



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA AMBIENTAL

ANÁLISIS DE CICLO DE VIDA DE LA PRODUCCIÓN DE LOS
HONGOS *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 EN
SUSTRATOS SÓLIDOS

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AMBIENTAL

AUTORAS:

ANA MARISOL CADENA CUAMACÁS

KAREN GIANELLA SARABIA BASTIDAS

Riobamba – Ecuador

2022



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA INGENIERÍA AMBIENTAL

**ANÁLISIS DE CICLO DE VIDA DE LA PRODUCCIÓN DE LOS
HONGOS *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 EN
SUSTRATOS SÓLIDOS**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AMBIENTAL

AUTORAS: ANA MARISOL CADENA CUAMACÁS

KAREN GIANELLA SARABIA BASTIDAS

DIRECTORA: Ing. NORMA SOLEDAD ERAZO SALDOVAL PhD.

Riobamba – Ecuador

2022

© 2022, Ana Marisol Cadena Cuamacás & Karen Gianella Sarabia Bastidas

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Nosotras, ANA MARISOL CADENA CUAMACÁS y KAREN GIANELLA SARABIA BASTIDAS, declaramos que el presente Trabajo de Integración Curricular es de nuestra autoría y los resultados de este son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autoras asumimos la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 28 de noviembre de 2022



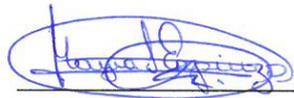
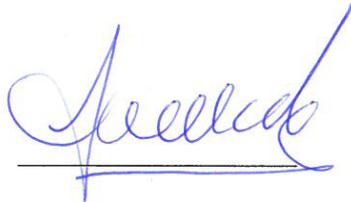
Ana Marisol Cadena Cuamacás
100336556-4



Karen Gianella Sarabia Bastidas
180508228-4

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA AMBIENTAL

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Proyecto de Investigación, **ANÁLISIS DE CICLO DE VIDA DE LA PRODUCCIÓN DE LOS HONGOS *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 EN SUSTRATOS SÓLIDOS**, realizado por las señoritas: **ANA MARISOL CADENA CUAMACÁS** y **KAREN GIANELLA SARABIA BASTIDAS**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Mayra Jannet Espinoza Melendres PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2022-11-28
Dra. Norma Soledad Erazo Sandoval DIRECTORA DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2022-11-28
Ing. Juan Carlos Gonzales García, Ph.D ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2022-11-28

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico principalmente a Dios, quien guio mi camino y me otorgó de vida, salud y sabiduría para culminar mi carrera universitaria. A mis padres Jorge Cadena y Anita Cuamacás por forjarme como la persona que soy, apoyarme durante todo el proceso de estudios y motivarme constantemente para alcanzar mis objetivos; de igual manera, a mis hermanos Jorge y Carlos quienes han estado a lo largo de todos mis años y han fomentado en mí, el deseo de superación y triunfo para seguir adelante; por último, a mi lobito que alegró con su vida mi mundo. Gracias por todo el amor que le dieron a mi corazón.

Marisol

El presente trabajo está dedicado a todos aquellos que hicieron posible su realización, principalmente a Dios, por su infinito amor que me ha guiado e iluminado durante toda mi vida. A mi madre Bertha Bastidas por ser mi pilar fundamental, que no ha permitido que desfallezca en el camino, por ser mi apoyo incondicional, y, sobre todo, por ser mi ejemplo de esfuerzo, lucha, perseverancia, estoy segura de que sin ella nada sería posible, este logro no es solamente mío, es nuestro. A mi padre Vicente Sarabia por el apoyo moral motivándome a creer en mí, a alcanzar mis sueños, por infundir valores haciendo de mí una mejor persona. Este trabajo también está dedicado con mucho cariño a mi hermano Daniel, por estar siempre presente en mis momentos importantes.

Karen

AGRADECIMIENTO

El principal agradecimiento es para Dios por guiar nuestros pasos permitiéndonos culminar una nueva etapa en nuestras vidas con éxito. A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por abrirnos las puertas y llenarnos de experiencias maravillosas junto a personas increíbles. También agradecemos infinitamente a la Dra. Norma Erazo, nuestra directora de tesis, por la comprensión, apoyo y confianza depositada en nosotras, por impartirnos sus conocimientos y experiencia en cada fase de la investigación, también, agradecemos a la Ing. Gabriela Rosero, técnica de laboratorio, por la paciencia, orientación y guía en el desarrollo del presente proyecto de investigación; de igual manera, agradecemos al Ing. Juan Carlos Gonzales, docente de la carrera de ingeniería ambiental, por toda la ayuda brindada. Finalmente, agradecemos a todos nuestros compañeros y futuros colegas que estuvieron presentes desde el inicio hasta la culminación de la carrera, dándonos siempre una mano o una palabra de aliento; estamos inmensamente agradecidos con cada uno de ustedes.

Marisol & Karen

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xv
RESUMEN.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....	4
1.1. Antecedentes de la investigación.....	4
1.2. Análisis del ciclo de vida.....	5
1.2.1. Fases del análisis de ciclo de vida.....	6
1.2.1.1. Definición del objetivo y alcance del estudio.....	6
1.2.1.2. Análisis de inventario del ciclo de vida (AICV).....	6
1.2.1.3. Evaluación de impacto del ciclo de vida (EICV).....	6
1.2.1.4. Interpretación.....	7
1.3. Sector agroindustrial.....	7
1.3.1. Productos agroindustriales.....	7
1.3.1.1. Avena.....	8
1.3.1.2. Arrocillo o arroz partido.....	8
1.3.1.3. Amaranto.....	9
1.3.1.4. Harina de Maíz.....	10
1.3.1.5. Trigo.....	11
1.4. Análisis del ciclo de vida en productos agroindustriales.....	12
1.5. Sustratos.....	12
1.5.1. Tipos de sustratos.....	13
1.5.1.1. Según sus propiedades.....	13

1.5.1.2.	<i>Según el origen de los materiales</i>	13
1.5.2.	<i>Sustratos sólidos</i>	13
1.5.3.	<i>Análisis de productividad</i>	14
1.6.	Evaluación ambiental, técnica y económica	14
1.6.1.	<i>Evaluación Ambiental</i>	14
1.6.1.1.	<i>Consideraciones para la evaluación ambiental</i>	14
1.6.2.	<i>Evaluación técnica</i>	15
1.6.2.1.	<i>Consideraciones para la evaluación técnica</i>	15
1.6.3.	<i>Evaluación económica</i>	15
1.6.3.1.	<i>Consideraciones para la evaluación económica</i>	16
1.7.	Los hongos	16
1.7.1.	<i>Conidias o conidios</i>	17
1.7.1.1.	<i>Desarrollo Blástico</i>	17
1.7.1.2.	<i>Desarrollo Fialídico</i>	18
1.7.1.3.	<i>Desarrollo Táltico</i>	19
1.8.	Hongos entomopatógenos	19
1.8.1.	<i>Mecanismos de acción de los hongos entomopatógenos</i>	20
1.8.1.1.	<i>Ventajas de los hongos entomopatógenos</i>	22
1.8.1.2.	<i>Desventajas de los hongos entomopatógenos</i>	22
1.9.	Beauveria bassiana	23
1.9.1.	<i>Clasificación taxonómica Beauveria bassiana</i>	23
1.9.2.	<i>Usos y aplicaciones de Beauveria bassiana</i>	24
1.10.	Metarhizium anisopliae	24
1.10.1.	<i>Clasificación taxonómica Metarhizium anisopliae</i>	25
1.10.2.	<i>Usos y aplicaciones de Metarhizium anisopliae</i>	25
1.11.	Desarrollo del control biológico	26
1.12.	Fermentación en estado sólido	26
1.13.	Bioformulado	26
1.13.1.	<i>Tipos de bioformulado</i>	27
1.13.2.	<i>Indicadores de productividad del bioformulado</i>	27
1.13.2.1.	<i>Humedad</i>	27
1.13.2.2.	<i>Viabilidad</i>	28

1.13.2.3.	<i>Suspensión</i>	28
-----------	-------------------------	----

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	28
2.1.	Tipo y diseño de la investigación	28
2.1.1.	<i>Diseño experimental</i>	29
2.1.1.1.	<i>Nomenclatura del diseño experimental del protocolo de producción de los hongos entomopatógenos</i>	29
2.2.	Ubicación de la investigación	31
2.3.	Hipótesis e identificación de variables	31
2.3.1.	<i>Planteamiento de hipótesis</i>	31
2.3.1.1.	<i>Hipótesis nula</i>	31
2.3.1.2.	<i>Hipótesis alternativa</i>	31
2.3.2.	<i>Identificación de variables</i>	31
2.3.2.1.	<i>Variable independiente</i>	31
2.3.2.2.	<i>Variable dependiente</i>	31
2.4.	Población de estudio	32
2.4.1.	<i>Tamaño de la muestra</i>	32
2.5.	Esquema metodológico	33
2.5.1.	<i>Análisis ciclo de vida de la materia prima utilizada como sustrato</i>	33
2.5.1.1.	<i>Definición de objetivos y alcance</i>	33
2.5.1.2.	<i>Análisis de inventario del Ciclo de Vida (AICV)</i>	33
2.5.1.3.	<i>Evaluación del impacto del ciclo de vida (EICV)</i>	44
2.5.1.4.	<i>Interpretación</i>	45
2.5.2.	<i>Protocolo de producción de sustratos sólidos para los hongos Beauveria bassiana A21 y Metarhizium anisopliae A13</i>	46
2.5.2.1.	<i>Obtención de la materia prima</i>	46
2.5.2.2.	<i>Preparación de los sustratos</i>	46
2.5.2.3.	<i>Preparación del medio de cultivo</i>	47
2.5.2.4.	<i>Inoculación de los sustratos</i>	48
2.5.2.5.	<i>Medición de la productividad de los sustratos</i>	48

2.5.3.	<i>Evaluación Ambiental, Técnica y Económica</i>	49
2.5.3.1.	<i>Evaluación Ambiental</i>	49
2.5.3.2.	<i>Evaluación técnica</i>	49
2.5.3.3.	<i>Evaluación económica</i>	50

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	51
3.1.	Análisis, interpretación y discusión de resultados	51
3.1.1.	<i>Análisis ciclo de vida de los sustratos seleccionados</i>	51
3.1.2.	<i>Producción de los hongos <i>Beauveria bassiana</i> A21 y <i>Metarhizium anisopliae</i> A13 en los sustratos sólidos</i>	54
3.1.3.	<i>Evaluación técnica, económica y ambiental los sustratos seleccionados</i>	57
	CONCLUSIONES	61
	RECOMENDACIONES	62
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Clasificación taxonómica <i>Beauveria bassiana</i>	24
Tabla 2-1: Clasificación taxonómica de <i>Metarhizium anisopliae</i>	25
Tabla 1-2: Diseño experimental de los tratamientos con <i>Beauveria bassiana</i>	30
Tabla 2-2: Diseño experimental de los tratamientos con <i>Metarhizium anisopliae</i>	30
Tabla 3-2: Criterios de evaluación: Ambiental, Técnica y Económica.....	30
Tabla 4-2: Unidades experimentales de la formulación del hongo <i>Beauveria bassiana</i>	32
Tabla 5-2: Unidades experimentales de la formulación del hongo <i>Metarhizium anisopliae</i>	32
Tabla 6-2: Etapas de producción de los sustratos: avena, arroz, amaranto, harina de maíz y harina de trigo.	33
Tabla 7-2: Categorías de impacto ambiental.....	44
Tabla 8-2: Ponderación para la calificación de los impactos ambientales	45
Tabla 9-2: Tiempo de lavado, remojo y secado de los sustratos sólidos.	46
Tabla 10-2: Parámetros de calificación para la evaluación ambiental	49
Tabla 11-2: Parámetros de valoración para la evaluación técnica	50
Tabla 12-2: Parámetros de calificación para la evaluación económica.	50
Tabla 1-3: Evaluación de los impactos ambientales generados en cada etapa de producción de los sustratos	51
Tabla 2-3: Sumatoria total de los impactos ambientales generados por los sistemas de producción	52
Tabla 3-3: Evaluación de las categorías de impacto ambiental generados por la producción de los sustratos.....	53
Tabla 4-3: Registro de crecimiento de <i>Beauveria bassiana</i> A21 en los distintos tratamientos sólidos	54
Tabla 5-3: Registro de crecimiento de <i>Metarhizium anisopliae</i> A13 en los distintos tratamientos sólidos	55
Tabla 6-3: Promedio de producción del hongo <i>Beauveria bassiana</i> A21 en los distintos tratamientos	55
Tabla 7-3: Promedio de producción del hongo <i>Metarhizium anisopliae</i> A13 en los distintos tratamientos	56
Tabla 8-3: Evaluación ambiental de los sustratos seleccionados	57
Tabla 9-3: Evaluación técnica de los sustratos seleccionados con <i>Beauveria bassiana</i> A21	58

Tabla 10-3: Evaluación técnica de los sustratos seleccionados con <i>Metarhizium anisopliae</i> A13	58
Tabla 11-3: Matriz de evaluación económica de los sustratos seleccionados.....	59
Tabla 12-3: Matriz de evaluación ambiental, técnica y económica de los sustratos seleccionados	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Esquema general del Análisis de Ciclo de Vida (ACV)	6
Figura 2-1: Grano de avena	8
Figura 3-1: Grano de arrozillo o arroz partido.....	9
Figura 4-1: Grano de Amaranto.....	9
Figura 5-1: Harina de maíz	10
Figura 6-1: Harina de trigo	11
Figura 7-1: Estrategias en el Análisis de ciclo de vida de semillas (Agricultura).	12
Figura 8-1: Sustratos sólidos de harina de trigo y maíz.....	14
Figura 9-1: Desarrollo Blástico.....	18
Figura 10-1: Desarrollo Blástico. (1) Blastidio solitario. (2) Cadenas. (A) Sincrónico. (B) Base angosta. (C) Base ancha. (D) Poroconidia	18
Figura 11-1: Desarrollo Fialídico: A) septo con conidias B) fialoconidias C) cadena de dispersión de esporas.....	18
Figura 12-1: Desarrollo Tálico: A) En cadenas B) En solitario.....	19
Figura 13-1: Adulto de Cabrito del ciruelo colonizado A) por Beauveria B) por Metarhizium	20
Figura 14-1: Esquema del mecanismo de acción de hongos entomopatógenos.	22
Figura 15-1: Imagen microscópica de Beauveria bassiana.....	23
Figura 16-1: Metarhizium anisopliae.....	25
Figura 17-1: Esquema del proceso de evaluación de viabilidad de microorganismos	28
Figura 1-2: Análisis ciclo de vida.	29
Figura 2-2: Diagrama de entradas y salidas del proceso de obtención de la avena.	36
Figura 3-2: Diagrama de entradas y salidas del proceso de obtención del arroz.	39
Figura 4-2: Diagrama de entradas y salidas del proceso de obtención del amaranto	41
Figura 5-2: Diagrama de entradas y salidas del proceso de obtención de la harina (maíz y trigo)	44
Figura 6-2: Avena, amaranto, arrozillo, bolitas de maíz y trigo.	46
Figura 7-2: Esterilización de sustratos y materiales.	47
Figura 8-2: Preparación del medio de cultivo.....	48
Figura 9-2: Inoculación del hongo en los sustratos.	48
Figura 10-2: Crecimiento de Beauveria bassiana en sustrato HM: A) 8 días de crecimiento, B) 15 días de crecimiento.....	49

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3: Comparación del impacto ambiental generado por los sistemas de producción ...	52
Gráfico 2-3: Evaluación porcentual de los efectos generados por la producción de avena, arroz, amaranto, harina de maíz y trigo.....	54
Gráfico 3-3: Producción del hongo <i>Beauveria bassiana</i> A21	56
Gráfico 4-3: Producción del hongo <i>Metarhizium anisopliae</i> A13	57

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: RECEPCIÓN, LAVADO Y SECADO DE LOS SUSTRATOS SÓLIDOS

ANEXO B: ESTERILIZACIÓN Y PREPARACIÓN DEL PDA

ANEXO C: COLOCACIÓN DE PDA EN LOS SUSTRATOS ESTERILIZADOS

ANEXO D: COLOCACIÓN DE LOS SUSTRATOS EN LAS CAJAS PETRI

ANEXO E: INOCULACIÓN DE LOS HONGOS: *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* EN LOS SUSTRATOS SÓLIDOS

ANEXO F: CRECIMIENTO DE *Beauveria bassiana* A21 EN LOS SUSTRATOS SÓLIDOS

ANEXO G: CRECIMIENTO DE *Metarhizium anisopliae* A13 EN LOS SUSTRATOS SÓLIDOS

ANEXO H: MATRIZ DE EVALUACIÓN DEL IMPACTO AMBIENTAL DEL CICLO DE VIDA DE LOS SUSTRATOS

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ACV	Análisis Ciclo de Vida
A21	<i>Beauveria bassiana</i>
A13	<i>Metarhizium anisopliae</i>
HM	Harina de maíz y trigo
AM	Amaranto
AV	Avena
AZ	Arrocillo
R	Rendimiento
R 1,2,3,4	Repetición 1,2,3,4
S	Sustratos
T	Tratamiento
%	Porcentaje
°C	Grados Celsius
DCA	Diseño completamente aleatorio
g	Gramos
Kg	Kilogramos
PDA	Agar de Dextrosa y Papa
usd	dólar estadounidense

RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo realizar un Análisis Ciclo de Vida (ACV) a través de la normativa ISO 14040, con el fin de determinar los impactos ambientales que generan la producción de: avena, arrozillo, amaranto, harina de maíz y harina de trigo. Este procedimiento estableció los límites de la cuna al laboratorio, donde se determinó que, la avena (Schullo), fue el sustrato que generó mayor impacto ambiental; considerando que, al ser de una marca específica, conlleva más procesos en su producción y distribución. También se determinó que, la distribución fue la etapa que mayor carga ambiental produce y está ligada directamente al agotamiento de ozono estratosférico debido a la emisión de gases de efecto invernadero. A continuación, se estableció un protocolo de producción de hongos entomopatógenos en los sustratos sólidos; de los cuales se originaron 4 tratamientos experimentales con 4 repeticiones para los dos hongos, generando un total de 32 unidades experimentales. Este protocolo se realizó con el fin de determinar la formulación más idónea; evaluando el crecimiento de esporas durante 15 días en los diferentes tratamientos. El mejor sustrato para la producción de *Beauveria bassiana* fue arrozillo, con un crecimiento de 4,2cm; mientras que, para *Metarhizium anisopliae* fue la avena con un crecimiento de 4,9cm. Finalmente, mediante la matriz de evaluación ambiental, técnica y económica, se concluyó que el arroz partido fue el sustrato sólido ideal para la elaboración de bioformulados, esto debido a que su producción representa un impacto ambiental moderado, tiene buenos resultados para el crecimiento de los dos hongos, y, es económicamente viable. Se recomienda llevar a cabo estudios similares de los sustratos a utilizar para la elaboración de bioformulados y, sobre todo, evaluar su impacto ambiental y elegir el más acertado.

Palabras clave: <ANÁLISIS CICLO DE VIDA (ACV)>, <IMPACTOS AMBIENTALES >, <OZONO ESTRATOSFÉRICO>, <GASES DE EFECTO INVERNADERO>, <PROTOCOLO >, < HONGOS ENTOMOPATÓGENOS >, < SUSTRATOS>, < ESPORAS>, < *Beauveria bassiana*>, <*Metarhizium anisopliae*>, < BIOFORMULADOS>.



ABSTRACT

The objective of this study was to carry out a Life Cycle Analysis (LCA) through the ISO 14040 standard to determine the environmental impacts generated by the production of oats, rice, amaranth, corn flour and wheat flour. This procedure established the limits from the cradle to the laboratory, where it was determined that oats (Schullo) were the substrate that generated the most significant environmental impact: considering that, being of a specific brand, it involves more processes in its production and distribution. It was also determined that the distribution was the stage that produces the most significant environmental load and is directly linked to the depletion of stratospheric ozone due to the emission of greenhouse gases. Next, a protocol for producing entomopathogenic fungi on solid substrates was established. Four experimental treatments originated with four repetitions for the two fungi, generating 32 experimental units. This protocol was carried out to determine the most suitable bioformulation, evaluating the growth of spores during 15 days in the different treatments. The best substrate for producing *Beauveria bassiana* was rice, with a growth of 4.2cm, while *Metarhizium anisopliae* was oats, with a growth of 4.9cm. Finally, through the environmental, technical and economic evaluation matrix, it was concluded that broken rice was the ideal solid substrate for the elaboration of the bioformulation; this is because its production represents a moderate environmental impact, it has good results for the growth of the two mushrooms, and, it is economically viable. It is recommended to carry out similar studies of the substrates to produce the bioformulation, evaluate their environmental impact, and choose the most appropriate one.

Keywords: <LIFE CYCLE ANALYSIS (LCA)> <ENVIRONMENTAL IMPACT> <STRATOSPHERIC OZONE> <GREENHOUSE GASES> <ENTOMO-PATHOGENIC MUSHROOMS> <SUBSTRATES> <SPORES> <BIOFORMULATION>.



Ing. Angel Paul Obregón Mayorga. Mgs
0601927122

INTRODUCCIÓN

Identificación del problema

Entre los problemas a los que se enfrenta el desarrollo de bioformulados en el país, está el desconocimiento del sustrato o los sustratos donde los hongos entomopatógenos se puedan desarrollar y servir como una alternativa viable a los plaguicidas de síntesis química. También están las distintas categorías de impacto ambiental de la materia prima que se pretende utilizar, es decir, una serie de transformaciones generadas durante todo el ciclo de vida, que van desde el origen, transformaciones, transporte, uso y etapa final de los productos.

Formulación del problema

¿Es posible realizar un análisis ciclo de vida de la producción de los sustratos sólidos para el crecimiento de los hongos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13?

Justificación de la investigación

El presente trabajo tiene como objetivo realizar el Análisis Ciclo de Vida (ACV) para la determinación de los impactos ambientales que representa la producción de arrozillo, amaranto, avena, harina de maíz y haría de trigo en el ecosistema. Actualmente, uno de los métodos innovadores para la evaluación de los impactos ambientales de productos y procesos es el Análisis de Ciclo de Vida (ACV), un método ampliamente utilizado en los países desarrollados, pero aún joven en América Latina.

El método ACV, ha sido una de las herramientas más eficaces en la política de gestión ambiental de los países desarrollados y la sostenibilidad de la industria alimentaria; permite analizar y gestionar desde el punto de vista ambiental, de forma objetiva y sistemática, los impactos ambientales asociados a un producto, proceso o actividad desde su fabricación hasta su desaparición. Es decir, este método identifica, clasifica y cuantifica cada impacto según los recursos físicos y energéticos involucrados en el ciclo completo (Yaillet & Carvajal, 2016).

Por otro lado, también es necesario determinar cuál de los 4 sustratos sólidos es el óptimo para el crecimiento de hongos entomopatógenos: *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* y así poder realizar bioformulados, estableciendo un protocolo del mejor sustrato de producción, los

mismos que están destinados al control biológico de plagas y sirven como alternativa a los plaguicidas tradicionales.

