta (García-Jaramillo et al., 2021). Esta técnica consiste en unir un patrón (portainjerto) resistente a la enfermedad con una copa susceptible que presenta características agronómicas deseables. En el caso de *Passifloras*, se han empleado con éxito patrones resistentes como *P. setacea*, *P. gibertii*, *P. alata*, *P. quadrangularis* y *P. maliformis* (Faleiro et al., 2019; Espinal et al., 2021) para el control de la marchitez en maracuyá.

## Objetivos

### Objetivo general.

Evaluar la *Passiflora quadrangularis* como portainjerto para el control de *Fusarium oxysporum* sobre materiales de maracuyá (*Passiflora edulis*), de alta producción.

### Objetivos específicos.

- Determinar en campo la incidencia y severidad de la marchitez causada por *F. oxysporum*.
- Evaluar el efecto del portainjerto en el crecimiento, desarrollo y rendimiento del cultivo de maracuyá (campo) bajo las condiciones agroecológicas de la EESD.
- Realizar un Análisis de Costo-Beneficio (ABC) de los tratamientos en estudio.

## Materiales y Métodos

### Metodología

#### Características de los ensayos

La presente investigación se llevará a cabo en lotes de la Estación Experimental Santo Domingo INIAP, ubicadas en el Km 38 de la vía Santo Domingo-Quinindé, en el cantón La Concordia, provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas a una Latitud 0°01'16"S y a una Longitud 79°21'24"W.

### Factores en estudio

#### Tratamientos

Patrón *Passiflora quadrangularis*

Injertos:

| Nro. | Materiales para injerto    |
|------|----------------------------|
| 1    | POR1 (Evaluación 1)        |
| 2    | POR1, (Evaluación 2)       |
| 3    | POR1, (Evaluación 3)       |
| 4    | R5, (Evaluación 1)         |
| 5    | R5, (Evaluación 4)         |
| 6    | R5, (Evaluación control 2) |
| 7    | R5, control (1)            |
| 8    | R5, control (2)            |
| 9    | R5, control (3)            |
| 10   | EEP – 19                   |
| 11   | EEP – 10                   |
| 12   | EEP - 47                   |
| 13   | Cr2                        |
| 14   | INIAP - 2009               |
| 15   | Criolla                    |

#### Unidad experimental

|                                            |               |
|--------------------------------------------|---------------|
| Número de unidades experimentales          | 45            |
| Número de repeticiones:                    | 3             |
| Número de tratamientos:                    | 15 pasifloras |
| Número de plantas por unidad experimental: | 20            |
| Número total de plantas:                   | 900           |

#### Diseño experimental y análisis de datos

Se utilizará un diseño de Bloques Completos al Azar con un mínimo de 10 plantas por tratamiento, con tres repeticiones. Los datos serán analizados a través de pruebas de normalidad y luego con análisis de varianza. Se realizará la prueba de Tukey para determinar diferencias entre medias.

**Tabla 1**

*Esquema del análisis de la varianza.*

| Fuentes de Variación | G.L |
|----------------------|-----|
| Total                | 44  |
| Repeticiones         | 2   |
| Tratamientos         | 14  |
| Error                | 28  |

#### Variables y métodos de evaluación



O1: Determinación de la incidencia y severidad de la marchitez por *Fusarium* en campo

Se realizarán evaluaciones periódicas de:

Incidencia de la enfermedad.- Se expresará en porcentaje (%), utilizando la fórmula empleada por Ogawa (1986), citada por (Varón et al., 2009).

$$\text{Incidencia (I)}: (\text{No. de individuos afectados} / \text{Total de individuos}) \times 100$$

Severidad de la enfermedad.- Para determinar la severidad de la enfermedad sobre la planta se utilizará la siguiente escala de nivel de marchitamiento con los respectivos porcentajes de hojas o brotes con síntomas (Tabla 2) (Varón et al., 2009).

**Tabla 2**

*Severidad de *Fusarium**

| Clase | Intensidad de la enfermedad                             |
|-------|---------------------------------------------------------|
| 0     | No presenta síntomas (0%)                               |
| 1     | Marchitez leve (1%-15%)                                 |
| 2     | Marchitez moderada (16%-25%)                            |
| 3     | Marchitez severa (26%-35%)                              |
| 4     | Marchitez muy severa (36%-45%)                          |
| 5     | Marchitez severa y achaparramiento de la planta (> 50%) |
| 6     | Muerte de la planta                                     |

O2. Evaluación del efecto del portainjerto en el crecimiento, desarrollo y rendimiento del cultivo de maracuyá (campo) bajo las condiciones agroecológicas de la EESD.

