



**REPÚBLICA DEL ECUADOR**

**UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO  
FACULTAD DE POSGRADO**

**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**INFORME DE INVESTIGACIÓN  
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:**

**MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGIA**

**TEMA:**

Efecto de imidacloprid, deltametrina y Chlorpyrifos sobre la fisiología y desarrollo de *Beauveria bassiana* bajo condiciones controladas (in vitro).

**Autor:**

Victor Emilio Zurita Chavarria

**Director:**

Dr. Gustavo Martínez Valenzuela

Milagro, 2026

## Derechos de Autor

**Sr. Dr.**

**Fabricio Guevara Viejó**

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Yo, **Victor Emilio Zurita Chavarria**, en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de **Magíster en Biotecnología**, como aporte a la Línea de Investigación **Innovación tecnológica en procesos de producción agropecuaria**, de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, **9 de marzo del 2026**



**Victor Emilio Zurita  
Chavarria**  
Time Stamping  
Security Data

---

**Victor Emilio Zurita Chavarria**

**C.I.: 0928699925**

## Aprobación del Tutor del Trabajo de Titulación

Yo, **GUSTAVO ELIAS MARTINEZ VALENZUELA**, en mi calidad de tutor del trabajo de titulación, elaborado por **Victor Emilio Zurita Chavarria**, cuyo tema es **Efecto de imidacloprid, deltametrina y Chlorpyrifos sobre la fisiología y desarrollo de *Beauveria bassiana* bajo condiciones controladas (in vitro)**, que aporta a la Línea de Investigación **Innovación tecnológica en procesos de producción agropecuaria**, previo a la obtención del **Grado Magíster en Biotecnología**. Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 9 de marzo del 2026



---

**Gustavo Elias Martinez Valenzuela**

**C.I.: 0922079595**

## VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

### FACULTAD DE POSGRADO

### ACTA DE SUSTENTACIÓN

### MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

En la Facultad de Posgrado de la Universidad Estatal de Milagro, a los nueve días del mes de marzo del dos mil veintiseis, siendo las 11:30 horas, de forma VIRTUAL comparece el/la maestrante, ING. ZURITA CHAVARRIA VICTOR EMILIO, a defender el Trabajo de Titulación denominado " **EFECTO DE IMIDACLOPRID, DELTAMETRINA Y CHLORPYRIFOS SOBRE LA FISIOLÓGÍA Y DESARROLLO DE BEAUVERIA BASSIANA BAJO CONDICIONES CONTROLADAS (IN VITRO)**", ante el Tribunal de Calificación integrado por: Dca. PEREZ MARTINEZ SIMON, Presidente(a), Mae. GUILLEN BONILLA ALEX EDWIN en calidad de Vocal; y, Mgs. BARZALLO GRANIZO DIEGO GEOVANNY que actúa como Secretario/a.

Una vez defendido el trabajo de titulación; examinado por los integrantes del Tribunal de Calificación, escuchada la defensa y las preguntas formuladas sobre el contenido del mismo al maestrante compareciente, durante el tiempo reglamentario, obtuvo las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	57.33
SUSTENTACIÓN	36.33
<b>PROMEDIO</b>	<b>93.67</b>
<b>EQUIVALENTE</b>	<b>MUY BUENO</b>

Para constancia de lo actuado firman en unidad de acto el Tribunal de Calificación, siendo las 12:30 horas.



Dca. PEREZ MARTINEZ SIMON  
**PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL**



Mae. GUILLEN BONILLA ALEX EDWIN  
**VOCAL**



Mgs. BARZALLO GRANIZO DIEGO GEOVANNY  
**SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL**



ING. ZURITA CHAVARRIA VICTOR EMILIO  
**MAGISTER**

## **Dedicatoria**

Con profunda gratitud y devoción, dedico este logro a Dios, por ser la luz que ha guiado mi camino durante todo este proceso. Agradezco la fortaleza que me ha brindado en los momentos de dificultad, la inspiración que ha alimentado mi mente y la paz que ha calmado mi corazón.

A mis queridos padres, quienes con su amor incondicional y su incansable apoyo me han brindado las herramientas y el aliento necesarios para alcanzar mis metas. Agradezco profundamente su fe en mí, sus sabios consejos y su constante presencia en cada paso de mi vida.

A mis hermanos, mis compañeros de viaje, mis amigos y confidentes. Gracias por su alegría, por su apoyo en los momentos difíciles y por compartir conmigo la felicidad de este logro.

**Victor Emilio Zurita Chavarria**

## **Agradecimientos**

Al culminar este trabajo, siento la profunda necesidad de expresar mi gratitud a todas las personas que, de una u otra manera, hicieron posible la realización de este proyecto.

Al Dr. Gustavo Elías Martínez Valenzuela, le expreso mi más sincero agradecimiento por su guía, paciencia y dedicación. Su confianza y sus valiosos aportes fueron decisivos para alcanzar resultados de calidad.

Al MSc. Angel Virgilio Cedeño Moreira, agradezco su apoyo constante, sus consejos acertados y su guía a lo largo de este proceso académico y profesional. Y a la MSc. Mayra Vélez Ruiz, le debo un agradecimiento especial y permanente; su impulso fueron determinantes para que emprendiera y consolidara mi formación en este campo.

## Resumen

El uso intensivo de insecticidas químicos en sistemas agrícolas del Ecuador, particularmente en la región Costa, representa un desafío para la sostenibilidad productiva debido a sus posibles efectos sobre organismos benéficos como los hongos entomopatógenos. Esta investigación evaluó el efecto de tres insecticidas, imidacloprid (neonicotinoide), deltametrina (piretroide) y Chlorpyrifos (organofosforado), sobre la fisiología y el desarrollo del hongo *Beauveria bassiana* bajo condiciones controladas *in vitro*. El estudio se enfocó en examinar variables como la viabilidad celular, la germinación de conidias, el crecimiento micelial y la esporulación. La metodología experimental consistió en enriquecer el medio PDA con cada insecticida, seguido de la siembra de discos miceliales para evaluar el crecimiento radial, la esporulación y la germinación. La viabilidad celular se determinó mediante un análisis de daño en el ADN utilizando el Ensayo de cometa (Comet Assay). Los datos fueron analizados mediante ANOVA y la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ), asegurando la normalidad y la homogeneidad de varianzas. Los resultados mostraron que *B. bassiana* mantuvo un crecimiento micelial activo en presencia de los tres insecticidas, con incrementos significativos en comparación con el control, especialmente con deltametrina y Chlorpyrifos. La esporulación no mostró diferencias significativas entre los tratamientos, lo que indica estabilidad en la producción de conidios. Sin embargo, la germinación de conidias se redujo en los tratamientos con insecticidas. El ensayo de cometa reveló niveles diferentes de daño en el ADN, siendo deltametrina el compuesto más genotóxico. En conclusión, *B. bassiana* demostró una tolerancia fisiológica frente a los insecticidas evaluados en condiciones *in vitro*, manteniendo parámetros clave para su desempeño en biocontrol. Estos resultados proporcionan evidencia sobre la posible coexistencia funcional entre el hongo y ciertos insecticidas, y establecen una base sólida para futuras evaluaciones *in vivo* y aplicaciones en el Manejo Integrado de Plagas.

**Palabras clave:** *Beauveria bassiana*, compatibilidad, insecticidas, crecimiento micelial.

## Abstract

The intensive use of chemical insecticides in Ecuadorian agricultural systems, particularly in the coastal region, poses a challenge to sustainable production due to their potential effects on beneficial organisms such as entomopathogenic fungi. This research evaluated the effect of three insecticides—imidacloprid (neonicotinoid), deltamethrin (pyrethroid), and chlorpyrifos (organophosphate)—on the physiology and development of the fungus *Beauveria bassiana* under controlled *in vitro* conditions. The study focused on examining variables such as cell viability, conidial germination, mycelial growth, and sporulation. The experimental methodology consisted of enriching the PDA medium with each insecticide, followed by the inoculation of mycelial discs to evaluate radial growth, sporulation, and germination. Cell viability was determined by an analysis of DNA damage using the Comet Assay. Data were analyzed using ANOVA and Tukey's test ( $p \leq 0.05$ ), ensuring normality and homogeneity of variances. The results showed that *B. bassiana* maintained active mycelial growth in the presence of the three insecticides, with significant increases compared to the control, especially with deltamethrin and Chlorpyrifos. Sporulation showed no significant differences between treatments, indicating stability in conidia production. However, conidial germination was reduced in insecticide treatments. The comet assay revealed different levels of DNA damage, with deltamethrin being the most genotoxic compound. In conclusion, *B. bassiana* demonstrated physiological tolerance to the evaluated insecticides under *in vitro* conditions, maintaining key parameters for its performance in biocontrol. These results provide evidence of the potential functional coexistence between the fungus and certain insecticides and establish a solid foundation for future *in vivo* evaluations and applications in Integrated Pest Management.

**Keywords:** *Beauveria bassiana*, compatibility, insecticides, mycelial growth.

## Lista de Figuras

- Figura 1.** *Germinación de Beauveria bassiana tras exposición de diferentes insecticidas. ...29*
- Figura 2.** *Crecimiento micelial en Beauveria bassiana tras exposición de diferentes insecticidas. ....30*
- Figura 3.** *Esporulación de Beauveria bassiana en diferentes tratamientos insecticidas. ....31*

## Lista de Tablas

<b>Tabla 1.</b> <i>Clasificación taxonómica de Beauveria bassiana</i> .....	14
<b>Tabla 2.</b> <i>Clasificación de grupos químicos de insecticidas</i> .....	15
<b>Tabla 3.</b> <i>Diferentes interacciones del insecticida</i> .....	19
<b>Tabla 4.</b> <i>Tratamientos con Beauveria bassiana usados en el experimento</i> .....	21
<b>Tabla 5.</b> <i>Esquema de análisis estadístico</i> .....	21
<b>Tabla 6.</b> <i>Identificación molecular de la cepa LM012 mediante comparación con secuencias depositadas en GenBank</i> .....	33

## Índice / Sumario

Introducción .....	1
CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación.....	3
1.1. Planteamiento del problema.....	3
1.2. Delimitación del problema.....	3
1.3. Formulación del problema .....	4
1.4. Preguntas de investigación.....	4
1.5. Objetivos.....	4
1.5.1. Objetivo General.....	4
1.5.2. Objetivos Específicos .....	4
1.6. Hipótesis .....	5
1.7. Justificación .....	5
1.8. Declaración de las variables (Operacionalización) .....	6
CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial .....	7
2.1. Antecedentes Referenciales .....	7
2.2. Marco Conceptual .....	12
2.2.1. <i>Beauveria bassiana</i> .....	12
2.2.2. Insecticidas Químicos.....	12
2.2.3. Hongos Entomopatógenos.....	12
2.2.4. Desarrollo y Viabilidad Fúngica.....	12
2.2.5. Manejo Integrado de Plagas (MIP).....	13
2.2.6. Resistencia de Plagas.....	13
2.3. Marco Teórico .....	13
2.3.1. Biología y ciclo de vida de <i>Beauveria bassiana</i> .....	13
2.3.2. Morfología y características generales del hongo .....	13
2.3.3. Taxonomía y clasificación de <i>Beauveria bassiana</i> .....	14
2.3.4. Principales grupos de insecticidas y su modo de acción .....	14
2.3.5. Mecanismos de acción de insecticidas neonicotinoides .....	15
2.3.6. Mecanismos de acción de insecticidas piretroides .....	16
2.3.7. Mecanismos de acción de insecticidas organofosforados .....	16
2.3.8. Mecanismos de infección y patogenicidad en insectos .....	16
2.3.9. Factores ambientales que afectan la eficacia de <i>Beauveria bassiana</i> .....	17

2.3.10. Resistencia de insectos a insecticidas y su impacto en biocontroladores .....	17
2.3.11. Interacciones entre insecticidas y hongos entomopatógenos .....	18
2.3.12. Aplicaciones de <i>Beauveria bassiana</i> en Manejo Integrado de Plagas (MIP).....	18
CAPÍTULO III: Diseño Metodológico .....	20
3.1. Tipo y diseño de investigación .....	20
3.1.1. Tratamientos .....	20
3.1.2. Diseño experimental .....	21
3.2. La población y la muestra.....	21
3.2.1. Cepa fúngica .....	21
3.2.2. Delimitación de la población.....	22
3.3. Los métodos y las técnicas .....	22
3.3.1. Cultivo de hongo .....	22
3.3.2. Preparación de los tratamientos (Medio PDA con insecticida).....	22
3.3.3. Viabilidad (Ensayo Cometa - Comet Assay).....	22
3.3.4. Germinación de conidias .....	23
3.3.5. Crecimiento micelial.....	24
3.3.6. Producción de conidios (Esporulación).....	24
3.3.7. Caracterización morfológica y molecular.....	24
3.3.8. Condiciones Ambientales Controladas.....	25
3.3.9. Bioseguridad y disposición de residuos.....	25
3.4. Procesamiento estadístico de la información.....	26
CAPÍTULO IV: Análisis e Interpretación de Resultados.....	27
4.1. Análisis e Interpretación de Resultados .....	27
4.1.1. Viabilidad celular y germinación de <i>Beauveria bassiana</i> .....	27
4.1.2. Crecimiento y esporulación de <i>Beauveria bassiana</i> .....	29
4.1.3. Caracterización morfológica y molecular de la cepa de <i>Beauveria bassiana</i> empleada en la investigación.....	31
CAPÍTULO V: Conclusiones, Discusión y Recomendaciones .....	34
5.1. Discusión.....	34
5.2. Conclusiones .....	38
5.3. Recomendaciones.....	38
BIBLIOGRAFÍA .....	40
ANEXOS .....	50

## Introducción

El control de plagas agrícolas constituye un desafío global debido a la presión selectiva generada por el uso prolongado de insecticidas químicos. Los compuestos neonicotinoides, piretroides y organofosforados, como imidacloprid, deltametrina y chlorpirifos, han mostrado eficacia en el control de insectos fitófagos; sin embargo, su aplicación intensiva ha provocado resistencia, desequilibrios ecológicos y afectaciones a microorganismos benéficos como *Beauveria bassiana*, un hongo entomopatógeno de interés biotecnológico. La presente investigación evalúa el efecto de estos insecticidas sobre la fisiología y el desarrollo de *B. bassiana* bajo condiciones in vitro, aportando evidencia sobre su compatibilidad en programas de manejo integrado de plagas (MIP) sostenibles

Los insecticidas químicos neonicotinoides, piretroides y organofosforados, como imidacloprid, deltametrina y chlorpirifos, destacan por su alta eficacia en controlar plagas, razón de su amplia aplicación agrícola (Casida, 2017; Sparks y Nauen, 2015). Su uso intensivo ha generado problemáticas asociadas con la resistencia de plagas, efectos no deseados en organismos no objetivos y riesgos ambientales (Bass et al., 2015). Aunque chlorpirifos fue ampliamente utilizado en el pasado, actualmente se encuentra prohibido en Ecuador; no obstante, su inclusión experimental permite comparar la respuesta fisiológica frente a distintos grupos químicos.

Los hongos entomopatógenos han cobrado relevancia como agentes de control biológico. *Beauveria bassiana* se ha consolidado como una de las especies más estudiadas por su amplio rango de hospederos, su capacidad para colonizar insectos y su potencial para integrarse en programas de manejo integrado de plagas (Faria y Wraight, 2007).

*Beauveria bassiana* infecta a los insectos a través del contacto directo de sus conidios con la cutícula, germinando, penetrando y proliferando en el interior del hospedero hasta provocar su muerte (Ortiz y Keyhani, 2013).

