

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
ÁREA INTEGRADA**



**TRABAJO DE GRADUACIÓN**

**EVALUACIÓN DE SUSTRATOS SÓLIDOS PARA LA PROPAGACIÓN MASIVA DE  
*Beauveria bassiana*, DIAGNÓSTICO Y SERVICIOS REALIZADOS EN EXPORTADORA  
ENLASA S.A. VILLA NUEVA, GUATEMALA, C.A.**

**EMELI ANDREA RAMÍREZ FLORES**

**GUATEMALA, OCTUBRE DE 2022**



**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
ÁREA INTEGRADA**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**

**EVALUACIÓN DE SUSTRATOS SÓLIDOS PARA LA PROPAGACIÓN MASIVA DE  
*Beauveria bassiana*, DIAGNÓSTICO Y SERVICIOS REALIZADOS EN EXPORTADORA  
ENLASA S.A. VILLA NUEVA, GUATEMALA, C.A.**

**PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**POR**

**EMELI ANDREA RAMÍREZ FLORES**

**EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO  
INGENIERA AGRÓNOMA**

**EN**

**SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA  
EN EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADA**

**GUATEMALA, OCTUBRE DE 2022**



**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**RECTOR EN FUNCIONES**

Maestro Walter Ramiro Mazariegos Biolis

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA**

<b>DECANO</b>	Ing. Agr. Waldemar Nufio Reyes
<b>VOCAL I</b>	Dr. Marvin Roberto Salguero Barahona
<b>VOCAL II</b>	Dra. Gricelda Lily Guitiérrez Álvarez
<b>VOCAL III</b>	Ing. Agr. M.A. Jorge Mario Cabrera Madrid
<b>VOCAL IV</b>	Br. Carmen Aracely García Pirique
<b>VOCAL V</b>	Pr. Agr. Mynor Fernando Almengor Orenos
<b>SECRETARIO</b>	Ing. Agr. Mario Antonio Godínez López

**GUATEMALA, OCTUBRE DE 2022**



**GUATEMALA, OCTUBRE DE 2022**

Honorable Junta Directiva  
Honorable Tribunal Examinador  
Facultad de Agronomía  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Honorables miembros:

De conformidad con las normas establecidas por la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de graduación titulado: **“EVALUACIÓN DE SUSTRATOS SÓLIDOS PARA LA PROPAGACIÓN MASIVA DE *Beauveria bassiana*, DIAGNÓSTICO Y SERVICIOS REALIZADOS EN EXPORTADORA ENLASA S.A. VILLA NUEVA, GUATEMALA, C.A.”** como requisito previo a optar al título de Ingeniera Agrónoma en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciada.

Esperando que el mismo llene los requisitos necesarios para su aprobación, me es grato suscribirme,

Atentamente,



---

**EMELI ANDREA RAMÍREZ FLORES**

**“ID Y ENSEÑAD A TODOS”**



## **ACTO QUE DEDICO**

A:

- DIOS** Por ser mi guía, sabiduría, fortaleza y por permitirme cumplir uno de mis más grandes sueños.
- MIS PADRES** Mario Ramírez y Carmen Flores de Ramírez, por su amor incondicional, paciencia y esfuerzo que me han permitido llegar a cumplir un sueño más, gracias por creer siempre en mí y ayudare a ser la persona que soy hoy.
- MIS ABUELOS** Julia Ramírez, Manuel de Jesús Flores y Marta Cabrera, por su oraciones, consejos y motivación para poder culminar una meta más.
- MIS AMIGOS** Pablo Ramírez, Mildred Ramírez, Ileana Rabanales, Brando Zamora, Hugo Calderón, Fernando Ramírez, Gustavo Martínez (Q.E.P.D.) por su amistad, los momentos vividos y su apoyo durante toda la carrera.
- MIS COMPAÑEROS** Paula Soberaniz, Kimberly Rivas, Isabel Muñoz, Sergio Saregude, Christian Osorio, Christian de León, Brando Orantes y Daniel Lux, por el tiempo y momentos compartidos.



## TRABAJO DE GRADUACIÓN QUE DEDICO

**A:**

DIOS, POR SER MI GUÍA SIEMPRE

MI PATRIA, GUATEMALA, PAÍS DE LA ETERNA PRIMAVERA

MI ÁLMA MÁTER, LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, MI FUENTE DE SABIDURÍA

LA FACULTAD DE AGRONOMÍA

EXPORTADORA ENLASA S.A.

MI FAMILIA

MIS AMIGOS

MIS COMPAÑEROS



## AGRADECIMIENTOS

A:

**Mi supervisora Dra. Ligia Monterroso y mi asesor Ing. Gustavo Álvarez** por la ayuda, orientación y apoyo durante todo el proceso en la elaboración de los documentos.

**Exportadora ENLASA S.A.** por permitirme realizar mi Ejercicio Profesional Supervisado, dentro de su instalación y formar parte de su equipo, principalmente por la ayuda, consejos y apoyo siempre.