De esta forma con el apoyo de un grupo de profesionales se plantea el análisis de ciclo de vida de la producción de los hongos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en sustratos sólidos. Esta investigación se llevará a cabo con el Aval del proyecto de investigación: “DESARROLLO DE BIOFORMULADOS A PARTIR DE MICROORGANISMOS EFICIENTES PARA USO AGRÍCOLA”, del grupo de investigación GIDAC, y se realizará en el Laboratorio de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Analizar el ciclo de vida de la producción de los hongos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en sustratos sólidos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir el análisis ciclo de vida de los sustratos: avena, arrocillo, amaranto, harina de maíz y harina de trigo.
- Establecer un protocolo de producción de *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en los sustratos sólidos.
- Realizar una evaluación ambiental, técnica y económica de los sustratos seleccionados.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

1.1. Antecedentes de la investigación

En la actualidad existe mucha resistencia de cierto tipo de plagas debido al uso incesante y desmesurado de insecticidas artificiales, es por ello que nace la creciente necesidad de contrarrestar los daños ocasionados por plaguicidas sintéticos y crear condiciones que permitan una mayor difusión del uso de hongos entomopatógenos como controladores biológicos (Devine et al., 2008, p.76).

Paulatinamente ha tomado fuerza el desarrollo de nuevas formulaciones que demuestren mayor viabilidad en la interacción con los factores ambientales, que su aplicación sea fácil y eficaz y que a su vez los costos de producción sean mínimos en comparación con otros productos elaborados sintéticamente, destacando el importante rol de esa tecnología (Ames y Cañedo, 2004, p.35) de formulaciones (bioinsumos) que consiste en combinar en cantidades equitativas algunos ingredientes inertes denominados excipientes, éstos ayudan a la estabilidad del biocontrolador (activo), como hongos, bacterias, levaduras, etcétera, protegiendo de las condiciones ambientales y proporcionando mayor tiempo de viabilidad (Mamani De Marchese y Filippone, 2018, pp. 9-21).

Los aspectos cuidar la salud y el medioambiente de los efectos no deseados de productos químicos usados en la agricultura, lo que ha generado que los investigadores empleen nuevas técnicas para disminuir la producción de plaguicidas tóxicos; se pretende introducir componentes alternativos para el control de plagas en la agricultura, a través del control biológico como una alternativa prometedora, con esta técnica se puede utilizar microorganismos benéficos a los que se los llama agentes de control biológico (ACB) (Fragas, Fleitas y Hidalgo, 2007, p.23), los cuáles pueden actuar como biofertilizantes.

Entre los microorganismos se tiene bacterias y hongos (denominados PGPM, por sus siglas en inglés referidas a Plant Growth Promoting Microbes) éstos ayudan al crecimiento vegetal, en la absorción de nutrientes, promoción de hormonas de crecimiento, también pueden antagonizar la acción de los fitopatógenos, no generan resistencia, esas características hace que sean potenciales bioinoculantes (Espinoza y Vallejos, 2016, p.42).

En el caso de Ecuador después de cinco décadas de la aplicación de los principios de la revolución verde en la agricultura, gran parte de los suelos del país, se han visto seriamente deteriorados con una tendencia creciente de suelo deteriorado y baja productividad por el uso de tecnologías inadecuadas a nuestra realidad ecológica, económica y socio cultural, propiciando bajas sensibles en la productividad de la mayoría de cultivos, severos desbalances en los agroecosistemas y contaminación ambiental, con impactos negativos en la salud de los agricultores y consumidores finales (José Zaruma, 2010, p.19).

1.2. Análisis del ciclo de vida

El análisis ciclo de vida (ACV) también conocido como “life cycle assessment” (LCA), es un método analítico empleado para la evaluación del uso, transformación, consumo y destino final de los recursos. A nivel mundial, a través de las normas internacionales ISO14040 e ISO 14044, esta herramienta es considerada integral en la medición y direccionamiento de la carga ambiental y la huella ecológica asociadas con la fabricación de un producto, un proceso o actividad, desde la cuna hasta la tumba (International Organization for Standardization, 2006, p.12).

El ACV tiene como propósito identificar, cualificar y cuantificar los impactos que se generan en el ambiente durante todas las fases de existencia de un elemento y de esta manera obtener información lo más transparente y veraz posible sobre la calidad ambiental (Arango et al., 2014, p.22). Representa una herramienta de gestión ambiental (Garolera et al., 2012, p.32) que permite de contabilizar sistemáticamente las entradas y salidas energéticas y de materiales a lo largo de todas las etapas de un ciclo de vida, desde la adquisición de las materias primas, producción, procesamiento, empaquetado, uso y finalmente reciclaje o disposición de un producto o varios recursos empleados en un respectivo sector (Heller & Keoleian, 2000).

Según la Society for Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) la evaluación se realiza sobre la base del ciclo de vida completo del proceso o actividad, incluyendo la extracción y el tratamiento de la materia prima, su industrialización, transporte, distribución, uso, reciclado, reutilización y disposición final (Garolera et al., 2012, p.24).

1.2.1. Fases del análisis de ciclo de vida



Figura 1-1: Esquema general del Análisis de Ciclo de Vida (ACV)

Fuente: (Lira et al., 2019)

El análisis de ciclo de vida comprende cuatro etapas o fases, relacionadas entre sí:

1.2.1.1. Definición del objetivo y alcance del estudio

Establecen la finalidad del estudio, las hipótesis, los datos necesarios y los límites del análisis, para determinar con qué propósito se utilizarán las conclusiones y los resultados obtenidos. En esta fase se debe definir la unidad funcional que provee una referencia con la cual las entradas y salidas están relacionadas, así como los límites del sistema que definen los procesos y operaciones a considerarse dentro y fuera de él (Garolera et al., 2012, p.17).

1.2.1.2. Análisis de inventario del ciclo de vida (AICV)

Implica la recopilación de los datos necesarios para cumplir los objetivos del estudio definido. En esta segunda fase, se compilan y cuantifican en una tabla las entradas y salidas de materiales y/o energía del sistema (Garolera et al., 2012, p.17).

1.2.1.3. Evaluación de impacto del ciclo de vida (EICV)

Su finalidad es clasificar y evaluar los resultados del inventario, analizando cuáles son los impactos que los flujos inventariados provoca en el ambiente, para ello en primer lugar se deben seleccionar categorías de impactos a las que se debe asignar los resultados del inventario bueno

después a los valores de las cargas ambientales se los multiplica por factores de caracterización originarios de un modelo físico químico matemático del impacto de un flujo que dan como resultado indicadores de categoría los cuales una vez calculados se procede a normalizar los resultados (Garolera et al., 2012, p.17).

1.2.1.4. Interpretación

Es la fase final que combina los resultados del inventario y la evaluación de impacto lo que permite analizar de manera conjunta y lógica los objetivos, además evidencia en qué fases del ciclo de vida del producto se generan las principales cargas ambientales y de esta forma los puntos que pueden mejorarse (Garolera et al., 2012, p.17).

1.3. Sector agroindustrial

Es el sector productivo de la economía que produce bienes manufacturados, los cuales tienen como materia prima a los bienes agrícolas y pecuarios. El sector agroindustrial es un eje importante del proceso de desarrollo de una economía, ya que aprovecha la abundancia productiva primaria y transforma este tipo de productos en bienes que poseen un mayor valor agregado, con mejores ventajas comerciales que sus predecesores productivos; como el sector agroindustrial ecuatoriano que equivale al 8,6% en promedio al aporte total de la producción de la economía, no obstante, ha experimentado importantes crecimientos en relación a la producción total del país (Jácome et al., 2010, p.20). Además el sector agrícola contribuye al 8% del producto interno bruto (PIB), genera 28,6% de empleos y es esencial para garantizar la soberanía alimentaria (Ministerio de Producción Comercio Exterior Inversiones y Pesca, 2021, p.35).

1.3.1. Productos agroindustriales

Un producto agroindustrial es aquel que se obtiene de la transformación de materia prima, estos pueden ser, ya sea de origen animal o vegetal; además estos pueden ser procesados y tener mejores utilidades para el consumo diario (Vera, 2011, p.16). En el Ecuador, la importancia de potenciar la producción de productos agroindustriales ha tenido auge desde hace algunos años lo que generó un interés científico por la búsqueda de alternativas viables para que estos se generen, cabe recalcar que el índice de producción de alimentos de este tipo ha tenido tendencia decreciente en algunos años, pero existió un notable incremento del 5% en el año 2014 con respecto al año anterior.

Es necesario reconocer el papel importante de la producción de productos agroindustriales y subproductos para el país ya que estos aportan al recurso internacional por su participación en el mercado mediante la vinculación con agroindustrias medianas y grandes además de la creación de iniciativas agroindustriales comunitarias (Merchan et al., 2017, p.31).

1.3.1.1. Avena



Figura 2-1: Grano de avena

Fuente: (INDUSTRIAS RALDA, 2016)

Su nombre científico es *Avena sativa*. Es una planta anual que crece de forma vertical, con el tallo principal liso y erecto que mide de 40 a 180 centímetros de largo. Tiene tallos lisos con panículas de espiguillas en verano y hojas verdes y planas. Dichas panículas de ramitas “caídas” son inflorescencias de espiguillas colgantes y separadas unas de otras con 2-3 flósculos (flores pequeñas). Las semillas son color oro pálido (BioEnciclopedia, 2015, p.1). Los productos de avena integral contienen 6 de los 8 aminoácidos esenciales para nuestro organismo, 65 % de ácidos grasos insaturados y un contenido de Betaglucanos que supera el 5% (Austral Granos, 2015, pp.1-7).

1.3.1.2. Arrocillo o arroz partido



Figura 3-1: Grano de arrocillo o arroz partido

Fuente: (INDUSTRIAS RALDA, 2016)

El arroz (*Oryza sativa*) es originario de las regiones tropicales, pero hoy día se cultiva en todo el mundo, a partir de este por molición se obtiene el arroz pulido el cual corresponde al cereal más rico en almidón, en torno al 70%. Su endospermo se caracteriza por ser a la vez duro y vítreo, por lo que la temperatura de gelatinización del almidón es elevada (70°C) y su degradabilidad ruminal relativamente reducida (82%). Su contenido en proteína es bajo (7,5%) pero tiene un nivel aceptable en lisina (3,8%) con una digestibilidad elevada tanto en aves como en porcino. Su contenido en cenizas es muy escaso y su aporte en macrominerales prácticamente despreciable. Asimismo, su contenido en vitaminas es muy bajo (FEDNA, n.d., p.1).

1.3.1.3. Amaranto



Figura 4-1: Grano de Amaranto

Fuente: (Fundación Tierra, 2014, p.1)

Es cultivado en América desde hace más de 7000 años, su nombre científico es (*Amaranthus caudatus* L.), es una planta de raíz pivotante, con numerosas raíces secundarias y terciarias,

muchas raíces laterales. El tallo es redondo, cilíndrico, de color verde a la floración y verde claro con rozado a la cosecha, y puede llegar a medir hasta 1,8m de largo; las hojas son de forma romboidal lisas, con poca pubescencia, de nervaduras gruesas, de color verde claro cuando jóvenes y verde amarillento cuando maduran llegan a medir hasta 20 cm de largo por 8 cm de ancho en la parte basal (Chamorro, 2019, p.11).

La planta de amaranto se caracteriza por ser de rápido crecimiento y debido a su alto contenido de proteína en el grano y rastrojo, requiere de altas cantidades de nitrógeno y de otros nutrimentos para su desarrollo (Chamorro, 2019, p.12). El amaranto es un grano, no es un cereal. La semilla de amaranto almacena entre 14 y 19% de proteína vegetal con un alto porcentaje en lisina, por lo que en realidad es una proteína que contribuye beneficiosamente al humano (Fundación Tierra, 2014, p.1), por lo que puede aportar como fuente de proteína en sustratos.

1.3.1.4. Harina de Maíz



Figura 5-1: Harina de maíz

Fuente: (NATURAL DIETÉTICA, 2013. p.3)

Es un producto derivado del maíz, obtenido por proceso tecnológico de avanzada, que exalta las características físico – químicas del almidón de maíz, con añadido de minerales y vitaminas (Grupo La Santina, n.d., p.1). La harina de maíz presenta diferencias en su composición química, propiedades y en su utilización final debido a la gran variedad de maíces que existe. Además, el maíz puede utilizarse en diferentes tipos de producciones (Salinas et al., 2003, pp. 617-628), por ejemplo, en la fabricación de harinas nixtamalizadas que se realizan con los diferentes tipos de granos que existen para su producción, como son: los cristalinos, semi cristalinos, dentados y semi dentados; pero el favorito para las industrias de harina es el grano endospermo duro (granos cristalinos) (De Sinibaldi & Bressani, 2001, pp. 86-94).

Dentro de las variedades existentes de granos la harina de maíz puede contener una concentración de proteínas de 8,3 a 11,3%, una concentración lipídica de entre 4,0 y 7,0%, el contenido de almidón total también varía entre 69,1-86.0% y la cantidad de cenizas varió entre 1,1 y 1,7% (Méndez et al., 2005, pp. 270-272), El índice de solubilidad de los sólidos varió entre 4,77 a 7,00 g/100 g con un promedio de 5,74 g/100g, el pH de la harina varió entre 5,40 a 7,51 con un promedio de $6,31 \pm 0,64$. Este amplio rango sugiere que existen diferencias en el lavado del maíz cocido después de la cocción (Bressani et al., 2001, p.309).

1.3.1.5. Trigo



Figura 6-1: Harina de trigo

Fuente: (Healthcare, 2022, p.6).

El cultivo de trigo en el Ecuador fue introducido en la época de la colonia y desde entonces es 1 de los más importantes en la agricultura de la región interandina. Su nombre científico es *Triticum aestivum* L (Manangón, 2014, p.102), conocido con el nombre común de trigo harinero, su planta está conformada por raíz, hojas, tallos y granos, que son cereales carióspside con una longitud en término medio de 8 mm con un peso de 35 mg, su tamaño puede variar según la variedad del trigo (Becerra & Tuñoque, 2018).

Cada país tiene distintas variedades y clases que se clasifican con respecto a la época de siembra en hibernales y de primavera, de acuerdo al color del grano y de acuerdo a su aptitud panadera (Becerra & Tuñoque, 2018). La harina de trigo se produce por la molienda de su grano, el trigo, y ha servido a lo largo de los años para la elaboración de pan principalmente, entre sus características fisicoquímicas que pueden ser variadas se encuentra que contiene un 12,94% de proteínas, 32,76% gluten húmedo y 10,92% de gluten seco, almidón (70 – 75 %), agua (14 %) y lípidos (2%) (Ponce et al., 2016, p.185).

1.4. Análisis del ciclo de vida en productos agroindustriales

En la producción agrícola, la metodología de ACV se aplica generalmente para comparar diferentes escenarios alternativos de producción y niveles de labranza, así como algunas aplicaciones que se centran en la comparación entre las prácticas orgánicas y las convencionales; en este sector presenta la dificultad conceptual de no ser estrictamente un análisis de la “cuna a la tumba”, considerando que no consume los recursos en un sentido lineal, como por ejemplo ocurre en los procesos industriales donde este tipo de análisis se utiliza habitualmente. Por este motivo, normalmente la definición de límites del sistema para los ACV agrícola se puede clasificar tradicionalmente en: de la “cuna a la finca”, de la “cuna al mercado” y de la “cuna a la mesa” (Arango et al., 2014, p.45).

En Ecuador según el Ministerio de Producción Comercio Exterior Inversiones y Pesca, (2021) se establecen metas de responsabilidad extendida del productor e importador para productos priorizados que se colocan en el mercado mediante el uso de herramientas de análisis como lo es el ciclo de vida que permite determinar el tipo de residuos que requieren REP para ciclos técnicos por ello tomando en cuenta diferentes estrategias a lo largo del ciclo de vida en los productos agroindustriales:

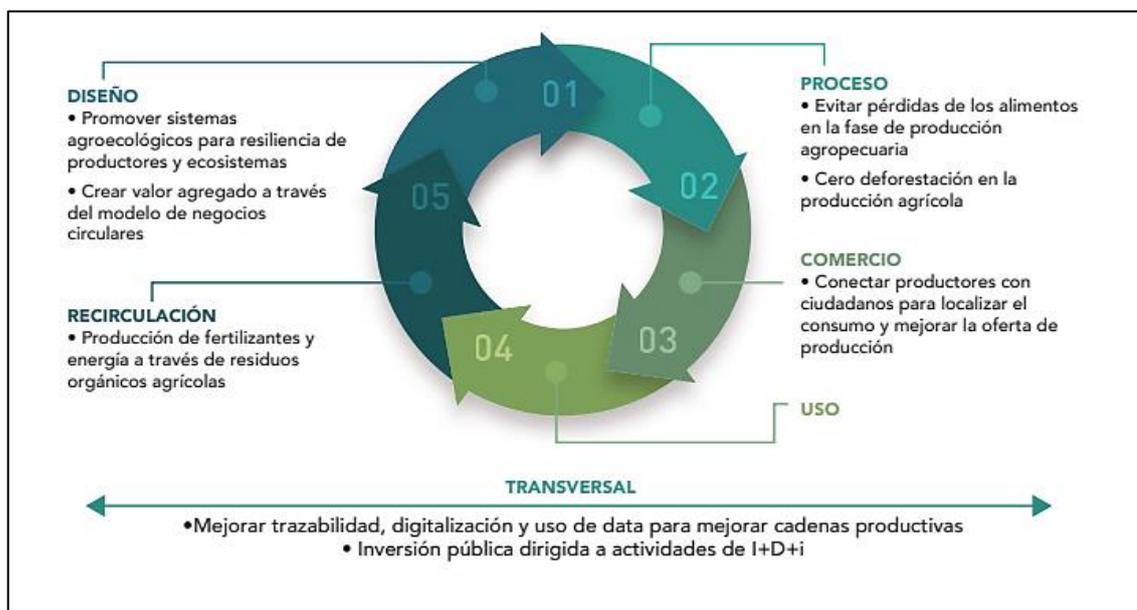


Figura 7-1: Estrategias en el Análisis de ciclo de vida de semillas (Agricultura).

Fuente: (Ministerio de Producción Comercio Exterior Inversiones y Pesca, 2021, p.105).

1.5. Sustratos

Corresponde al medio en el que se desarrolla una planta o un animal el cual puede incluir materiales bióticos o abióticos para optimizar el crecimiento de un organismo, es decir, es todo material sólido distinto del suelo, natural, de síntesis o residual, mineral u orgánico, que, colocado en un contenedor, en forma pura o en mezcla, permite el anclaje del sistema radicular de la planta, desempeñando, por tanto, un papel de soporte para la planta (INFOAGRO, 2015, p.20).

1.5.1. Tipos de sustratos

1.5.1.1. Según sus propiedades

Pueden ser sustratos químicamente inertes como arena granítica, grava, roca volcánica, perlita, arcilla, lana de roca, etc. Y sustratos químicamente activos como turbas rubias y negras, corteza de pino, materiales lignocelulósicos, entre otros. La diferencia de estos radica en la capacidad de almacenar nutrientes en el sustrato o la capacidad de intercambio catiónico (INFOAGRO, 2015, p.21).

1.5.1.2. Según el origen de los materiales

Pueden ser materiales orgánicos, aquellos que son de origen natural y se caracterizan por que son biodegradables o de descomposición biológica (turbas) la mayoría de los materiales que se utilizan son subproductos y residuos de diferentes actividades agrícolas; Por otra parte se encuentran los materiales inorgánicos o minerales que de igual forma son de origen natural pero se obtienen a partir de rocas o minerales de origen diverso, estos no son biodegradables y son transformados o tratados ya que este tipo de sustratos tiene notables diferencias que los materiales primarios de donde se obtuvieron (INFOAGRO, 2015, p.21).

1.5.2. Sustratos sólidos

Son aquellos que dan soporte al organismo y son inertes o químicamente activos, que la formulación sólida ayuda a absorber la humedad de las conidias y mantiene la viabilidad por un tiempo considerable (Espinoza & Vallejos, 2016, p.234).



Figura 8-1: Sustratos sólidos de harina de trigo y maíz.

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

1.5.3. Análisis de productividad

Este tipo de análisis permite identificar a nivel conocido la productividad total de factores comparando los cambios que se presentan en un producto, en este se toma en cuenta las salidas o inputs y las entradas u outputs de los procesos de producción gracias a la caracterización de estas variables, dando como resultado respuestas a la problemática planteada (Piedra et al., 2021, p.49). Este tipo de análisis está muy relacionado con el análisis de ciclo de vida (ACV) pues se asemeja su etapa llamada: definición del objetivo y alcance de estudio.

1.6. Evaluación ambiental, técnica y económica

1.6.1. Evaluación Ambiental

Sirve para identificar, predecir e interpretar el impacto ambiental, así como para prevenir las consecuencias negativas que determinadas acciones, planes, programas y proyectos pueden tener en la salud humana, el bienestar de las comunidades y el equilibrio ecológico, utiliza como herramienta de análisis el conocido análisis ciclo de vida ACV, el cual puede ser acompañado de softwares que permitan estimar los datos obtenidos partiendo del análisis de impacto (Perevochtchikova, 2009, p.287).

1.6.1.1. Consideraciones para la evaluación ambiental

Para la evaluación ambiental es necesario tomar en cuenta los enfoques científicos y las políticas ambientales modernas, apoyadas en las decisiones empresariales dentro del contexto del consumo

y producción sostenibles manejando estas estimaciones con el análisis de ciclo de vida ya que proporciona información para elegir el proceso que menos afecte al ambiente (Quezada et al., 2021, p.127).

Realizar este proceso de evaluaciones integrales permite reconocer en donde los aspectos técnicos, económicos, ambientales, tecnológicos y de cooperación trabajan de forma conjunta convirtiéndose en aristas que permiten lograr un desarrollo o un resultado en cuanto a la viabilidad de un proyecto; si alguna de ellas tiene una conclusión negativa el proyecto no se llevará a cabo así los demás tengan conclusiones positivas (Narvaez, 2009, p.46).

1.6.2. Evaluación técnica

Se considera como el potencial tecnológico utilizado para un proceso y que para el caso de estudio presente las mejores condiciones para analizarlo, en ella se observa parámetros de control de los procesos en las unidades de producción, el tipo de técnicas que se realiza para llevar a cabo el producto ya sean primitivas artesanales tradicionales o innovadoras (Quezada et al., 2021, p.53).

1.6.2.1. Consideraciones para la evaluación técnica

Las consideraciones para la evaluación técnica según (Quezada et al., 2021, p.54) son:

- Materia prima
- Capacidad de producción
- Infraestructura
- Manejo administrativo
- Línea de producción
- Volumen del producto obtenido

1.6.3. Evaluación económica

Esta se debe ejecutar bajo un concepto global que involucre diferentes escenarios para ser comparables, su objetivo es de lucro de tipo empresarial y su propósito consiste en medir la eficiencia de la inversión involucrada de un proyecto. Es decir, incluye tanto la eficiencia de los recursos propios (capital social) como de los recursos obtenidos de créditos o préstamos. Tomando en cuenta la disposición de la materia prima, el precio de esta y el de producción que

permitan contrastar las posibles alternativas individuales o combinadas reemplazables a la producción que se vaya a realizar (Hoyos, 2008, p.80).