El uso combinado de insecticidas químicos y *B. bassiana* plantea interrogantes respecto a la compatibilidad entre estos agentes. Investigaciones muestran que ciertos insecticidas inhiben la germinación, reducen la esporulación y alteran procesos fisiológicos del hongo, afectando su eficacia biocontroladora (Inglis et al., 2001). También se han reportado casos de sinergismo,

donde la combinación de ambos agentes mejora la mortalidad en insectos plaga (Quintela y McCoy, 1998).

Resulta fundamental evaluar el efecto de insecticidas de amplio uso, como imidacloprid, deltametrina y Chlorpyrifos, sobre *B. bassiana* bajo condiciones in vitro. Este análisis permitirá comprender cómo dichas moléculas inciden en su viabilidad y procesos fisiológicos, aportando información esencial para el diseño de estrategias de manejo integrado de plagas que sean sostenibles y eficaces.

## **CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación**

### **1.1. Planteamiento del problema**

En los sistemas agrícolas intensivos del Ecuador, especialmente en la región Costa, el uso recurrente de insecticidas químicos constituye una práctica común para el control de plagas en cultivos de alta importancia económica. Estos compuestos permiten un control inmediato y efectivo, su aplicación continua puede generar efectos adversos sobre la biodiversidad del agroecosistema.

Estos plaguicidas no solo eliminan insectos plaga, sino que también afectan a organismos benéficos que intervienen en los agroecosistemas, como polinizadores, depredadores naturales y microorganismos asociados al suelo y a las plantas. A nivel ambiental, se han documentado alteraciones en la flora nativa, disminución de poblaciones de insectos no objetivo y contaminación de cuerpos de agua, lo que repercute negativamente en la salud de los ecosistemas y en la sostenibilidad de la producción agrícola.

Dentro de los organismos más vulnerables se encuentran los hongos entomopatógenos, agentes biológicos fundamentales para el manejo integrado de plagas. Entre ellos, *Beauveria bassiana* destaca por su capacidad de infectar a insectos de importancia agrícola y mantener un control natural y persistente. La exposición a insecticidas puede alterar de manera directa sus procesos fisiológicos, como la germinación y la esporulación, que determinan su viabilidad y su potencial como biocontrolador.

La interacción entre plaguicidas químicos y microorganismos benéficos ha sido poco explorada, especialmente a nivel fisiológico. Esta ausencia de conocimiento impide establecer con claridad la compatibilidad entre control químico y biológico dentro de estrategias sostenibles de manejo integrado de plagas.

### **1.2. Delimitación del problema**

La presente investigación se centra en evaluar los efectos de los insecticidas imidacloprid, deltametrina y Chlorpyrifos sobre el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en condiciones controladas de laboratorio. El estudio se realizará únicamente in vitro, utilizando pruebas de germinación, viabilidad y esporulación como indicadores fisiológicos del desarrollo del hongo.

### 1.3. Formulación del problema

¿Cuál es el efecto de los insecticidas imidacloprid, deltametrina y chlorpirifos, sobre el crecimiento micelial, la esporulación, la germinación conidial y la viabilidad celular de *Beauveria bassiana* bajo condiciones controladas in vitro?

En Ecuador, el uso intensivo de insecticidas químicos continúa siendo una práctica predominante para el control de plagas agrícolas, lo que ha generado preocupaciones relacionadas con resistencia, impacto ambiental y afectación de organismos benéficos. Entre estos, *Beauveria bassiana* constituye un agente clave dentro de programas de Manejo Integrado de Plagas. La evidencia sobre la compatibilidad fisiológica entre este hongo y determinados insecticidas de uso agrícola sigue siendo limitada en condiciones experimentales controladas. La selección de imidacloprid y deltametrina responde a su vigencia en sistemas productivos nacionales, mientras que chlorpirifos se incluyó con fines comparativos y toxicológicos, dada su histórica utilización y su relevancia en estudios de compatibilidad biológica.

### 1.4. Preguntas de investigación

- ¿Cómo influye la exposición a insecticidas en el desarrollo y viabilidad de *B. bassiana* en condiciones in vitro?
- ¿Qué efectos producen los insecticidas químicos sobre la fisiología de hongos entomopatógenos como *B. bassiana*?

### 1.5. Objetivos

#### 1.5.1. *Objetivo General*

Evaluar los efectos de los insecticidas imidacloprid, deltametrina y Chlorpirifos sobre *Beauveria bassiana* bajo condiciones controladas, para determinar su impacto en la eficacia del hongo como biocontrolador en sistemas agrícolas.

#### 1.5.2. *Objetivos Específicos*

- Cuantificar la viabilidad celular y germinación de *Beauveria bassiana* tras la exposición a diferentes insecticidas químicos.
- Analizar los efectos de los insecticidas sobre el crecimiento y esporulación de *Beauveria bassiana*.

- Realizar la caracterización morfológica y molecular de la cepa de *Beauveria bassiana* empleada en la investigación

### 1.6. Hipótesis

H<sub>0</sub>: Los insecticidas evaluados no tienen un efecto significativo sobre la fisiología y el desarrollo de *B. bassiana* bajo condiciones in vitro.

H<sub>1</sub>: Los insecticidas evaluados tienen un efecto significativo sobre la fisiología y el desarrollo de *B. bassiana* bajo condiciones in vitro.

### 1.7. Justificación

El estudio de la interacción entre insecticidas químicos y hongos entomopatógenos representa una necesidad prioritaria en la búsqueda de alternativas sostenibles para el manejo de plagas en sistemas agrícolas intensivos del Ecuador, particularmente en la región Costa. Insecticidas como imidacloprid y deltametrina se emplean de forma recurrente por su eficacia y amplio espectro de acción. Chlorpyrifos fue ampliamente utilizado en el pasado, actualmente se encuentra prohibido en el país; no obstante, su evaluación experimental permite realizar comparaciones fisiológicas entre distintos grupos químicos. La aplicación intensiva de estos compuestos puede generar resistencia en plagas, afectar organismos benéficos y provocar impactos ambientales.

Los hongos entomopatógenos, particularmente *B. bassiana*, se perfilan como agentes de biocontrol con gran potencial, gracias a su amplio rango de hospederos y su capacidad de integrarse en sistemas agrícolas sostenibles.

La interacción de estos hongos con insecticidas químicos a nivel fisiológico ha sido poco explorada, especialmente bajo condiciones controladas in vitro. Estudios previos se han centrado en la eficacia del control de plagas, persiste un vacío de conocimiento sobre cómo diferentes insecticidas afectan la germinación de conidios, la viabilidad celular y la esporulación de *B. bassiana* (Dannon et al., 2020).

Este estudio busca llenar esa brecha mediante un enfoque biotecnológico, orientado a comprender los efectos de insecticidas sobre *B. bassiana* y aportar información fundamental para la optimización de bioinsecticidas y el desarrollo de coformulaciones compatibles. La integración de agentes biológicos y químicos en formulaciones complementarias podría

mejorar la eficacia del control de plagas, reduciendo el impacto ambiental y la dependencia de pesticidas sintéticos.

El aporte científico de la investigación radica en generar evidencia sobre la compatibilidad o antagonismo entre insecticidas y *B. bassiana*, permitiendo diseñar estrategias de manejo integrado de plagas (MIP) que sean eficaces y sostenibles. Los resultados de esta investigación aportarán evidencia científica sobre la compatibilidad entre insecticidas y *B. bassiana*, orientando estrategias de manejo integrado de plagas más sostenibles y eficaces en sistemas agrícolas.

### 1.8. Declaración de las variables (Operacionalización)

Tipo de variable	Conceptualización	Dimensión	Técnica	Unidad
Independiente	Insecticidas químicos	Tipo	Aplicación en medio PDA	
Dependiente	Viabilidad celular de <i>B. bassiana</i>	Germinación de conidios	Conteo microscópico de conidios germinados	% de germinación
		Viabilidad	Ensayo de cometa (Comet Assay) para detección de daño genético	Daño celular (cualitativo)
	Procesos fisiológicos	Crecimiento micelial	Medición del diámetro de crecimiento	mm
		Producción de conidios (esporulación)	Cuantificación de conidios	conidios/cm <sup>2</sup>
	Caracterización morfológica y molecular	Identificación de la cepa	Caracterización macroscópica y microscópica (color, textura, estructuras reproductivas) y secuenciación del marcador ITS por PCR	Morfología observada; Secuencia GenBank

## CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial

### 2.1. Antecedentes Referenciales

Hirapara et al. (2023), evaluaron la compatibilidad de doce insecticidas y cinco fungicidas con *Beauveria bassiana* mediante la técnica del medio envenenado en PDA, usando tres dosis (inferior, recomendada, superior). Su objetivo fue clasificar los productos según su impacto en el crecimiento micelial para guiar aplicaciones en campo. Los resultados mostraron que fipronil fue el más compatible (grado 1: inocuo en todas las dosis), seguido por clorraniliprole, acetamiprid y dimetato. En contraste, diclorvos y quinalfos fueron altamente tóxicos (grado 4). Entre los fungicidas, solo el clortalonilo fue ligeramente dañino; los demás (hexaconazol, mancozeb, carbendazim, propiconazol) resultaron tóxicos o muy tóxicos. La conclusión fue que fipronil, clorraniliprole y acetamiprid son los insecticidas más adecuados para combinar con *B. bassiana*, mientras que los fungicidas azólicos y organofosforados deben evitarse en programas de biocontrol simultáneo (Hirapara et al., 2023).

Thomas et al. (2025), evaluaron la compatibilidad de seis insecticidas imidacloprid, clorpirifós, quinalfos, dimetato, diclorvos y fenvalerato con *Beauveria bassiana* bajo condiciones *in vitro* para identificar combinaciones viables en manejo integrado de plagas. Su objetivo fue clasificar la toxicidad de estos compuestos sobre la germinación de conidios, crecimiento micelial y producción de esporas mediante una escala estandarizada (harmless a harmful). Utilizaron medio PDA suplementado con tres concentraciones (recomendada, por debajo y por encima) de cada insecticida, incubando placas a 26 °C durante 14 días y cuantificando inhibición mediante medición radial y conteo de conidios en cámara de Neubauer. Los resultados mostraron que imidacloprid y fenvalerato fueron “inocuos” (<50% de inhibición), manteniendo la germinación (>65%) y esporulación cercana al control; en contraste, clorpirifós, quinalfos y dimetato causaron inhibición moderada a severa (50–85%), mientras que el diclorvos fue altamente tóxico (100% de inhibición). La conclusión fue que imidacloprid y fenvalerato son compatibles con *B. bassiana*, lo que permite su uso conjunto en programas de MIP sin comprometer la eficacia biológica del hongo, mientras que clorpirifós requiere precaución debido a su efecto inhibitorio en procesos clave (Thomas et al., 2025).

Litwin et al. (2023), investigaron los efectos de la acumulación de insecticidas piretroides  $\lambda$ -cialotrina,  $\alpha$ -cipermetrina y deltametrina en el metabolismo del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*. El objetivo del estudio fue determinar la capacidad del hongo para acumular estos compuestos y evaluar sus consecuencias proteómicas, lipídicas y fisiológicas.

La metodología incluyó cultivos del aislamiento ARSEF 2860 en medio Sabouraud dextrosa con concentraciones controladas de piretroides, seguidos de análisis proteómicos mediante LC-MS/MS y MALDI TOF/TOF, cuantificación de lípidos por LC-MS/MS y medición enzimática (ANOVA y pruebas no paramétricas). Los resultados revelaron que *B. bassiana* acumuló hasta el 90 % de los piretroides en las primeras 48 h, induciendo estrés oxidativo, alteraciones en enzimas metabólicas y reducción de proteasas clave en la infectividad (PR1 y PR2). Además, se observó una disminución de la fosfolipasa C e incremento en la relación triacilglicéridos/diacilglicéridos. Los autores concluyen que la exposición prolongada a piretroides modifica profundamente el metabolismo fúngico y sugiere que *B. bassiana* podría participar en la retención ambiental de estos contaminantes, implicando relevancia tanto ecológica como biotecnológica (Litwin et al., 2023).

Joseph et al. (2023), evaluaron la compatibilidad de cinco insecticidas y dos fungicidas con *Beauveria bassiana* en un diseño factorial 7×3 (dosis baja, recomendada, alta) para determinar su viabilidad en MIP agrícola. Su objetivo fue identificar pesticidas seguros para coaplicación, midiendo crecimiento micelial (diámetro de colonia en PDA) y producción de conidios tras 8 días. Utilizaron técnica de medio envenenado y conteo en cámara de Neubauer. Los resultados indicaron que fipronil, imidacloprid, clorantropilprole y sus combinaciones mostraron baja inhibición (<50%), siendo clasificados como compatibles, mientras que clorpirifós, hexaconazol y propiconazol causaron inhibición del 100%, impidiendo completamente el crecimiento y esporulación. La conclusión fue que insecticidas como fipronil e imidacloprid pueden integrarse sin riesgo con *B. bassiana*, pero fungicidas azólicos deben evitarse por completo en programas de biocontrol, ya que anulan totalmente la funcionalidad del hongo (Joseph et al., 2023).

Sain et al. (2019), evaluaron la compatibilidad de diez hongos entomopatógenos, incluyendo *B. bassiana*, con insecticidas químicos y botánicos para el manejo integrado de *Bemisia tabaci* en algodón. Su objetivo fue identificar combinaciones óptimas que preservaran la viabilidad fúngica mientras se mantenía el control de plagas. Utilizaron la técnica del medio envenenado *in vitro* para medir la inhibición del crecimiento micelial y la producción de conidios frente a dosis completas y mitades de insecticidas. Los resultados mostraron que *B. bassiana* ARSEF 2860 presentó alta compatibilidad con spiromesifen, diafenthiuron y buprofezin, mientras que imidacloprid, fipronil y profenofós causaron fuerte inhibición. Concluyeron que ciertos insecticidas, especialmente los reguladores del crecimiento, son compatibles con *B. bassiana*,

lo que permite su uso conjunto en programas de MIP sin comprometer la eficacia biológica (Sain et al., 2019).

Majchrowska-Safaryan et al. (2025), evaluaron el efecto de tres piretroides —deltametrina,  $\lambda$ -cialotrina y  $\alpha$ -cipermetrina— sobre el crecimiento micelial y la actividad metabólica de dos cepas de *B. bassiana* y *B. brongniartii* bajo condiciones *in vitro*. Su objetivo fue determinar la compatibilidad de estos insecticidas ampliamente utilizados en agricultura con hongos entomopatógenos, analizando no solo la inhibición del crecimiento, sino también la viabilidad metabólica mediante un ensayo de fluorescencia. Utilizaron medio SDA suplementado con tres concentraciones (1/10x, recomendada, 10x) de cada piretroide, midiendo el diámetro de colonia durante 20 días y la actividad metabólica mediante lectura fluorimétrica tras 72 horas de exposición. Los resultados mostraron que la  $\lambda$ -cialotrina a la dosis recomendada causó la menor inhibición del crecimiento en *B. bassiana*, mientras que la  $\alpha$ -cipermetrina fue altamente tóxica, inhibiendo completamente el crecimiento a la dosis 10x. En contraste, la deltametrina afectó significativamente la actividad metabólica de ambas cepas, incluso a dosis bajas. La  $\lambda$ -cialotrina a la dosis recomendada y 1/10x aumentó la actividad metabólica de *B. bassiana* hasta en un 60%, sugiriendo un efecto estimulante a concentraciones subletales. La conclusión fue que la toxicidad de los piretroides no es uniforme: algunos, como la  $\lambda$ -cialotrina, pueden ser compatibles o incluso estimulantes para *B. bassiana* en ciertas dosis, lo que implica que la evaluación debe ir más allá del crecimiento micelial y considerar parámetros metabólicos sensibles como indicadores confiables de impacto fisiológico en programas de MIP (Majchrowska-Safaryan et al., 2025).