Las plantas injertas serán sembradas en un lote con historial de alta incidencia de marchitez por *Fusarium* y se realizarán evaluaciones mensuales para determinar la Incidencia y severidad de la marchitez.

Se realizarán evaluaciones periódicas de:

- Floración y fructificación. Se monitorearán y se registrarán los días de floración y fructificación contados desde el trasplante.
- Rendimiento total por planta y por hectárea. Se registrará el número y peso frutos de 10 plantas, para lo cual se utilizará una balanza digital.
- Grados Brix). Se seleccionarán 5 frutos maduros por tratamientos y de cada uno de ellos se extraerá el jugo y con un refractómetro se medirán los grados Brix de cada uno.

O3. Realizar un Análisis de Costo-Beneficio (ABC).



El ACB te permite saber si vale la pena económicamente usar plantas injertadas.

Debe incluir:

Ingresos esperados

- Rendimiento (kg/planta o t/ha)
- Precio de venta
- Frecuencia y duración de la producción

Beneficios atribuibles al injerto

- Reducción de mortalidad por Fusarium
- Mayor vida útil de la plantación
- Mayor estabilidad en la producción
- Disminución de costos en fungicidas

Indicadores económicos

Calcular:

- VPN (Valor Presente Neto)
- TIR (Tasa Interna de Retorno)
- Relación Beneficio/Costo

Manejo específico del experimento

#### 1. Vivero

Recolección de suelo y llenado de fundas. - Se recolectará suelo fértil, posteriormente, este sustrato se colocará en fundas plásticas con capacidad de 1 kg, asegurando un llenado adecuado para su uso en el ensayo.

Obtención de semillas de passifloras. – Se seleccionarán semillas de frutos sanos y maduros. Para el ensayo se emplearán variedades de pasifloras, las cuáles serán obtenidas de frutos de plantas vigorosas y sanas. Las semillas se extraerán para luego ser lavadas, secadas y seleccionadas. Las semillas serán sembradas en fundas que contengan suelo. La germinación ocurrirá aproximadamente entre los 8 y 10 días.

Injerto. - El tallo de las plantas utilizadas como portainjertos se debe cortar con una hoja de acero inoxidable previamente desinfectada con alcohol al 70%, el corte se realiza a una altura entre 8 a 10 cm de la base del cuello de la raíz con una incisión o hendidura longitudinal de 1 cm desde la base decapitada hacia la base del tallo en forma de "V" (Espinal et al., 2021).

La copa para cada injerto se debe seleccionar con una longitud entre 3 a 4 cm con 2 o 3 yemas, las cuales se deben cortar mediante una incisión longitudinal de 1 cm con forma de bisel doble (V). Posteriormente, el portainjerto y la copa deben ser ajustados con un plástico e inmediatamente el injerto debe ser tutorado y protegido con una bolsa plástica transparente de 3 x 7 cm para

evitar la deshidratación. La bolsa se retira a los 10 días después de la injertación para evitar exceso de humedad. Las plantas injertadas pueden ser llevadas a condiciones de campo cuando alcanzan mínimo 15 cm de altura entre 30 a 60 días después de la injertación y con más de cinco hojas.

## 2. Campo definitivo

### Construcción de espalderas.

Las espalderas deberán orientarse contrarias al nacimiento y ocultación del sol, para que la planta aproveche eficientemente los rayos solares durante todo el día. La distancia entre espalderas será de 3 m.

Se colocarán postes de caña guadua de 2,50 m al principio y al final de cada espaldera enterrando a 50 cm de profundidad para que queden fijos y soporten la templada del alambre y peso de las plantas. En cada hilera se colocarán los postes de caña guadua a 5 m de distancia y se enterrarán a 50 cm de profundidad, de esta forma el alambre quedará a 2 m de altura. El alambre por utilizar será el Nº 12 galvanizado.

### Trasplante

Las plantas de maracuyá injertadas se trasplantarán al sitio definitivo cuando alcancen unos 50 cm de altura, a un distanciamiento de 3m entre calle y 4m entre planta. Inmediatamente después del trasplante se colocará una estaquilla cerca a la plántula, a la que se amarrará una piola nylon hasta el alambre, la misma que servirá de guía para la planta.