**Mis padres** por ser mi fuente de apoyo incondicional.

**Mis amigos de la Universidad** Por haber compartido cada experiencia y momentos en la carrera.



## ÍNDICE GENERAL

<b>TÍTULO</b>	<b>PÁGINA</b>
RESUMEN .....	XIII
1 CAPÍTULO I: DIAGNÓSTICO DE LA SITUACIÓN ACTUAL DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA EN EXPORTADORA ENLASA S.A. GUATEMALA, C.A. ....	1
1.1 PRESENTACIÓN .....	3
1.2 MARCO REFERENCIAL .....	4
1.2.1 Localización geográfica .....	4
1.2.2 Historia de la empresa.....	4
1.2.3 Exportadora ENLASA S.A. ....	5
1.2.4 Aseguramiento y política de calidad .....	6
1.3 OBJETIVOS .....	7
1.3.1 Objetivo General.....	7
1.3.2 Objetivos Específicos .....	7
1.4 METODOLOGÍA .....	8
1.4.1 Recopilación de información primaria.....	8
1.4.2 Recopilación de información secundaria .....	8
1.4.3 Análisis de la información .....	8
1.5 RESULTADOS .....	9
1.5.1 La infraestructura, recursos físicos y humano con que cuenta el laboratorio ...	9
1.5.2 Principales procesos internos del laboratorio de Microbiología .....	16
1.5.3 Análisis FODA .....	22
1.6 CONCLUSIONES.....	27
1.7 RECOMENDACIONES .....	28
1.8 BIBLIOGRAFÍA .....	29

**PÁGINA**

2	CAPÍTULO II: EVALUACIÓN DE SUSTRATOS SÓLIDOS PARA LA PROPAGACIÓN MASIVA DE <i>Beauveria bassiana</i> EN EXPORTADORA ENLASA S.A. VILLA NUEVA, GUATEMALA, C.A.....	31
2.1	PRESENTACIÓN.....	33
2.2	MARCO CONCEPTUAL.....	34
2.2.1	Control biológico .....	34
2.2.2	Hongos entomopatógenos .....	35
2.2.3	<i>Beauveria bassiana</i> .....	41
2.2.4	Producción del hongo <i>Beauveria bassiana</i> .....	45
2.2.5	Procesos de control de calidad microbiológica .....	46
2.3	MARCO REFERENCIAL .....	47
2.3.1	Ubicación del área de estudio .....	47
2.3.2	Sustratos .....	48
2.3.3	Antecedentes .....	49
2.4	OBJETIVOS.....	51
2.4.1	Objetivo general .....	51
2.4.2	Objetivos específicos .....	51
2.5	HIPÓTESIS.....	52
2.5.1	Alternas .....	52
2.5.2	Nulas .....	52
2.6	METODOLOGÍA .....	53
2.6.1	Diseño experimental .....	53
2.6.2	Descripción de los tratamientos .....	53
2.6.3	Descripción de la unidad experimental .....	54

	<b>PÁGINA</b>
2.6.4 Arreglo espacial de la investigación .....	55
2.6.5 Manejo del experimento .....	55
2.6.6 Variables de respuesta.....	61
2.6.7 Análisis estadístico .....	64
2.7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	65
2.7.1 Rendimiento de UFC/g.....	65
2.7.2 Viabilidad de conidios.....	70
2.7.3 Rendimiento de UFC/g de producto final.....	75
2.7.4 Viabilidad de producto final.....	78
2.7.5 Rendimiento en g/kg de producto final .....	81
2.8 CONCLUSIONES.....	85
2.9 RECOMENDACIONES .....	86
2.10 BIBLIOGRAFÍA .....	87
2.11 ANEXOS .....	90
3 CAPÍTULO III: SERVICIOS REALIZADOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Y EN EL ÁREA DE REGISTRO, EN EXPORTADORA ENLASA S.A, GUATEMALA, C.A. ....	95
3.1 PRESENTACIÓN.....	97
3.2 OBJETIVOS .....	98
3.2.1 Objetivo general .....	98
3.2.2 Objetivos específicos.....	98
3.3 SERVICIO 1: MANUAL DE LOS PRINCIPALES PROCESOS INTERNOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.....	99
3.3.1 OBJETIVOS .....	99
3.3.2 METODOLOGÍA.....	99

	<b>PÁGINA</b>
3.3.3 RESULTADOS.....	100
3.3.4 EVALUACIÓN .....	102
3.3.5 CONCLUSIÓN .....	102
3.3.6 RECOMENDACIÓN.....	102
3.3.7 ANEXOS .....	103
3.4 SERVICIO 2. TABULACIÓN DE LA INFORMACIÓN DE LOS ÍNDICES DE CAPACIDAD Y DESEMPEÑO DE PRODUCTOS TERMINADOS.....	108
3.4.1 OBJETIVOS .....	108
3.4.2 METODOLOGÍA .....	108
3.4.3 RESULTADOS.....	109
3.4.4 EVOLUCIÓN .....	112
3.4.5 CONCLUSIONES .....	112
3.4.6 RECOMENDACIONES .....	112
3.4.7 ANEXOS .....	113
3.5 SERVICIO 3. ANÁLISIS DE MANOS POR EL MÉTODO DE HISOPADO .....	115
3.5.1 OBJETIVOS.....	115
3.5.2 METODOLOGÍA .....	115
3.5.3 RESULTADOS.....	117
3.5.4 EVALUACIÓN.....	123
3.5.5 CONCLUSIÓN .....	123
3.5.6 RECOMENDACIONES .....	123
3.5.7 BIBLIOGRAFÍA .....	124