Rivero-Borja et al. (2018), analizaron la interacción entre dos hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana* Bb88 y *Metarhizium anisopliae* ETL) y dos insecticidas (chlorpirifos etil y spinosad) para controlar la polilla del maíz (*Spodoptera frugiperda*), una plaga con alta resistencia natural a los hongos y rápida evolución de resistencia a insecticidas. El objetivo fue determinar si dosis subletales ( $LC_{50}$ ) de insecticidas podían mejorar la eficacia de los hongos mediante diferentes secuencias de aplicación. La metodología incluyó la aplicación de hongos e insecticidas en tres secuencias: hongo-seguido-de-insecticida, aplicación simultánea e insecticida-seguido-de-hongo, en larvas de tercer estadio, evaluando mortalidad y esporulación tras siete días. Los resultados revelaron que, aunque los hongos solos causaron menos del 1% de mortalidad, su esporulación aumentó significativamente (hasta 47%) cuando se combinaban con insecticidas, especialmente con spinosad aplicado simultánea o previamente. Sin embargo,

se observó antagonismo cuando el clorpirifos se aplicaba antes o junto con Bb88, reduciendo la mortalidad hasta un 19.3%. La conclusión es que combinaciones específicas — especialmente spinosad con hongos— pueden potenciar la infección y generar mortalidad sinérgica, sugiriendo que su integración en programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) reduce el uso de químicos, pero que ciertas combinaciones (clorpirifos + Bb88) deben evitarse por su efecto antagonista (Rivero-Borja et al., 2018).

Oliveira et al. (2003), evaluaron la compatibilidad *in vitro* del hongo entomopatógeno *B. bassiana* (cepas CG425) con ocho insecticidas comúnmente usados en cultivos de café, con el objetivo de identificar formulaciones que no inhiban su viabilidad, crecimiento o esporulación, facilitando su integración en programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) contra la broca del café (*Hypothenemus hampei*). La metodología consistió en aplicar tres concentraciones (recomendación de campo, 50% y 200%) de insecticidas sobre conidios en agar, midiendo germinación, crecimiento micelial y producción de conidios. Los resultados mostraron que clorpirifos, triazofos y endosulfan inhibieron completamente la germinación (100%), mientras que tiametoxam y alfa-cipermetrina mostraron la menor inhibición, con tasas de germinación similares al control (92–94%) incluso a dosis de campo. El tiametoxam también no afectó negativamente el crecimiento o la esporulación. La conclusión es que tiametoxam y alfa-cipermetrina son compatibles con *B. bassiana*, lo que permite su uso conjunto en MIP sin comprometer el control biológico, mientras que insecticidas como el clorpirifos deben evitarse en combinaciones con hongos debido a su toxicidad severa para los conidios (Oliveira et al., 2003).

Meyling et al. (2018), investigaron cómo la secuencia y el intervalo temporal entre la exposición al hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* y el insecticida piretroide alfa-cipermetrina afectan la mortalidad sinérgica en el escarabajo *Tenebrio molitor*, buscando optimizar estrategias de control integrado. El objetivo fue determinar si la aplicación secuencial mejora la eficacia comparada con la aplicación simultánea, usando el modelo de Acción Independiente (IA) para cuantificar interacciones. La metodología incluyó tres experimentos con intervalos de 24, 48 y 72 horas entre aplicaciones, midiendo mortalidad diaria durante 8–10 días. Los resultados demostraron sinergia significativa solo cuando el hongo se aplicaba 48–72 horas antes del insecticida, alcanzando 100% de mortalidad frente al 60% esperado por IA. Cuando el insecticida se aplicaba primero, incluso 24 horas antes, no hubo sinergia. La conclusión es que la secuencia es crítica: la infección fúngica previa debilita la capacidad del

insecto para detoxificar el insecticida, generando sinergia, lo que sugiere que estrategias de MIP deben priorizar la aplicación de hongos primero, seguida de insecticidas a baja dosis tras 2–3 días, para maximizar el control y reducir el uso químico (Meyling et al., 2018).

Chen et al. (2021), investigaron la compatibilidad y sinergia entre la cepa de hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* PfBb, aislada de larvas de la polilla *Phaula flammans*, y cinco insecticidas comerciales (beta-cipermetrina, matrina, imidacloprid, flufenoxurón y metaflumizona) para desarrollar estrategias de Manejo Integrado de Plagas (MIP) sostenibles. El objetivo fue evaluar cómo diferentes concentraciones (recomendada, 20% y 10%) de los insecticidas afectan *in vitro* el crecimiento micelial, la esporulación y la germinación de conidios, así como su efecto sinérgico en la mortalidad larval *in vivo*. La metodología combinó ensayos *in vitro* para medir parámetros fúngicos con bioensayos de mortalidad acumulada y tiempo letal medio (LT<sub>50</sub>) en larvas de cuarto estadio. Los resultados demostraron que la beta-cipermetrina a la concentración del 10% fue el insecticida más compatible, causando la menor inhibición en todos los parámetros fúngicos evaluados, incluyendo la germinación más alta (73.86%) y el menor efecto sobre el crecimiento micelial. En los bioensayos, la combinación de *B. bassiana* PfBb con cualquiera de los insecticidas al 10% de la dosis recomendada produjo una mortalidad acumulada significativamente mayor que la del insecticida solo, y la mortalidad por la combinación de PfBb con beta-cipermetrina al 10% fue comparable a la causada por el hongo solo. La tasa de cadáveres (larvas muertas con esporulación fúngica) tras esta combinación no difería estadísticamente de la infección con el hongo por sí solo, indicando que el insecticida no interfirió con la infección. La conclusión es que la integración de *B. bassiana* PfBb con beta-cipermetrina a una dosis reducida (10%) es una estrategia altamente prometedora, ya que mejora la eficacia del insecticida, reduce la carga química y mantiene la capacidad del hongo para infectar y esporular en los cadáveres, lo que fortalece el control biológico sostenible contra *P. flammans* (Chen et al., 2021).

## **2.2. Marco Conceptual**

### **2.2.1. *Beauveria bassiana***

*Beauveria bassiana* es un hongo entomopatógeno deuteromicete de distribución cosmopolita, que coloniza diversos nichos edáficos. Este micopatógeno ejerce su acción biocida a través de un mecanismo de infección por contacto, siendo capaz de parasitar a una amplia gama de artrópodos plaga de importancia agrícola (Dannon et al., 2020). Debido a su especificidad y eficacia, constituye el principio activo central de numerosas formulaciones de bioplaguicidas registradas para su aplicación en el manejo integrado de cultivos (Jain et al., 2023).

### **2.2.2. *Insecticidas Químicos***

Los insecticidas químicos son sustancias utilizadas para controlar insectos plaga, clasificados en grupos como neonicotinoides, piretroides y organofosforados (Aznar-Aleman y Eljarrat, 2020). Actúan interfiriendo en el sistema nervioso de los insectos, ya sea bloqueando o estimulando neurotransmisores. Su uso indiscriminado puede llevar al desarrollo de resistencia en las poblaciones de insectos (Araújo et al., 2023).

### **2.2.3. *Hongos Entomopatógenos***

Los hongos entomopatógenos son microorganismos que infectan y matan insectos, desempeñando un papel crucial en el control biológico de plagas (Deka et al., 2021). Estos hongos penetran la cutícula del insecto y se desarrollan internamente, liberando toxinas que afectan el sistema nervioso (Ortiz y Keyhani, 2013).

### **2.2.4. *Desarrollo y Viabilidad Fúngica***

La viabilidad de *B. bassiana* depende de factores ambientales como temperatura, humedad y pH. La germinación de conidios es más eficiente en condiciones de alta humedad y temperaturas moderadas (Quesada-Moraga et al., 2024). La exposición a condiciones desfavorables puede reducir su efectividad como un controlador biológico (Quesada-Moraga et al., 2024).

### **2.2.5. Manejo Integrado de Plagas (MIP)**

El MIP es una estrategia que combina métodos biológicos, químicos y culturales para controlar plagas de manera sostenible (Singh, 2022). La inclusión de *B. bassiana* en programas de MIP ha demostrado ser efectiva en el control de diversas plagas agrícolas. Esta integración reduce la dependencia de insecticidas químicos y promueve la biodiversidad (Angon et al., 2023).

### **2.2.6. Resistencia de Plagas**

La resistencia de plagas a insecticidas se desarrolla cuando las poblaciones de insectos sobreviven a exposiciones repetidas a estas sustancias (Khan et al., 2020). Este fenómeno puede comprometer la eficacia de los biocontroladores como *B. bassiana*. Implementar estrategias de manejo que consideren la resistencia es esencial para mantener la efectividad del control biológico (Wang et al., 2024).

## **2.3. Marco Teórico**

### **2.3.1. Biología y ciclo de vida de *Beauveria bassiana***

*Beauveria bassiana* es un hongo cosmopolita que se encuentra naturalmente en suelos de todo el mundo. Su ciclo de vida incluye dos fases principales: patogénesis y saprogénesis (Rana et al., 2024). Durante la patogénesis, los conidios germinan al entrar en contacto con la cutícula del insecto, penetran en su interior y proliferan, causando la muerte del huésped en un periodo que varía entre 3 y 9 días, dependiendo de la cepa y las condiciones ambientales.

En la fase de saprogénesis, el hongo se desarrolla en el cadáver del insecto, produciendo nuevas conidias que pueden infectar a otros insectos (Deshmukh y Sridhar, 2024).

### **2.3.2. Morfología y características generales del hongo**

*Beauveria bassiana* presenta un micelio hialino, septado y ramificado, con conidióforos simples o ramificados que producen conidios hialinos, globosos a subglobosos (Zimmermann, 2007). Estos conidios forman agregados en forma de racimos, responsables de la diseminación del hongo y de su capacidad infectiva en insectos plaga bajo condiciones naturales y experimentales.

Los conidios constituyen la principal estructura infectiva, capaces de adherirse a la cutícula del insecto hospedador y germinar bajo condiciones favorables de humedad y temperatura (Zhang et al., 2025). Este proceso inicial es determinante para el establecimiento de la infección y explica la importancia de la morfología conidial en la eficacia biocontroladora (Collinge et al., 2022).

Este hongo exhibe una notable plasticidad fisiológica que le permite desarrollarse en diversos sustratos (Mascarin et al., 2023). Su capacidad de crecer tanto en medios artificiales como en ambientes naturales lo convierte en un hongo versátil, capaz de persistir en agroecosistemas y colonizar diferentes hábitats, manteniendo su potencial entomopatógeno (Sharma et al., 2020).

### 2.3.3. Taxonomía y clasificación de *Beauveria bassiana*

*Beauveria bassiana* pertenece al reino Fungi, filo Ascomycota, clase Sordariomycetes, orden Hypocreales y familia Cordycipitaceae, siendo considerada un hongo entomopatógeno con amplia relevancia agrícola (El-Maraghy et al., 2023). Su clasificación taxonómica se fundamenta en características morfológicas y moleculares, destacando la variabilidad genética entre cepas y su estrecha relación filogenética con géneros como *Cordyceps* y *Isaria* (Kobmoo et al., 2021).

**Tabla 1**

*Clasificación taxonómica de Beauveria bassiana*

<b>Clasificación taxonómica</b>	
<b>Reino:</b>	Fungi
<b>Filo:</b>	Ascomycota
<b>Clase:</b>	Sordariomycetes
<b>Familia:</b>	Cordycipitaceae
<b>Género:</b>	<i>Beauveria</i>
<b>Especie:</b>	<i>bassiana</i>

Fuente: (Dannon et al., 2020)

### 2.3.4. Principales grupos de insecticidas y su modo de acción

Los insecticidas constituyen una herramienta esencial en el manejo de plagas agrícolas, destacando tres grupos principales: neonicotinoides, piretroides y organofosforados. Cada uno

presenta mecanismos de acción específicos a nivel molecular y fisiológico, que afectan el sistema nervioso de los insectos (Araújo et al., 2023).

**Tabla 2**

*Clasificación de grupos químicos de insecticidas*

<b>Grupo Químico</b>	<b>Ejemplos</b>	<b>Modo de Acción</b>
<b>Neonicotinoides</b>	Imidacloprid	Agonistas de los receptores nicotínicos de acetilcolina, aumentando los niveles intracelulares de calcio.
<b>Piretroides</b>	Deltametrina	Interfieren con los canales de sodio dependientes de voltaje, causando parálisis y muerte del insecto.
<b>Organofosforados</b>	Chlorpyrifos	Inhiben la acetilcolinesterasa, interfiriendo con la transmisión neuromuscular.

Fuente: (Araújo et al., 2023)

### ***2.3.5. Mecanismos de acción de insecticidas neonicotinoides***

Los insecticidas neonicotinoides son compuestos sintéticos que actúan como agonistas de los receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) en el sistema nervioso central de los insectos (Houchat et al., 2020). Al unirse a estos receptores, los neonicotinoides inducen una despolarización prolongada de las membranas neuronales, lo que resulta en una sobreestimulación neuronal, parálisis y muerte del insecto objetivo (Paoli y Giurfa, 2024). Para los propósitos de estudio se usaron concentraciones subletales, con el fin de permitir la observación de efectos fisiológicos sin causar la muerte inmediata de los insectos.

Estos compuestos tienen una alta afinidad por los nAChRs insectiles, lo que les confiere una alta selectividad y eficacia en el control de plagas (Salgado, 2021). Su uso generalizado ha generado preocupaciones sobre la resistencia de las plagas y los efectos en organismos no objetivo, como polinizadores y fauna acuática.

La persistencia ambiental de los neonicotinoides también es motivo de preocupación, ya que pueden acumularse en el suelo y en cuerpos de agua, afectando la biodiversidad y los ecosistemas acuáticos (Borsuah et al., 2020).

### **2.3.6. Mecanismos de acción de insecticidas piretroides**

Los insecticidas piretroides son compuestos sintéticos derivados de la piretrina, un insecticida natural (Hodoşan et al., 2023). Actúan interfiriendo con la función de los canales de sodio dependientes de voltaje en las membranas neuronales de los insectos. Los piretroides al unirse a estos canales prolongan la apertura de estos, lo que conduce a una despolarización continua de las neuronas, interrumpiendo la transmisión nerviosa y causando parálisis y muerte del insecto (Hodgson, 2020).

La alta selectividad de los piretroides hacia los insectos y su baja toxicidad para mamíferos los hace populares en el control de plagas agrícolas y domésticas (Ravula y Yenugu, 2021). El uso repetido y a altas dosis ha llevado al desarrollo de resistencia en diversas especies de insectos, lo que reduce la eficacia de estos compuestos (Araújo et al., 2023).

### **2.3.7. Mecanismos de acción de insecticidas organofosforados**

Los insecticidas organofosforados (OP) son compuestos químicos que inhiben la actividad de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), responsable de la degradación de la acetilcolina en las sinapsis neuronales. Al inhibir esta enzima, los OPs provocan una acumulación de acetilcolina, lo que lleva a una estimulación continua de las neuronas, resultando en parálisis y muerte del insecto (Aroniadou-Anderjaska et al., 2023).