### Poda

La poda de formación del maracuyá se realiza entre los 15 y 20 días posteriores al trasplante. Consiste en eliminar los brotes laterales del tallo principal para acelerar el crecimiento de la planta, dejando solo el más vigoroso. Este brote se guía con una cuerda hasta que supera en 10 a 20 cm la altura del alambre (ubicado a 2 o 2.5 m del suelo). En ese punto, se despunta el brote terminal para estimular el desarrollo de dos brotes laterales, los cuales se conducirán a lo largo del alambre, uno por cada lado.

Posteriormente, estos brotes laterales se despuntan cuando sus extremos se encuentran con los de las plantas vecinas. Esto fomenta la emisión de nuevas guías que, con el tiempo, formarán las cortinas productivas al caer perpendicularmente hacia el suelo. Es crucial eliminar los zarcillos para evitar enredos y mejorar la aireación y penetración de luz solar.

Cuando las guías tocan el suelo, se recomienda cortarlas a 30 cm de altura. Esta práctica previene ataques de hongos y facilita la circulación de aire en la base de la planta.

### Riego

La frecuencia y la cantidad de riego dependerán de las condiciones climáticas, el tipo de suelo y la etapa de desarrollo de la planta, se deben evitar encharcamientos que puedan favorecer la aparición de enfermedades radiculares.

### Fertilización

Para determinar las necesidades específicas de nutrientes se debe basarse en un análisis de suelo. La fertilización se realiza de forma fraccionada durante el ciclo del cultivo, con énfasis en las etapas de crecimiento vegetativo, floración y fructificación.

### Manejo de insectos plaga y enfermedades

Se monitoreará semanalmente las plantas para detectar o no la presencia de insectos plaga, ácaros o la incidencia de enfermedades, como los siguientes.

| Nombre insectos plaga                                                 | Control                                                                                                                          |
|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Lepidopteros defoliadores ( <i>Dionne juno</i> y <i>Agraulis sp</i> ) | Se recomienda arrancar las hojas que contengan la plaga para disminuir su población y evitar el uso de químicos para su control. |
| Chinche patón ( <i>Leptoglossus spp.</i> )                            | Thiametoxan (Actara 1g/l de agua) o Pirimifos-metil (Actellic, 1.5 ml/l de agua)                                                 |
| Ácaros ( <i>Polyphagotarsonemus lates</i> y <i>Tetranychus spp.</i> ) | Abamectina 2g/l de agua o Amitraz (Mitac 20, 2 ml/l de agua)                                                                     |

| Nombre de enfermedades foliares                | Control                                                                                            |
|------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Mancha parda ( <i>Alternaria passiflorae</i> ) | Clorotalonil (3.0 ml/l), Azoxistrobina (Amistar 500 G 1g/l) y Mancozeb (3g/l de agua), entre otros |
| Roña, Costra ( <i>Cladosporium herbarum</i> )  |                                                                                                    |
| Antracnosis ( <i>Colletotrichum sp.</i> )      |                                                                                                    |

### Resultados

Con acta de Comité Técnico No. 017, se aprobó el protocolo de investigación, también en invernadero se tiene plántulas de badea para posteriormente injertar con diferentes variedades de maracuyá.

## Conclusiones

Se dispone de plántulas de badea en invernadero que permite avanzar a la siguiente fase experimental, que consiste en el injerto con diferentes variedades de maracuyá.

## Recomendaciones

Continuar con la ejecución de las diferentes actividades, conforme a lo aprobado en el protocolo.