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
Figura 1. Mapa de ubicación, exportadora ENLASA S.A.....	4
Figura 2. Área de Almacenamiento. ....	9
Figura 3. Área de Siembra.....	10
Figura 4. Área Físicoquímico. ....	10
Figura 5. Área de Formulación 1. ....	11
Figura 6. Área de Metrología. ....	11
Figura 7. Área de Formulación 2. ....	12
Figura 8. Área de Autoclave. ....	12
Figura 9. Área de Lavandería. ....	13
Figura 10. Medios de cultivos elaborados en el laboratorio de Microbiología.....	20
Figura 11. Antibiogramas en el laboratorio de Microbiología.....	21
Figura 12. Embudo de Baermann presente en el laboratorio de Microbiología. ....	21
Figura 13. Efecto regulador de la introducción de un enemigo natural que ejemplifica, control biológico sobre una población plaga en relación con un umbral económico.....	34
Figura 14. Relación hongo entomopatógeno – hospedero. ....	38
Figura 15. Estructuras morfológicas principales del hongo <i>Beauveria bassiana</i> . ....	42
Figura 16. Estructura y composición de la cutícula del insecto y esquema del ciclo infección de <i>Beauveria bassiana</i> en el insecto.....	44
Figura 17. Mapa de ubicación, exportadora ENLASA S.A.....	47
Figura 18. Obtención y verificación de la matriz madre. A. <i>Beauveria bassiana</i> en agar. B. Fermento de <i>Beauveria bassiana</i> . C. Montaje húmedo del fermento. ....	56

**PÁGINA**

Figura 19. A.Pesado del sustrato de maíz quebrado B. Aplicación y reposo del sustrato de maíz quebrado con cloro C. Lavado del sustrato maíz quebrado D. Verificación de cloro del sustrato maíz quebrado. ....	57
Figura 20. A.Fase de pesado de sustrato. B. Embolsado de sustratos. C. Esterilización de sustratos D. Toma de humedad de sustratos. ....	58
Figura 21. Fase de inoculación en cada sustrato. ....	59
Figura 22. Fase de desinfección del cuarto de incubación y homogenización del sustrato. ....	60
Figura 23. Fase de secado de los sustratos en bandejas. ....	60
Figura 24. Fase de la extracción de conidios y el producto final. ....	61
Figura 25. Fase para el coteo de conidios por gramo. ....	62
Figura 26. Proceso de la viabilidad de conidios. ....	63
Figura 27. Distribución de los datos en respuesta a la variable: rendimiento de UFC/g, cada uno de los tratamientos a los 7 días de incubación.....	65
Figura 28. Distribución de los datos en respuesta a la variable: rendimiento de UFC/g, cada uno de los tratamientos a los 14 días de incubación.....	66
Figura 29. Distribución de los datos en respuesta a la variable: rendimiento de UFC/g, cada uno de los tratamientos a los 21 días de incubación.....	66
Figura 30. Distribución gráfica de los datos en respuesta a la variable: rendimiento de UFC/g en tres distintos periodos de incubación.....	70
Figura 31. Distribución de los datos en respuesta a la variable: viabilidad, cada uno de los tratamientos a los 7 días de incubación. ....	71
Figura 32. Distribución de los datos en respuesta a la variable: viabilidad, cada uno de los tratamientos a los 14 días de incubación. ....	72
Figura 33. Distribución de los datos en respuesta a la variable: viabilidad, cada uno de los tratamientos a los 21 días de incubación. ....	72