La inhibición de la AChE por los OPs se produce mediante la fosforilación del sitio activo de la enzima, impidiendo su función normal (Aroniadou-Anderjaska et al., 2023). Este mecanismo de acción es común entre los OPs y es responsable de su alta toxicidad para los insectos.

Los OPs también presentan riesgos para la salud humana y animal, ya que pueden causar efectos tóxicos agudos y crónicos (Badr, 2020). El uso prolongado ha llevado al desarrollo de resistencia en diversas especies de insectos, lo que limita su eficacia en el control de plagas.

### **2.3.8. Mecanismos de infección y patogenicidad en insectos**

*Beauveria bassiana* es un hongo entomopatógeno que infecta a los insectos a través de la adhesión de sus conidios a la cutícula del insecto (Baek et al., 2022). Una vez adheridos, los conidios germinan y penetran la cutícula mediante la liberación de enzimas hidrolíticas que

degradan la quitina, facilitando la invasión del hongo en los tejidos internos del insecto (Bhadani et al., 2022).

Tras la penetración, el hongo se multiplica en los tejidos internos del insecto, liberando toxinas que afectan el sistema inmunológico del hospedador. Estas toxinas, como la beauvericina y la bassianolida, alteran las funciones celulares y contribuyen a la muerte del insecto (Wang et al., 2021).

### **2.3.9. Factores ambientales que afectan la eficacia de *Beauveria bassiana***

La eficacia de *Beauveria bassiana* como agente de control biológico está fuertemente condicionada por factores ambientales. La temperatura regula tanto la germinación de los conidios como el crecimiento micelial, siendo las condiciones moderadas las que permiten un desarrollo óptimo y favorecen la capacidad infecciosa del hongo (Quesada-Moraga et al., 2024).

La humedad relativa elevada potencia la germinación conidial y la infección del hospedador, mientras que la baja humedad limita la dispersión y viabilidad del hongo. La radiación ultravioleta degrada los conidios, reduciendo su supervivencia y efectividad, lo que subraya la importancia de considerar estas variables en programas de manejo integrado de plagas (Abdul Qayyum et al., 2021).

### **2.3.10. Resistencia de insectos a insecticidas y su impacto en biocontroladores**

La resistencia de los insectos a los insecticidas es un fenómeno complejo que involucra cambios genéticos y fisiológicos en las poblaciones de plagas (Metcalf, 1955). Estos cambios pueden incluir mutaciones en los sitios de acción de los insecticidas, aumento de la actividad de enzimas desintoxicantes y alteraciones en la permeabilidad de la membrana celular (Ranganathan et al., 2022).

La resistencia reduce la eficacia de los insecticidas, lo que puede llevar a un mayor uso de estos compuestos y, en consecuencia, a un aumento de la presión de selección sobre las poblaciones de insectos. Este ciclo puede resultar en una resistencia aún mayor y en la aparición de plagas más difíciles de controlar (Siddiqui et al., 2022).

El desarrollo de resistencia también puede afectar la eficacia de los biocontroladores microbianos, como *B. bassiana* (Dannon et al., 2020). Las interacciones entre insecticidas y hongos entomopatógenos pueden ser complejas, y la resistencia a los insecticidas puede alterar estas interacciones, reduciendo la efectividad del control biológico (Samal et al., 2023).

### **2.3.11. Interacciones entre insecticidas y hongos entomopatógenos**

Las interacciones entre insecticidas y hongos entomopatógenos, como *Beauveria bassiana*, pueden clasificarse en sinérgicas, antagonistas o neutras, dependiendo de factores como el tipo de insecticida, la dosis aplicada, el momento de la aplicación y las condiciones ambientales (Mantzoukas et al., 2022). En interacciones sinérgicas, la combinación de ambos agentes resulta en una mayor mortalidad de la plaga en comparación con su aplicación individual (Sharma et al., 2024).

Las interacciones antagonistas ocurren cuando el insecticida reduce la eficacia del hongo entomopatógeno, ya sea por toxicidad directa sobre el hongo o por alteración del ambiente necesario para su desarrollo. Estas interacciones pueden disminuir la efectividad del control biológico y, por lo tanto, deben ser consideradas al diseñar estrategias de manejo integrado de plagas (Dannon et al., 2020).

### **2.3.12. Aplicaciones de *Beauveria bassiana* en Manejo Integrado de Plagas (MIP)**

*Beauveria bassiana* ha emergido como una herramienta clave en el Manejo Integrado de Plagas (MIP), debido a su capacidad para infectar una amplia gama de insectos plaga. Su aplicación en cultivos agrícolas permite reducir la dependencia de insecticidas químicos, promoviendo prácticas más sostenibles y ecológicas (Dannon et al., 2020).

La implementación de *B. bassiana* en MIP implica su uso en combinación con otras estrategias, como la rotación de cultivos, el uso de cultivos resistentes y la liberación de enemigos naturales (Singh, 2022). Esta integración mejora la eficacia del control de plagas y contribuye a la conservación de la biodiversidad.

El uso de *B. bassiana* en MIP ha demostrado ser efectivo en el control de plagas en diversos cultivos, como hortalizas, frutales y cereales (Dannon et al., 2020). Su aplicación reduce la

necesidad de tratamientos químicos, disminuyendo los riesgos para la salud humana y el medio ambiente (Cai y Dimopoulos, 2025).

**Tabla 3**

*Diferentes interacciones del insecticida*

<b>Tipo de interacción</b>	<b>Descripción general</b>	<b>Efecto fisiológico sobre <i>Beauveria bassiana</i></b>	<b>Implicación en el control de plagas</b>
<b>Sinérgica</b>	Acción en conjunto del insecticida y hongo que aumenta la mortalidad del insecto hospedador.	Incremento en la germinación o virulencia del hongo ante dosis subletales de insecticida.	Mejora la eficacia del MIP y reduce la dosis química necesaria.
<b>Antagónica</b>	Insecticida interfiere de manera negativa con el desarrollo del hongo.	Reduce el crecimiento micelial o esporulación.	Disminuye la efectividad del biocontrol en consecuencia puede generar fallas en campo.
<b>Neutra</b>	No existe interferencia significativa entre ambos agentes.	Coexistencia fisiológica del hongo y el insecticida sin efectos adversos.	Permite su aplicación combinada sin comprometer el control biológico.

**Fuente:** (Oliveira et al., 2003; Thomas et al., 2025)

## CAPÍTULO III: Diseño Metodológico

### 3.1. Tipo y diseño de investigación

El estudio experimental y cuantitativo, orientado a la comprobación de hipótesis mediante la recolección de datos objetivos y el análisis estadístico de variables fisiológicas del hongo *Beauveria bassiana* expuesto a distintos insecticidas. Este enfoque permite establecer relaciones causales entre la exposición química y las respuestas biológicas del microorganismo, asegurando precisión en la medición de los efectos y reproducibilidad de los resultados.

El diseño experimental corresponde a un ensayo in vitro, con tratamientos definidos por las concentraciones de los insecticidas imidacloprid, deltametrina y chlorpyrifos, además de un grupo control sin exposición. Cada insecticida será evaluado a una concentración reducida, asegurando niveles subletales que permitan evaluar efectos fisiológicos sin provocar daños. La concentración de *B. bassiana* se seleccionará conforme a evidencias científicas previas (Thomas et al., 2025; Litwin et al., 2023).

La investigación se sustenta en los principios del método científico aplicados a la biotecnología experimental, integrando técnicas microbiológicas, bioquímicas y estadísticas para cuantificar la interacción entre agentes químicos y biológicos. Este modelo metodológico responde a los criterios de estudios similares desarrollados en investigaciones previas sobre antagonismo microbiano y compatibilidad biológica en *B. bassiana*, garantizando rigor técnico y validez científica.

Para la siguiente investigación se usó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con cuatro tratamientos, cada tratamiento con 3 repeticiones, manteniendo un control positivo (*Beauveria bassiana*).

#### 3.1.1. Tratamientos

Para la evaluación de la viabilidad celular, los procesos fisiológicos, que son el crecimiento micelial y la esporulación se utilizaron los siguientes tratamientos (Tabla 4):

**Tabla 4***Tratamientos con Beauveria bassiana usados en el experimento*

	<b>Tratamientos</b>	<b>Dosis</b>
<b>T1</b>	Imidacloprid	1.05 mg/100 mL
<b>T2</b>	Deltametrina	0.10 mg/100 mL
<b>T3</b>	Chlorpyrifos	1.92 mg/100 mL
<b>T4</b>	Control (Agua)	

### 3.1.2. Diseño experimental

Para la evaluación de la viabilidad celular y los procesos fisiológicos, se realizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con cuatro tratamientos, cada tratamiento con 3 repeticiones (Tabla 5).

**Tabla 5***Esquema de análisis estadístico*

<b>Fuente de variación</b>		<b>Grados de libertad</b>	
Tratamientos	(k- 1)	(4-1)	3
Error experimental	(N-k)	(12 - 4)	8
Total	(N- 1)	(12 - 1)	11

## 3.2. La población y la muestra

### 3.2.1. Cepa fúngica

El hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, fue seleccionado del banco de cepa del Laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Este microorganismo fue seleccionado por su relevancia biotecnológica en el control de plagas agrícolas, lo que permite evaluar efectos fisiológicos.

Las cepas de *B. bassiana* fueron seleccionadas de acuerdo con su pureza morfológica (coloración blanca algodonosa, conidios hialinos), su capacidad de esporulación.

### **3.2.2. Delimitación de la población**

La población del estudio se delimita al análisis de *B. bassiana* bajo exposición a los insecticidas Imidalaq SC (imidacloprid-neonicotinoides), DELROS EC (deltametrina-piretroide) y Pyrinox 480 (Chlorpyrifos-organofosforado).

### **3.3. Los métodos y las técnicas**

#### **3.3.1. Cultivo de hongo**

El hongo se cultivó en placas de Petri con medio PDA (Potato Dextrose Agar) durante 10 días a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  en oscuridad (Oliveira et al., 2003).

#### **3.3.2. Preparación de los tratamientos (Medio PDA con insecticida)**

Cada tratamiento se preparó con PDA e insecticida a una concentración reducida, asegurando la evaluación de efectos fisiológicos sin provocar daños: Imidalaq SC (imidacloprid), DELROS EC (deltametrina) y Pyrinox 480 (Chlorpyrifos) (Thomas et al., 2025).

#### **3.3.3. Viabilidad (Ensayo Cometa - Comet Assay)**

##### **3.3.3.1. Preparación de la muestra**

Finalizado el tiempo de exposición, las suspensiones se centrifugaron ( $3000\times g$ , 10 min,  $4^\circ\text{C}$ ), se descartó el sobrenadante y el pellet se lavó dos veces con tampón fosfato salino (PBS, pH 7,4) para eliminar restos de insecticida. El pellet final se resuspendió en PBS fresco hasta obtener una densidad celular adecuada para el ensayo cometa  $10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$  (Conlon et al., 2022).

##### **3.3.3.2. Preparación de portaobjetos para el ensayo cometa**

El ensayo cometa se realizó bajo condiciones alcalinas. Los portaobjetos se recubrieron previamente con una capa base de agarosa de punto de fusión normal al 1 % (p/v) en agua destilada, se extendió una fina película sobre la superficie y se dejó solidificar a temperatura ambiente. Sobre esta capa base se colocó una segunda capa compuesta por 10  $\mu\text{L}$  de suspensión celular mezclados con 90  $\mu\text{L}$  de agarosa de punto de fusión bajo al 0,5 % (p/v) a  $37^\circ\text{C}$ . La mezcla se distribuyó cuidadosamente formando un “gel” uniforme y se dejó solidificar sobre una superficie fría ( $4^\circ\text{C}$ , 10 min) (Conlon et al., 2022).

### **3.3.3.3. Lisis celular**

Tras la solidificación, los portaobjetos se sumergieron en una solución de lisis fría (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl, pH 10, con 1 % Triton X-100 y 10 % DMSO añadidos justo antes de su uso) y se incubaron a 4 °C durante 2 h en oscuridad. Esta etapa permitió la eliminación de membranas y proteínas, dejando el ADN nuclear libremente organizado en la matriz de agarosa (Conlon et al., 2022).

### **3.3.3.4. Desenrollamiento del ADN y electroforesis alcalina**

Posteriormente, los portaobjetos se colocaron en una cuba de electroforesis conteniendo tampón alcalino (300 mM NaOH, 1 mM EDTA, pH > 13). Se mantuvieron en este tampón durante 30 min a 4 °C, en oscuridad, para permitir el desenrollamiento del ADN y la expresión de roturas de cadena simple y doble. A continuación, se aplicó un campo eléctrico de aprox. 1,0 V cm<sup>-1</sup> y 300 mA durante 30 min, manteniendo constantes la temperatura y la oscuridad. Bajo estas condiciones, los fragmentos de ADN cargados negativamente migraron hacia el ánodo formando la característica “cola cometaria” (Conlon et al., 2022).

### **3.3.3.5. Neutralización, tinción y captura de imágenes**

Finalizada la electroforesis, los portaobjetos se enjuagaron suavemente con agua destilada fría para eliminar restos de tampón alcalino y se neutralizaron mediante inmersión en tampón Tris-HCl 0,4 M (pH 7,5) durante 5 min. Luego se dejaron secar parcialmente al aire y se tiñeron con un fluorocromo intercalante (bromuro de etidio 2 µg mL<sup>-1</sup> en oscuridad) durante 15 min. El exceso de colorante se retiró con un breve enjuague en agua destilada (Conlon et al., 2022).

Las preparaciones se observaron en un microscopio de fluorescencia equipado con filtro adecuado (excitación/emisión para el fluorocromo utilizado) y cámara digital (Conlon et al., 2022).

### **3.3.4. Germinación de conidias**

Al final del período de incubación (día 14), se recolectaron disco de micelio de 6 mm de diámetro, se colocó en tubos eppendorf con 0.5 mL de solución de Tween 20 (0.02%) (Oliveira et al., 2003). Luego se tomaron alícuotas de 20 µL de cada tubo y se sembraron en placas con agar-agua (1.7%) y se incubaron a 25 ± 1°C durante 24 h con fotoperiodo 12:12 h (luz: oscuridad). Transcurrido este período, se evaluaron 100 conidios por réplica mediante el

microscopio, considerándose germinado todo conidio que presentara un tubo germinativo de longitud igual o superior a su diámetro de acuerdo con Oliveira et al. (2003).

### **3.3.5. Crecimiento micelial**

Se incorporaron los insecticidas en medio PDA (40°C), vertiéndose 20 mL por placa (90 × 15 mm) (Thomas et al., 2025). Tras gelificar el medio, se inoculó en el centro de cada placa un disco de micelio de 6 mm de diámetro, obtenido de los bordes de cultivos jóvenes (10 días) (Celar, y Kos, 2016). Las placas se incubaron a 25 ± 1°C en oscuridad, la medición se efectuó el día 14 en dos direcciones perpendiculares siguiendo la metodología de Joseph et al. (2023).

### **3.3.6. Producción de conidios (Esporulación)**

Al final del período de incubación (día 14), se recolectaron disco de micelio de 6 mm de diámetro, se colocó en tubos eppendorf con 0.5 mL de solución de Tween 20 (0.02%) (Oliveira et al., 2003). La suspensión resultante se filtró a través de gasa estéril y la concentración de conidios se estimó mediante cámara de Neubauer (Joseph et al., 2023).