## Referencias

- Coppens, G., & Eeckenbrugge, D. (2003). Exploração da diversidade genética das pasifloras. In: VI Simpósio Brasileiro sobre a Cultura do Maracujazeiro. Campos dos Goytacazes. 24-27 p.
- Espinal, F., Ocampo, J. y Morillo, Y. (2021). Evaluación agronómica del cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener), injertado en cinco especies de *Passiflora* L. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia-Agrosavia CI-Palmira, 96 pp.
- Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Junghans, T.G., Nunes de Jesus, O.N., Miranda, D. y Otoni, W. C. (2019). Advances in passion fruit (*Passiflora* spp.) propagation. Revista Brasileira de Fruticultura, 41(2), e-155. <https://dx.doi.org/10.1590/0100-29452019155>.
- García-Jaramillo, D., López-Zapata, S.P., Ceballos-Aguirre, N. y López, W. (2021). Genetics resources and breeding prospects in *Passiflora* species. En: Grafting Applications in *Passiflora* Species. Book, Chapter 4. Nova Science Publishers, inc. ISBN: 978-1-536-108-0 1-76
- Ocampo, J., Hurtado-Salazar, A. y López, W.R. (2021). Book, Chapter 1. Genetics resources and breeding prospects in *Passiflora* species. in genetic grafting and biotechnology approaches. Nova Science Publishers, inc. ISBN: 978-1-536-108-0 1-76
- Ocampo, J., Morillo-Coronado, Y., Espinal, F. y Moreno, I. (2022) Tecnología para el cultivo del maracuyá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener) en Colombia. Universidad Nacional de Colombia y Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria-Agrosavia Palmira. Palmira, Colombia.
- Ulmer, T. y MacDougal, J. M. (2004). *Passiflora: passionflowers of the word*. Timber Press. 430 pp.
- Valarezo C., A., Valarezo C., O., Mendoza García, A., Álvarez P., H., y Vásquez C., W. (2014). El cultivo de maracuyá: Manual técnico para su manejo en el Litoral ecuatoriano. Portoviejo, Ecuador: INIAP, Estación Experimental Portoviejo, Programa Nacional de Fruticultura. (Manual Técnico N°. 100).
- Varón, E., Santos, Ó., Vera, Á., & Salamanca, J. (2009). Problemas fitosanitarios de secadera y mosca de los botones florales en el cultivo de la granadilla.

## 9.6. Actividades Extra POA 2025

### 9.6.1. Mantenimiento de colonias de la mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) en condiciones controladas de laboratorio de la Estación Experimental Santo Domingo (EESD)

Matriz de actividades:

| Actividades no planificadas                                                                                                                                                    |                                                                        |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Actividades                                                                                                                                                                    | Indicador de Resultado                                                 |
| 1. Mantenimiento de colonias de la mosca soldado negra ( <i>Hermetia illucens</i> ) en condiciones controladas de laboratorio de la Estación Experimental Santo Domingo (EESD) | - Desarrollar dietas alternativas para la cría de animales domésticos. |

Actividad 1. Mantenimiento de colonias de la mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) en condiciones controladas de laboratorio de la Estación Experimental Santo Domingo (EESD)

|                                              |                                                                 |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Responsable:                                 | Hidalgo Mata David Adrián                                       |
| Colaboradores:                               | Navarrete Párraga Mercedes Elizabeth<br>Ávila Vaca Ricardo René |
| Nombre del proyecto que financió el estudio: | Gasto Corriente                                                 |
| Institución donante:                         | INIAP                                                           |
| Número de memorando:                         | Memorando Nro. INIAP-EESD_DIR-2020-0716-MEM                     |

#### Antecedentes

Espinosa y Peña (2013) manifiestan que el fondo de las Naciones Unidas para la alimentación considera la biomasa producida por insectos como una fuente nutricional de alto valor biológico debido a que dependiendo de la especie se puede alcanzar hasta 70% de proteína, junto con grasas insaturadas fáciles de digerir.

*Hermetia illucens* es una mosca nativa de Sud América, que es capaz de procesar desechos orgánicos incluyendo heces humanas, con alta eficiencia de transformación y reducción de la carga bacteriana. (Gabler y Vineras. 2014). Habita zonas con temperaturas entre 24,5°C a 37,5°C, con humedades entre 30-90% (Navarro y Peris, 1991.). De forma general los parámetros del ciclo de vida reportados en diversos centros de procesamiento son: Adultos (oviposición) 1 semana, huevos (eclosión) 3 días, larvas (procesamiento de M.O.) 15 días, pupa 14 días.

#### Objetivo

- Implementar una cría de *Hermetia illucens* bajo condiciones de laboratorio.

#### Metodología

La metodología del estudio fue descrita en el informe anual 2020 del Departamento de Protección Vegetal.

#### Resultados

Durante este año se han realizado trampeos para la captura de individuos nativos, en el laboratorio se dispone de una colonia viable que se encuentra alimentándose de desechos orgánicos. Así como la escritura de un manual para la producción de Mosca Soldado "*Hermetia illucens*" (borrador).

#### Conclusiones

En el laboratorio se tiene colonias viables de *Hermetia illucens*.

#### Recomendaciones

Mantener la colonia de este insecto para desarrollar tecnología para aporte de proteína en balanceado.