Figura 34. Distribución gráfica de los datos en respuesta a la variable: viabilidad de conidios en tres distintos periodos de incubación. ....	75
Figura 35. Distribución gráfica de los datos en respuesta a la variable: rendimiento de UFC/g del producto final cosechado. ....	78
Figura 36. Distribución gráfica de los datos en respuesta de la variable: viabilidad del producto final cosechado. ....	81
Figura 37. Distribución gráfica de los datos en respuesta a la variable: rendimiento de g/kg del producto final. ....	84
Figura 38A. Sustrato arroz (T1) crecimiento de <i>Beauveria bassiana</i> en los distintos periodos de incubación. A. 7 días de incubación B. 14 días de incubación C. 21 días de incubación. ....	92
Figura 39A. Sustrato maíz quebrado (T2) crecimiento de <i>Beauveria bassiana</i> en los distintos periodos de incubación. A. 7 días de incubación B. 14 días de incubación C. 21 días de incubación. ....	92
Figura 40A. Sustrato sorgo (T4) crecimiento de <i>Beauveria bassiana</i> en los distintos periodos de incubación. A. 7 días de incubación B. 14 días de incubación C. 21 días de incubación. ....	93
Figura 41A. Sustrato maíz blanco (T3) crecimiento de <i>Beauveria bassiana</i> en los distintos periodos de incubación. A. 7 días de incubación B. 14 días de incubación C. 21 días de incubación. ....	93
Figura 42A. Germinación de <i>Beauveria bassiana</i> . A. Sustrato arroz, conidios germinados. B. Sustrato maíz quebrado, conidios germinados. C. Sustrato maíz blanco, conidios germinados. ....	94
Figura 43A. Sustratos embolsados para su almacenamiento. A. Sustrato arroz embolsado B. Sustrato maíz quebrado embolsado. C. Sustrato maíz blanco embolsado D. Sustrato sorgo embolsado. ....	94
Figura 44A. Carátula del manual de identificación de nematodos. ....	103
Figura 45A. Carátula del manual de antibiogramas. ....	104
Figura 46A. Carátula del manual de medios de cultivos. ....	105
Figura 47A. Carátula del manual de aislamiento de hongos y bacterias. ....	106

**PÁGINA**

Figura 48A.Carátula del manual de tinción de Gram.....	107
Figura 49A.Datos obtenidos de Statgraphics Centurion 18 para el parámetro pH puro de índices de capacidad y desempeño para un producto terminado. ....	113
Figura 50A.Gráfica del parámetro pH puro de índices de capacidad y desempeño para un producto terminado. ....	113
Figura 51A.Parámetros tabulados de índices de capacidad y desempeño para producto terminado. ....	114

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
Cuadro 1. Descripción de cristalería que dispone el laboratorio de Microbiología.....	13
Cuadro 2. Descripción de equipo que dispone el laboratorio de Microbiología. ....	14
Cuadro 3. Descripción de equipo de seguridad de laboratorio de Microbiología. ....	15
Cuadro 4. Composición química de los principales productos biológicos.....	16
Cuadro 5. FODA para el laboratorio de Microbiología. ....	22
Cuadro 6. Matriz de evaluación de los factores internos (MEIF) (Ponce Talancón 2007). ....	23
Cuadro 7. Matriz de evaluación de los factores externos (MEFE) (Ponce Talancón 2007). .....	24
Cuadro 8. Composición química del grano de sorgo. ....	49
Cuadro 9. Tratamiento a evaluar en la investigación. ....	54
Cuadro 10. Cantidad de sustrato utilizado por bolsa. ....	54
Cuadro 11. Arreglo espacial de la investigación. ....	55
Cuadro 12. Resumen del ANDEVA para la variable, rendimiento de UFC/g, los 7,14 y 21 días. ....	67
Cuadro 13. Comparación de medias por medio de Tukey, para la variable rendimiento de UFC/g los 7, 14 y 21 días de incubación, para la interacción de tratamientos y periodos de días. ....	68
Cuadro 14. Resumen del ANDEVA para la variable porcentaje de viabilidad a 24 hr, los 7, 14 y 21 días de incubación.....	73
Cuadro 15. Comparación de medias para la variable porcentaje de viabilidad a las 24 hr, los 7, 14 y 21 días de incubación, para la interacción de tratamientos por días. .....	74
Cuadro 16. Resumen de rendimiento de UFC/g del producto final.....	76

**PÁGINA**

Cuadro 17. Resumen del ANDEVA para la variable rendimiento de UFC/g del producto final. ....	76
Cuadro 18. Comparación de medias por medio de Tukey, para el rendimiento UFC/g del producto final. ....	77
Cuadro 19. Resumen de la viabilidad del producto final. ....	79
Cuadro 20. Resumen del ANDEVA para la variable porcentaje de viabilidad a 24 hr del producto final. ....	79
Cuadro 21. Comparación de medias para el porcentaje de viabilidad del producto final. ....	80
Cuadro 22. Resumen del rendimiento del producto final cosechado. ....	82
Cuadro 23. Resumen del ANDEVA para la variable rendimiento de g/kg del producto final. ....	82
Cuadro 24. Comparación de medias para el rendimiento de g/kg del producto final. ....	83
Cuadro 25A. Resumen del rendimiento de UFC/gr de cada uno de los tratamientos a los 7, 14 y 21 días de incubación. ....	90
Cuadro 26A. Resumen de la viabilidad de cada uno de los tratamientos a las 24 hr a los 7, 14 y 21 días de incubación. ....	91
Cuadro 27. Parámetros fisicoquímicos para productos terminados líquidos y sólidos. ....	110
Cuadro 28. Resumen de resultados de análisis de manos por el método de hisopado de Carlos Gonzáles. ....	117
Cuadro 29. Resumen de resultados de análisis de manos por el método de hisopado de Axel Nájera. ....	118
Cuadro 30. Resumen de resultados de análisis de manos por el método de hisopado de Hugo Gutiérrez. ....	119
Cuadro 31. Resumen de resultados de análisis de manos por el método de hisopado de Santos Tecum. ....	120

Cuadro 32. Resumen de resultados de análisis de manos por el método de hisopado de Aroldo Ical. ....	121
--	-----



## RESUMEN

En el presente documento se encuentra un compendio integrado del diagnóstico, investigación y servicios realizados durante el Ejercicio Profesional Supervisado de Agronomía (EPSA) durante los meses de febrero 2020 a enero 2021, en las instalaciones de exportadora ENLASA S.A. ubicada en 1.<sup>a</sup> Calle 18-60 Zona 4. Complejo Industrial Mayan Golf, Villa Nueva, Guatemala.