1.6.3.1. Consideraciones para la evaluación económica

Las consideraciones necesarias emitidas por la evaluación económica son:

- Emplear técnicas de medición de rentabilidad económica (que contemplen el valor del dinero en el tiempo) en el proyecto en estudio.
- Demostrar si el proyecto es económicamente rentable para considerarlo como alternativa viable de inversión.
- Conocer el porcentaje de utilidad que se obtendrá con el monto invertido.
- Determinar en qué tiempo, la inversión generará los recursos suficientes para igualar el monto de la inversión inicial.
- Comprobar el grado de sensibilidad que tendría la Tasa Interna de Rendimiento del proyecto ante cambios en ciertas variables; y en qué medida se modificaría o afectaría la rentabilidad del mismo (Baca, n.d., pp.120-150).

1.7. Los hongos

Son formas de vida eucariotas que pertenecen al reino Fungi, el cual es megadiverso ya que contiene más de 250000 especies conocidas, la mayoría de los hongos son pequeños por lo general microscópicos que tienen apariencias filamentosas ramificadas y se reproducen por medio de esporas las cuales son formadas mediante mecanismos sexuales o asexuales, sus paredes celulares contienen glucanos y quitinas como componentes esqueléticos embebidos en una matriz de glicoproteínas y polisacáridos que carecen de clorofila (Garcés et al., 2015, p 58).

Los hongos se presentan en diferentes tipos de morfologías, por ejemplo en algunos como el champiñón se le puede observar claramente el micelio que es el cuerpo del hongo compuesto por filamentos largos denominados hifas (Kuhar et al., 2013, p.103), las cuales producen enzimas sobre el sustrato en el que se encuentre el hongo permitiendo la hidrólisis de nutrientes que una vez absorbidos son transportados a través de la membrana y usados en procesos metabólicos para el crecimiento y desarrollo del hongo (Isaac, 1992, p.120); por otra parte, las estructuras encargadas de producir esporas se sitúan en una parte del cuerpo llamada himenio que sumado a otros elementos se denomina himenóforo, en algunas ocasiones se puede encontrar la gleba que es una masa de esporas (Kuhar et al., 2013, p.221).

En el mundo existen más de 100000 especies de hongos saprófitos conocidos, aquellos que viven sobre organismos muertos (Agrios, 1997, p.28) y representan un papel muy importante en el equilibrio ecológico de la Biosfera ya que contribuyen en la continua degradación de desechos y cuerpos muertos de otros organismos lo que permite la disponibilidad de materia orgánica que puede ser reciclada a través de nuevos organismos, además muchos hongos interactúan con las plantas llegando a formar simbiosis de tipo micorrizas y líquenes, proporcionándoles nutrientes vitales, incrementando su productividad y por ende garantizando la salud de ambas en mutualismo (Isaac, 1992, p.225).

Algunos hongos conocidos como parásitos obligados o biotrofos crecen y se multiplican sobre su hospedador durante toda su vida, Por otra parte, los parásitos no obligados requieren de una planta hospedadora pero solo en cierta instancia de su vida ya que pueden completar su ciclo sobre la materia orgánica (Agrios, 1997, p.35).

1.7.1. Conidias o conidios

Son esporas no capsuladas que permiten la reproducción asexual de los hongos, se forman sobre células especiales (hifas portadoras) llamadas conidióforos y perfectamente distinguibles del micelio común fungoso, los cuales se unen unas a otras y forman largas cadenas que cubren totalmente la parte distal del conidióforo es por ello que los mohos son tan prolíficos (Navarro, 2013, p.64). La conidias tienen algunos tipos de desarrollo:

1.7.1.1. Desarrollo Blástico

Se produce al formar la blastoconidia con el mecanismo de crecimiento apical de una hifa, al generarse estructuras globosas como resultado de la presión de turgencia interna en un área de la pared plástica por medio de la actividad lítica-enzimática, el conidio se forma de una parte de la célula ya existente cuando sufre un aumento significativo de tamaño antes de aislarse de la célula completamente. Este proceso ocurre en células somáticas especializadas que se denominan conidióforos (Menéndez, 2014, p.2).

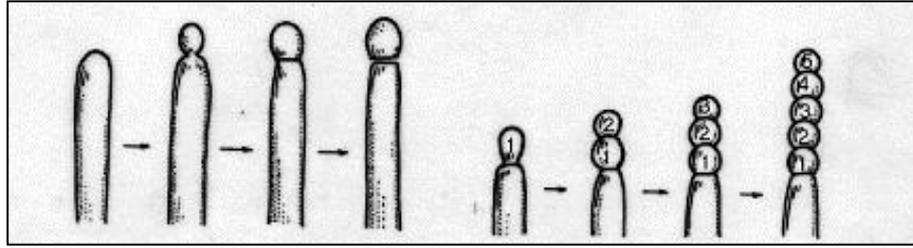


Figura 9-1: Desarrollo Blástico.

Fuente: (SAMSON et al., 1984, p.265).

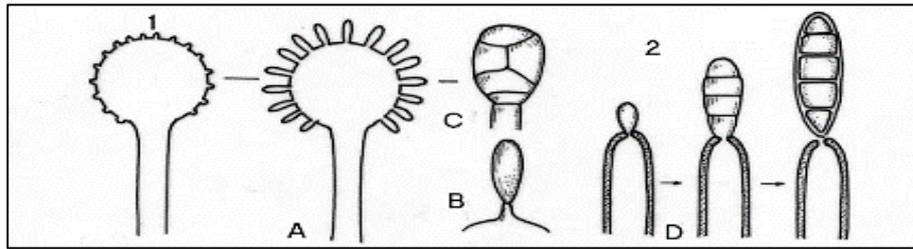


Figura 10-1: Desarrollo Blástico. (1) Blastidio solitario. (2) Cadenas. (A) Sincrónico. (B) Base angosta. (C) Base ancha. (D) Poroconidia

Fuente: (SAMSON et al., 1984, p.265).

1.7.1.2. Desarrollo Fialídico

Ocurre cuando las fialoconidias se forman a través de las células especializadas llamadas fiálide, en donde cada célula produce una cierta cantidad de conidias por un septo que da como resultado una cadena que facilita la dispersión de esporas (Garcés et al., 2015, p.28).

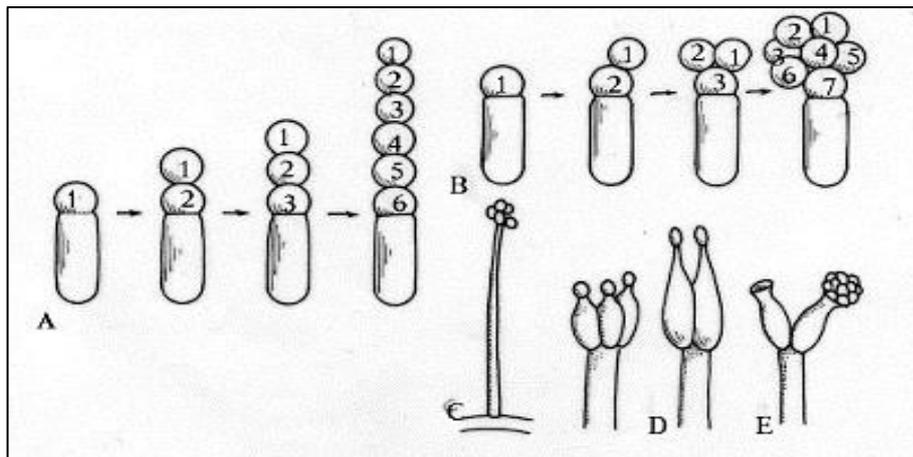


Figura 11-1: Desarrollo Fialídico: A) septo con conidias B) fialoconidias C) cadena de dispersión de esporas.

Fuente: (SAMSON et al., 1984, p.266).

1.7.1.3. Desarrollo Táltico

En este tipo de desarrollo las conidias surgen por la fragmentación de hifas y no ocurre engrosamiento en la posición del septo, es decir, una célula hifal entera, un compartimento de una hifa se transforma en conidio. Las cadenas de conidias pueden ser Holotáticas u Holoartricas articuladas dependiendo si todas las capas de la pared de la célula intervienen en la formación de la pared conidial se refiere al primer tipo, pero si la capa externa de la pared de la célula conodiógena no llega a ser parte de la pared del conidio, es del segundo tipo (Menéndez, 2014, p.2).

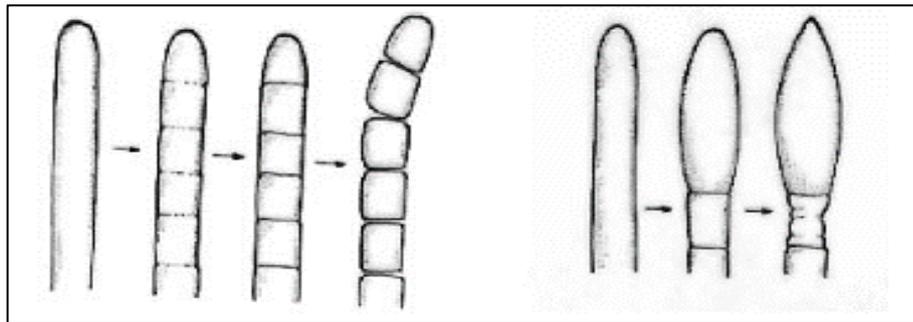


Figura 12-1: Desarrollo Táltico: A) En cadenas B) En solitario

Fuente: (SAMSON et al., 1984, p.266).

1.8. Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos son un grupo de microorganismos muy grande que brinda diversos servicios agroecológicos para el control de plagas provocadas por insectos (Motta & Murcia, 2011, p.145) que causan daños en cultivos de gran importancia económica. Se encuentran presentes en forma natural en el ambiente, en el suelo, en restos de cultivos o sobre los cadáveres de insectos, nutriéndose de este modo de otros organismos o de materia orgánica (Gómez et al., 2014, p.62).

Estos hongos poseen características especiales que les permiten sobrevivir en forma parasitaria sobre insectos y como saprófitos sobre material vegetal en descomposición, condición importante para su aislamiento en laboratorio que permite analizarlos y posteriormente utilizarlos para el control de plagas (Ames & Cañedo, 2004, p.28); por ejemplo, los hongos entomopatógenos más importantes utilizados en el control de insectos plaga son: *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea* e *Hirsutella thompsonii* (Gómez et al., 2014, p.36); mientras que para la FAO, 2003, p.56 los géneros de importancia son *Metarhizium*, *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Rhizopus* y *Fusarium* (Rodríguez et al., 2017, p.42).

Para el buen desarrollo de los hongos entomopatógenos es necesario tener un conocimiento detallado de los requerimientos nutricionales para su crecimiento y esporulación (Rodríguez et al., 2017, p.43), ya que para utilizarlos como insecticidas deben producirse cantidades masivas del hongo, el cual debe mantener su capacidad infectiva por un período de tiempo considerable. La mayoría de las especies de hongos son producidas en medios sólidos, donde el hongo crece como micelio superficial y produce conidios en hifas aéreas (Jenkins et al., 1998, pp.134-185).



Figura 13-1: Adulto de Cabrillo del ciruelo colonizado A) por *Beauveria* B) por *Metarhizium*

Fuente: (France et al., 2016, p.2).

1.8.1. Mecanismos de acción de los hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos actúan de forma diferente a otros agentes entomopatógenos, es decir, tienen mecanismos de invasión únicos, debido a que no necesitan ser ingeridos por el insecto para colonizarlo, utilizan vías más sencillas como el contacto y adhesión de las esporas a partes de su cuerpo como las bucales, membranas inter segmentales o espiráculos; ya que inician su proceso infectivo y asociación patógeno-hospedero formando los túbulos germinales con los cuales ejerce una presión hacia el interior del insecto facilitando la invasión del hongo (Gómez et al., 2014, p.59).

Estos hongos desarrollan una serie de actividades como cambios en la pared celular y producción de sustancias inmuno modulatorias o toxinas fúngicas que les permiten sortear las defensas enviadas por el sistema inmune del insecto, en donde se incluyen procesos de melanización, fagocitosis, nodulación y encapsulamiento los cuales tratan de inhibir el crecimiento del hongo (Khachatourians & Qazi, 2008, pp.201-212).

Según Alean Carreño (2003) las fases de mecanismo de acción en hongos entomopatógenos son:

- Adhesión y germinación de la espora a la cutícula del insecto
- Penetración en el hemocele
- Desarrollo del hongo

Por otro lado el mecanismo de acción del hongo puede definirse de la siguiente forma (Gómez et al., 2014, pp.5-12):

- **Adhesión de la conidia a la cutícula del insecto:** Es el contacto de la unidad infectiva del hongo o conidia con la superficie del insecto.
- **Germinación de la conidia:** Ocurre cuando la conidia emite un tubo germinativo, es decir, germina sobre el integumento del insecto formando posteriormente un apresorio que permite la fijación en la cutícula del insecto.
- **Penetración del integumento:** Sucede cuando la cutícula es degradada por acción enzimática y la presión mecánica que ejerce el tubo germinativo.
- **Multiplicación del hongo en el hemocele:** cuando el hongo llega al hemocele se producen las blastosporas por el ensanchamiento de la hifa y la ramificación dentro del tejido del insecto.
- **Producción de toxinas:** pueden ser enzimas secretadas en el cuerpo del insecto que en cantidades significativas llegan a ser muy tóxicas para el insecto debido a sus propiedades insecticidas que producen la degeneración del tejido por la pérdida de la integridad estructural de las membranas, deshidratación de las células e inhibición de las reacciones de defensa desencadenando a la muerte del insecto.
- **Muerte del insecto:** suele ocurrir antes de que el hongo haya colonizado el hemocele del insecto en su totalidad, el tiempo de muerte depende del hospedante, la cepa del hongo y condiciones ambientales. en esta etapa finaliza la fase parasítica y comienza la saprofítica.
- **Colonización:** tras la muerte del insecto el micelio llega a todos los órganos y tejidos, esta etapa dura de 3 a 8 días dependiendo la cepa.
- **Emergencia:** el hongo emerge al exterior del insecto atravesando la cutícula y esporula sobre su cadáver para producir un inóculo que infecte a otros insectos, si las condiciones ambientales son hostiles el hongo no emerge del interior y se queda protegido por el integumento para sobrevivir hasta encontrar condiciones favorables.
- **Esporulación:** ocurre en un período de 24 a 48 horas cuando las hifas emergen al exterior por condiciones de humedad favorables y se producen los conidios o esporas.
- **Diseminación:** proceso en el que las unidades infectivas del hongo se diseminan o dispersan por medio de la lluvia, viento, animales, entre otros, para encontrar nuevos hospedantes.

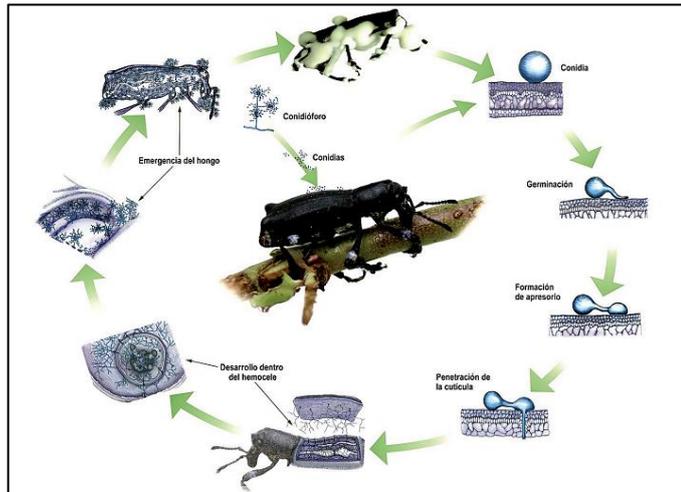


Figura 14-1: Esquema del mecanismo de acción de hongos entomopatógenos.

Fuente: (France et al., 2016, p.1).

1.8.1.1. Ventajas de los hongos entomopatógenos

Según (Ames & Cañedo, 2004, p.21), las ventajas de los hongos entomopatógenos son:

- Tienen diferentes grados de especificidad ya sea a nivel de familia o especies.
- Si el hongo se desarrolla en condiciones adecuadas para colonizar un ecosistema puede renovarse continuamente y se vuelve parte de este es decir no necesita nuevas aplicaciones.
- Pueden aplicarse mezclas de estos con dosis más bajas que las de los insecticidas obteniendo efectos mejores que en las aplicaciones por separado.
- No contaminan el ambiente ni afectan a organismos superiores.
- Si el hongo no logra causar la muerte en la plaga provoca efectos secundarios que dificultan el desarrollo de ciclo de vida del insecto.

1.8.1.2. Desventajas de los hongos entomopatógenos

Según (Ames & Cañedo, 2004, p.23), las desventajas de los hongos entomopatógenos son:

- Son sensibles ante la variación de condiciones climáticas como temperaturas extremas radiación ultravioleta y desecación, pero pueden ser contrarrestadas con el uso de aditivos.
- Sus condiciones de almacenamiento son más exigentes en comparación a moléculas inorgánicas con el objetivo de evitar la pérdida de su carácter patógeno.

- Alcanzan buenos niveles de control de una a 3 semanas es decir no matan instantáneamente, a pesar de ello, el insecto deja de ser una plaga en el momento que es parasitado por el hongo ya que disminuye su alimentación y el daño en el ambiente o cultivo.

1.9. *Beauveria bassiana*

Beauveria bassiana es un hongo deuteromicete que presenta células conidiógenas en forma de botella con una parte basal globosa de determinación en zigzag, se las suele asociar con el término Muscardina Blanca debido a que los conidios y el micelio cubren el cuerpo o espacios articulares con una capa blanca (Fernández, 2020, p.120), que en medio de cultivo específico, Agar de Dextrosa y Papa (PDA), crece formando una estructura algodonosa y polvosa de color blanco conocida como muscardina blanca. Cuando la colonia va envejeciendo se vuelve crema amarillenta. El revés es de color rojizo en el centro cuando está en crecimiento y amarillo alrededor (Chiriboga et al., 2015, p.36).

Es uno de los hongos entomopatógenos natural de insectos más estudiados, y sigue el mismo principio de mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos ya que sus esporas reconocen la cubierta del insecto plaga penetrando en su interior, dentro del cual liberan sustancias que lo digieren y lo destruyen, produce una toxina de alto peso molecular con la que invade al huésped a través de la cutícula o vía bucal. Para un desarrollo eficiente dentro del hospedador necesita una humedad relativa mayor al 90% y temperaturas entre 22 a 26 grados centígrados, pero puede soportar temperaturas de hasta 50 °C en la que transcurridos 10 minutos causa la muerte del hospedador; se lo he encontrado principalmente de muchos insectos de orden Coleóptera, Lepidóptera, Homoptera (Alves, 1998, p.134).

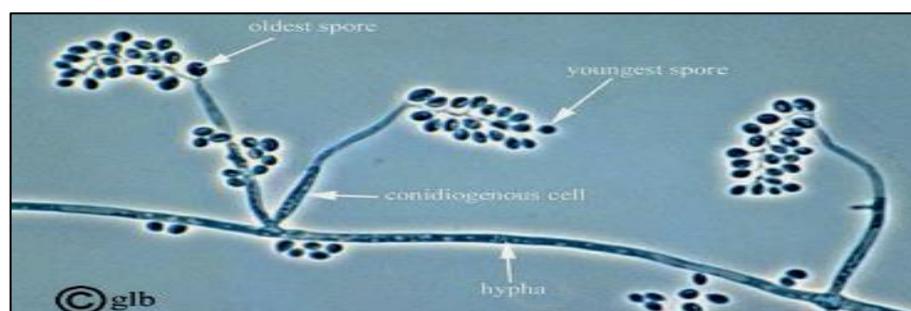


Figura 15-1: Imagen microscópica de *Beauveria bassiana*

Fuente: (Chiriboga et al., 2015, p.13)

1.9.1. Clasificación taxonómica *Beauveria bassiana*

Tabla 1-1: Clasificación taxonómica *Beauveria bassiana*

Reino	Fungi
División	Mycota
Subdivisión	Eumycota
Clase	Deuteromycetes
Orden	Hyphomycetes
Género	<i>Beauveria</i>
Especie	<i>bassiana</i>

Fuente: (Kuno et al., 1982, p.31)

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

1.9.2. Usos y aplicaciones de *Beauveria bassiana*

El principal uso de forma natural por su carácter entomopatógeno es para el control de plagas de insectos ya que son patógenos obligados o facultativos que se desarrollan a expensas de los insectos, lo que permite utilizarlos como productos de control biológico ya que son fáciles de formular, manipular y multiplicar además de ser inocuos otras especies y el ser humano, ganándose de este modo un papel protagónico en el control efectivo de plagas destacando su importancia agrícola (Chiriboga et al., 2015, p.3).

En China la *Beauveria bassiana* se produce en comunidades para el control del perforador europeo del maíz (*Ostrinia nubilalis*), saltamontes verde (*Turpilia opaca*) y la oruga de los pinos (*Lymanthria dispar* L.); en la Unión Soviética se utiliza para el control de la polilla del Manzano con el nombre comercial de Boverin; en Colombia se utiliza para el control de la broca del café a partir de un sustrato sólido de arroz (Bermúdez, 2016, pp.15-17).

1.10. *Metarhizium anisopliae*

Hongo entomopatógeno que se caracteriza por formar conidios encima del esterigma que causa la muscardina verde; este hongo produce quitinasa, lipasa y proteasa para poder ingresar en la cutícula de los insectos, para la infección de estos utiliza las toxinas destruxinas y Citocalasinas que provoca la muerte de los insectos por la pérdida de nutrientes (Kuno et al., 1982, p.42).

Para su crecimiento requiere un rango de temperatura de aproximadamente 24 a 30 °C y puede morir al encontrarse en temperaturas de 49 °C en 10 minutos; por otra parte el proceso de esporulación de *Metarhizium anisopliae* se ve optimizado sobre aquellos insectos colonizados que se encuentren con una humedad relativa de entre el 40 al 60% principalmente con

temperaturas mayores a 30 °C (Alves, 1998, p.152). Posee un amplio espectro de acción con gran capacidad para crear epizootias lo que le permite destacarse como un factor clave para el control fitosanitario (Bermúdez, 2016, p.23).

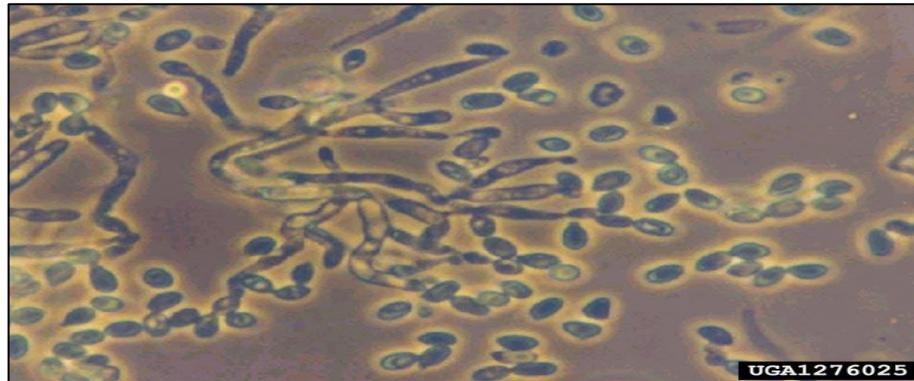


Figura 16-1: *Metarhizium anisopliae*

Fuente: (Gouli, 2018, p.2).