#### Referencias

- Espinosa S. y Peña N. (2013). Caracterización del ciclo biológico de la mosca soldado negro (*Hermetia illucens*) bajo las condiciones agroecológicas del Municipio De Piedecuesta, Santander, Colombia (Doctoral dissertation, Universidad Industrial de Santander, Instituto De Educación A Distancia, Insed). Obtenido de: <https://bit.ly/2yesj9d>
- Gabler F. y Vineras B. (2014). Using black soldier fly for waste recycling and effective Salmonella spp. reduction. Theses. Swedish University of Agricultural Sciences, Swedish. Obtenido de: <https://bit.ly/2ABasdl>
- Navarro A. y Peris S. (1995). *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758), aclimatada en España, con un resumen de su interés económico (díptera, Stratiomyidae). *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural (Sec. Biol.)*, 87, 239-247. Obtenido de: <https://bit.ly/32bYW40>



### 9.6.2. Control etológico de *Rhynchophorus palmarum* en palma aceitera EESD

#### Resultados

En los lotes de palma africana que dispone la Estación Experimental Santo Domingo se han ubicado 31 trampas, las que se monitorearon cada 15 días, donde se contabilizaron el número de gualpas capturadas, así como la diferenciación sexual; y se realizó el cambio del sustrato alimenticio. Durante este año se tiene registrado un total de 19.627 gualpas capturadas, de los cuales 10.597 son hembras y 9.040 machos, con un promedio de 27 insectos capturados por trampa.

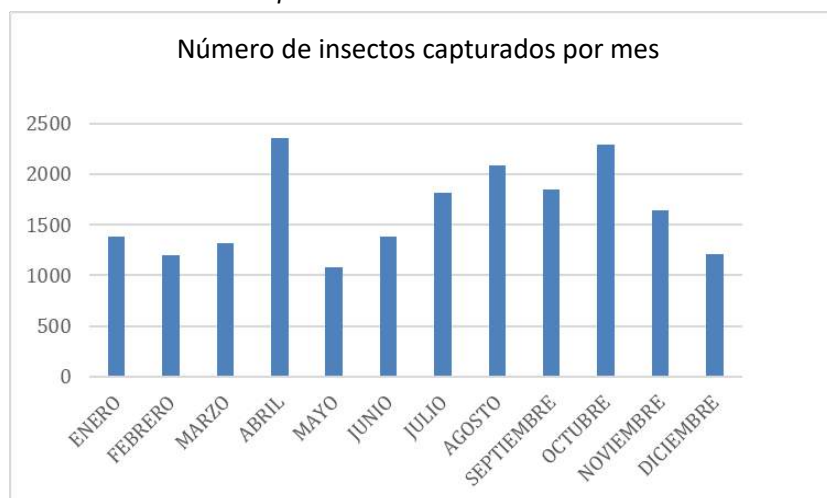
**Tabla 1**

*Número de insectos capturados por mes /2025*

| Meses      | Nº Hembras    | Nº Machos    | Nº Total      |
|------------|---------------|--------------|---------------|
| Enero      | 758           | 627          | 1.385         |
| Febrero    | 660           | 541          | 1.201         |
| Marzo      | 679           | 637          | 1.316         |
| Abril      | 1.249         | 1.112        | 2.361         |
| Mayo       | 574           | 508          | 1.082         |
| Junio      | 746           | 635          | 1.381         |
| Julio      | 1.022         | 797          | 1.819         |
| Agosto     | 1.202         | 884          | 2.086         |
| Septiembre | 984           | 868          | 1.852         |
| Octubre    | 1.261         | 1.034        | 2.295         |
| Noviembre  | 829           | 811          | 1.640         |
| Diciembre  | 623           | 586          | 1.209         |
|            | <b>10.587</b> | <b>9.040</b> | <b>19.627</b> |

**Figura 1**

*Número de insectos capturados durante el año 2025*



### 9.7. Proyecto de Enfermedades Letales en la Palma Aceitera en Ecuador–FIASA

El Departamento de Protección Vegetal colaboró en los siguientes componentes:

**Componente 1.** Determinación de posibles agentes bióticos, abióticos y vectores causantes de enfermedades letales en palma aceitera.

**Actividad 1.1.** Identificación de microorganismos patógenos capaces de inducir la PC en palma aceitera.

**Actividad 1.4.** Determinar la interacción entre artrópodos, enfermedades de importancia económica.

**Componente 3.** Epidemiología de la PC en la palma aceitera.

Mercedes Elizabeth Navarrete Párraga  
Responsable Departamento Protección Vegetal