El diagnóstico se enfocó en la situación actual del laboratorio de Microbiología, se sintetiza la información relevante sobre los principales procesos internos, se detalló la infraestructura, recursos humanos y físicos con los que cuenta el laboratorio. Con el fin de identificar por medio de una entrevista al técnico microbiólogo y un análisis FODA las problemáticas presentes, con lo que fue propuesta la investigación.

La investigación consistió en evaluar sustratos sólidos naturales para la propagación masiva de *Beauveria bassiana* en exportadora ENLASA S.A., Villa Nueva, Guatemala, para la elaboración de productos biológicos para venta nacional e internacional, con el objetivo de obtener la mayor cantidad de conidios y viabilidad. Se evaluaron cuatro sustratos sólidos, los cuales fueron: arroz, maíz quebrado, maíz blanco y sorgo, con tres distintos periodos de incubación, a los 7, 14 y 21 días. Se estableció las variables de respuestas: rendimiento de UFC/g y porcentaje de viabilidad a las 24 hr en los distintos periodos de incubación.

Para la obtención de resultados, se realizó un análisis de confiabilidad con una distribución estadística de diseño completamente al azar con arreglo factorial, con cuatro tratamientos y seis repeticiones. Al momento de obtener los datos para su estudio, se analizó estadísticamente mediante los análisis de varianza y la comparación de medias, utilizando la prueba de Tukey.

En el análisis de varianza por el método de diseño completamente al azar con arreglo factorial indicó que existen diferencias significativas en la producción de conidios en los tres distintos periodos de incubación teniendo mejores resultados a los 21 días en los sustratos de arroz y maíz quebrado  $2.36 \times 10^9$  UFC/g y  $1.75 \times 10^9$  UFC/g respectivamente. También presentaron una alta viabilidad en los sustratos de arroz y maíz quebrado en el mismo periodo de incubación de 97 % y 94 %. Por lo cual el sustrato de arroz es una alternativa para la propagación masiva de *Beauveria bassiana* debido que presentó el mayor rendimiento de concentración de UFC/g y alta viabilidad a los 21 días de incubación.

Se realizaron tres servicios para exportadora ENLASA S.A. con base a necesidades y prioridades, el primer servicio consistió en la elaboración de manuales de los principales procesos internos del laboratorio de Microbiología siendo estos: aislamiento de bacterias y hongos, elaboración de medios de cultivos, antibiogramas, identificación de nematodos y tinción de Gram. Con la finalidad de ser utilizados dentro de las instalaciones del laboratorio, para tener el conocimiento de la metodología de cada proceso y evitar errores.

El segundo servicio fue la tabulación de índices de capacidad y desempeño para el área de estadística de calidad, para tener el conocimiento del control del estado de los procesos de la producción de los productos terminados, dicha información fue utilizada para la elaboración de certificados cualitativos y cuantitativos, hojas de seguridad, certificados analíticos, los cuales fueron utilizados para la elaboración de registros a nivel local en el Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación (MAGA) de productos terminados como: fertilizantes, plaguicidas, sustancias a fin a plaguicidas, sustancias a fin a fertilizantes y enmiendas.

El tercer servicio consistió en un análisis de manos por el método del hisopado para dos líneas de producción de productos biológicos, con la finalidad de conocer las buenas prácticas de bioseguridad dentro de cada línea de producción. Los resultados obtenidos fue la presencia de *Coliformes* fecales, estos son microorganismos patógenos, estos pertenecen en las manos de los trabajadores y son trasladados al producto final y se puede ver afectados al momento de ser aplicados al campo, por lo que se recomendó una capacitación del buen lavado de manos y la desinfección constate del área de trabajo.



**CAPÍTULO I: DIAGNÓSTICO DE LA SITUACIÓN ACTUAL DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA EN EXPORTADORA ENLASA S.A. GUATEMALA, C.A.**



## 1.1 PRESENTACIÓN

El ejercicio profesional supervisado se realizó en la empresa ENLASA S.A., con una duración de 10 meses, se trabajó principalmente en el laboratorio de Microbiología apoyando en análisis microbiológicos, realización de medios de cultivos, antibiogramas entre otros y en el área de registros con la elaboración de expedientes para registros de productos en el Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación.