1.10.1. Clasificación taxonómica *Metarhizium anisopliae*

Tabla 2-1: Clasificación taxonómica de *Metarhizium anisopliae*

Reino	Fungi
División	Mycota
Subdivisión	Eumycotina
Clase	Deuteromycetes
Orden	Moniliales
Género	<i>Metarhizium</i>
Especie	<i>anisopliae</i>

Fuente: (Kuno et al., 1982, p.43)

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022

1.10.2. Usos y aplicaciones de *Metarhizium anisopliae*

Es uno de los hongos más estudiados universalmente porque se encuentra con mucha frecuencia en la naturaleza, además por su carácter efectivo para infectar algunas especies de insectos, se vuelve muy atractivo para desarrollar productos comerciales para el control de plagas (France et al., 2016, p.2).

Por primera vez fue utilizado para el control de larvas de un Curculionidae en beterraba en donde se demostró su eficiencia como agente fitosanitario, en la actualidad es considerado un organismo inocuo al ecosistema que afecta a diversos insectos plaga de orden coleóptera lo que permite proyectarse como una alternativa en el control biológico para el sector agrícola del Ecuador.

Este hongo ha sido probado cómo enemigo natural de gorgojos y otros tipos de escarabajos además de poseer un amplio rango de posibles hospedadores por lo que también se utiliza ampliamente en cultivos de alfalfa y caña de azúcar contra insectos pertenecientes a la familia Cercopidae (Bermúdez, 2016, p.32).

1.11. Desarrollo del control biológico

Es la práctica agrícola en constante crecimiento que busca la destrucción total o parcial de patógenos e insectos plaga frecuentemente mediante el uso de sus enemigos naturales, los hongos entomopatógenos son los primeros agentes biológicos en ser utilizados para el control de plagas (SAMSON et al., 1984, p.211), porque según (Asaff et al., 2002, p.48) son capaces de producir enfermedad y muerte de los insectos.

1.12. Fermentación en estado sólido

Hace alusión al crecimiento de microorganismos en materiales sólidos no sumergidos en una fase líquida, también es conocido como FES, fue considerado el tipo de fermentación más antiguo en el que se utilizó los microorganismos en beneficio del hombre hace más de 2500 años, cabe recalcar que es un proceso en el cual los microorganismos ya sean hongos o bacterias se desarrollan en materiales sólidos húmedos que quedan incluidos los materiales naturales o sintéticos como soportes únicamente los cuales están impregnados en una solución con sustancias nutritivas (Ramos et al., 2007, p.17).

1.13. Bioformulado

Las formulaciones biológicas hacen alusión a la mezcla física de uno o varios principios aislados, activos biológicamente (hongos, bacterias, virus o nemátodos), con acción biocontrolador y que no signifiquen un riesgo ambiental o humano, con ingredientes inertes para mejorar la eficiencia, estabilidad y manejo del producto (Amerio et al., 2020, p.124).

Para ello es necesario desarrollar el seguimiento de diferentes etapas que aseguren la obtención del producto de forma confiable y segura (Bettiol et al., 2010, p.12), en donde destacan las dos etapas básicas: de preformulación y formulación, críticas en el desarrollo de un bioformulado. La etapa de preformulación es aquella encaminada a determinar las características fisicoquímicas del ingrediente activo y los cambios que puedan presentarse al combinarlo con el inerte o auxiliar de formulación (Alarcón et al., 2018, p.28).

1.13.1. Tipos de bioformulado

Según (Fragas et al., 2007, pp.28-31): Las formulaciones microbianas pueden ser de tipo sólidas o líquidas; generalmente para los hongos se trabaja con aquellos que utilizan un sustrato que absorbe la humedad de los conidios y los encapsula para mantenerlos viables, los cuales se denominan sólidos/secos, por otro lado, los líquidos/emulsiones son aquellos que los conidios están suspendidos en el medio para lograr una mezcla homogénea y pueden ser clasificados de la siguiente forma:

- Polvos: sustancia activa más un portador inerte, de aplicación directa al suelo.
- Polvos mojables: sustancia activa con un soporte mineral y materiales que contribuyan a sus suspendibilidad, dispersabilidad y estabilidad, para aspersiones foliares.
- Granulados: sustancia activa con un soporte mineral y un agente humectante que le da adhesión, para aplicar directamente al suelo.
- Gránulos dispersables: gránulo del ingrediente activo junto a otros componentes similares al polvo mojable, para aspersiones foliares.
- Gránulos cubiertos: partícula sólida o líquida del ingrediente activo cubierta por un material sintético.
- Suspensiones concentradas: ingrediente activo con emulsificantes y dispersantes, se obtiene una acción rápida del principio activo.

1.13.2. Indicadores de productividad del bioformulado

1.13.2.1. Humedad

Es el porcentaje de vapor de agua que contiene el aire o un cuerpo, en comparación con la cantidad total de agua que podría contenerse al estar saturado (Shelton, 2005, p.18). El porcentaje de humedad en los hongos depende de la especie, madurez de los cuerpos fructíferos y condiciones de almacenamiento (Guillamón et al., 2010, p.67).

1.13.2.2. Viabilidad

Representa la habilidad de una población microbiana para multiplicarse y producir una colonia macroscópica, ya sea de bacterias u hongos, en medio de cultivo sólido o producir turbidez en un medio líquido apropiado (Guerra & Castro, 2020, p.139) para ello se determina el número de esporas viables (Fernández et al., 2019, p.34) evaluando el crecimiento del hongo en medios nutritivos o sustratos sólidos se puede determinar al observar crecimiento de micelio (hongos no esporuladores) en medios de cultivo sólido y al contabilizar, por microscopía óptica, las esporas germinadas (hongos esporuladores) (Guerra & Castro, 2020, p.141-143).



Figura 17-1: Esquema del proceso de evaluación de viabilidad de microorganismos

Fuente: (Guerra & Castro, 2020, p.140)

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

1.13.2.3. Suspensión

Una suspensión es una sustancia que contiene partículas mezclables por agitación que se dispersan en un fluido, ya que estas no se encuentran totalmente disueltas en el fluido (Biology Online, 2021, p.1). Las suspensiones de esporas son suspensiones calibradas de esporas bacterianas apropiadas para la inoculación directa de productos o la preparación de indicadores biológicos personalizados (Mesa Labs, 2022, p.2).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Tipo y diseño de la investigación

La presente investigación es de tipo cuantitativo/cualitativo y experimental, debido a que dentro del análisis ciclo de vida de cada sustrato, se determinó el consumo de materiales, energía y la liberación de los mismos al medio ambiente; además, se realizaron varias pruebas de crecimiento en el laboratorio a partir de la inoculación de los hongos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en los sustratos sólidos. Finalmente, con los datos obtenidos se realizó una matriz ambiental, técnica y económica.

2.1.1. Diseño experimental

Para el Análisis ciclo de vida, el diseño experimental se desarrolló según Ambiental et al (2014); que consta de 4 etapas que son:

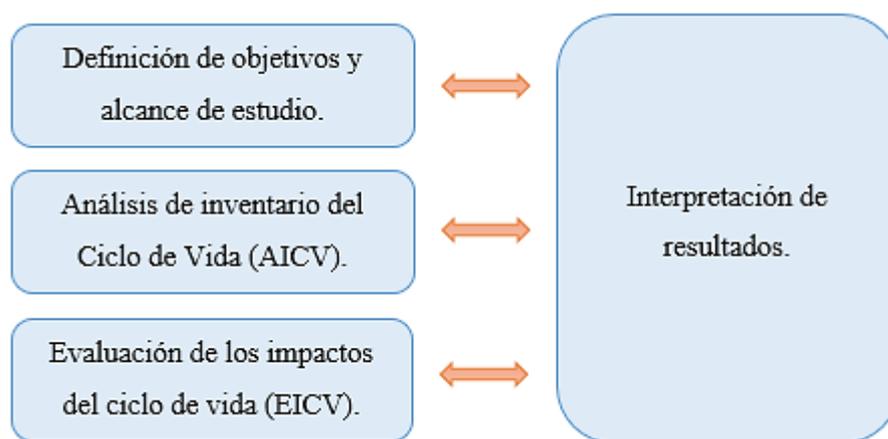


Figura 1-2: Análisis ciclo de vida.

Fuente: (Ambiental et al., 2014)

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

En cuanto al desarrollo del protocolo de producción de sustratos sólidos para los hongos entomopatógenos, el diseño experimental es completamente aleatorio (DCA), en el cual se utiliza como materia prima: avena, arrozillo, amaranto y una mezcla de harina de trigo y maíz en proporciones iguales; para conformar los medios de crecimiento, de los cuales se originan 4 tratamientos experimentales con 4 repeticiones para *Beauveria bassiana* y 4 tratamientos con 4 repeticiones para *Metarhizium anisopliae*, generando un total de 32 unidades experimentales.

2.1.1.1. Nomenclatura del diseño experimental del protocolo de producción de los hongos entomopatógenos

Tratamiento (T): Sustrato

- **AV:** 100% avena
- **AZ:** 100% arrozillo
- **AM:** 100% amaranto
- **HM:** Mixto (40.625% harina de trigo + 40.625% harina de maíz + 18,75% melaza)

Réplicas (R): Siembra

- **R1:** Repetición 1
- **R2:** Repetición 2
- **R3:** Repetición 3
- **R4:** Repetición 4

Tabla 1-2: Diseño experimental de los tratamientos con *Beauveria bassiana*

Hongo	Tratamiento	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4
A21	AV	A21AVR1	A21AVR2	A21AVR3	A21AVR4
A21	AZ	A21AZR1	A21AZR2	A21AZR3	A21AZR4
A21	AM	A21AMR1	A21AMR2	A21AMR3	A21AMR4
A21	HM	A21HMR1	A21HMR2	A21HMR3	A21HMR4

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

Tabla 2-2: Diseño experimental de los tratamientos con *Metarhizium anisopliae*

Hongo	Tratamiento	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4
A13	AV	A13AVR1	A13AVR2	A13AVR3	A13AVR4
A13	AZ	A13AZR1	A13AZR2	A13AZR3	A13AZR4
A13	AM	A13AMR1	A13AMR2	A13AMR3	A13AMR4
A13	HM	A13HMR1	A13HMR2	A13HMR3	A13HMR4

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

Finalmente, para la evaluación Ambiental, Técnica y Económica, se utilizó un diseño no experimental cualitativo, en el cual se generaron tablas con valoraciones establecidos bajo los siguientes criterios:

Tabla 3-2: Criterios de evaluación: Ambiental, Técnica y Económica

Evaluación	Criterios
Ambiental	Impacto ambiental generado por la producción de los sustratos: avena, arrocillo, amaranto y harina de maíz y trigo.
Técnica	Crecimiento de cepas de los hongos entomopatógenos en los diferentes sustratos sólidos.
Económica	Precios de los sustratos adquiridos.

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

2.2. Ubicación de la investigación

La obtención de formulados a partir de los hongos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en sustratos sólidos, que corresponde a una parte del proyecto “DESARROLLO DE BIOFORMULADOS A PARTIR DE MICROORGANISMOS EFICIENTES PARA USO AGRÍCOLA”, se llevó a cabo en el Laboratorio de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), ubicada en la Panamericana Sur, km 1½, en la ciudad de Riobamba.

2.3. Hipótesis e identificación de variables

2.3.1. Planteamiento de hipótesis

2.3.1.1. Hipótesis nula

Los sustratos sólidos (avena, arroz, amaranto, harina de maíz y trigo) no constituyen medios adecuados para la producción de *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13.

2.3.1.2. Hipótesis alternativa

Al menos uno de los sustratos sólidos (avena, arroz, amaranto, harina de maíz y trigo) constituye un medio adecuado para la producción de *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13.

2.3.2. Identificación de variables

2.3.2.1. Variable independiente

- Sustratos sólidos
- Medios de cultivo
- Cepas de microorganismos

2.3.2.2. Variable dependiente

- Bioformulados
- Evaluación ambiental, técnica y económica.

2.4. Población de estudio

La población de estudio se conforma de las cepas del hongo *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 provenientes del banco de microorganismos del Laboratorio del Ciencias Biológicas, obtenidas por el grupo de investigación.

2.4.1. Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra de esta investigación es de 32 unidades experimentales para la producción de bioformulados mediante la inoculación del hongo *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en diferentes sustratos sólidos, todas las unidades estuvieron expuestas a condiciones ambientales similares. La temperatura se mantuvo a 28 °C.

Tabla 4-2: Unidades experimentales de la formulación del hongo *Beauveria bassiana*

Tratamiento	Unidades experimentales	Réplicas
AV	0,5 kg de avena en hojuelas (Schullo) + 60mL PDA + hongo	4
AZ	0,5 kg de arrozillo + 100mL PDA + hongo	4
AM	0,5 kg de amaranto + 100mL PDA + hongo	4
HM	0,15 kg de harina de maíz + 0,15 kg de harina de trigo + 0.02 kg de melaza + 100mL PDA + hongo	4

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

Tabla 5-2: Unidades experimentales de la formulación del hongo *Metarhizium anisopliae*

Tratamiento	Unidades experimentales	Réplicas
AV	0,5 kg de avena en hojuelas (Schullo) + 60mL PDA + hongo	4
AZ	0,5 kg de arrozillo + 100mL PDA + hongo	4

AM	0,5 kg de amaranto + 100mL PDA + hongo	4
HM	0,15 kg de harina de maíz + 0,15 kg de harina de trigo + 0.02 kg de melaza + 100mL PDA + hongo	4

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

2.5. Esquema metodológico

2.5.1. Análisis ciclo de vida de la materia prima utilizada como sustrato

2.5.1.1. Definición de objetivos y alcance

Los límites se establecieron de la “cuna a la puerta del laboratorio”, es decir, hasta que los sustratos fueron adquiridos para la utilización de los mismos en la elaboración de bioformulados. Se identificaron las etapas de cada uno de los sistemas de producción de arrozillo, amaranto, avena, harina de maíz y harina de trigo en la Tabla 6-2.

Tabla 6-2: Etapas de producción de los sustratos: avena, arroz, amaranto, harina de maíz y harina de trigo.

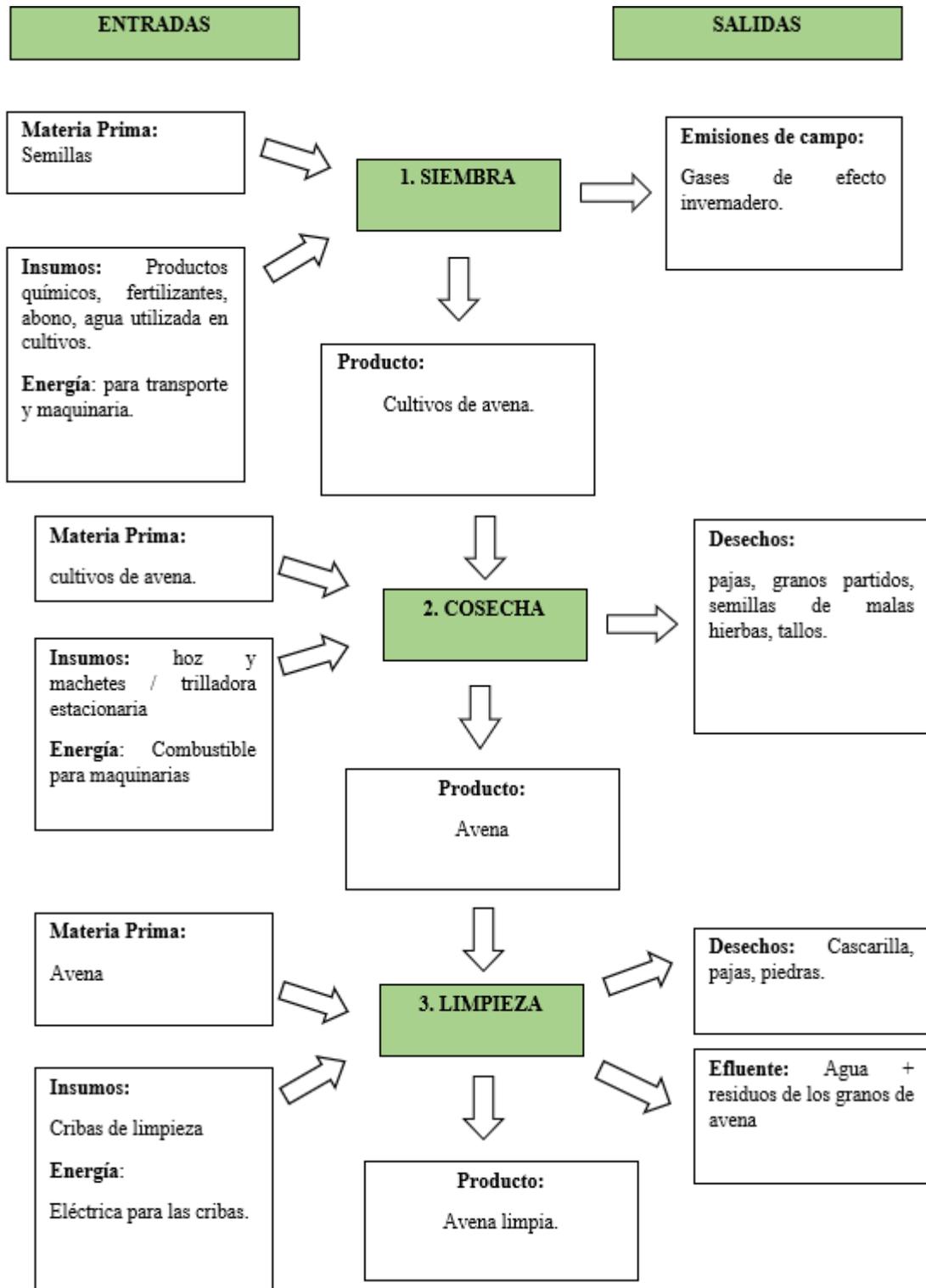
Tratamiento	Etapas
AV	Siembra – cosecha – limpieza – descascarado – tratamiento térmico – cortado – laminado – envasado – distribución.
AZ	Siembra – cosecha – limpieza - secado – trilla – empacado – distribución.
AM	Siembra – cosecha – recepción – control – limpieza – tostado – empacado – almacenamiento - distribución.
HM	Siembra – cosecha – recepción – control – limpieza – tostado – molienda – empacado – almacenamiento – distribución.

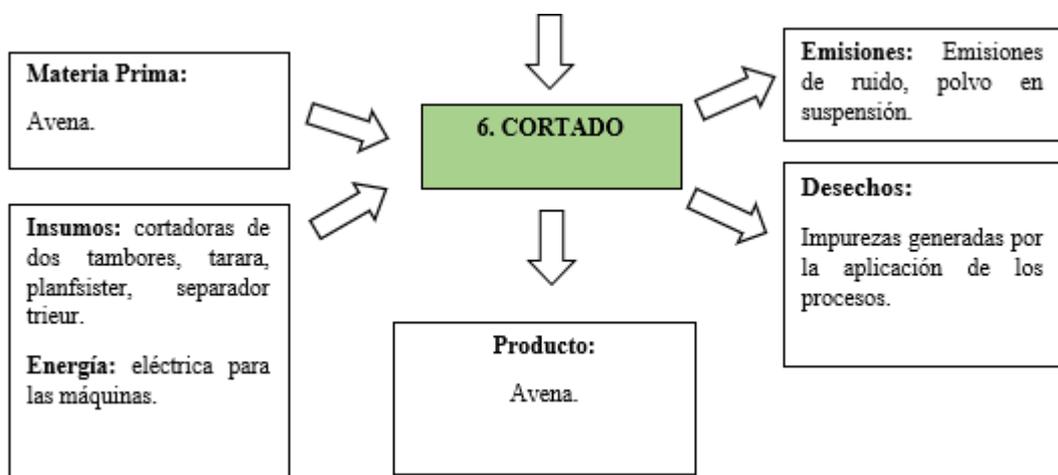
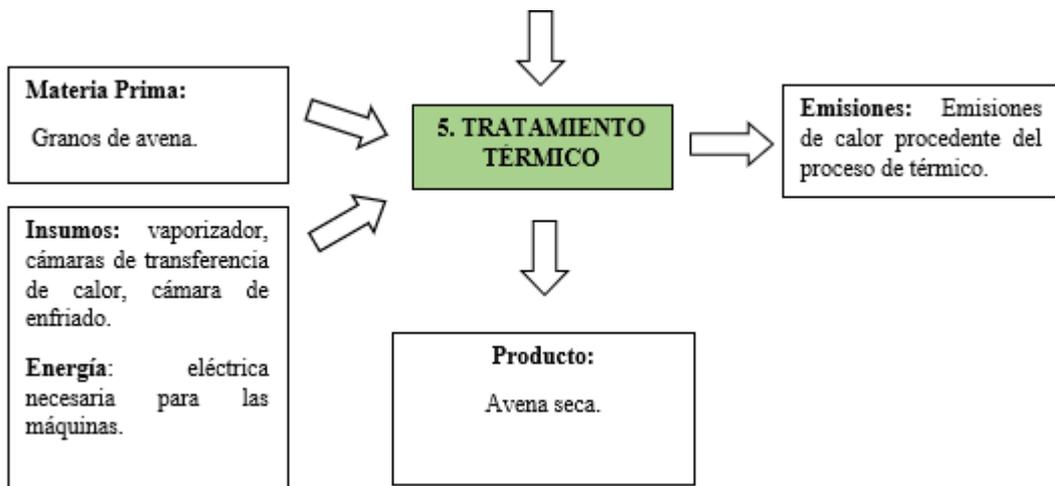
Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

2.5.1.2. Análisis de inventario del Ciclo de Vida (AICV)

En esta etapa, se recopiló la información de los sistemas de producción de los sustratos: avena, arroz, amaranto, harina de maíz y trigo en todo su ciclo de vida, los mismos que fueron reflejados en diagramas de entradas y salidas de materiales y/o energía.