### **3.3.7. Caracterización morfológica y molecular**

Las muestras se examinaron con un estereomicroscopio. Los cultivos en placas inclinadas de PDA se transfirieron a placas de PDA y se incubaron a 25 °C durante 14 días. Para la evaluación morfológica, se prepararon portaobjetos colocando micelios de los cultivos en bloques de medio de PDA (6 mm de diámetro) y cubriéndolos con un cubreobjetos. Se utilizó una solución de colorante para observar conidias e hifas. Las observaciones y mediciones morfológicas se realizaron con un microscopio (Wang et al., 2022)

Se trabajó con un cultivo fúngico previamente aislado y mantenido en cajas Petri, a partir del cual se obtuvo biomasa suficiente para el análisis molecular. La extracción de ADN genómico se realizó mediante métodos convencionales empleando aproximadamente 100 mg de micelio. Posteriormente, se evaluó la calidad, integridad y concentración del ADN mediante espectrofotometría de microvolúmenes y electroforesis en gel de agarosa al 1%.

El ADN obtenido se diluyó hasta una concentración aproximada de 20 ng/μL y se utilizó como molde para la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de la región ITS, empleando los cebadores ITS1 e ITS4 según White et al. (1990). Los productos de

amplificación, con un tamaño aproximado de 500 pb, se verificaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% y posteriormente se purificaron.

La secuenciación se realizó mediante el método de Sanger. Las secuencias obtenidas fueron procesadas mediante limpieza y ensamblaje utilizando herramientas bioinformáticas, generando una secuencia consenso. Finalmente, dicha secuencia se comparó con la base de datos GenBank del NCBI para determinar la identidad taxonómica del aislado, en función del porcentaje de similitud.

### ***3.3.8. Condiciones Ambientales Controladas***

Todos los experimentos se realizaron en incubación con temperatura controlada a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y humedad relativa del  $70 \pm 5\%$  (Oliveira et al., 2003). Para las evaluaciones de germinación se mantuvo un fotoperiodo de 12 h, mientras que para crecimiento y esporulación se utilizó oscuridad constante (Meyling et al., 2018). Todas las manipulaciones se realizaron bajo condiciones asépticas en cámara de flujo laminar.

### ***3.3.9. Bioseguridad y disposición de residuos***

Dado que los insecticidas evaluados son compuestos neurotóxicos, el estudio se regirá por las normas de bioseguridad de nivel I y II establecidas por el Ministerio de Salud Pública del Ecuador (ARCSA, 2018). El personal involucrado en la manipulación de estos compuestos deberá utilizar bata antifluido, guantes de nitrilo, mascarilla y gafas de protección, trabajando exclusivamente dentro de cabinas de flujo laminar.

Los insecticidas se almacenarán en frascos herméticamente sellados, en un gabinete de seguridad química identificado y ventilado. Las superficies contaminadas serán desinfectadas con etanol al 70 %, seguido de hipoclorito de sodio al 1 %. Los residuos sólidos (placas, tubos, puntas) se autoclavarán a  $121^\circ\text{C}$  durante 30 minutos antes de su disposición en contenedores tipo II, mientras que los residuos líquidos se neutralizarán con hipoclorito al 5 % antes de su eliminación.

El cumplimiento de estas prácticas garantiza la protección del personal, la prevención de fugas ambientales y el manejo responsable de residuos peligrosos en concordancia con la Norma

Técnica Ecuatoriana INEN 2841 (MAE, 2014) sobre gestión de desechos biológicos y químicos.

#### **3.4. Procesamiento estadístico de la información**

Previo al análisis, se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas mediante las pruebas de Shapiro–Wilk y Levene, respectivamente. El crecimiento micelial, al no cumplir estos supuestos, fue analizado mediante la prueba no paramétrica de Kruskal–Wallis. Por su parte, la producción de conidios, que sí cumplió con los criterios de normalidad y homogeneidad, se evaluó mediante un ANOVA de una vía, aplicando la prueba de Tukey para las comparaciones múltiples entre medias ( $p \leq 0.05$ ). Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software Infostat (versión universitaria, 2020) para el procesamiento y análisis de los resultados.

## CAPÍTULO IV: Análisis e Interpretación de Resultados

### 4.1. Análisis e Interpretación de Resultados

#### 4.1.1. Viabilidad celular y germinación de *Beauveria bassiana*

El análisis del ensayo cometa reveló diferencias claras en el nivel de daño al ADN de *Beauveria bassiana* tras la exposición a los tres insecticidas evaluados, en comparación con el control sin tratamiento. Las micrografías permitieron identificar patrones diferenciados en la morfología del nucleóide y la longitud de la cola cometaria, reflejando el grado de fragmentación del ADN inducido por cada compuesto.

En el tratamiento T1 (Imidacloprid) se observó un cometa con núcleo bien definido y una cola de extensión moderada, indicando un daño genético intermedio. La migración del ADN hacia la cola sugiere que el imidacloprid induce una fragmentación detectable, aunque no tan marcada como en deltametrina.

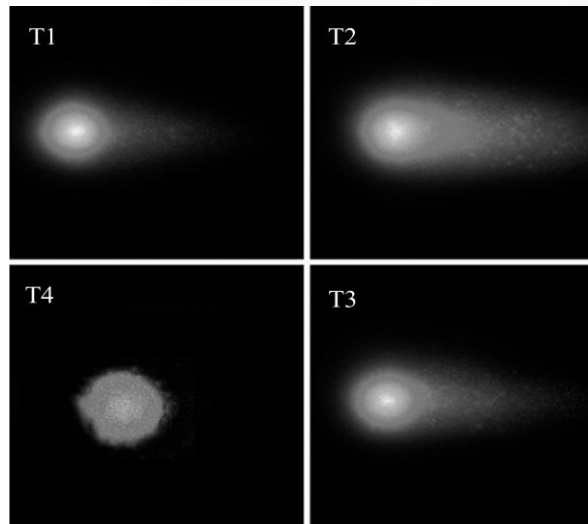
El tratamiento T2 (Deltametrina) presentó la mayor extensión y densidad de la cola cometaria, evidenciando un daño genético severo en *B. bassiana*. La alta dispersión de fragmentos de ADN indica una marcada genotoxicidad de este piretroide, posicionándolo como el compuesto con mayor impacto sobre la integridad genómica del hongo.

Por su parte, el tratamiento T3 (Clorpirifos) mostró un patrón de daño reducido, caracterizado por una cola corta y poco dispersa. La menor migración de ADN desde el núcleo indica un daño genómico leve, lo cual sugiere una tolerancia relativa o un efecto genotóxico limitado en comparación con los otros insecticidas probados.

Finalmente, en el control T4 se observó un nucleóide redondeado, compacto y carente de cola cometaria evidente, confirmando la ausencia de fragmentación del ADN y estableciendo el patrón basal de integridad genética en ausencia de estrés químico.

## Ilustración 1

Vista de ensayo cometa en *Beauveria bassiana* tras exposición de diferentes insecticidas.

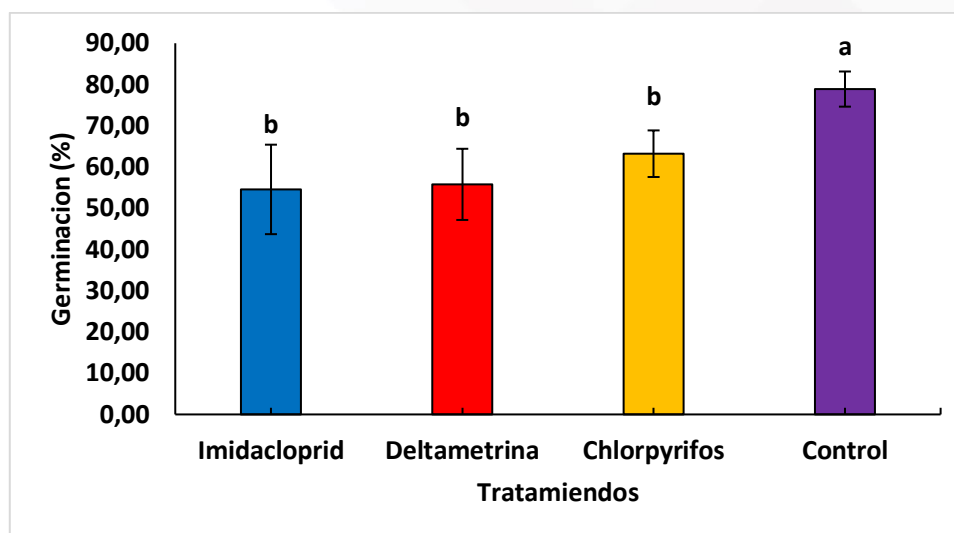


**Nota:** T1: imidacloprid; T2: deltametrina; T3: chlorpyrifos; T4: control. Cada micrografía muestra la morfología del nucleóide y la extensión de la cola cometaria, indicadores directos del nivel de fragmentación del ADN.

El estudio sobre la germinación de conidios de *Beauveria bassiana* mostró diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los tratamientos evaluados, revelando un efecto marcado de los insecticidas sobre la capacidad germinativa del hongo. Los resultados, expresados en porcentaje, evidenciaron que la mayor tasa de germinación se registró en el control, alcanzando un 78.89 %, valor que refleja el comportamiento natural y óptimo del microorganismo en ausencia de sustancias químicas. En contraste, los tratamientos con insecticidas presentaron porcentajes claramente inferiores: chlorpyrifos obtuvo 63.22 %, deltametrina 55.78 % e imidacloprid 54.56 %, lo que confirma una reducción sensible en la germinación de los conidios. Según la prueba de Tukey, los tres insecticidas no mostraron diferencias significativas entre sí, lo que indica que su efecto inhibitorio es comparable; sin embargo, todos se diferenciaron de forma notable frente al control, demostrando que la presencia de estos compuestos afecta negativamente el proceso de germinación.

**Figura 1**

*Germinación de Beauveria bassiana tras exposición de diferentes insecticidas.*



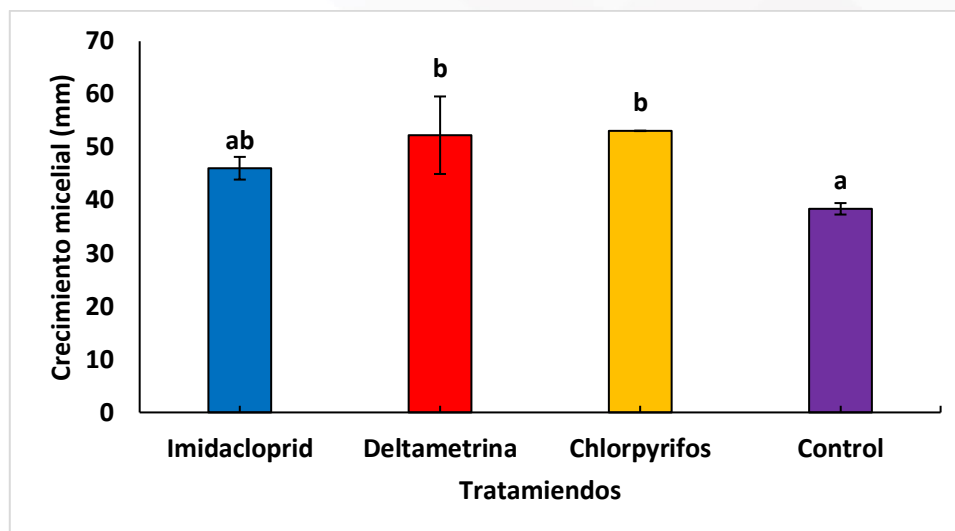
**Nota:** Las letras representan significancias estadísticas entre los tratamientos; (Test de Tukey al  $P < 0.05$ ). Las barras indican la media + DE.

#### **4.1.2. Crecimiento y esporulación de *Beauveria bassiana*.**

El estudio sobre el crecimiento radial de *Beauveria bassiana* en un medio PDA enriquecido con los insecticidas imidacloprid, deltametrina y chlorpyrifos mostró diferencias interesantes entre los tratamientos. El tratamiento con chlorpyrifos destacó con el mayor crecimiento micelial, alcanzando los 53.10 mm, seguido de cerca por deltametrina con 52.28 mm e imidacloprid con 46.05 mm. En contraste, el control sin insecticida tuvo el menor crecimiento, con solo 38.4 mm. De acuerdo con la prueba de Kruskal–Wallis test se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. Imidacloprid, por su parte, mostró un crecimiento intermedio, agrupándose estadísticamente con ambos tratamientos (a–b). Estos hallazgos sugieren que los tres insecticidas, en la concentración analizada, no solo permitieron el crecimiento micelial de *B. bassiana* en comparación con el control, sino que también favorecieron un aumento en el diámetro de la colonia.

**Figura 2**

*Crecimiento micelial en Beauveria bassiana tras exposición de diferentes insecticidas.*

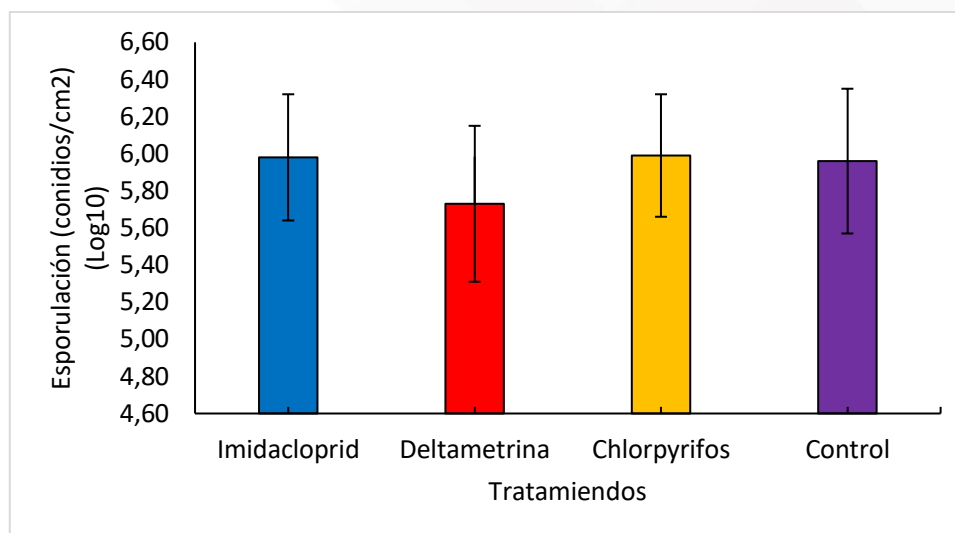


**Nota:** Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Kruskal-Wallis,  $H = 8.12$ ,  $p = 0.0434$ ). Las barras indican mediana  $\pm$  DE.

Los valores de esporulación de *Beauveria bassiana* se transformaron usando  $\text{Log}_{10}$  para asegurarnos de que cumplieran con los supuestos estadísticos de normalidad y homogeneidad de varianzas antes de continuar con el análisis. Esta transformación ayudó a estabilizar la variabilidad de los datos y a garantizar que las comparaciones entre tratamientos fueran válidas y confiables. Los resultados mostraron que no hubo diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos con insecticidas y el control, lo que sugiere que los compuestos evaluados no afectaron de manera notable la capacidad del hongo para producir conidios en las condiciones del estudio. Las medias transformadas mostraron valores muy similares de esporulación entre los tratamientos con imidacloprid ( $5.98 \pm 0.34$ ), deltametrina ( $5.73 \pm 0.42$ ) y chlorpyrifos ( $5.99 \pm 0.33$ ), que fueron comparables al control con agua ( $5.96 \pm 0.39$ ), confirmando así la ausencia de variación estadística relevante.