Exportadora ENLASA S.A. es una empresa guatemalteca que se encuentra ubicada en Villa Nueva, Guatemala. Se dedica a desarrollar, producir y comercializar fertilizantes, productos para jardín, plaguicidas orgánicos, protectores solares, ceras para frutas y vegetales, fertilizantes hidrosolubles, biostimulantes, fertilizantes foliares, entre otros, que provee a nivel local y exportan a Belice, El Salvador, Honduras Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Ecuador, Chile, Trinidad y Tobago, Colombia, México, Perú, República dominicana, Brasil, USA, Filipinas, Etiopía, Camerún, Costa de Marfil y Ghana.

La empresa se caracteriza por ofrecer productos de alta calidad y confiabilidad y cuentan con el respaldo de certificación ISO-9001-2015, certificación Rain Forest Alliance, Certificación Carbono Neutro.

La empresa cuenta con un laboratorio de Microbiología el cual se dedica a la realización de diferentes actividades, principalmente a la elaboración de productos biológicos para venta nacional e internacional, entre las otras actividades que se realizan dentro del laboratorio se puede mencionar: análisis de materia prima, producto en proceso, producto terminado y material de empaque conforme los lineamientos proporcionados para contar con un producto de alta calidad, elaboración de medios de cultivos, elaboración de antibiogramas extracción de nematodos, análisis de agua, análisis de superficie y análisis microbiológicos.

El diagnóstico a continuación, se realizó con el fin de identificar la situación actual en que se encuentra el laboratorio de Microbiología de la empresa exportadora ENLASA S.A. En la que se pudieron detectar una serie de problemas que de alguna manera llegan a obstaculizan el desarrollo de las actividades dentro del laboratorio, esto con el fin de encontrar posibles soluciones.

## 1.2 MARCO REFERENCIAL

### 1.2.1 Localización geográfica

Villa Nueva es uno de los municipios del departamento de Guatemala, cuenta con un área de aproximadamente de 114 km<sup>2</sup>, su límite está en el norte con los municipios de la ciudad de Guatemala y Mixco, al este con San Miguel Petapa y Villa Canales, al sur con Amatitlán y al oeste con Santa Lucía Milpas Altas, municipio del departamento de Sacatepéquez (Arriaga Rodríguez 2014).

La investigación se realizó en el laboratorio de Microbiología de la exportadora ENLASA S.A. se encuentra ubicada a 22 km al sur-occidente de la ciudad capital, ubicada en 1.<sup>a</sup> Calle 18-60 Zona 4. Complejo Industrial Mayan. Villa Nueva.



Fuente: Google Earth, 2020.

Figura 1. Mapa de ubicación, exportadora ENLASA S.A.

### 1.2.2 Historia de la empresa

Exportadora ENLASA S.A. es una empresa guatemalteca fundada en enero del 2000 por el ingeniero agrónomo José Antonio Pacheco Tzul originario de una zona rural de Totonicapán (altiplano de Guatemala).

El proyecto comenzó como una microempresa en un barrio de la ciudad de Guatemala. Gracias a la aceptación de la empresa y los productos enfocados al aumento de la productividad agrícola han permitido alcanzar crecimientos anuales sólidos y sostenidos. Por lo cual hoy es una empresa con presencia comercial en 15 países. En 3 continentes y con planes de ser una empresa de mayor presencia internacional.

### **1.2.3 Exportadora ENLASA S.A.**

ENLASA es una empresa guatemalteca civil, privada y sin fines de lucro. Se especializa en la formulación, desarrollo, distribución y mercadeo de insumos agropecuarios, industriales y químico, exportando dichos insumos agropecuarios a 20 distintos países los cuales son: Belice, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Ecuador, Chile, Trinidad y Tobago, Colombia, México, Perú, República dominicana, Brasil, USA, Filipinas, Etiopía, Camerún, Costa de Marfil y Ghana, tiene el servicio de atención al cliente y distribución eficiente y asistencia técnica agropecuaria, es una empresa reconocida mundialmente por la calidad y eficacia de sus productos.

#### **A. Misión**

Ser una empresa líder reconocida internacionalmente por ser formuladora de productos y servicios agroindustriales principalmente en el área de la nutrición y sanidad vegetal. Por sus productos de alta calidad, atención al cliente y por su asesoría técnica agropecuaria.

#### **B. Visión**

Ser una empresa que se dedica a la formulación de productos y servicios agroindustriales, con una excelente calidad, comprometida a respetar el entorno y sustentabilidad para darle a los clientes, proveedores y accionista una mejora de la productividad con responsabilidad y transparencia.

#### **C. Objetivos**

1. Cumplir con las especificaciones de producto y embalaje
2. Satisfacer al cliente a través del cumplimiento de la entrega y la mejora del servicio.
3. Mejorar continuamente los procesos para satisfacción de accionistas y partes interesadas.

Fuente: ENLASA S.A., 2020.

## **1.2.4 Aseguramiento y política de calidad**

### **A. Control Interno**

ENLASA dispone de personal de laboratorio de control de calidad, laboratorio de Microbiología y área de registros, donde se realizan distintas actividades dentro de cada área, siendo estas; análisis microbiológicos, identificación de nematodos, medios de cultivos, productos biológicos, pruebas fisicoquímicas, registros de productos para venta nacional e internacional, análisis de materia prima, proyecto de investigación, entre otros; con la supervisión y liderazgo de un jefe inmediato.