- Avena (AV)





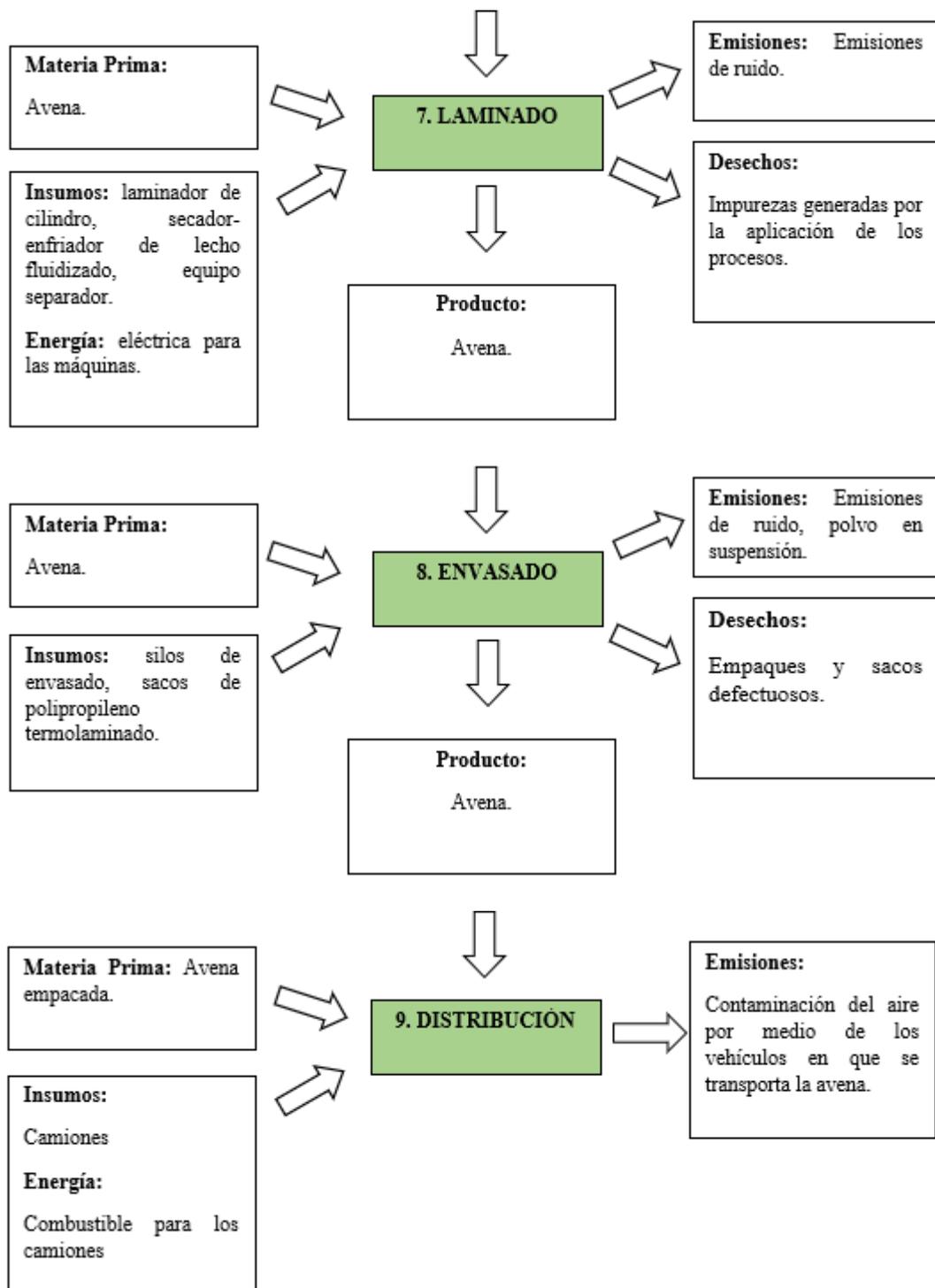
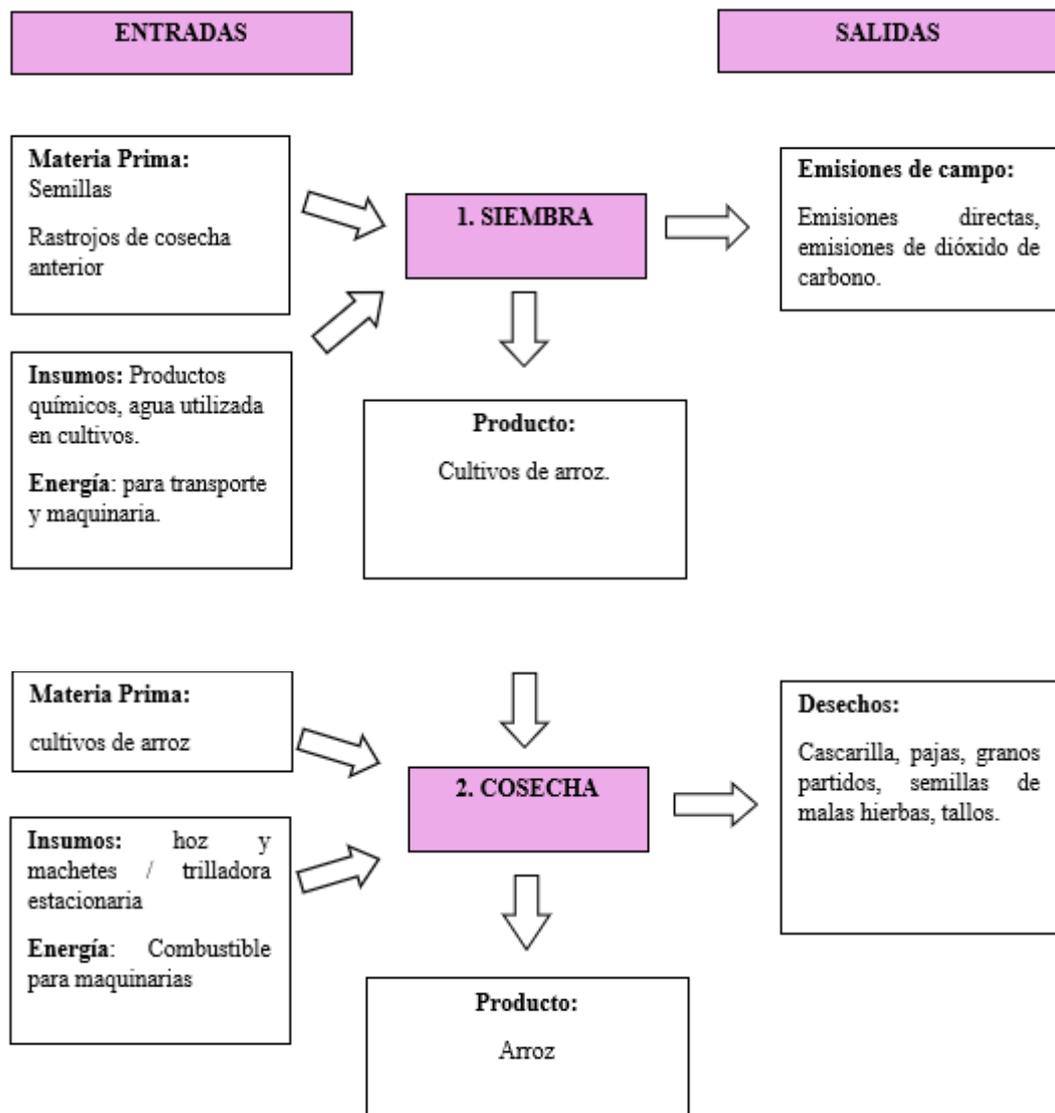
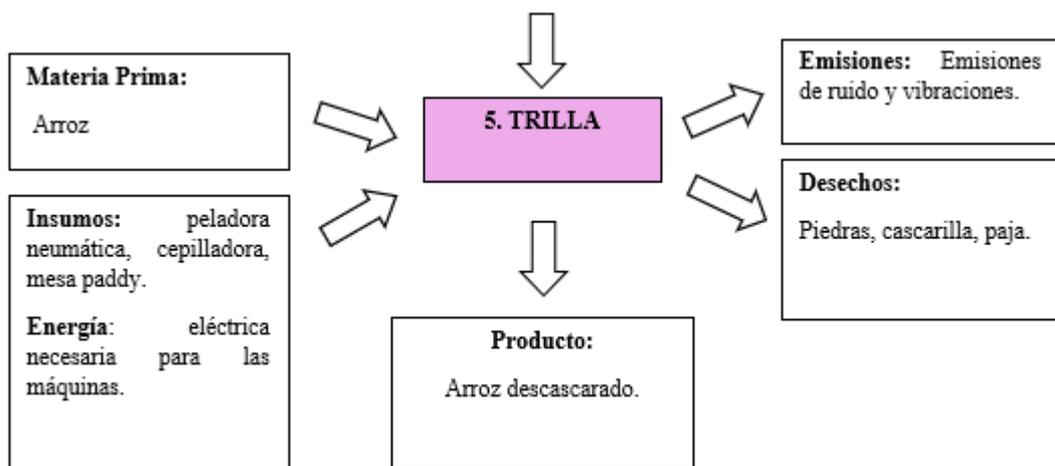
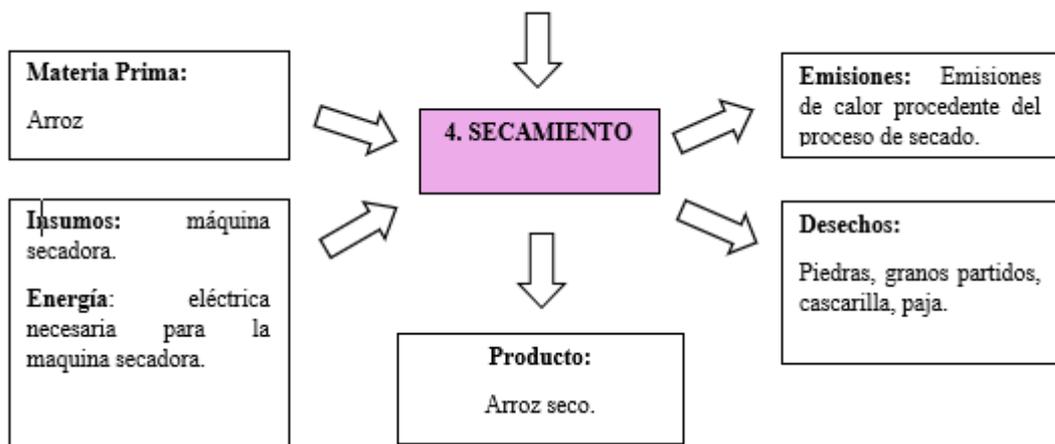
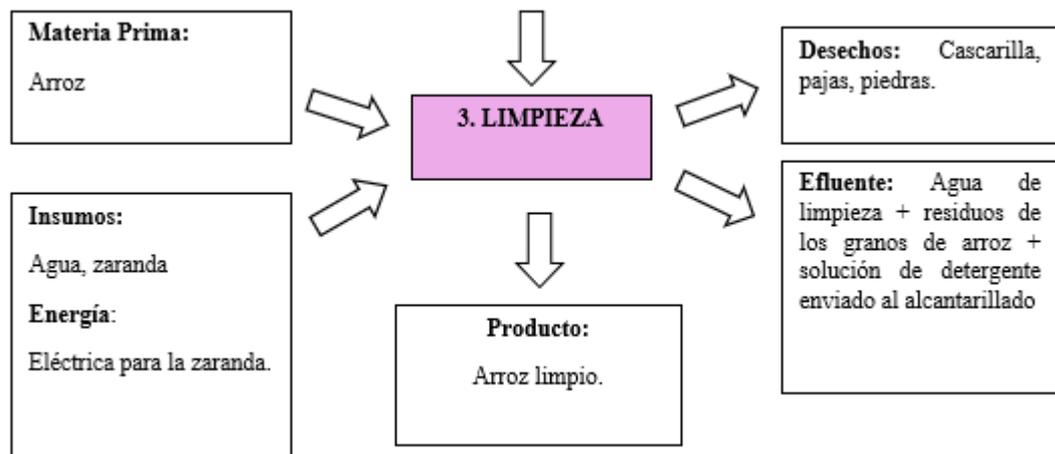


Figura 2-2: Diagrama de entradas y salidas del proceso de obtención de la avena.

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

- Arroz (AZ)





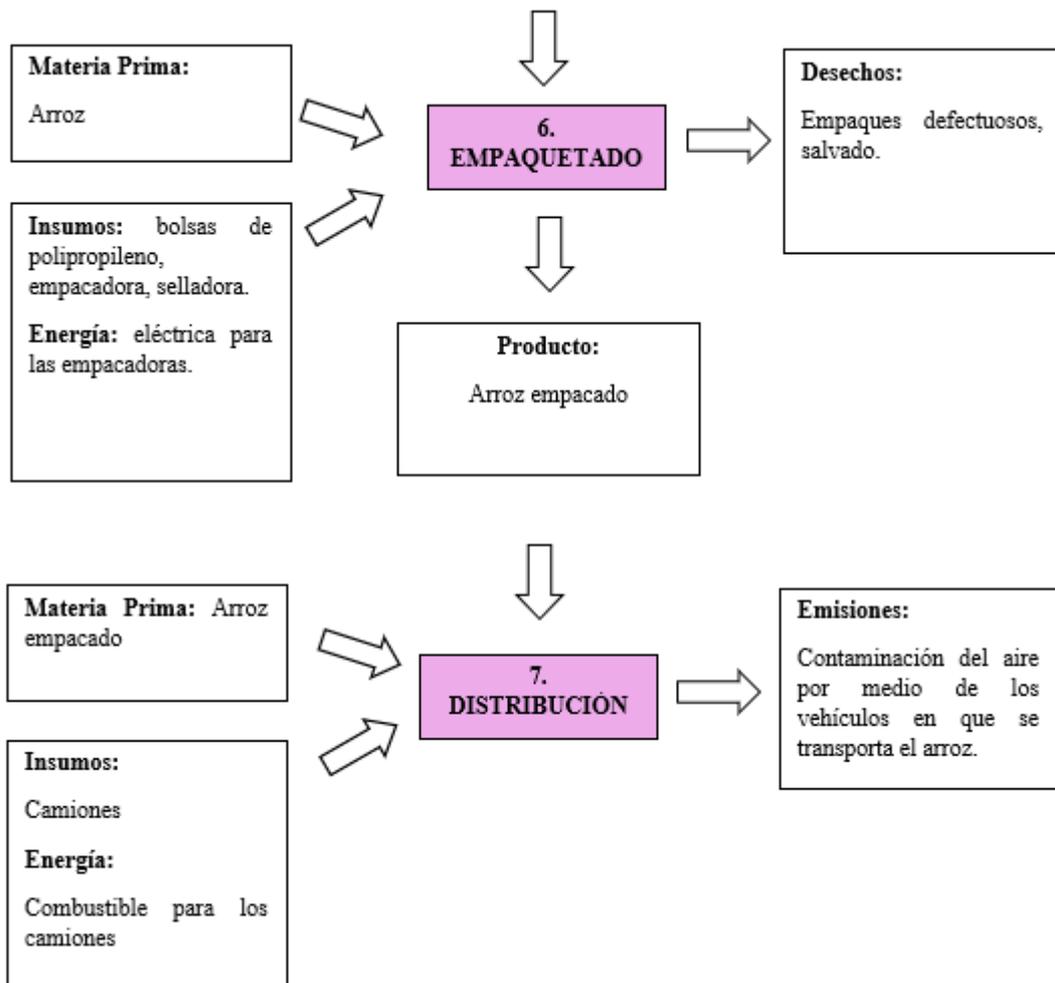
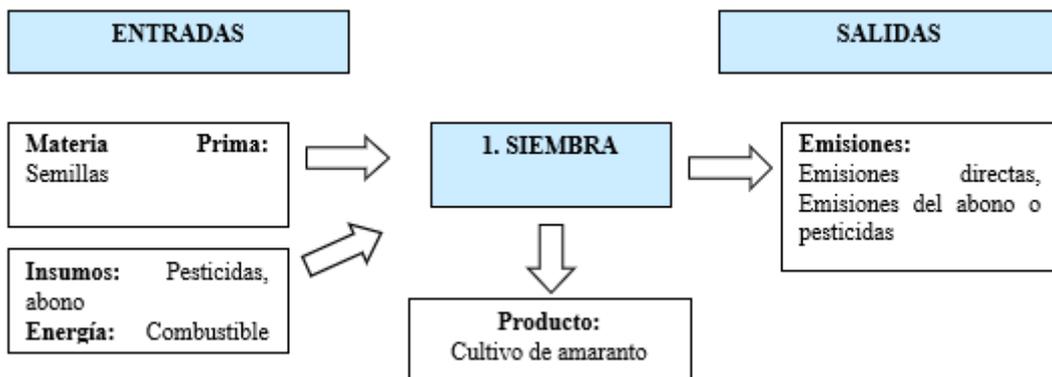
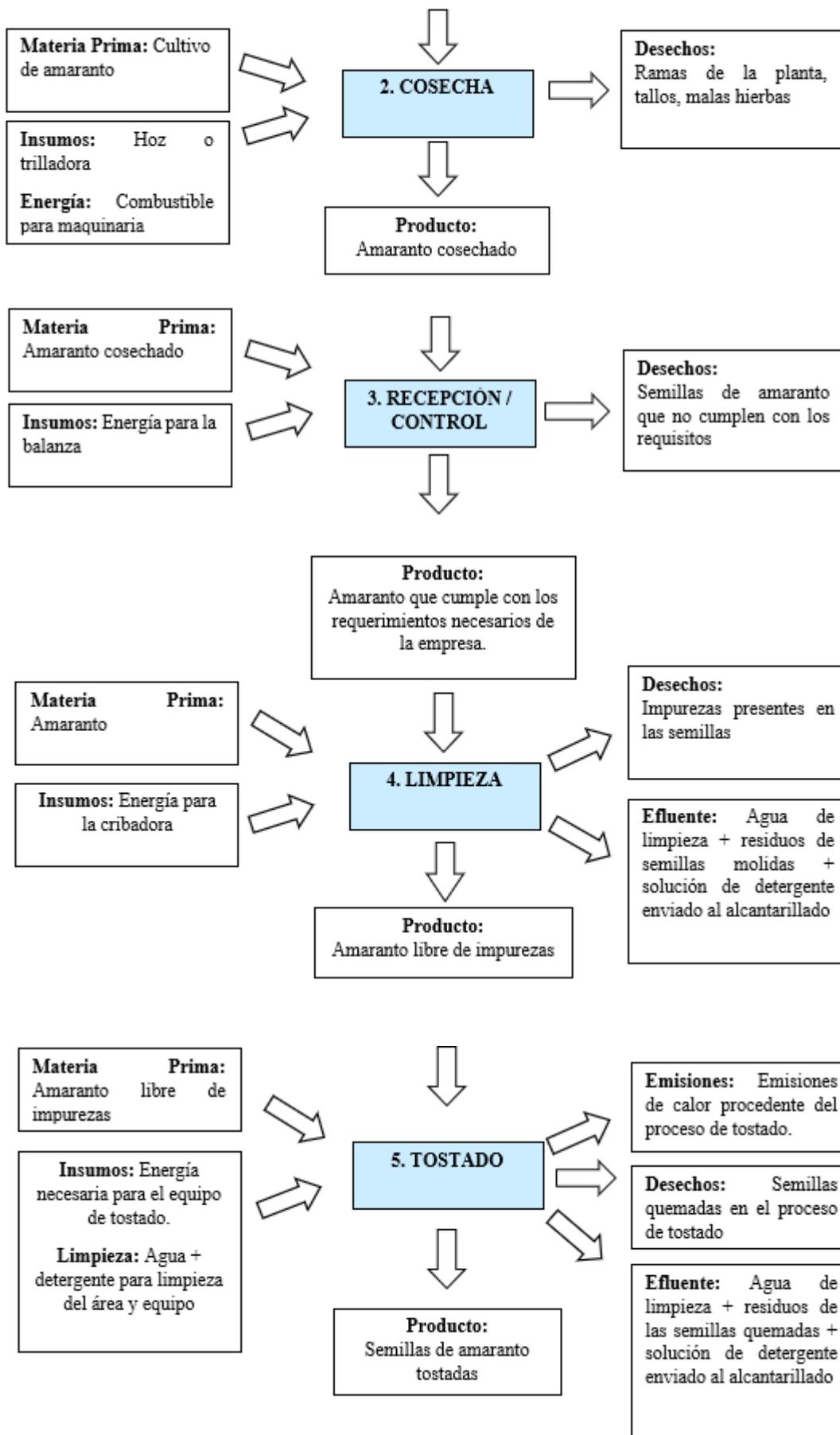


Figura 3-2: Diagrama de entradas y salidas del proceso de obtención del arroz.

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

- Amaranto (AM)





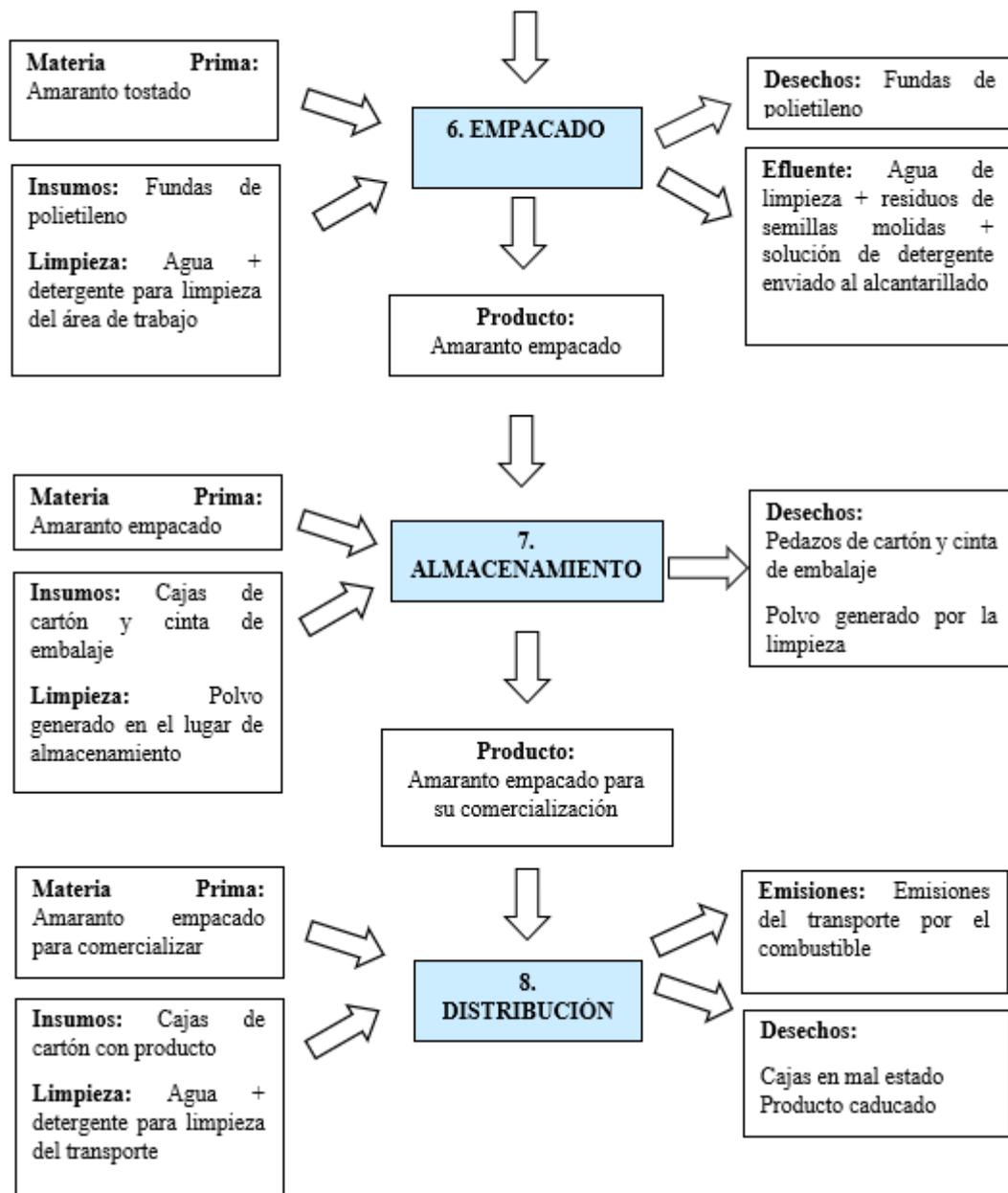
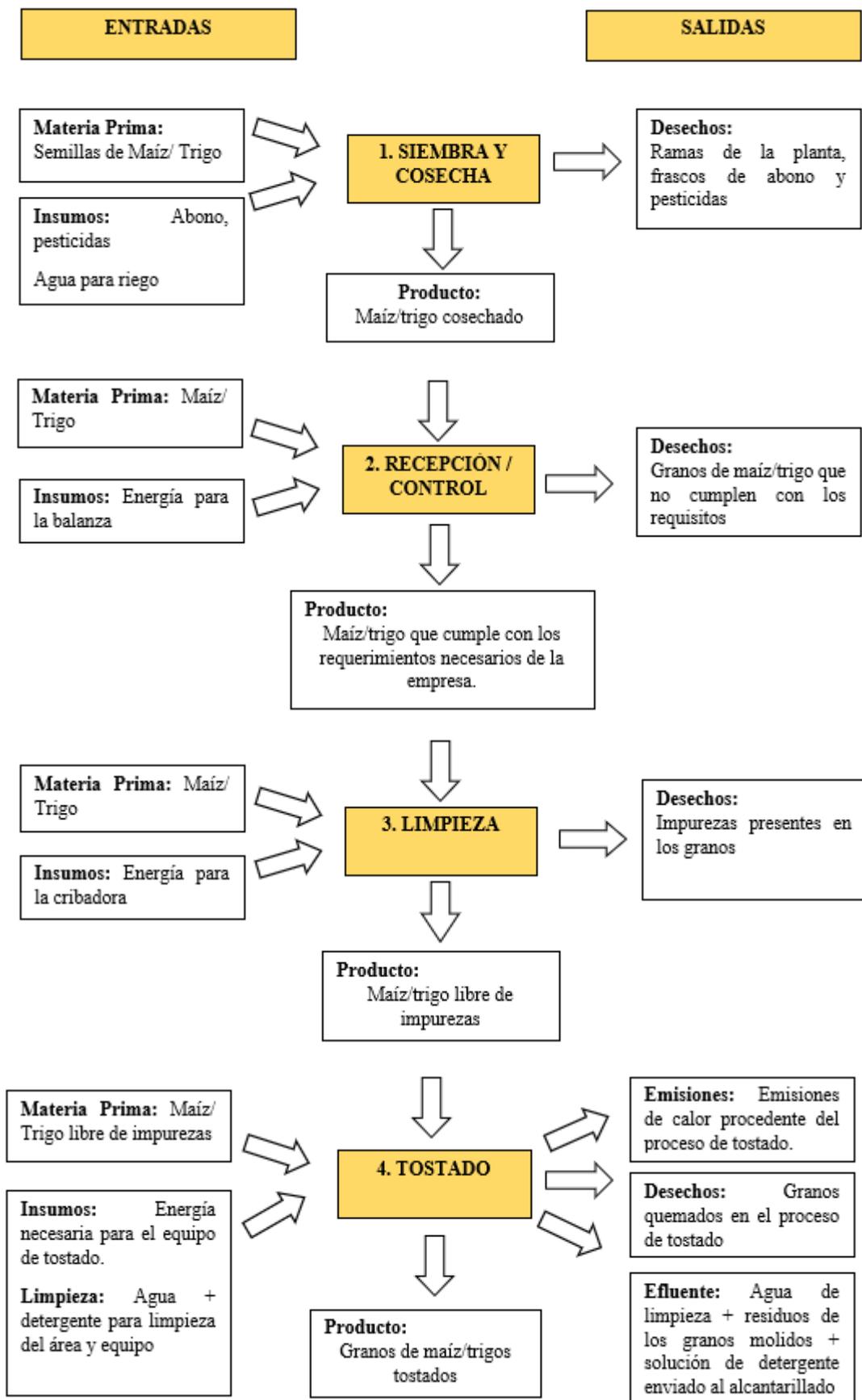