### Figura 3

*Esporulación de Beauveria bassiana en diferentes tratamientos insecticidas.*



**Nota:** Test de Tukey al  $P < 0.05$ . Las barras indican la media + DE.

#### **4.1.3. Caracterización morfológica y molecular de la cepa de *Beauveria bassiana* empleada en la investigación**

La cepa de *Beauveria bassiana* cultivada en medio de Papa Dextrosa Agar (PDA) comenzó a desarrollar colonias de un blanco puro en sus primeras etapas, que luego fueron adquiriendo un tono cremoso y opaco debido a la formación de conidios. En la parte inferior de la colonia, se observó un color crema claro. La textura era suave y algodonosa al principio, pero se volvía más pulverulenta y seca a medida que las colonias maduraban. Estas colonias presentaban una ligera elevación en el centro, con bordes regulares y bien definidos, y emitían un suave aroma característico de los hongos filamentosos, sin ningún olor desagradable.

#### **Ilustración 2**

*Vista macroscópica de la cepa Beauveria bassiana.*

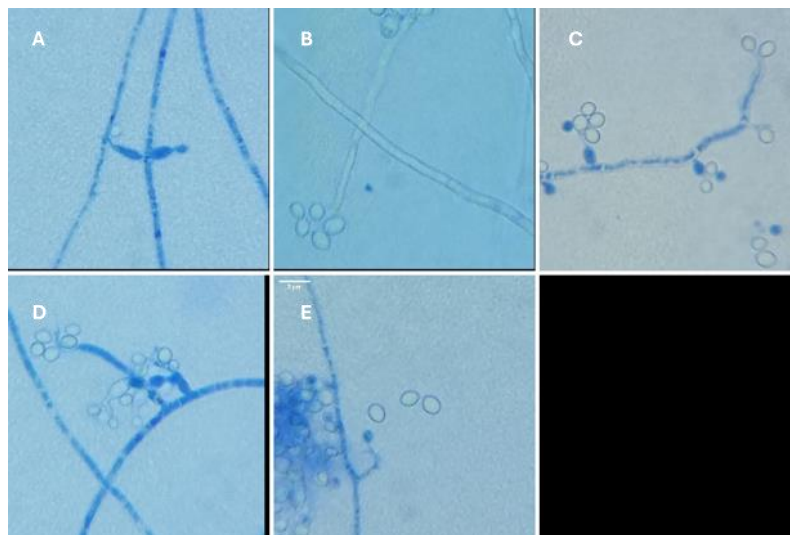


**Nota:** La ilustración muestra una vista macroscópica de *Beauveria bassiana*.

Bajo el microscopio, el aislamiento fúngico muestra características morfológicas únicas de *Beauveria bassiana*. Se pueden ver hifas hialinas y septadas, de las cuales surgen conidióforos simples, dispuestos de manera irregular y a menudo con proliferación simpodial. Los conidiógenos se desarrollan en dentículos apicales, generando conidios unicelulares, hialinos, que tienen una forma que va de ovalada a elipsoidal y una superficie lisa. Al medir las estructuras, se observa que los conidios tienen un diámetro promedio de entre 1.33 y 1.2  $\mu\text{m}$ . La densa disposición de los conidios en los extremos de los conidiógenos le da a estas estructuras un aspecto globular característico. Esta morfología coincide con las descripciones típicas de la especie.

### Ilustración 3

*Vista microscópica de las estructuras morfológicas de Beauveria bassiana.*



**Nota:** A= Conidióforo simple. B = Hifas septadas. C = Maduración de conidióforo. D = Proliferación simpodial del conidióforo. E = Conidios.

La secuenciación del gen ITS-rADN ha permitido identificar la cepa LM012 como *Beauveria bassiana*, mostrando altos niveles de similitud en la base de datos GenBank. Los resultados del análisis BLAST revelaron coberturas de consulta que oscilan entre el 98% y el 100%, con identidades que varían entre el 99% y el 100% en comparación con secuencias previamente reportadas (Tabla 6). La identidad más alta (100%) se registró con la cepa CHE-CNRCB (acceso MH203491.1). Además, se encontraron coincidencias significativas con las cepas

CHE-CNRCB (KY587209.1) y KVL\_03\_84, cuyos números de acceso se detallan en la Tabla 6.

**Tabla 6**

*Identificación molecular de la cepa LM012 mediante comparación con secuencias depositadas en GenBank*

CEPA		Identidad (Base de datos NCBI / GenBank)			
Código	Nomenclatura	Cepa	Cobertura de consulta (%)	Identidad (%)	Numero de acceso
LM012	<i>Beauveria bassiana</i>	CHE-CNRCB	100	100	<a href="#">MH203491.1</a>
		CHE-CNRCB	100	100	<a href="#">KY587209.1</a>
		KVL 03 84	98	100	<a href="#">EF193189.1</a>
		CHE-CNRCB	100	99	<a href="#">MH203464.1</a>

## CAPÍTULO V: Conclusiones, Discusión y Recomendaciones

### 5.1. Discusión

Las variaciones observadas en un ensayo cometa se originan por la interacción diferencial entre los agentes estresores y los componentes celulares responsables de mantener la integridad genómica (Tyutereva et al., 2024). El daño detectado por esta técnica ocurre cuando se producen rupturas monocatenarias o bicatenarias del ADN, así como sitios alcalinos lábiles que se desestabilizan bajo condiciones de electrólisis (Costea et al., 2024). Estos daños pueden generarse por mecanismos directos, cuando una molécula reactiva interactúa físicamente con el ADN, o por mecanismos indirectos, principalmente mediados por la acumulación de especies reactivas de oxígeno. En este último caso, el exceso de radicales libres supera la capacidad antioxidante celular, provocando oxidación de bases nitrogenadas, apertura de anillos purínicos y ruptura del esqueleto fosfodiéster (Kersch et al., 2025).

La magnitud del cometa observable depende tanto del nivel de daño inducido como de la eficacia de los sistemas de reparación del ADN (Gonçalves et al., 2025). En hongos filamentosos, las rutas de reparación como BER (Base Excision Repair), NER (Nucleotide Excision Repair) y las vías homólogas para la reparación de rupturas bicatenarias actúan constantemente para restituir la integridad genómica (Yanai et al., 2025). Cuando estos sistemas funcionan de manera eficiente, el nivel de fragmentación es reducido y la migración del ADN durante la electroforesis es mínima. En cambio, cuando la tasa de daño excede la capacidad de reparación, se acumulan fragmentos pequeños que migran con mayor facilidad, generando colas cometarias más largas y dispersas (Moussa et al., 2025).

Los resultados de germinación de conidios de *Beauveria bassiana* mostraron una disminución significativa tras la exposición a los insecticidas imidacloprid ( $54.56 \pm 10.85$  %), deltametrina ( $55.78 \pm 8.63$  %) y chlorpyrifos ( $63.22 \pm 5.65$  %), en comparación con el control ( $78.89 \pm 4.26$  %). Esta reducción entre el 15 % y el 25 % respecto al control evidencia un efecto inhibitorio parcial, aunque no letal, sobre la viabilidad de los conidios. De acuerdo con Thomas et al., (2025), los insecticidas selectivos pueden generar una reducción moderada en la germinación, pero se consideran compatibles siempre que esta se mantenga por encima del 50 %. Los valores obtenidos en este estudio se encuentran dentro de ese rango, lo que indica que las tres moléculas evaluadas presentan una compatibilidad fisiológica aceptable con *B. bassiana*.

En la investigación de Forlani et al. (2014), se determinó que la exposición de *B. bassiana* a deltametrina provoca un estrés oxidativo leve, reflejado en una mayor actividad de las enzimas antioxidantes catalasa y superóxido dismutasa, sin comprometer la viabilidad del hongo. Este comportamiento es coherente con los resultados del presente estudio, donde la germinación con deltametrina se mantuvo por encima del 55 %, lo que confirma una respuesta fisiológica de tolerancia frente al piretroide evaluado.

Wang et al. (2022) destacan que la variabilidad genética dentro del complejo *Beauveria bassiana* influye directamente en su respuesta al estrés químico. Cepas con mayor estabilidad genética presentan una mejor capacidad germinativa frente a compuestos neurotóxicos. Esto podría explicar el comportamiento observado en la cepa LM012 utilizada en este estudio, la cual mantuvo una germinación superior al 50 % ante la exposición a tres insecticidas de distinta naturaleza química.

Joseph et al. (2023) observaron que la reducción del crecimiento y de la germinación de *B. bassiana* depende principalmente de la formulación y la dosis del pesticida aplicado. En concentraciones elevadas, los insecticidas causaron inhibición completa, mientras que en dosis subletales el hongo mantuvo una germinación superior al 50 %. Este patrón coincide con los resultados obtenidos, donde la concentración dada no generó efectos letales, permitiendo conservar la viabilidad conidial.

Los resultados del presente estudio revelan un patrón inesperado en la respuesta de *Beauveria bassiana* a la exposición de insecticidas en medio de cultivo. Este efecto estimulante contrasta marcadamente con los hallazgos de Thomas et al. (2025), quienes reportaron que el chlorpirifos fue "ligeramente dañino" para *B. bassiana* en todas las concentraciones probadas, mostrando inhibiciones del crecimiento radial del 67.40% (BRD), 68.62% (RD) y 72.59% (ARD). Una posible explicación para esta discrepancia podría residir en las diferencias en las cepas fúngicas utilizadas, la formulación específica del insecticida o las condiciones experimentales.

El comportamiento del imidacloprid en nuestro estudio (crecimiento intermedio, 46.05 mm) es más consistente con la literatura. Thomas et al. (2025) lo clasificaron como "inocuo" (<50% de inhibición), observando inhibiciones del crecimiento de solo 15.19% (BRD), 17.77% (RD) y 35.17% (ARD). De manera similar, Oliveira et al. (2003) encontraron que el tiametoxam,

otro neonicotinoide, no inhibió el crecimiento radial en sus concentraciones más bajas e incluso mostró un aumento del 5.15% en el área de la colonia a la dosis de campo recomendada (FR). La compatibilidad de los neonicotinoides con *B. bassiana* ha sido atribuida a su modo de acción específico en el sistema nervioso de los insectos, el cual no tiene un análogo directo en los hongos (James y Elzen, 2001).

Respecto a la deltametrina, piretroide sintético, Oliveira et al. (2003) sí incluyeron la deltametrina en sus ensayos de viabilidad, donde mostró una inhibición de la germinación del 20.91% (0.5xFR), 64.08% (FR) y 80.70% (2xFR). Sin embargo, no realizaron pruebas de crecimiento vegetativo con este insecticida, ya que solo procedieron con aquellos que mantuvieron una viabilidad superior al 60% en la FR. Nuestro hallazgo de un crecimiento promovido por la deltametrina sugiere que, si bien puede afectar la germinación de las conidias, una vez que el hongo se establece, su crecimiento micelial podría no verse afectado negativamente, o incluso verse estimulado, por la presencia de este piretroide en el medio.

Los resultados mostraron que los insecticidas imidacloprid, deltametrina y clorpirifos no inhibieron el crecimiento de *Beauveria bassiana*, sino que lo estimularon significativamente respecto al control. Este efecto puede atribuirse a la activación de mecanismos de detoxificación y respuesta antioxidante reportados previamente para este hongo. Forlani et al. (2014) observaron que la deltametrina induce la expresión de genes citocromo P450 (*cyp52X1*, *cyp617N1*) y enzimas antioxidantes (SOD, CAT), lo que permite al hongo tolerar e incluso metabolizar el insecticida sin afectar su desarrollo. La compatibilidad observada sugiere que *B. bassiana* puede ser utilizado en programas de manejo integrado junto con estos insecticidas, optimizando el control de plagas sin afectar su estabilidad metabólica.

La caracterización morfológica y molecular de la cepa LM012 de *Beauveria bassiana* realizada en este estudio confirma su identidad taxonómica y su alineación con el complejo *B. bassiana*, un grupo de hongos entomopatógenos de amplia distribución global y relevancia en el control biológico (Wang et al., 2022). Morfológicamente, la cepa LM012 presenta colonias de color blanco a cremoso, textura algodonosa que se torna pulverulenta, y estructuras conidiógenas típicas del género, incluyendo conidióforos simples con proliferación simpoidal y conidios ovales a elipsoidales de 1.2–1.33  $\mu\text{m}$ , características consistentes con las descripciones clásicas de *B. bassiana* (Mwikali et al., 2025). Estas observaciones coinciden con las reportadas por

Wang et al. (2022), quienes destacan la similitud morfológica entre especies del complejo *B. bassiana*, lo que dificulta su identificación basada únicamente en caracteres fenotípicos.

La mayoría de las infecciones micóticas en insectos atribuibles al género *Beauveria* suelen ser identificadas como *Beauveria bassiana* mediante el análisis molecular del ITS debido a que esta especie presenta una distribución geográfica muy amplia y una notable plasticidad ecológica (Reyes-Haro et al., 2024). *B. bassiana* es un entomopatógeno generalista capaz de infectar una amplia diversidad de órdenes de insectos, lo que incrementa la probabilidad de ser aislado con mayor frecuencia que otras especies del mismo género (Dannon et al., 2020). Esta versatilidad se encuentra asociada a su capacidad para adaptarse a diferentes ambientes, hospederos y condiciones de estrés, convirtiéndola en una especie dominante en agroecosistemas naturales y agrícolas (McGuire y Northfield, 2020).

Desde el punto de vista molecular, el marcador ITS presenta una alta conservación intraespecífica en *B. bassiana*, lo que favorece que la mayoría de los aislados que pertenecen a esta especie muestren valores de identidad cercanos al 100 % cuando se comparan con secuencias depositadas en plataformas como GenBank (Manfrino et al., 2024). Al mismo tiempo, su variación inter-específica permite distinguirla con claridad de otras especies filogenéticamente cercanas dentro del complejo *Beauveria* (Rizal et al., 2024). Debido a este patrón de conservación, las cepas que realmente corresponden a *B. bassiana* son identificadas con alta precisión utilizando únicamente el ITS, sin requerir marcadores adicionales para su confirmación taxonómica básica (Yerukala et al., 2022).

La literatura científica ha reportado que *B. bassiana* posee una tasa de infección exitosa mayor en comparación con otras especies del género, como *B. brongniartii* o *B. caledonica*, lo que incrementa de forma natural su prevalencia en insectos silvestres y plagas agrícolas (Kazartsev et al., 2023). Esta alta frecuencia de aislamiento, combinada con la eficiencia del ITS como código de barras molecular, explica por qué la mayoría de las cepas entomopatógenas recuperadas en estudios de vigilancia y biocontrol son clasificadas como *B. bassiana*. Como consecuencia, la base de datos global disponible para esta especie es mucho más extensa, facilitando aún más la coincidencia secuencial y su correcta identificación (Grenié et al., 2023; Fergani y Yehia, 2020).

## 5.2. Conclusiones

La exposición in vitro de *Beauveria bassiana* a imidacloprid, deltametrina y chlorpirifos mostró efectos adversos significativos en su fisiología y estabilidad genética. El ensayo cometa reveló daño al ADN en todos los tratamientos, siendo la deltametrina el insecticida más genotóxico. De manera similar, la germinación de conidios se vio notablemente afectada por la presencia de estos insecticidas. Estos hallazgos indican que el uso de insecticidas químicos puede poner en riesgo la viabilidad, la integridad genómica y el potencial de *B. bassiana* como agente de control biológico.

*Beauveria bassiana* mantuvo un crecimiento micelial activo incluso en presencia de imidacloprid, deltametrina y chlorpirifos, sin que se evidenciara una inhibición significativa. Los tratamientos con deltametrina y chlorpirifos favorecieron un mayor desarrollo de la colonia, lo que sugiere que el hongo podría tener una tolerancia fisiológica a estos compuestos. Los datos de esporulación al no mostraron diferencias significativas, lo que nos da a entender una leve compatibilidad inicial entre *B. bassiana* y los insecticidas analizados, lo que abre la puerta a integrar este hongo en estrategias de manejo integrado de plagas (MIP).