### **B. Control Extremo**

ENLASA trabaja con laboratorios de primer nivel en varios países como Inglaterra, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Ecuador, Chile, Trinidad y Tobago, Colombia, México, Perú, República dominicana, Brasil, USA, Filipinas, Etiopía, Camerún, Costa de Marfil y Ghana, para análisis específicos de sus materias primas y productos terminados.

### **C. Política de calidad**

ENLASA es una empresa que desarrolla, produce y comercializa insumos de alta calidad al mercado agropecuario y agroindustrial a nivel nacional e internacional exportando a 20 distintos países. Se compromete a superar las expectativas de sus clientes y accionistas, con la mejora continua de los procesos, la asignación y uso de los recursos necesarios en forma sustentable.

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 Objetivo General**

Evaluar la situación actual del laboratorio de Microbiología de la empresa ENLASA S.A. Villa Nueva Guatemala, mediante un análisis FODA.

### **1.3.2 Objetivos Específicos**

1. Detallar la infraestructura, recursos humanos y físicos con los que cuenta el laboratorio.
2. Describir continuamente los principales procesos internos de forma cualitativa dentro del laboratorio de Microbiología.
3. Identificar los principales problemas que afectan al área de laboratorio de Microbiología, representados en un análisis FODA.

## **1.4 METODOLOGÍA**

### **1.4.1 Recopilación de información primaria**

De las actividades realizadas para la obtención de información primaria se realizó una observación participante, en la cual se presentó al personal a cargo del el laboratorio de Microbiología y se realizó un recorrido dentro del laboratorio de Microbiología de la exportadora ENLASA S.A, en la cual se procedió a identificar las distintas áreas que desarrollan el funcionamiento de las actividades que se llevan a cabo tales como, área de siembra, área de lavado, área de meteorología, área fisicoquímica entre otras.

Por medio de una entrevista personalizada con el técnico del laboratorio de Microbiología, la cual consistió en una investigación cualitativa, en la que el entrevistador guía la conversación, pero concede espacio al entrevistado para que exprese sus propios puntos de vista, en la cual se dio a conocer los procesos que se llevan a cabo dentro del laboratorio y con el objetivo de recopilar información de la situación actual del laboratorio de Microbiología.

### **1.4.2 Recopilación de información secundaria**

La recopilación de información secundaria, se realizó por medio de revisión de tesis, investigaciones, páginas web, entre otras fuentes, lo cual permitió tener antecedentes que sirvieron como indicadores para evaluar la situación actual del laboratorio, toda esta información fue recopilada y analizada para tener una visión general del laboratorio de Microbiología.

### **1.4.3 Análisis de la información**

Con la información primara y secundaria recopilada se procedió a realizar un análisis FODA en conjunto de las matrices de matriz de evaluación de los factores internos (MEFI) y matriz de evaluación de los factores externos (MEFE), sobre el laboratorio de Microbiología en general, esto permitió tener un mejor panorama de la situación en la que se encuentra el laboratorio, al mismo tiempo permitió evaluar los factores externos e internos, con el fin de encontrar la problemática del laboratorio y posibles soluciones a los problemas.

## 1.5 RESULTADOS

### 1.5.1 La infraestructura, recursos físicos y humano con que cuenta el laboratorio

#### A. Infraestructura

El laboratorio de Microbiología cuenta con ocho áreas de trabajo, para la elaboración de las distintas actividades que se realizan dentro del laboratorio como lo es la elaboración de productos biológicos, análisis microbiológicos, medios de cultivos entre otros, las distintas áreas son: área de almacenamiento, área de siembra, área de fisicoquímico, área de formulación 1, área de metrología, área de formulación 2, área de autoclave y área de lavado, se describen a continuación cada una.

##### a. Área de Almacenamiento:

En la figura 2 se muestra el área de almacenamiento, que tiene la función de almacenar el agua desmineralizada para las distintas funciones dentro el laboratorio, las muestras realizadas de productos terminados para tener un control de cada uno de ellos, con el número de lote, fecha de fabricación, fecha de caducidad entre otros, el almacenamiento de materias primas y equipo de protección personal como son los cascos que son utilizados en la planta de producción.



Figura 2. Área de Almacenamiento.

### **b. Área de Siembra**

En el área de siembra como se muestra en la figura 3, cuenta con una cámara de flujo laminar donde se realiza el aislamiento e inoculación de hongos y bacterias, se almacenan dentro del refrigerados el cepario que posee el laboratorio y cajas Petri con distintos microorganismos para la elaboración de productos y para las distintas pruebas donde son necesarios. Cuenta con una incubadora que es utilizada para el crecimiento y desarrollo de bacterias.



Figura 3. Área de Siembra.