Figura 4-2: Diagrama de entradas y salidas del proceso de obtención del amaranto

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

- Harina de maíz y trigo (HM)



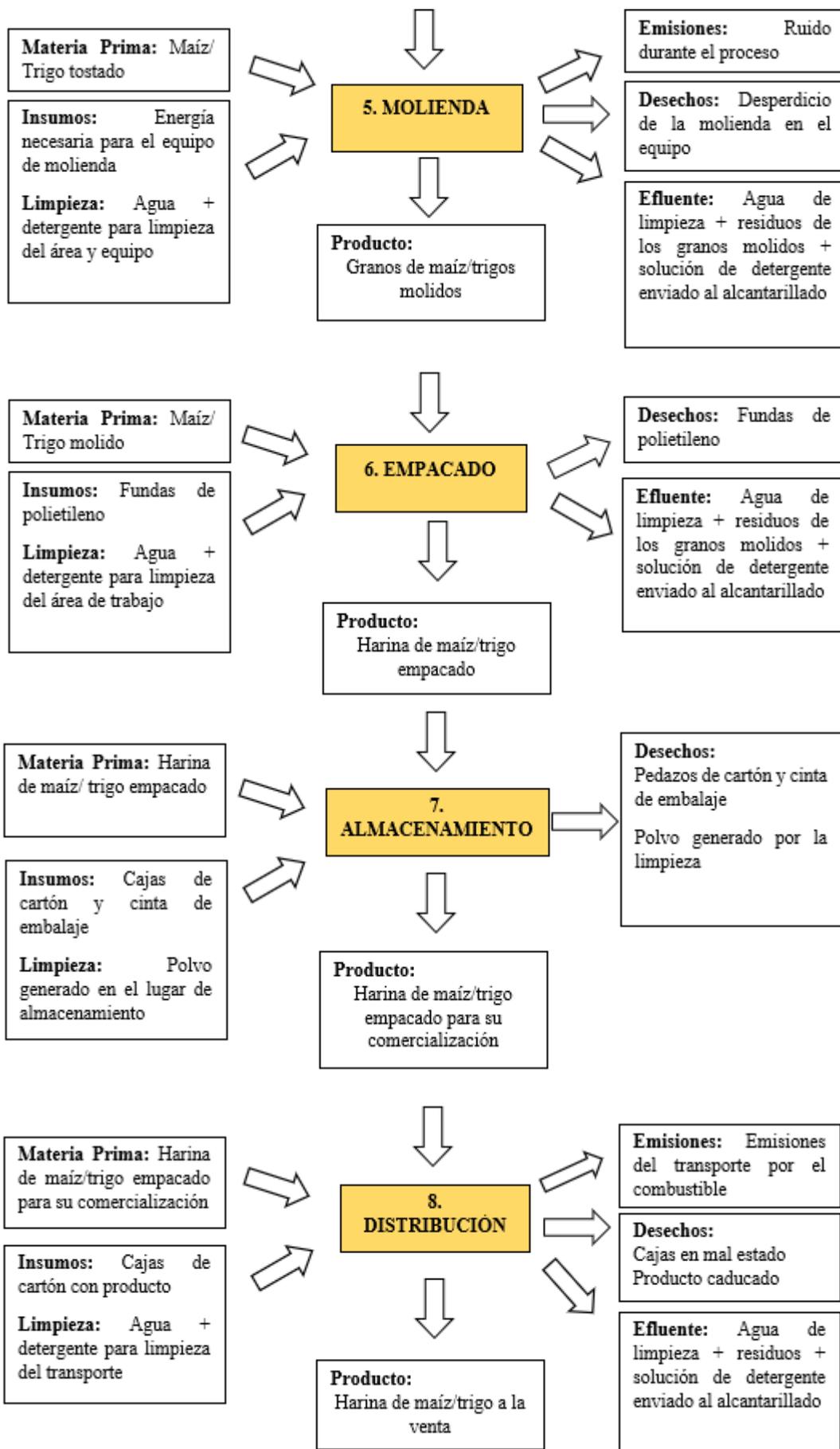


Figura 5-2: Diagrama de entradas y salidas del proceso de obtención de la harina (maíz y trigo)

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

2.5.1.3. Evaluación del impacto del ciclo de vida (EICV)

En esta fase cuantitativa y cualitativa se identificaron los efectos de las intervenciones ambientales identificadas en el inventario, para el mismo se siguió los 3 siguientes pasos:

- Selección de las categorías de impacto, indicadores de categoría y modelos.
- Clasificación/Categorización: La selección de categorías y clasificación del impacto ambiental, se registraron de acuerdo con los procesos de producción de los sustratos sólidos como se observa en la Tabla 7-2.

Tabla 7-2: Categorías de impacto ambiental

Impacto Ambiental	Clasificación
Acidificación	Productos químicos
	Agua con detergente para limpieza del área, equipos y vehículos de transporte.
Agotamiento de ozono estratosférico	Emisiones de Dióxido de Carbono
	Smog de vehículos
	Emisiones de abono o pesticidas
	Polvo generado en el área de almacenamiento
	Polvo en suspensión
	Emisiones generadas por los vehículos utilizados como transporte
Cambio climático	Energía para las maquinarias utilizadas para la producción
	Emisiones de transporte por el combustible
	Excesivo desperdicio de fundas de polietileno
	Emisiones de calor procedentes del proceso de tostado y proceso térmico
	Gases de efecto invernadero
	Desechos: cartón y cinta de embalaje
Disminución de recursos	Uso excesivo de agua
	Agua con detergente

	Agua contaminada con desechos generados por la producción de los sustratos
Destrucción de paisajes.	Desechos: ramas de la planta, tallos, malas hierbas
	Desechos: granos partidos, cáscaras, fragmentos.
Ecotoxicidad marina	Agua contaminada depositada en el alcantarillado
	Uso excesivo de detergentes
	Agua mezclada con desechos generados en la producción de los sustratos
	Desechos sólidos sin disposición final
Ecotoxicidad terrestre	Uso excesivo de plaguicidas
	Uso excesivo de fertilizantes
	Combustible para transporte y maquinarias
Efecto invernadero	Smog de vehículos
	Emisiones generadas por los vehículos utilizados como transporte
Eutrofización	Uso excesivo de detergentes
Ruido	Emisiones de ruido generados por la maquinaria
	Emisiones de ruido generados por el vehículo de transporte
	Vibraciones generadas por el transporte
Volumen de depósito en vertederos	Desechos: ramas de la planta, tallos, malas hierbas
	Desechos: semillas quemadas, semillas que no cumplen con los requisitos
	Desechos: cartón en mal estado y cinta de embalaje

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

- **Caracterización**

Para cada una de estas categorías de impacto, se modeló una matriz con los datos resultantes del AICV utilizando factores característicos, los mismos que se detallan en la Tabla 8-2, para su correspondiente calificación y evaluación.

Tabla 8-2: Ponderación para la calificación de los impactos ambientales

No.	PUNTUACIÓN	IMPACTO
1	10	Muy significativo
2	5	Significativo
3	1	No significativo

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

2.5.1.4. Interpretación

En este punto final, se determina cual es el sustrato que mayor impacto genera en el ambiente, la etapa en la que se producen las mayores cargas, la categoría a la que pertenece y se plantean propuestas para disminuir los impactos producidos.

2.5.2. Protocolo de producción de sustratos sólidos para los hongos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13

2.5.2.1. Obtención de la materia prima

Los sustratos se seleccionaron según la disponibilidad y accesibilidad de la materia prima, es por ello por lo que se tomó en cuenta: avena en hojuelas (Schullo), arrocillo, amaranto, harina de maíz y de trigo.



Figura 6-2: Avena, amaranto, arrocillo, bolitas de maíz y trigo.

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

2.5.2.2. Preparación de los sustratos

En la preparación, para eliminar la mayor cantidad de partículas ajenas a los sustratos seleccionados, se realizó el siguiente procedimiento:

- Lavado.
- Remojo.
- Secado.

Tabla 9-2: Tiempo de lavado, remojo y secado de los sustratos sólidos.

Tratamiento	Lavado	Remojo	Secado
AV	No necesita lavado.	Remojar durante 2h.	Secar durante 12h.
AZ	Lavar hasta eliminar por completo el contenido de almidón.	Remojar durante 24h.	Secar durante 12h.
AM	No necesita lavado.	Remojar durante 24h.	Secar durante 12h.
HM	No necesita lavado.	No necesita remojar.	No necesita secado.

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

- Se selló cada sustrato en doble bolsa de polietileno.
- Finalmente, las bolsas fueron esterilizadas en una autoclave.



Figura 7-2: Esterilización de sustratos y materiales.

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

2.5.2.3. Preparación del medio de cultivo

El medio de cultivo a utilizar es el Agar de Dextrosa y Papa, para la preparación de 32 cajas Petri se pesa 10g del medio y se disuelve en 250mL de agua destilada en frascos de vidrio. Posteriormente esta solución se esteriliza en la autoclave a 121°C por 15 minutos a una presión de 15psi.

En una cabina de extracción en condiciones asépticas, se deja enfriar el medio a 35°C aproximadamente sin que este se solidifique. En las bolsas de polietileno, para el sustrato avena se vierten 60mL del medio de cultivo, mientras que para los sustratos: arrozillo, amaranto y bolitas de harina (maíz y trigo) se agregaron 100mL. Finalmente, se esparcen uniformemente en las cajas Petri para ser inoculadas.

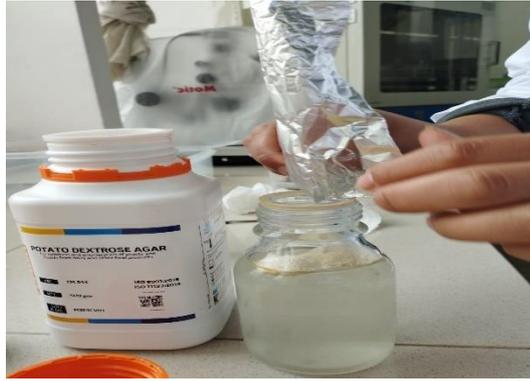


Figura 8-2: Preparación del medio de cultivo.

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

2.5.2.4. Inoculación de los sustratos

Para la inoculación de los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, se utilizó un sacabocados #4 y con la ayuda de una aguja, se extrajeron discos de aproximadamente 8mm de los hongos anteriormente aislados y se colocaron en el centro de cada uno de los sustratos. Posteriormente, se sellaron y se incubaron durante 15 días a una temperatura de 28°C.



Figura 9-2: Inoculación del hongo en los sustratos.

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

2.5.2.5. Medición de la productividad de los sustratos

A los 8 días de incubación se tomó la primera medida del desarrollo micelial de los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. A los 15 días se tomó el segundo registro de

crecimiento de los hongos entomopatógenos en los diferentes tratamientos, tomando su diámetro en centímetros (cm).

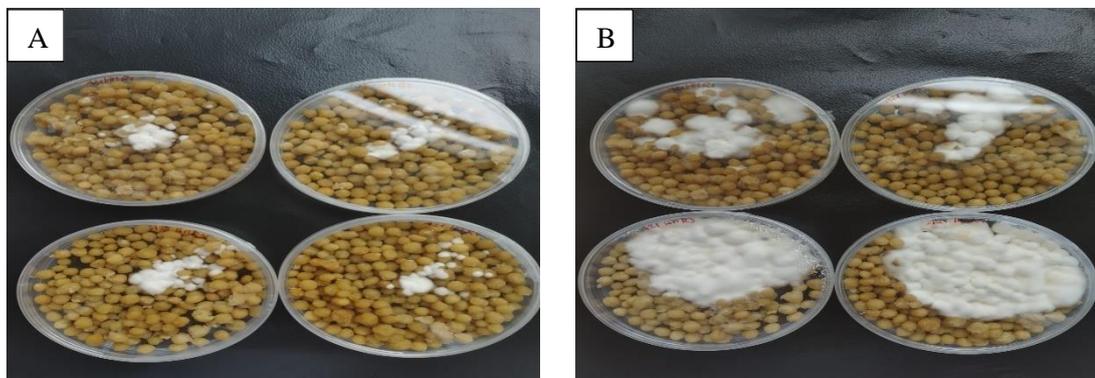


Figura 10-2: Crecimiento de *Beauveria bassiana* en sustrato HM: A) 8 días de crecimiento, B) 15 días de crecimiento.

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

2.5.3. Evaluación Ambiental, Técnica y Económica

2.5.3.1. Evaluación Ambiental

Los parámetros de valoración se dieron de acuerdo con el impacto ambiental causado por cada uno de los sustratos utilizados.

Tabla 10-2: Parámetros de calificación para la evaluación ambiental

No.	IMPACTO	RANGO	COLOR
1	Crítico	>700	
2	Moderado	401 – 700	
3	Irrelevante	<400	

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022

2.5.3.2. Evaluación técnica

Se tomó en cuenta el crecimiento de los hongos en los sustratos sólidos durante 15 días de incubación. Los porcentajes de crecimiento se establecieron en base a la caja Petri (8cm = 100%).

Tabla 11-2: Parámetros de valoración para la evaluación técnica

No.	CRECIMIENTO	UNIDADES	RANGO	COLOR
1	Excelente	%	> 60	
2	Bueno	%	40 - 60	
3	Malo	%	<40	

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

2.5.3.3. Evaluación económica

Los parámetros de valoración para la evaluación económica se dieron de acuerdo con el precio por kilogramo de la materia prima adquirida en el mercado.

Tabla 12-2: Parámetros de calificación para la evaluación económica.

No.	PRECIO	UNIDADES	RANGO	COLOR
1	Alto	usd/kg	>3	
2	Medio	usd/kg	1.50 – 3	
3	Bajo	usd/kg	< 1,50	

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

3.1. Análisis, interpretación y discusión de resultados

3.1.1. Análisis ciclo de vida de los sustratos seleccionados

Para el análisis ciclo de vida, se realizó una evaluación del impacto del ciclo de vida de los sistemas de producción de: avena, arroz partido, amaranto, harina de maíz y harina de trigo, a partir del inventario ciclo de vida previamente establecido.

Tabla 1-3: Evaluación de los impactos ambientales generados en cada etapa de producción de los sustratos

SUSTRATO	PROCESO	IMPACTO
1. AVENA	1. Siembra	97
	2. Cosecha	108
	3. Limpieza	110
	4. Descascarado	96
	5. Tratamiento térmico	79
	6. Cortado	83
	7. Laminado	52
	8. Envasado	77
	9. Distribución	124
2. ARROZ	1. Siembra	97
	2. Cosecha	103
	3. Limpieza	101
	4. Secamiento	56
	5. Trilla	91
	6. Empacado	77
	7. Distribución	124
3. AMARANTO	1. Siembra	97
	2. Cosecha	98
	3. Recepción / Control	51
	4. Limpieza	110
	5. Tostado	83
	6. Empacado	87
	7. Almacenamiento	56
	8. Distribución	124
4. HARINA DE MAÍZ Y HARINA	1. Siembra	97

	2. Cosecha	94
	3. Recepción / Control	51
	4. Limpieza	110
	5. Tostado	78
	6. Molienda	99
	7. Empacado	82
	8. Almacenamiento	52
	9. Distribución	133

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

Tabla 2-3: Sumatoria total de los impactos ambientales generados por los sistemas de producción

Sustrato	Impacto
AV	826
AZ	649
AM	706
HM	796

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

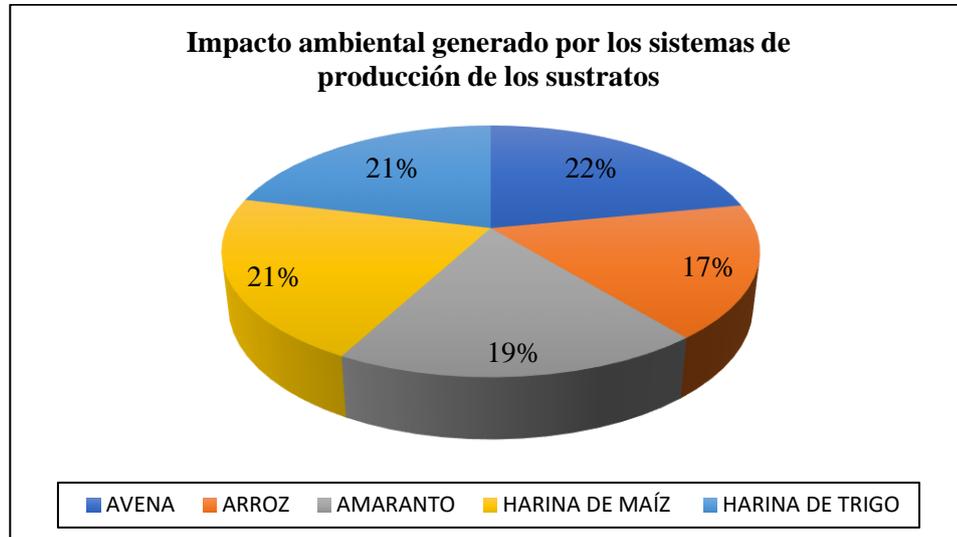


Gráfico 1-3: Comparación del impacto ambiental generado por los sistemas de producción

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

En la tabla 1-3, se determinó que la avena genera un mayor impacto ambiental en sus etapas de producción con un impacto de 826/1000 puntos, lo cual abarca el 22 %, seguido de la producción de harina de maíz y harina de trigo con un 21 % respectivamente; en cuarto lugar, se sitúa la

producción de amaranto con 19 % de impacto ambiental y por último la producción de arroz con un 17 % de participación.

Tabla 3-3: Evaluación de las categorías de impacto ambiental generados por la producción de los sustratos

CATEGORÍAS	AV	AZ	AM	HM
Acidificación	49	45	47	49
Agotamiento de ozono estratosférico	151	135	168	178
Cambio climático	170	117	131	147
Disminución de recursos	63	57	64	85
Destrucción de paisajes.	58	40	29	44
Ecotoxicidad marina	72	57	51	63
Ecotoxicidad Terrestre	63	39	42	45
Efecto invernadero	36	32	34	36
Eutrofización	18	16	17	18
Ruido	85	56	55	52
Volumen de depósito en vertederos	64	55	68	79

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

En la tabla 3-3 se detallan los valores obtenidos en función de las intervenciones ambientales generadas por cada uno de los sistemas de producción de los sustratos: avena, arroz, amaranto, harina de maíz y harina de trigo.

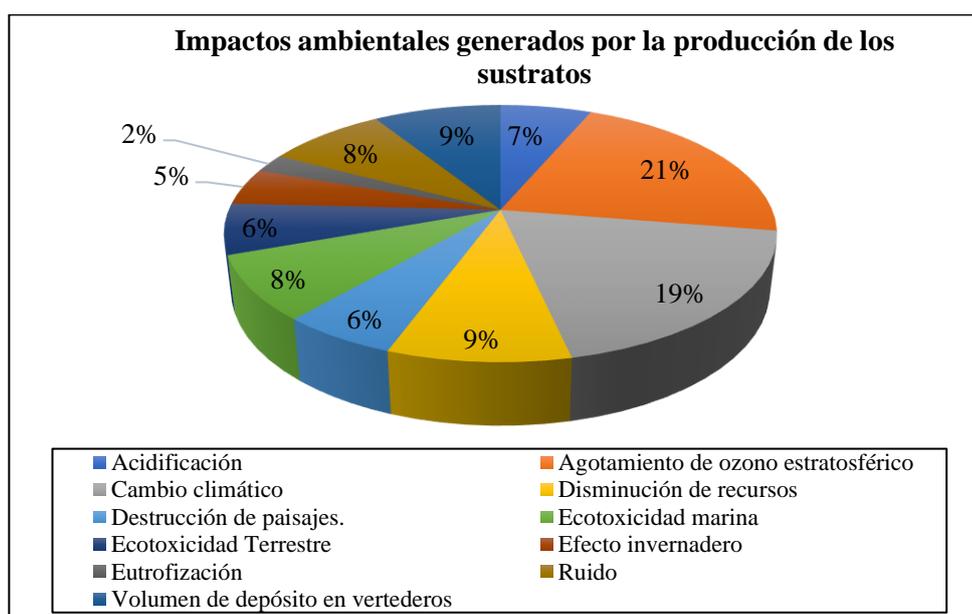


Gráfico 2-3: Evaluación porcentual de los efectos generados por la producción de avena, arroz, amaranto, harina de maíz y trigo

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

El gráfico 2-3, expresa los porcentajes de los impactos ambientales ocasionados por la producción de los sustratos, en donde se puede apreciar que el agotamiento de ozono estratosférico, con un valor del 21% es el más relevante dentro de las categorías de estudio. Esto debido a que, dentro de las etapas de obtención de avena, arroz partido, amaranto, harina de maíz y harina de trigo, se lleva a cabo procesos de suministro de plaguicidas y fertilizantes químicos, los cuales según Camacho López et al. (2019, p. 1), ocasionan el deterioro de la capa de ozono, por la presencia de óxidos de nitrógeno, bromo y cloro. También se encuentra el transporte para la movilidad de las materias primas y la distribución de los sustratos, donde Iglesias et al. (2005, p. 25), expone que generan emisiones de los motores de combustión y se posiciona en el primer lugar como contaminador atmosférico y consumidor de energía.