La caracterización morfológica y molecular confirmó de manera precisa que la cepa LM012 corresponde a *Beauveria bassiana*, validando su identidad taxonómica y su idoneidad para ser empleada en los ensayos experimentales del estudio.

## 5.3. Recomendaciones

Se sugiere que se integren los resultados sobre la compatibilidad fisiológica y genotóxica de *Beauveria bassiana* en el diseño de programas de manejo integrado de plagas. Es fundamental evaluar con cuidado el uso simultáneo o cercano en el tiempo de insecticidas, especialmente la deltametrina, para evitar que se reduzca la eficacia del hongo. Los estudios futuros deberían incluir evaluaciones in vivo, virulencia y recuperación después de la exposición, así como estrategias de aplicación escalonada o formulaciones que sean compatibles. Estas acciones ayudarán a optimizar la coexistencia entre el control químico y biológico, fortaleciendo así la sostenibilidad y eficiencia de los sistemas agrícolas modernos.

Se sugiere profundizar en investigaciones que busquen aclarar los mecanismos fisiológicos detrás del aumento en el diámetro colonial de *Beauveria bassiana*. Esto podría incluir modelos cinéticos de crecimiento y pruebas de exposición prolongada que ayuden a evaluar la duración del estímulo inicial y la posible aparición de efectos acumulativos en la fisiología del hongo. Dado que no se encontraron diferencias significativas en la esporulación tras la exposición a imidacloprid, deltametrina y chlorpyrifos, sería útil ampliar los estudios hacia la estabilidad en la producción de conidios en diferentes condiciones ambientales. En este sentido, se recomienda analizar cómo factores como la temperatura, la humedad relativa y el fotoperiodo afectan directamente los procesos de crecimiento y esporulación.

Con base en la correcta identificación morfológica y molecular de la cepa LM012 de *Beauveria bassiana*, se recomienda su empleo en ensayos posteriores orientados a evaluar su compatibilidad con diferentes moléculas insecticidas y su eficacia como agente de control biológico. Asimismo, se sugiere complementar estos estudios con evaluaciones bajo condiciones semi-controladas y de campo, que permitan analizar su comportamiento, estabilidad y potencial de aplicación en sistemas agrícolas reales.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abdul Qayyum, M., Bilal, H., Naeem Ullah, U., Ali, H., y Raza, H. (2021). Factors affecting the epizootics of entomopathogenic fungi-A review. *Journal of Bioresource Management*, 8(4), 78–85. <https://doi.org/10.35691/jbm.1202.0204>
- Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria. (2018). Normativa de Buenas Prácticas para Laboratorios Farmacéuticos (Resolución ARCSA-DE-008-2018-JCGO). [https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-11/Documento\\_ARCSA-DE-008-2018-JCGO\\_NTS-Buenas-Practicas-Manufactura-Lab-Farmacéuticos.pdf](https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-11/Documento_ARCSA-DE-008-2018-JCGO_NTS-Buenas-Practicas-Manufactura-Lab-Farmacéuticos.pdf)
- Akhter, Shamim y Naik, V y Baratha Jyothi, Dr y Rathore, Aparna y Yadav, Pratibha y Lal, Deepa. (2024). The Ecological Impact of Pesticides on Non-Target Organisms in Agricultural Ecosystems. 15. 322-334. 10.15515/abr.0976-4585.15.4.322334.
- Andreoli, C., Leopardi, P., y Crebelli, R. (1997). Detection of DNA damage in human lymphocytes by alkaline single cell gel electrophoresis after exposure to benzene or benzene metabolites. *Mutation Research*, 377(1), 95–104. [https://doi.org/10.1016/s0027-5107\(97\)00065-1](https://doi.org/10.1016/s0027-5107(97)00065-1)
- Angon, P., Mondal, S., Jahan, I., Datto, M., Antu, U., Ayshi, F., y Islam, M. (2023). Integrated pest management (IPM) in agriculture and its role in maintaining ecological balance and biodiversity. *Advances in Agriculture*, 2023, 1–19. <https://doi.org/10.1155/2023/5546373>
- Araújo, M., Castanheira, E., y Sousa, S. (2023). The buzz on insecticides: A review of uses, molecular structures, targets, adverse effects, and alternatives. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 28(8), 3641. <https://doi.org/10.3390/molecules28083641>
- Aroniadou-Anderjaska, V., Figueiredo, T., de Araujo Furtado, M., Pidoplichko, V., y Braga, M. (2023). Mechanisms of organophosphate toxicity and the role of acetylcholinesterase inhibition. *Toxics*, 11(10). <https://doi.org/10.3390/toxics11100866>
- Aznar-Aleman, Ò., y Eljarrat, E. (2020). Introduction to pyrethroid insecticides: Chemical structures, properties, mode of action and use. In *The Handbook of Environmental Chemistry* (pp. 1–16). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/698\\_2019\\_435](https://doi.org/10.1007/698_2019_435)
- Badr, A. (2020). Organophosphate toxicity: updates of malathion potential toxic effects in mammals and potential treatments. *Environmental Science and Pollution Research International*, 27(21), 26036–26057. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08937-4>

- Baek, S., Noh, M., Mun, S., Lee, S., Arakane, Y., y Kim, J. (2022). Ultrastructural analysis of beetle larva cuticles during infection with the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. *Pest Management Science*, 78(8), 3356–3364. <https://doi.org/10.1002/ps.6962>
- Bass, C., Denholm, I., Williamson, M. S., y Nauen, R. (2015). The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121, 78–87. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.04.004>
- Bhadani, R., Gajera, H., Hirpara, D., y Kachhadiya, H. (2022). Characterization and bio-efficacy of entomopathogenic *Beauveria* associated with cuticle-degrading enzymes to restrain sucking pest *Bemisia tabaci*. *Parasitology Research*, 121(7), 2019–2031. <https://doi.org/10.1007/s00436-022-07557-w>
- Borsuah, J., Messer, T, Snow, D., Comfort, S., y Mittelstet, A. (2020). Literature review: Global neonicotinoid insecticide occurrence in aquatic environments. *Water*, 12(12), 3388. <https://doi.org/10.3390/w12123388>
- Boucias, D. G., Pendland, J. C., y Latge, J. P. (1988). Nonspecific factors involved in attachment of entomopathogenic deuteromycetes to host insect cuticle. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(7), 1795–1805. <https://doi.org/10.1128/aem.54.7.1795-1805.1988>
- Cai, P., y Dimopoulos, G. (2025). Microbial biopesticides: A one health perspective on benefits and risks. *One Health (Amsterdam, Netherlands)*, 20(100962), 100962. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2024.100962>
- Casida, J. (2017). Pesticide interactions: Mechanisms, benefits, and risks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(23), 4553–4561. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b01813>
- Celar, F., y Kos, K. (2016). Effects of selected herbicides and fungicides on growth, sporulation and conidial germination of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: Effects of herbicides and fungicides on entomopathogenic fungus *B. bassiana*. *Pest Management Science*, 72(11), 2110–2117. <https://doi.org/10.1002/ps.4240>
- Chen, X., Wang, X., Lu, W., y Zheng, X. (2021). Use of *Beauveria bassiana* in combination with commercial insecticides to manage *Phaouda flammans* (Walker) (Lepidoptera: Phaudidae): Testing for compatibility and synergy. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 24(2), 272–278. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2021.01.016>

- Collinge, D., Jensen, D., Rabiey, M., Sarrocco, S., Shaw, M., y Shaw, R. (2022). Biological control of plant diseases – What has been achieved and what is the direction? *Plant Pathology*, 71(5), 1024–1047. <https://doi.org/10.1111/ppa.13555>
- Conlon, B., Schmidt, S., Poulsen, M., y Shik, J. (2022). Orthogonal protocols for DNA extraction from filamentous fungi. *STAR Protocols*, 3(1), 101126. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2022.101126>
- Conlon, B., Schmidt, S., Poulsen, M., y Shik, J. (2022). Orthogonal protocols for DNA extraction from filamentous fungi. *STAR Protocols*, 3(1), 101126. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2022.101126>
- Costea, M., Rosan, C., Laslo, V., Agud, E., Purcarea, C., y Vicas, S. (2024). The Comet assay as a sustainable method for evaluating the genotoxicity caused by the soluble fraction derived from sewage sludge on diverse cell types, including lymphocytes, coelomocytes and *Allium cepa* L. cells. *Sustainability*, 16(1), 457. <https://doi.org/10.3390/su16010457>
- Dannon, H., Dannon, A., Douro-Kpindou, O., Zinsou, A., Houndete, A., Toffa-Mehinto, J., Elegbede, I., Olou, B., y Tamò, M. (2020). Toward the efficient use of *Beauveria bassiana* in integrated cotton insect pest management. *Journal of Cotton Research*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/s42397-020-00061-5>
- Deka, B., Baruah, C., y Babu, A. (2021). Entomopathogenic microorganisms: their role in insect pest management. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31(1). <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00466-7>
- Deshmukh, S., y Sridhar, K. (2024). *The role of entomopathogenic fungi in agriculture*. CRC Press.
- El-Maraghy, S., Abdel-Rahman, M., Hassan, S., y Hussein, K. (2023). Pathogenicity and other characteristics of the endophytic *Beauveria bassiana* strain (Bals.) (Hypocreales: Cordycipitaceae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 33(1). <https://doi.org/10.1186/s41938-023-00690-3>
- Faria, M., y Wraight, S. (2007). Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control: Theory and Applications in Pest Management*, 43(3), 237–256. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.08.001>
- Fergani, Y., y Yehia, R. (2020). Isolation, molecular characterization of indigenous *Beauveria bassiana* isolate, using ITS-5.8 s rDNA region and its efficacy against the greatest wax moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) as a model insect. *Egyptian*

- Journal of Biological Pest Control*, 30(1). <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00298-x>
- Forlani, L., Juárez, M., Lavarías, S., y Pedrini, N. (2014). Toxicological and biochemical response of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* after exposure to deltamethrin: Effect of deltamethrin in *Beauveria bassiana* metabolism. *Pest Management Science*, 70(5), 751–756. <https://doi.org/10.1002/ps.3583>
- Gonçalves, S., Koval, I., Matos, R. S., y Caramelo, A. (2025). Sage essential oil as a natural antigenotoxic agent: Comet assay findings and pharmacological relevance. *Applied Biosciences*, 4(4), 54. <https://doi.org/10.3390/applbiosci4040054>
- Grenié, M., Berti, E., Carvajal-Quintero, J., Dädlow, G., Sagouis, A., y Winter, M. (2023). Harmonizing taxon names in biodiversity data: A review of tools, databases and best practices. *Methods in Ecology and Evolution*, 14(1), 12–25. <https://doi.org/10.1111/2041-210x.13802>
- Guha, A., Harish, S., Sendhilvel, V., Kannan, M., y Sasikala, R. (2025). Revamping the encapsulation of microbes and their metabolites to nanoscale: a strategy to enhance crop biocontrol. *Journal of Nanoparticle Research: An Interdisciplinary Forum for Nanoscale Science and Technology*, 27(5). <https://doi.org/10.1007/s11051-025-06314-1>
- Hirapara, I., Jethva, D., Desai, A., y Patel, D. (2023). Compatibility of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin with Different Insecticides and Fungicides. *The Indian Journal of Entomology*, 45–49. <https://doi.org/10.55446/ije.2023.1159>
- Hodgson, E. (2020). *Safer Insecticides Development and Use*. CRC Press.
- Hodoșan, C., Gîrd, C., Ghica, M., Dinu-Pîrvu, C., Nistor, L., Bărbaucă, I., Marin, Ștefan-C., Mihalache, A., y Popa, L. (2023). Pyrethrins and pyrethroids: A comprehensive review of natural occurring compounds and their synthetic derivatives. *Plants*, 12(23). <https://doi.org/10.3390/plants12234022>
- Houchat, J., Cartereau, A., Le Mauff, A., Taillebois, E., y Thany, S. (2020). An overview on the effect of neonicotinoid insecticides on mammalian cholinergic functions through the activation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(9). <https://doi.org/10.3390/ijerph17093222>
- Inglis, G., Goettel, M., Butt, T., y Strasser, H. (2001). Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In *Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential* (pp. 23–69). CABI Publishing. <https://doi.org/10.1079/9780851993560.0023>

- Jain, S., Gupta, A., y Verma, N. (Eds.). (2023). Industrial applications of soil microbes: Volume 2. In *Industrial Applications of Soil Microbes*. BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS. <https://doi.org/10.2174/97898150502641230201>
- James, R., y Elzen, G. (2001). Antagonism between *Beauveria bassiana* and imidacloprid when combined for *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) control. *Journal of Economic Entomology*, 94(2), 357–361. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.2.357>
- Joseph, L., Jean, M., Mial, F., Fragéus, K., Jean, K., y Fils-Aimé, F. (2023). Avaliação do efeito de pesticidas sobre o crescimento do *Beauveria bassiana*. *Research, Society and Development*, 12(14), e122121444676. <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i14.44676>
- Kazartsev, I., Lednev, G., y Levchenko, M. (2023). Species and intraspecies level diversity of *Beauveria* in boreal forests of northwestern Russia. *Biology Bulletin Reviews*, 13(S1), S39–S49. <https://doi.org/10.1134/s207908642307006x>
- Kersch, C., Masutin, V., Alsaleh, R., y Schmitz-Spanke, S. (2025). Benzo[a]pyrene and UV light co-exposure: differential effects on oxidative stress and genotoxicity in human keratinocytes and ex vivo skin. *Archives of Toxicology*, 99(10), 4215–4226. <https://doi.org/10.1007/s00204-025-04098-w>
- Khan, S., Uddin, M., Rizwan, M., Khan, W., Farooq, M., Sattar Shah, A., Subhan, F., Aziz, F., Rahman, K., Khan, A., Ali, S., y Muhammad, M. (2020). Mechanism of insecticide resistance in insects/pests. *Polish Journal of Environmental Studies*. <https://doi.org/10.15244/pjoes/108513>
- Kobmoo, N., Arnarnart, N., Pootakham, W., Sonthirod, C., Khonsanit, A., Kuephadungphan, W., Suntivich, R., Mosunova, O. V., Giraud, T., y Luangsa-Ard, J. (2021). The integrative taxonomy of *Beauveria asiatica* and *B. bassiana* species complexes with whole-genome sequencing, morphometric and chemical analyses. *Persoonia*, 47(1), 136–150. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2021.47.04>
- Litwin, A., Mironenka, J., Bernat, P., Soboń, A., y Różalska, S. (2023). Accumulation of pyrethroids induces changes in metabolism of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*-Proteomic and lipidomic background. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 249(114418), 114418. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.114418>
- Majchrowska-Safaryan, A., Różalska, S., Tkaczuk, C., y Nowak, M. (2025). Effect of pyrethroids on the Colony growth and metabolic activity of entomopathogenic fungi of the *Beauveria* genus. *Insects*, 16(5). <https://doi.org/10.3390/insects16050533>
- Manfrino, R., Gutierrez, A., Ben Gharsa, H., Schuster, C., López Lastra, C., y Leclerque, A. (2024). Molecular taxonomic characterization and infra-specific diversity of