3.1.2. Producción de los hongos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en los sustratos sólidos

Se registraron los datos de crecimiento de los hongos *Beauveria bassiana* A21, en la tabla 4-3 y *Metarhizium anisopliae* A13, en la tabla 5-3, en los distintos sustratos sólidos, cada 8 días, durante dos semanas.

Tabla 4-3: Registro de crecimiento de *Beauveria bassiana* A21 en los distintos tratamientos sólidos

PRIMERA SEMANA				
Tratamiento Réplica	R1 (cm)	R2 (cm)	R3 (cm)	R4 (cm)
AV	4,5	1,8	3,5	3,3
AZ	1,1	5,1	4,5	4,7
AM	1,8	1,1	1,4	2,3
HM	1,4	2,1	2,8	3,1
SEGUNDA SEMANA				
AV	4,9	2,5	3,7	4,0
AZ	1,4	6	5,3	5,6
AM	2,6	1,2	1,5	2,4
HM	2,7	2,8	3,0	3,3

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

Tabla 5-3: Registro de crecimiento de *Metarhizium anisopliae* A13 en los distintos tratamientos sólidos

PRIMERA SEMANA				
Tratamiento Réplica	R1 (cm)	R2 (cm)	R3 (cm)	R4 (cm)
AV	5,0	3,8	4,5	4,0
AZ	3,3	5,0	4,1	3,5
AM	1,8	2,1	1,6	1,7
HM	1,6	2,1	1,8	1,9
SEGUNDA SEMANA				
AV	7,0	4,4	5,5	4,8
AZ	4,1	5,9	4,6	4,1
AM	2,3	2,6	2,1	2,1
HM	2,3	3,3	2,8	2,2

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

Los promedios de producción de los hongos entomopatógenos en los 4 tratamientos, se detallan en la tabla 6-3 y tabla 7-3.

Tabla 6-3: Promedio de producción del hongo *Beauveria bassiana* A21 en los distintos tratamientos

Tratamiento	Promedio (cm)
AV	3,5
AZ	4,2
AM	1,8
HM	2,6

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

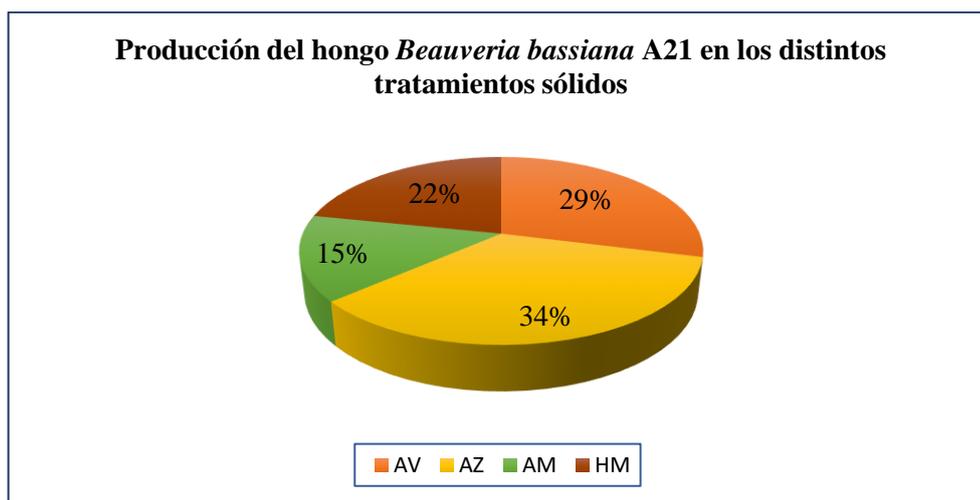


Gráfico 3-3: Producción del hongo *Beauveria bassiana* A21

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

Del gráfico 3-3, se constata que el tratamiento con mayor producción para el hongo *Beauveria bassiana* A21, es el AZ con una media de 4,2cm que representa un 34%, seguido del AV en el cual se dio un crecimiento de 3,5cm que es el 29%, mientras que el HM alcanzó un promedio de 2,6cm con un 22%, por último, el AM con un crecimiento de 1,8cm abarca el 15% y es el tratamiento menos productivo.

Estos resultados están relacionados con los expuestos por Rodríguez Gámez, et al. (2017, p. 741) quien describe que, para la producción del hongo *Beauveria bassiana*, se usa comúnmente el grano de arroz como sustrato sólido para un adecuado crecimiento micelial. A su vez, en el mismo estudio se empleó la avena, debido a su alto valor nutricional, resultando en un excelente sustrato para el crecimiento y esporulación.

Tabla 7-3: Promedio de producción del hongo *Metarhizium anisopliae* A13 en los distintos tratamientos

Tratamiento	Promedio (cm)
AV	4,9
AZ	4,3
AM	2,0
HM	2,2

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

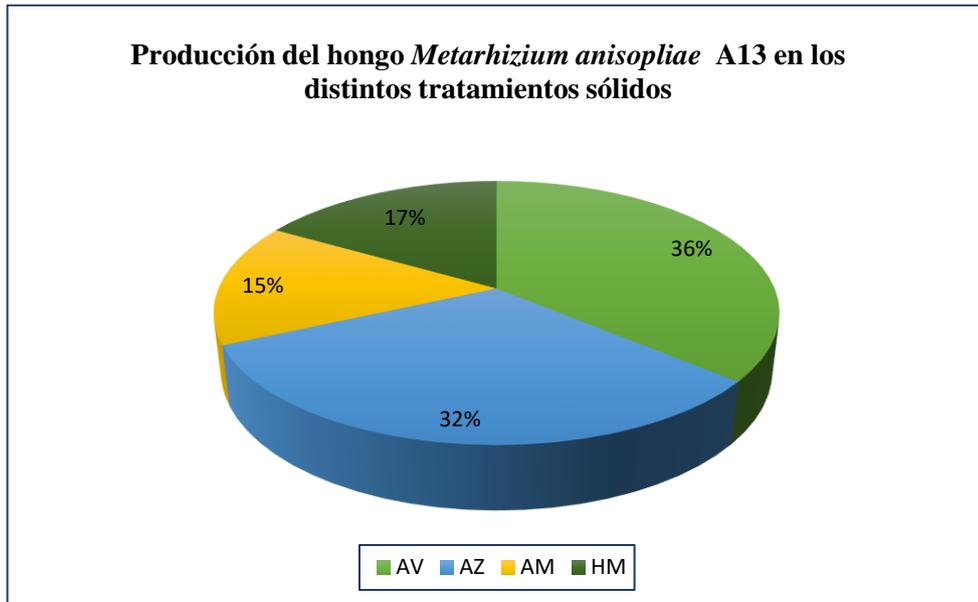


Gráfico 4-3: Producción del hongo *Metarhizium anisopliae* A13

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

En el gráfico 4-3 podemos observar que el sustrato idóneo para el crecimiento óptimo del *Metarhizium anisopliae* A13 es la AV, ya que presenta una media de 4,9 equivalente al 36%, sin embargo, el AZ también es un sustrato potencial para el crecimiento, debido a que obtuvo un crecimiento del 4,3 que representa al 32%, mientras que el HM alcanzó un promedio de 2,2 con un 17%, por último, el AM con un crecimiento de 2,0 representando el 15%, siendo así el tratamiento menos productivo.

Estos resultados concuerdan con los datos obtenidos por Javier, et al. (2013, p. 48), ya que este estudio también indica que el sustrato que permitió la mayor producción de esporas del hongo *Metarhizium anisopliae* fue en el sustrato compuesto por arroz + harina de maíz + caña de azúcar triturada, siendo el ingrediente principal el arroz, debido a que dio como resultado un promedio elevado de crecimiento a diferencia de los demás sustratos utilizados en el bioensayo.

3.1.3. Evaluación técnica, económica y ambiental los sustratos seleccionados

Tabla 8-3: Evaluación ambiental de los sustratos seleccionados

Sustrato / Parámetro	Puntuación	Impacto	Valoración
AV	826	Crítico	
AZ	649	Moderado	

AM	706	Moderado	
HM	796	Moderado	

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

La tabla 8-3, nos indica que los sustratos AZ, AM y HM mantienen su impacto ambiental moderado, ya que, al ser todos cereales utilizan etapas parecidas para la producción de estos, por otro lado, el sustrato que genera el mayor impacto ambiental es la AV, esto debido a que, a más de usar excesivos compuestos químicos en los cultivos, conlleva más procesos para la producción de esta, llegando así a contaminar suelo, aire y agua.

Tabla 9-3: Evaluación técnica de los sustratos seleccionados con *Beauveria bassiana* A21

Tratamiento Parámetro	Tiempo (días)	Crecimiento (%) <i>Beauveria bassiana</i>	Valoración
AV	15	44%	
AZ	15	53%	
AM	15	18%	
HM	15	33%	

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

La tabla 9-3, nos muestra que el hongo *Beauveria bassiana* A21 obtuvo un mejor crecimiento en el AZ, esto debido a que, este sustrato proporciona una variedad de nutrientes, los mismo que favorecen la mayor producción de conidios, seguidamente está la AV, porque al ser un cereal también presenta requerimientos nutricionales para su crecimiento y esporulación, por otro lado, están la HM y AM, los mismos que presentaron un crecimiento malo, ya que, su compactación luego de la esterilización e inoculación no permitieron obtener los resultados esperados.

Tabla 10-3: Evaluación técnica de los sustratos seleccionados con *Metarhizium anisopliae* A13

Tratamiento Parámetro	Tiempo (días)	Crecimiento (%) <i>Metarhizium anisopliae</i>	Valoración
AV	15	61%	
AZ	15	54%	
AM	15	25%	
HM	15	28%	

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

En la Tabla 10-3, podemos apreciar que el mejor sustrato para un crecimiento excelente del *Metarhizium anisopliae* A13 es la AV, porque según (Rodriguez et al., 2017), es el sustrato más completo y de más alto valor nutricional, ya que es rica en carbohidratos complejos, vitaminas

del complejo B, minerales y aminoácidos como leucina, treonina, isoleucina y metionina que son imprescindibles para la esporulación, en segundo lugar está el AZ, que presenta un crecimiento bueno para el hongo, ya que también cumple con los requerimientos necesarios, por último se encuentran la HM y el AM, presentando un crecimiento deficiente.

Tabla 11-3: Matriz de evaluación económica de los sustratos seleccionados

Sustrato / Parámetro	Cantidad (Kg)	Precio (usd)	Valoración
AV	1 kg	5.50	
AZ	1 kg	1.00	
AM	1 kg	1.97	
HM (harina de maíz)	1 kg	1.20	
HM (harina de trigo)	1 kg	1.40	

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

En la tabla 11-3 podemos observar que el sustrato más económico es el AZ, sin embargo, la harina de trigo y maíz se mantienen dentro del rango de precios bajos, seguidamente está el AM con un valor medio, esto debido a que alcanza los 2 usd, por último, podemos observar que el sustrato que presenta un valor económico alto es el AV, ya que sobrepasa los 5 usd.

Tabla 12-3: Matriz de evaluación ambiental, técnica y económica de los sustratos seleccionados

Sustrato / Evaluación	Ambiental	Técnica (A21)	Técnica (A13)	Económica
AV				
AZ				
AM				
HM				

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

La tabla 12-3, nos muestra que el mejor sustrato obtenido de la evaluación ambiental, técnica y económica es el AZ, esto debido a que su generación de impacto ambiental es moderada, es decir que, en el ACV realizado no presentó una contaminación de mayor afectación en el suelo, aire y suelo como los demás sustratos estudiados, a más de ello, por su valor nutricional coincidió dando muy buenos resultados de crecimiento para los dos hongos: *Beauveria bassiana* A21 y

Metarhizium anisopliae A13, por último, en la parte económica es el sustrato que menor precio en el mercado tiene, ya que su valor comercial no sobrepasa el 1 usd a diferencia de los demás sustratos, el segundo sustrato óptimo es la AV, que a diferencia de los demás presenta un impacto crítico debido a que en su producción conlleva más etapas, por ende genera más contaminación, a más de ello, solo fue óptima para el crecimiento del *Metarhizium anisopliae* A13, este sustrato contiene el valor comercial más alto de todos los sustrato, ya que sobrepasa los 5 usd, por ultimo están los sustratos HM y AM, que tienen las mismas características ambientales, técnicas y económicas.

CONCLUSIONES

- El análisis ciclo de vida de los sustratos: avena, arrocillo, amaranto, harina de maíz y harina de trigo, se realizó siguiendo la metodología establecida por la norma ISO 14040. Se definieron inventarios de entradas y salidas de cada sistema y se evaluaron los impactos ambientales, destacando que, la fase de distribución es la que tiene mayor influencia dentro de las etapas del proceso producción de los sustratos y está ligada directamente al agotamiento de ozono estratosférico debido a los gases de efecto invernadero. Finalmente, se determinó que el sustrato que causa mayor impacto ambiental es la avena, ya que, por ser de una marca específica (Schullo), tiene más procesos en la elaboración de empaçado, y la distribución masiva a cadenas de supermercados, por lo cual se eleva el impacto ambiental.
- Se estableció un protocolo de producción *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en los sustratos sólidos seleccionados, el mismo que fue realizado en un formato estructurado de manera básica y legible para el público en general, donde se presentó técnicas, procedimientos y recomendaciones para una correcta ejecución en la producción de los hongos entomopatógenos. Se concluyó que el mejor sustrato para la producción de *Beauveria bassiana* fue AZ, con un crecimiento de 4,2cm representando el 54%; mientras que para *Metarhizium anisopliae* el mejor tratamiento fue AV con un crecimiento de 4,9cm el cual representa el 36%. Estos valores permiten considerar que la concentración de esporas de cada hongo está dentro de los parámetros requeridos para la comercialización como un bioformulado. Por tal razón, se acepta la hipótesis alternativa, ya que el diseño e implementación de un protocolo de producción de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* aportó favorablemente en el crecimiento de estos en los sustratos seleccionados.
- De la evaluación ambiental, técnica y económica de los sustratos, se concluye que el arroz partido o arrocillo es el sustrato sólido óptimo para la elaboración de bioformulados, esto debido a que su producción representa un impacto ambiental moderado, es de fácil manipulación dentro del laboratorio y tiene buenos resultados para el crecimiento de los hongos entomopatógenos; adicionalmente, es económicamente viable y accesible a comparación de los otros sustratos.

RECOMENDACIONES

- Realizar los ACV de los sustratos a utilizar para la producción de los hongos entomopatógenos, para evaluar su impacto ambiental y elegir el más acertado.
- Llevar a cabo estudios similares que analicen el uso de residuos agroindustriales fácilmente disponibles para la producción masiva de hongos entomopatógenos.
- Producir masivamente conidios de *Beauveria Bassiana* y *Metarhizium anisopliae* a escala semiindustrial con adición de sustratos de alto valor nutritivo, para lograr un incremento significativo en la producción accesible, económica y de fácil manejo.
- Evaluar la efectividad de los bioformulados de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en campo con el fin de corroborar su efecto como controladores biológicos de insectos.
- Finalmente, seguir aislando y conservando hongos entomopatógenos para preservar la bioseguridad de los insectos no objetivos (insectos beneficiosos) en sus hábitats naturales y formar una micoteca en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Recursos Naturales.

BIBLIOGRAFÍA

AGRIOS, G. "Plant Pathology". . New York: 1997.

ALARCÓN, Erika Andrea et al. "Desarrollo y escalamiento de bioplaguicidas". , (2018), pp. 628-691.

ALEAN CARREÑO, I. "Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. Tesis (Microbióloga Agrícola y Veterinaria)". , (2003).

ALVES, S. *Fungos entomopatogênicos*. 2. Brasil: Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ. 1998.

AMBIENTAL, Gestión et al. "Nte Inen-Iso 14040". , (2014).

AMERIO, Natalia S. et al. "Trichoderma en la Argentina: Estado del arte". *Ecología Austral*, vol. 30, no. 1, (2020), pp. 113-124. ISSN 0327-5477. DOI 10.25260/EA.20.30.1.0.945.

AMES, T. & CAÑEDO, V. *Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos*. Lima: International Potato Center (CIP). 2004. ISBN 9290602384.

ARANGO, Alejandro et al. "Análisis de ciclo de vida en el sector agrícola:el caso del municipio de Viotá, Cundinamarca(Colombia)". *Ambiente y Desarrollo*, vol. 18, no. 35, (2014), pp. 117. ISSN 0121-7607. DOI 10.11144/javeriana.ayd18-35.acvs.

ASAFF, T.A. et al. "Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas". *Avance y perspectiva*, vol. 21, (2002), pp. 291-295.

AUSTRAL GRANOS. "Ficha Técnica de Hojuela de Avena Grano Entero". . Chile: 2015.

BACA, Gabriel. "EVALUACIÓN ECONÓMICA". En: UNAM (ed.), *Evaluación de proyectos. Análisis y Administración del Riesgo*. 3. Mexico D.F: Mc. Graw Hill, [sin fecha]. pp. 120-150.

BECERRA, E. & TUÑOQUE, Y. "INFLUENCIA DE LA VARIEDAD DE TRIGO (*Triticum aestivum*) SOBRE LA CALIDAD PANADERA DE LA HARINA PRODUCIDA EN LA EMPRESA ALIMENTA PERÚ S.A.C." . , (2018), pp. 8.

BERMÚDEZ, Jose. *Evaluación de Beauveria bassiana (Bals.) Vuill y Metarhizium anisopliae (Metstch) Sorok en el combate de Imatidium neivai Bondar en palma africana (Elaeis guineensis Jacq.)*. S.l.: Universidad Técnica de Manabí. 2016.

BETTIOL, Wagner et al. *Control Biológico de Enfermedades de Plantas en América Latina y el Caribe*. S.l.: s.n. 2010. ISBN 9789974010918.

BIOENCICLOPEDIA. "Avena, Información y Características " . . 2015.

BIOLOGY ONLINE. "Suspension Definition and Examples". *BiologyOnline*. 2021.

BRESSANI, Ricardo et al. "Caracterización física y química de harinas industriales nixtamalizadas de maíz de consumo humano en América Central". *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, vol. 51, no. 3, (2001), pp. 309-313. ISSN 0004-0622.

CACHIMUEL, Alexander. "Protocolo para el procesamiento de harinas con valor nutricional mediante el uso de productos con identidad territorial (PIT's)". *ECOPAR*, (2018), pp. 28-38.

CHAMORRO, Franklin. *Evaluación del amaranto (Amaranthus caudatus L.) en dos sistemas de labranza con cuatro niveles de fertilización nitrogenada*. S.l.: UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR. 2019.

CHICAIZA VACA, MIGUEL ÁNGEL. "DISEÑO DE UNA PLANTA PRODUCTORA DE BARRAS ENERGÉTICAS CON BASE A QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd), AMARANTO (*Amaranthus caudatus*) Y UVILLA (*Physalis peruviana* L.)". *Escuela Politécnica Nacional Facultad De Ingeniería Química Y Agroindustria*, (2018), pp. 44.

CHIRIBOGA, Hernan et al. *Beauveria Bassiana, hongo entomopatígeno para el control biológico de hormigas cortadoras*. S.l.: s.n. 2015. ISBN 9789292485924.

DE SINIBALDI, A.C.B. & BRESSANI, R. "Características de cocción por nixtamalización de once variedades de maíz". *Arch. Latinoamericanos Nutr.*, vol. 51, (2001), pp. 86-94.

DEVINE, Gregor J. et al. "USO DE INSECTICIDAS: CONTEXTO Y CONSECUENCIAS ECOLÓGICAS INSECTICIDE USE: CONTEXT AND ECOLOGICAL CONSEQUENCES". *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. S.l.: 2008.

ESPINOZA, Carolina & VALLEJOS, Lorena. "Desarrollo de formulaciones bioplaguicidas a base de *Beauveria bassiana* (Bals & Vuils) con materiales sólidos y líquidos". , (2016), pp. 1-46.

FAO. "Resistencia a los antiparasitarios: estado actual con énfasis en América Latina". . Roma: 2003.

FEDNA. "Arroz partido". . [sin fecha].

FERNÁNDEZ, Fabián Felipe et al. "Bioformulado de *Beauveria bassiana* (ATCC MYA-4886) y *Trichoderma lignorum* (ATCC-8751) como biocontrolador de *Atta cephalotes*". *Entramado*, vol. 15, no. 1, (2019), pp. 288-296. ISSN 2539-0279. DOI 10.18041/1900-3803/entramado.1.5417.

FERNÁNDEZ, J. *Evaluacion de la actividad biopesticida del hongo entomopatogeno Beauveria bassiana sobre la broca del cafe (Hypothenemus hampei)*. S.l.: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA. 2020.

FRAGAS, Ivis et al. "Formulación de hongos entomopatógenos como control biológico". *Engromix*, no. 10, (2007).

FRANCE, Andrés et al. "Hongos entomopatógenos". *INIA La Cruz*. Valparaíso: 2016.

FUNDACIÓN TIERRA. "El amaranto, superalimento ". *Terra Ecología práctica*. 2014.

GARCÉS, Emira et al. "Morfología y Clasificación de los Hongos". *Departamento De Biología Facultad De Ciencias Universidad Nacional De Colombia*, (2015), pp. 01-103.

GAROLERA, L. Patricia et al. "El análisis de ciclo de vida : de la cuna a la tumba". , vol. 34, no. 4, (2012), pp. 1-8.

GÓMEZ, H. et al. "Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos". *Servicio Nacional de Sanidad Agrícola (SENASA)*, (2014), pp. 37.

GOULI, Svetlana. "green muscardine of insects, *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Nectriaceae)". *Universidad de Georgia*. 2018.

GRUPO LA SANTINA. "Harina de maiz". . Buenos Aires: [sin fecha].

GUERRA, Matias & CASTRO, Jean Franco. "Evaluación de viabilidad de microorganismos". *Boletín INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias*, no. 428, (2020), pp. 139-153.

GUILLAMÓN, Eva et al. "Edible mushrooms: Role in the prevention of cardiovascular diseases". *Fitoterapia*, vol. 81, no. 7, (2010), pp. 715-723. ISSN 0367326X. DOI 10.1016/j.fitote.2010.06.005.

HEALTHCARE, S... "Harinas: tipos y guía de usos". *WebConsultas*. 2022.

HELLER, M. & KEOLEIAN, G. *Life Cycle-Based Sustainability Indicators for Assessment of the U.S. S.I.: Food System*. 2000.

HOYOS, Jorge García. "Evaluación económica, financiera y social ¿Cuáles son sus diferencias?". *Equilibrio Económico*, vol. 4, no. 1, (2008), pp. 77-82.

INDUSTRIAS RALDA. "Arroz partido y tipos de arroz partido". *Industrias Ralda Materias Primas para alimentación animal*. 2016.

INFOAGRO. "Tipos de sustratos". . 2015.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Environmental management - Life Cycle Assessment - iso 14040. Ginebra. 2006.

ISAAC, S. *Fungal Plant Interactions*. 1. London: Chapman and Hall. 1992. ISBN 978-0412364709.

JÁCOME, Hugo et al. "Boletín Mensual de Análisis Sectorial de MIPYMES No. 3 Sector Agroindustrial". *FLACSO MIPRO*, (2010), pp. 5-6.

JENKINS, N.E. et al. "Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycopesticides". *Biocontrol News and Information*, vol. 19, (1998). DOI <https://hdl.handle.net/10568/95992>.

JOSÉ ZARUMA. *IMPACTO CAUSADO EN LA FERTILIDAD DEL SUELO POR APLICACIÓN DE PRÁCTICAS AGRICOLAS EN LOS TERRENOS DE LA COOPERATIVA JESUS OBRERO EN EL CANTON CAÑAR. AÑO 2010*. Quevedo: UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO. 2010.

KHACHATOURIANS, George G. & QAZI, Sohail S. "Entomopathogenic Fungi: Biochemistry and Molecular Biology". *Human and Animal Relationships*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2008. pp. 33-61.

KUHAR, Francisco et al. "Reino Fungi: morfologías y estructuras de los hongos". *BOLETÍN BIOLÓGICA*, vol. 7, no. 28, (2013), pp. 18.

KUNO, G. et al. *Patología de Insetos con énfasis en las enfermedades infecciosas y sus aplicaciones en el control biológico*. 2. Cali: Universidad del Valle. 1982.

LIRA, A. et al. "¿Qué es el análisis de ciclo de vida?". *Unidades de Apoyo para el Aprendizaje. CUAED/Facultad de Arquitectura-UNAM*. 2019.

MAMANI DE MARCHESE, A. & FILIPPONE, M.P. "Bioinsumos: componentes claves de una agricultura sostenible". *Agron. Noroeste Argent*, vol. 1, (2018), pp. 9-21. ISSN 2314-369X.

MANANGÓN, Pablo. "Evaluación de siete variedades de trigo (*triticum aestivum* L.) con tres tipos de manejo nutricional, a 2890 m.s.n.m. Juan Montalvo-Cayambe-2012". *Universidad Politécnica Salesiana*, (2014), pp. 26-111.

MÉNDEZ, G. et al. "Chemical composition and calorimetric characterization of hybrids and varieties of maize cultivated in México". *Agrociencia*, vol. 39, no. 3, (2005). ISSN 14053195.

MENÉNDEZ, Juan. "Deuteromycetes". *Asturnauta*. 2014.

MERCHAN, Diana et al. "Análisis del desarrollo de la agroindustria en el Ecuador.". *Artículo Revista de Estrategias del Desarrollo Empresarial Diciembre*, vol. 3, no. 10, (2017), pp. 19-24.

MESA LABS. "Spore Suspensions ". *Mesa Labs*. 2022.

MINISTERIO DE PRODUCCIÓN COMERCIO EXTERIOR INVERSIONES Y PESCA. "Libro Blanco de Economía Circular de Ecuador". *Ministerio de Producción, Comercio Exterior, Inversiones y Pesca*, vol. 1, no. 9, (2021), pp. 1-211. ISSN 1098-6596.

MOTTA, Pablo & MURCIA, Betselene. "Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas". *Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, vol. 6, no. 2, (2011), pp. 77-90. ISSN 1980993X. DOI 10.4136/ambi-agua.187.

NARVAEZ, Oscar E. *FORMULACIÓN Y EVALUACIÓN DE PROYECTOS*. Bogotá: Escuela Superior de Administración Pública. 2009.

NATURAL DIETÉTICA. "Harina de Maiz". En: G. BALINT, B. ANTALA, C. CARTY, J.-M.A. MABIEME, I.B. AMAR y A. KAPLANOVA (eds.), *NATURAL DIETÉTICA*. 2013.

NAVARRO, Omar. *Micología Veterinaria*. 1. Managua: s.n. 2013. ISBN 9789992410240.

PEREVOCHTCHIKOVA, María. *La situación actual del sistema de monitoreo ambiental en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México / The Current Status of Environmental Monitoring in the Mexico City Metropolitan Zone*. S.l.: s.n. 2009. ISBN 3122153300.

PIEDRA, Gigi et al. "Análisis De Productividad Del Banano Convencional En La Finca Niño David Del Cantón El Guabo, Provincia De El Oro". *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, vol. 4, (2021), pp. 67-73. ISSN 2631-2662.

PONCE, Juan Carlos et al. "Optimización de la concentración de la alfa-amilasa y lactosuero en el mejoramiento de las características tecnológicas, nutricionales y sensoriales del pan francés". *Agroindustrial Science*, vol. 6, (2016), pp. 185-194.

QUEZADA, Walter D. et al. *DESARROLLO SOSTENIBLE DE LA AGROINDUSTRIA PANELERA: Análisis socioeconómico, técnico y ambiental*. 1. Guayaquil: COMPÁS. 2021. ISBN 9789942334428.

RAMOS, Julián et al. "Fermentación En Estado Sólido (I). Producción De Alimento Animal". *Tecnología Química*, vol. XXVII, no. 3, (2007), pp. 17-22. ISSN 0041-8420.

RODRIGUEZ, Luis et al. "EVALUATION OF NATURAL SUBSTRATES FOR PRODUCTION OF CONIDIA OF *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. (HYPOCREALES: CORDYCIPTACEAE) IN BIPHASIC CULTURE". *Interciencia*, vol. 42, no. 11, (2017), pp. 739-743. ISSN 0378-1844 J9 - INTERCIENCIA JI - Interciencia.

RODRÍGUEZ, Luis et al. "Evaluación de sustratos naturales para la producción de conidios de *beauveria bassiana* (bals.) vuill. (hypocreales: Cordycipitaceae) en cultivo bifásico". *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*, vol. 42, no. 11, (2017), pp. 739-743. ISSN 0378-1844.

SALINAS-MORENO, Y. et al. "Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados". *Agrociencia*, vol. 37, (2003), pp. 617-628.

SAMSON, R. et al. *Introduction to food-borne fungi*. 2. Holanda: Central Bureau voor Schimmelcultures, Institute of the Royal Netherlands, Academy of Arts and Sciences. 1984. ISBN 9070351161 9789070351168.

SHELTON, Scott. "Sweating High Humidity". *Greenhouse Product News*, (2005).

VERA, Álvaro. "PRODUCTOS AGROINDUSTRIALES ". *Ingenieríaagroindustrial*. 2011. YAILET, Editora :. & CARVAJAL, Albornas. "Octubre-Diciembre". . S.l.: 2016.

ANEXOS

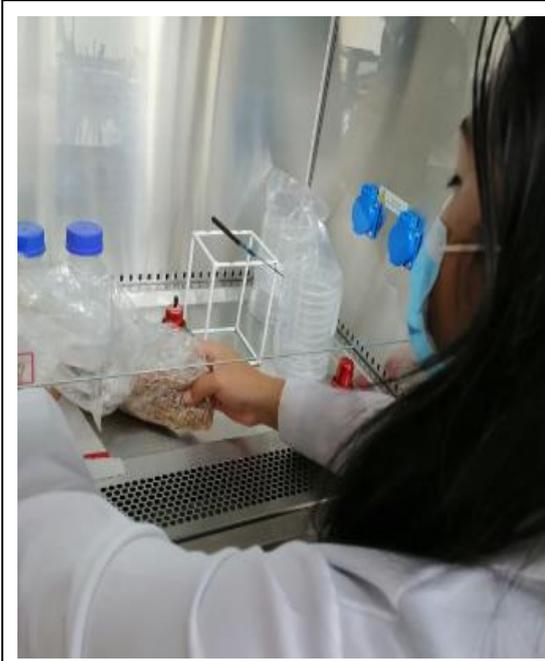
ANEXO A: RECEPCIÓN, LAVADO Y SECADO DE LOS SUSTRATOS SÓLIDOS

ARROCILLO		AMARANTO	
			
AVENA		BOLITAS DE MAIZ/TRIGO	
			

ANEXO B: ESTERILIZACIÓN Y PREPARACIÓN DEL PDA



ANEXO C: COLOCACIÓN DE PDA EN LOS SUSTRATOS ESTERILIZADOS



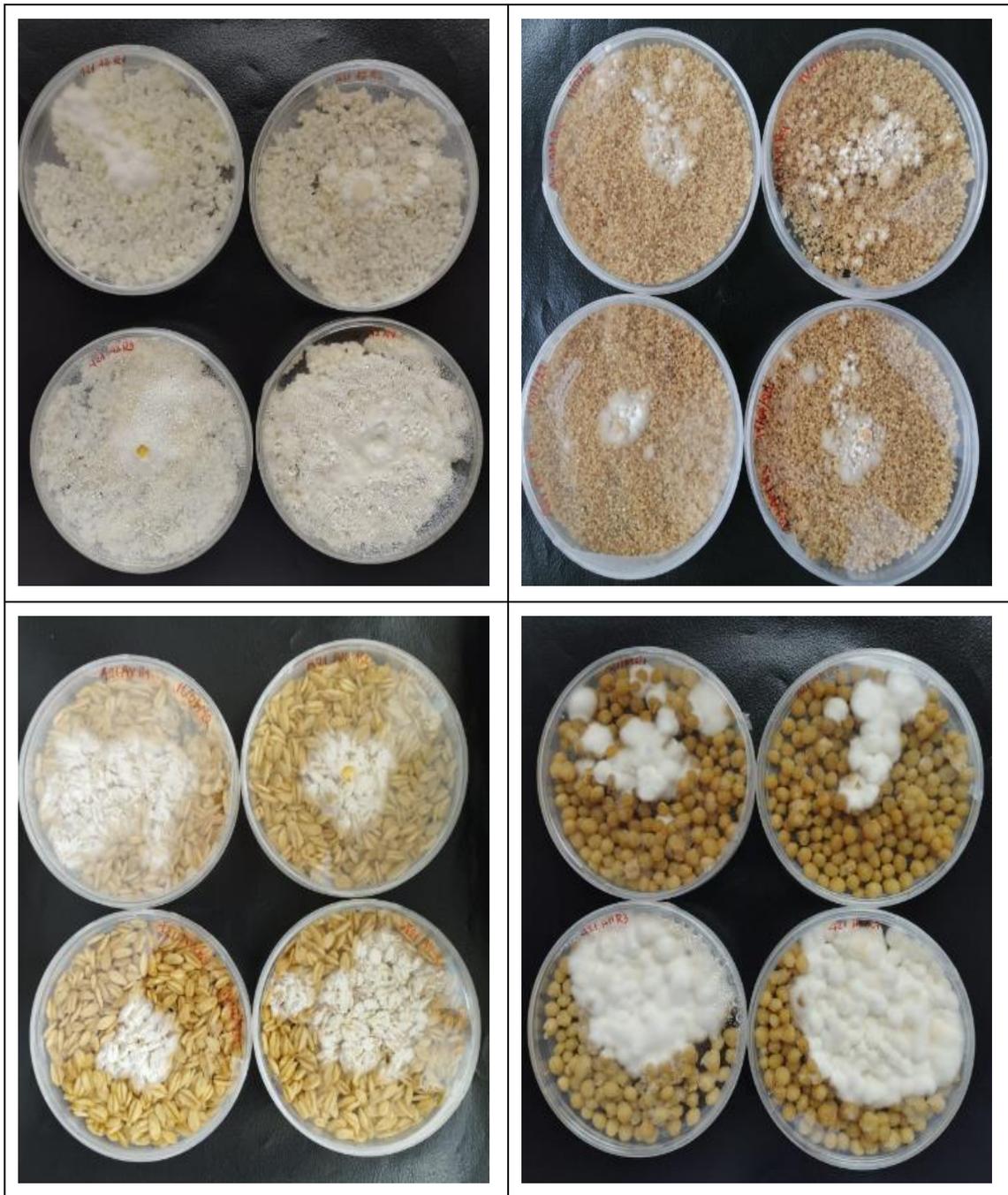
ANEXO D: COLOCACIÓN DE LOS SUSTRATOS EN LAS CAJAS PETRI



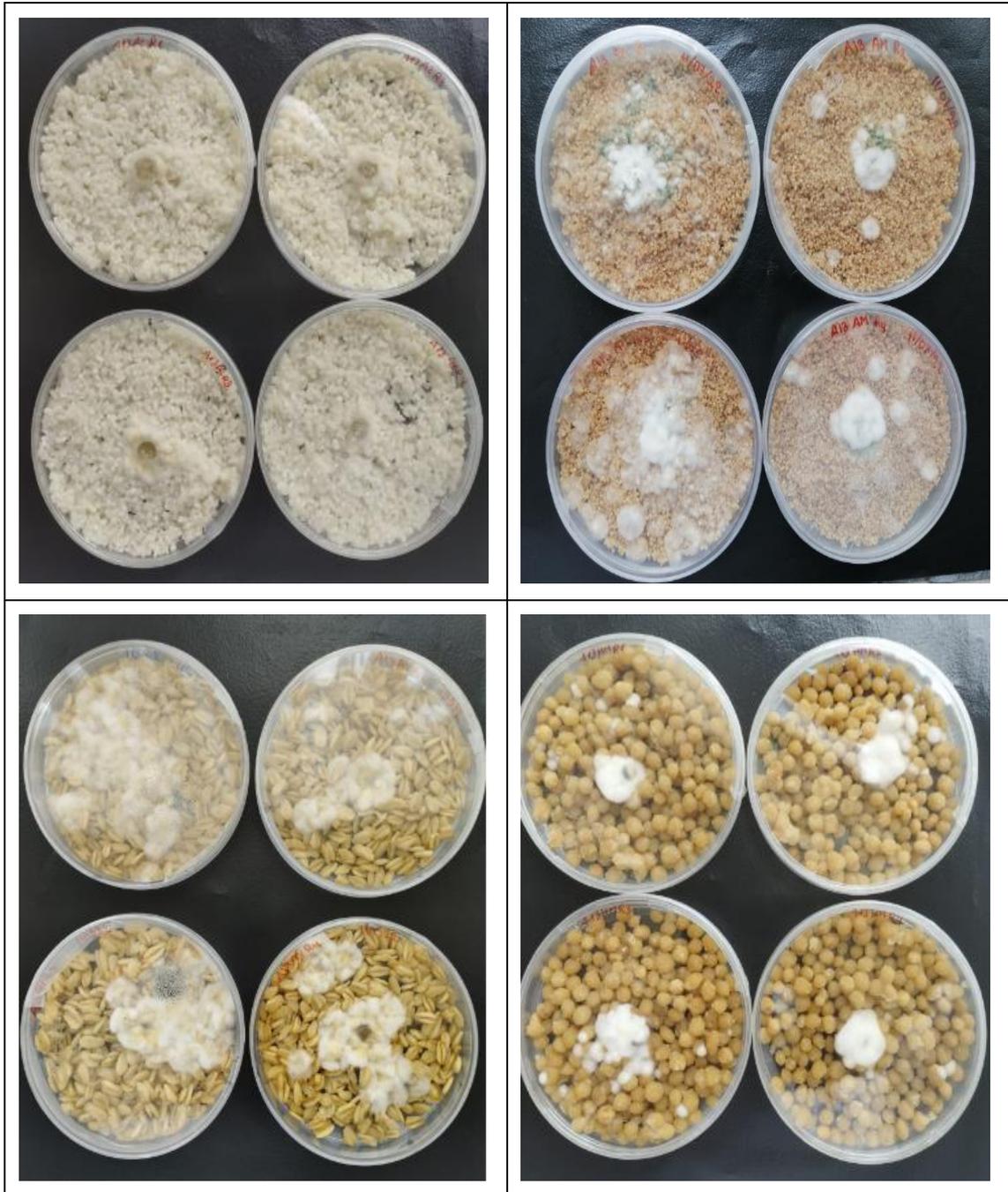
ANEXO E: INOCULACIÓN DE LOS HONGOS: *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* EN LOS SUSTRATOS SÓLIDOS



ANEXO F: CRECIMIENTO DE *Beauveria bassiana* A21 EN LOS SUSTRATOS SÓLIDOS



ANEXO G: CRECIMIENTO DE *Metarhizium anisopliae* A13 EN LOS SUSTRATOS SÓLIDOS



ANEXO H: MATRIZ DE EVALUACIÓN DEL IMPACTO AMBIENTAL DEL CICLO DE VIDA DE LOS SUSTRATOS

INSTRUCCIONES		A. ACIDIFICACIÓN		B. AGOTAMIENTO DE OZONO ESTRATOSFÉRICO						D. CAMBIO CLIMÁTICO						
		A. Productos Químicos	B. Agua con detergente para limpieza del área, equipos y vehi	A. Emisiones de Dióxido de Carbono	B. Smog de vehículos	C. Emisiones de abono o pesticidas	D. Polvo generado en el área de almacenamiento	E. Polvo en suspensión	F. Emisiones generadas por los vehículos utilizados como transporte	A. Energía para las maquinarias utilizadas para la producción	B. Emisiones de transporte por el combustible	C. Excesivo desperdicio de fundas de polietileno	D. Emisiones de calor procedentes del proceso de tostado y proceso térmico	E. Gases de efecto invernadero	F. Desechos cartón y cinta de embalaje	
ANÁLISIS INVENTARIO CICLO DE VIDA	1. AVEÑA	1. Siembra	10	1	1	1	10	1	10	1	1	1	1	10	1	
		2. Cosecha	5	1	10	1	5	1	10	1	1	5	1	1	10	
		3. Limpieza	10	10	1	1	1	1	5	1	1	1	1	1	1	
		4. Descascarado	1	1	1	1	1	1	10	1	10	1	1	1	1	
		5. Tratamiento térmico	1	1	1	1	1	1	1	1	10	1	10	10	1	
		6. Cortado	1	1	1	1	1	1	5	1	10	1	1	1	1	
		7. Laminado	1	1	1	1	1	1	1	1	10	1	1	1	1	
		8. Envasado	1	1	1	1	1	1	5	1	5	1	10	1	1	10
		9. Distribución	1	1	10	10	1	1	10	10	1	10	1	1	10	1
	2. ARROZ	1. Siembra	10	1	1	1	10	1	10	1	1	1	1	10	1	
		2. Cosecha	5	1	10	1	5	1	10	1	1	5	1	1	5	
		3. Limpieza	10	10	1	1	1	1	5	1	1	1	1	1	1	
		4. Secamiento	1	1	1	1	1	1	1	1	10	1	1	1	1	
		5. Trilla	1	1	1	1	1	1	10	1	10	1	1	1	1	
		6. Empacado	1	1	1	1	1	1	5	1	5	1	10	1	1	10
		7. Distribución	1	1	10	10	1	1	10	10	1	10	1	1	10	1
		1. Siembra	10	1	1	1	10	1	10	1	1	1	1	1	10	1
		2. Cosecha	5	1	10	1	5	1	5	1	1	1	5	1	1	5
	3. AMARANTO	3. Recepción / Control	1	1	1	1	1	1	5	1	1	1	1	1	1	1
		4. Limpieza	10	10	1	1	1	1	5	1	1	1	1	1	1	1
		5. Tostado	1	1	1	1	1	1	10	1	10	1	1	10	5	1
		6. Empacado	1	1	1	1	11	1	5	1	5	1	10	1	1	10
		7. Almacenamiento	1	1	1	1	1	10	10	1	1	1	5	1	1	1
		8. Distribución	1	1	10	10	1	1	10	10	1	10	1	1	10	1
		1. Siembra	10	1	1	1	10	1	10	1	1	1	1	1	10	1
		2. Cosecha	5	1	10	1	5	1	5	1	1	1	5	1	1	10
		3. Recepción / Control	1	1	1	1	1	1	5	1	1	1	1	1	1	1
	4. HARINA DE MAÍZ Y TRIGO	4. Limpieza	10	10	1	1	1	1	5	1	1	1	1	1	1	1
		5. Tostado	1	1	1	1	1	1	10	1	10	1	1	10	5	1
		6. Molienda	1	1	1	1	1	1	10	1	10	1	1	1	1	1
		7. Empacado	1	1	1	1	1	1	10	1	5	1	10	1	1	10
		8. Almacenamiento	1	1	1	1	1	10	10	1	1	1	1	1	1	1
		9. Distribución	1	1	10	10	1	1	10	10	1	10	1	1	10	1

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.

E. DISMINUCIÓN DE RECURSOS			F. DESTRUCCIÓN DE PAISAJES.		G. ECOTOXICIDAD MARINA			H. ECOTOXICIDAD TERRESTRE			I. EFECTO INVERNADERO		J. EUTROFIZACIÓN	K. RUIDO			L. VOLUMEN DE DEPÓSITO EN VERTEDEROS		
A. Uso excesivo de agua	B. Agua con detergente	C. Agua contaminada con desechos generados por la producción de los sustratos	A. Desechos: ramas de la planta, tallos, malas hierbas	B. Desechos: granos partidos, cáscaras, fragmentos.	A. Agua contaminada depositada en el alcantarillado	B. Uso excesivo de detergentes	C. Desechos sólidos sin disposición final	A. Uso excesivo de plaguicidas	B. Uso excesivo de fertilizantes	C. Combustible para transporte y maquinarias	A. smog de vehículos	B. Emisiones generadas por los vehículos utilizados como transporte	A. Uso excesivo de detergentes	A. Emisiones de ruido generados por la maquinaria	B. Emisiones de ruido generados por el vehículo de transporte	C. Vibraciones generadas por el transporte	A. Desechos: ramas de la planta, tallos, malas hierbas	B. Desechos: semillas quemadas, semillas que no cumplen con los requisitos	C. Desechos: cartón en mal estado y cinta de embalaje
10	1	1	1	1	1	1	1	10	10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	10	5	1	1	10	1	1	1	1	1	1	1	1	10	5	1	1
10	10	10	1	1	10	10	1	1	1	1	1	10	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	10	1	1	10	1	1	10	1	1	1	10	1	1	5	5	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10	1	1	1	10	1	1	1	1	1
1	1	1	10	10	1	1	10	1	1	1	1	1	1	10	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5	1	1	1	5	10
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10	10	1	10	10	1	1	1	1
10	1	1	1	1	1	1	1	10	10	1	1	1	1	1	1	10	5	1	1
1	1	10	1	1	10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	5	10	1	1	10	1	1	1	1	1	1	10	1	1	5	5	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5	1	1	1	5	10
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10	10	1	1	10	10	1	1	1	1
10	1	1	1	1	1	1	1	10	10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	10	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10	5	1	1
1	1	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10	1
10	10	10	1	1	10	10	1	1	1	1	1	1	10	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5	1	1	1	10	1
10	1	1	5	10	10	1	10	1	1	1	1	1	1	1	1	5	5	5	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5	1	1	1	5	10
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10	10	1	1	10	10	1	1	1

Realizado por: Cadena, M.; Sarabia, K., 2022.