- entomopathogenic *Beauveria bassiana* fungi from Argentina. *Fungal Biology*, 128(3), 1800–1805. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2024.04.003>
- Mantzoukas, S., Kitsiou, F., Natsiopoulos, D., y Eliopoulos, P. A. (2022). Entomopathogenic fungi: Interactions and applications. *Encyclopedia*, 2(2), 646–656. <https://doi.org/10.3390/encyclopedia2020044>
- Mascarin, G., Kobori, N., Coleman, J., y Jackson, M. (2023). Impact of osmotic stress on production, morphology, and fitness of *Beauveria bassiana* blastospores. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(15), 4815–4831. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12631-z>
- McGuire, A., y Northfield, T. (2020). Tropical Occurrence and Agricultural Importance of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00006>
- Metcalf, R. (1955). Physiological basis for insect resistance to insecticides. *Physiological Reviews*, 35(1), 197–232. <https://doi.org/10.1152/physrev.1955.35.1.197>
- Meyling, N., Arthur, S., Pedersen, K., Dhakal, S., Cedergreen, N., y Fredensborg, B. (2018). Implications of sequence and timing of exposure for synergy between the pyrethroid insecticide alpha-cypermethrin and the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Pest Management Science*. <https://doi.org/10.1002/ps.4926>
- Ministerio del Ambiente. (2014). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2841: Gestión ambiental. Estandarización de colores para recipientes de depósito y almacenamiento temporal de residuos sólidos (Voluntaria). Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN).
- Moussa, F., Akbas, E., Yuzbasioglu, D., y Unal, F. (2025). Boric acid prevents MMC- and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-related DNA damage: Evidence from cytogenetic and comet assays. *Biological Trace Element Research*. <https://doi.org/10.1007/s12011-025-04704-z>
- Mwikali, P., Mwamburi, L., y Musinguzi, S. (2025). Biological characteristics and pathogenicity of entomopathogenic *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill (Hypocreales: Cordycipitaceae) isolated from soils in Northern Kenya against desert locust (*Schistocerca gregaria*) (Forskål) (Orthoptera: Acrididae). *Crop Protection (Guildford, Surrey)*, 190(107126), 107126. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2025.107126>
- Oliveira, C., Neves, P, y Kawazoe, L. (2003). Compatibility between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and insecticides used in coffee plantations. *Scientia Agricola*, 60(4), 663–667. <https://doi.org/10.1590/s0103-90162003000400009>

- Ortiz, A., y Keyhani, N. (2013). Action on the surface: Entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. *Insects*, 4(3), 357–374. <https://doi.org/10.3390/insects4030357>
- Paoli, M., y Giurfa, M. (2024). Pesticides and pollinator brain: How do neonicotinoids affect the central nervous system of bees? *The European Journal of Neuroscience*, 60(8), 5927–5948. <https://doi.org/10.1111/ejn.16536>
- Quesada-Moraga, E., González-Mas, N., Yousef-Yousef, M., Garrido-Jurado, I., y Fernández-Bravo, M. (2024). Key role of environmental competence in successful use of entomopathogenic fungi in microbial pest control. *Journal of Pest Science*, 97(1), 1–15. <https://doi.org/10.1007/s10340-023-01622-8>
- Quintela, E., y McCoy, C. (1998). Synergistic effect of imidacloprid and two entomopathogenic fungi on the behavior and survival of larvae of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) in soil. *Journal of Economic Entomology*, 91(1), 110–122. <https://doi.org/10.1093/jee/91.1.110>
- Rana, A., Tandon, V., Kapoor, P., y Katoch, A. (2024). Life cycle, virulence, and mechanism of action of entomopathogenic fungi. In *Entomopathogenic Fungi* (pp. 37–55). Springer Nature Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-97-5991-0\\_2](https://doi.org/10.1007/978-981-97-5991-0_2)
- Ranganathan, M., Narayanan, M., y Kumarasamy, S. (2022). Importance of metabolic enzymes and their role in insecticide resistance. In *New and Future Development in Biopesticide Research: Biotechnological Exploration* (pp. 243–260). Springer Nature Singapore.
- Ravula, A., y Yenugu, S. (2021). Pyrethroid based pesticides - chemical and biological aspects. *Critical Reviews in Toxicology*, 51(2), 117–140. <https://doi.org/10.1080/10408444.2021.1879007>
- Reyes-Haro, L., Prince, G., Granja-Travez, R., y Chandler, D. (2024). Phenotypic and genotypic characterization of fifty strains of *Beauveria* spp. (Ascomycota, Cordycipitaceae) fungal entomopathogens from diverse geographic origins against the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Pest Management Science*, 80(10), 5064–5077. <https://doi.org/10.1002/ps.8230>
- Rivero-Borja, M., Guzmán-Franco, A., Rodríguez-Leyva, E., Santillán-Ortega, C., y Pérez-Panduro, A. (2018). Interaction of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* with chlorpyrifos ethyl and spinosad in *Spodoptera frugiperda* larvae. *Pest Management Science*. <https://doi.org/10.1002/ps.4884>
- Rizal, L., Hereward, J., Brookes, D., Furlong, M., y Walter, G. (2024). Hidden diversity within *Beauveria* and *Metarhizium* – Comparing morphology, barcoding, multilocus

- phylogenies and whole-genome sequences. *Fungal Ecology*, 67(101304), 101304. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2023.101304>
- Sain, S., Monga, D., Kumar, R., Nagrale, D., Hiremani, N., y Kranthi, S. (2019). Compatibility of entomopathogenic fungi with insecticides and their efficacy for IPM of *Bemisia tabaci* in cotton. *Journal of Pesticide Science*, 44(2), 97–105. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D18-067>
- Salgado, V. (2021). Selective actions of insecticides on desensitizing and non-desensitizing nicotinic acetylcholine receptors in cockroach (*Periplaneta americana*) neurons. *Pest Management Science*, 77(8), 3663–3672. <https://doi.org/10.1002/ps.6396>
- Samal, I., Bhoi, T., Vyas, V., Majhi, P., Mahanta, D., Komal, J., Singh, S., Kumar, P., y Acharya, L. (2023). Resistance to fungicides in entomopathogenic fungi: Underlying mechanisms, consequences, and opportunities for progress. *Tropical Plant Pathology*, 49(1), 5–17. <https://doi.org/10.1007/s40858-023-00585-6>
- Sharma, A., Kumar, V., Shahzad, B., Tanveer, M., Sidhu, G., Handa, N., Kohli, S., Yadav, P., Bali, A., Parihar, R., Dar, O., Singh, K., Jasrotia, S., Bakshi, P., Ramakrishnan, M., Kumar, S., Bhardwaj, R., y Thukral, A. (2019). Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Applied Sciences*, 1(11). <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1485-1>
- Sharma, A., Srivastava, A., Shukla, A., Srivastava, K., Srivastava, A., y Saxena, A. (2020). Entomopathogenic fungi: A potential source for biological control of insect pests. In *Phytobiomes: Current Insights and Future Vistas* (pp. 225–250). Springer Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-3151-4\\_9](https://doi.org/10.1007/978-981-15-3151-4_9)
- Sharma, A., Thakur, N., Hashem, A., Dawoud, T. M., y Abd Allah, E. F. (2024). Insecticidal potential of *Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* individually and their synergistic effect with barazide against *Spodoptera litura*. *Heliyon*, 10(17), e37175. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e37175>
- Siddiqui, J., Fan, R., Naz, H., Bamisile, B., Hafeez, M., Ghani, M., Wei, Y., Xu, Y., y Chen, X. (2022). Insights into insecticide-resistance mechanisms in invasive species: Challenges and control strategies. *Frontiers in Physiology*, 13, 1112278. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1112278>
- Singh, D. (2022). *Integrated Pest Management in Diverse Cropping Systems*. Apple Academic Press.

- Sparks, T., y Nauen, R. (2015). IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121, 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.11.014>
- Thomas, C., Tom, J., y Jayaprakas, C. (2025). Compatibility of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, an entomopathogenic fungi, with selective insecticides for enhanced pest management. *Entomon*, 50(1), 7–12. <https://doi.org/10.33307/entomon.v50i1.1406>
- Tyutereva, E., Strizhenok, A., Kiseleva, E. I., y Voitsekhovskaja, O. (2024). Comet assay: Multifaceted options for studies of plant stress response. *Horticulturae*, 10(2), 174. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10020174>
- Wang, H., Peng, H., Li, W., Cheng, P., y Gong, M. (2021). The toxins of *Beauveria bassiana* and the strategies to improve their virulence to insects. *Frontiers in Microbiology*, 12, 705343. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.705343>
- Wang, L., Keyhani, N. O., Xia, Y., y Xie, J. (2024). The potential and limitations of entomopathogenic fungi as biocontrol agents for insect pest management. *Entomologia Generalis*. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2024/2498>
- Wang, Y., Fan, Q., Wang, D., Zou, W.-Q., Tang, D.-X., Hongthong, P., y Yu, H. (2022). Species Diversity and Virulence Potential of the *Beauveria bassiana* Complex and *Beauveria scarabaeidicola* Complex. *Frontiers in Microbiology*, 13, 841604. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.841604>
- White, T., Bruns, T., Lee, S., y Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18(1), 315-322
- Yanai, H., McNeely, T., Ayyar, S., Leone, M., Zong, L., Park, B., y Beerman, I. (2025). DNA methylation drives hematopoietic stem cell aging phenotypes after proliferative stress. *GeroScience*, 47(2), 1873–1886. <https://doi.org/10.1007/s11357-024-01360-4>
- Yerukala, S., Butler, D., Bernard, E., Gwinn, K., Grewal, P., y Ownley, B. (2022). Colonization efficacy of the endophytic insect-pathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, across the plant kingdom: A meta-analysis. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 41(4), 241–270. <https://doi.org/10.1080/07352689.2022.2109287>
- Zhang, D., Qi, H., y Zhang, F. (2025). Parasitism by entomopathogenic fungi and insect host defense strategies. *Microorganisms*, 13(2). <https://doi.org/10.3390/microorganisms13020283>

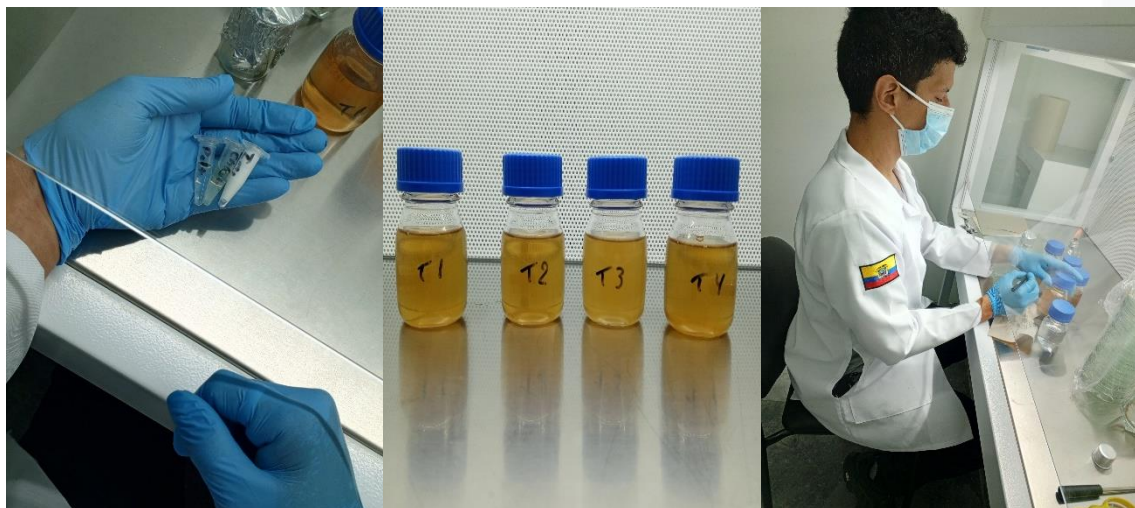
Zimmermann, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 17(6), 553–596.  
<https://doi.org/10.1080/09583150701309006>

## ANEXOS

### *Anexo A. Preparación de medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar).*



### *Anexo B. Combinación de medio con insecticida y vertido en las caja de Petri.*



**Anexo C.** *Inculcación de Beauveria bassiana en medio combinado.*



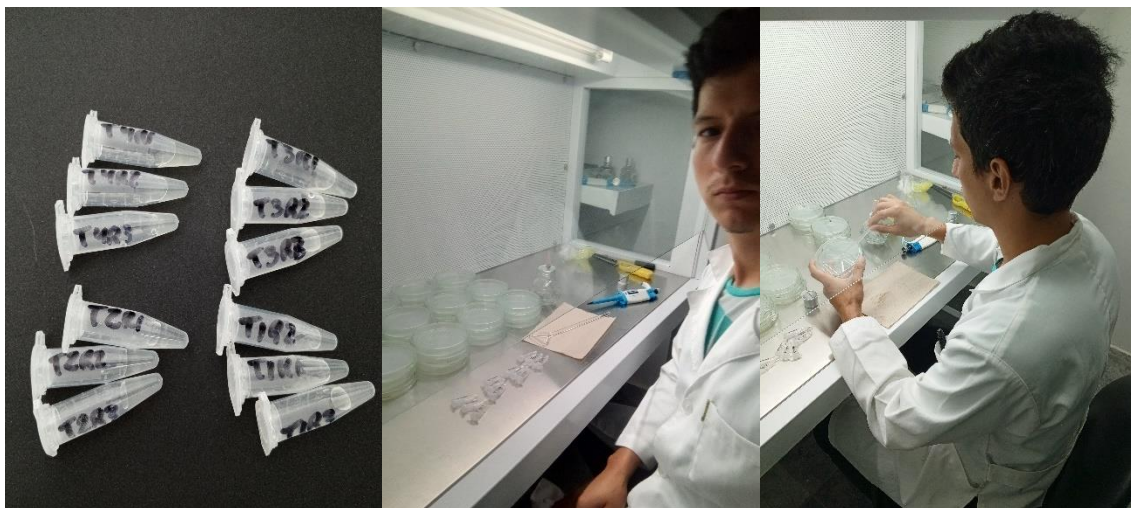
**Anexo D.** *Preparación de muestras para extracción de ADN, conteo de esporas y germinación.*



*Anexo E. Conteo de esporas para la producción de conidios (Esporulación)*



*Anexo F. Sembrado en medio agar para la germinación de conidios.*



**Anexo G. Análisis de varianza para la germinación de *Beauveria bassiana* en diferentes tratamientos insecticidas**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
<b>Germinación</b>	36	0,64	0,6	12,33

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Modelo</b>	3383,33	3	1127,78	18,62	<0,0001
<b>Tratamiento</b>	3383,33	3	1127,78	18,62	<0,0001
<b>Error</b>	1938,22	32	60,57		
<b>Total</b>	5321,56	35			

**Anexo H. Prueba de Kruskal Wallis para el Crecimiento micelial en *Beauveria bassiana* tras exposición de diferentes insecticidas**

Prueba de Kruskal Wallis							
Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
<b>Crecimiento micelial</b>	1	4	46,7	2,47	46,05	8,12	0,0434
<b>Crecimiento micelial</b>	2	4	48,69	8,44	52,28		
<b>Crecimiento micelial</b>	3	4	53,1	0,04	53,1		
<b>Crecimiento micelial</b>	4	4	38,31	1,25	38,4		

**Anexo I. Análisis de varianza para la esporulación de *Beauveria bassiana* en diferentes tratamientos insecticidas**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
<b>LOG10_Esporulación</b>	36	3,00E-02	0	6,25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	0,15	3	0,05	0,36	0,7834
<b>Error</b>	4,41	32	0,14		
<b>Total</b>	4,55	35			