### **c. Área Físicoquímico**

En la figura 4, se muestra el área físicoquímica del laboratorio de Microbiología, donde se realizan mediciones de pH de productos terminados y medios de cultivos las cuales son anotadas en el libro de registros, se hace uso de microscopio para la verificación del crecimiento de los distintos microorganismos y la verificación de que no existan contaminantes en los productos terminados y uso de estereoscopio para las distintas investigaciones.

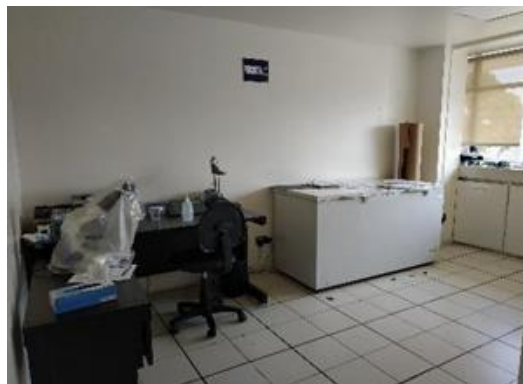


Figura 4. Área Físicoquímico.

#### d. Área de Formulación 1

El área de formulación presente en la figura 5, es un área donde se realizan los preparativos previos para los diferentes productos biológicos como BIOMAX TRIPLE, BACTROL, BIOMAX M1, BIOMAX TH, LARVASIL, LEGUMIX, SARGECIL Y MOSQUETERO o únicamente mezclas para la elaboración de medios de cultivos.

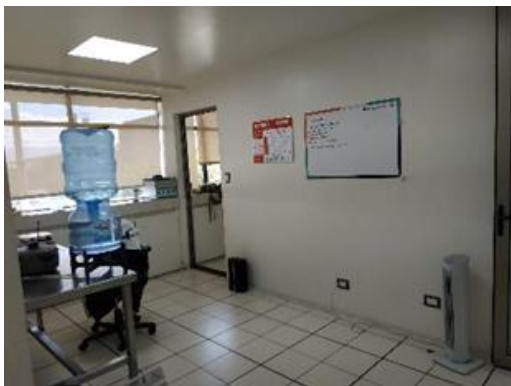


Figura 5. Área de Formulación 1.

#### e. Área de Metrología

En la figura 6 se muestra el área de metrología donde se encuentran las distintas balanzas semi-analíticas y analíticas para realiza el pesaje de diferentes materiales para la elaboración de distintos productos biológicos y medios de cultivos.



Figura 6. Área de Metrología.

## f. Área de Formulación 2

En el área de formulación 2 como se muestra en la figura 7, cuenta con una marmita donde se preparan las mezclas o premezclas de los productos biológicos para luego ser trasladadas a la planta de producción en línea 4 para completar el producto final. También cuenta con estanterías que son para usos variados.



Figura 7. Área de Formulación 2.

## g. Área de Autoclave

En la figura 8 se muestra el área de la autoclave, donde se realiza la esterilización de los distintos materiales y soluciones para la elaboración de diferentes procesos y productos tales como hisopos, tubos de ensayo, puntas de pipetas, melaza, ácido cítrico, medios de cultivos entre otros.



Figura 8. Área de Autoclave.

## h. Área de Lavandería

En el área de lavandería presente en la figura 9, cuenta con un lavado de un espacio en donde se realiza el lavado de los distintos materiales y equipos después de ser utilizados dentro y fuera del laboratorio. Se almacenan las escobas, trampeadores y palas para la limpieza del laboratorio.



Figura 9. Área de Lavandería.

## B. Recursos físicos

El laboratorio de Microbiología dispone del siguiente recurso físico:

Cuadro 1. Descripción de cristalería que dispone el laboratorio de Microbiología.

Descripción	Cantidad
Erlenmeyer con tapa de 1000 ml	7
Beaker de 500 ml	1
Beaker de 1000 ml	2
Probeta de plástico de 100 ml	1
Beaker de 100 ml	9
Agitador varilla de vidrio	1
Tubos de ensayo	163
Pipetas graduadas de 10 ml	2
Mechero Fisher	1
Magnetos de laboratorio	3
Pizeta de 500 ml	1
Micropipetas de 10 $\mu$ l a 1000 $\mu$ l	1

Continuación cuadro 1. Descripción de cristalería que dispone el laboratorio de Microbiología.

Descripción	Cantidad
Pichel de 3 l	1
Pichel de 2 l	1
Pichel de 1 l	1
Espátula de cabo de madera	1
Jeringa de inyección	1
Frascos de vidrio graduado con tapadera de 250 ml	1
Mechero de vidrio pequeño	1
Succionador para pipetas	2
Probeta graduada de 25 ml	2
Embudo mediano color negro	1
Tamiz número 60 metálico	1
Erlenmeyer de 500 ml sin tapa	3
Pichel de 500 ml	3

Cuadro 2. Descripción de equipo que dispone el laboratorio de Microbiología.

Descripción	Cantidad
Centrifuga de laboratorio	1
Microscopio óptico	1
Estereoscopio	1
Autoclave de calor húmedo	1
Incubadora bacteriológica de laboratorio	1
Marmita de 25 l	1
Marmita de 100 l	1
Potenciómetro	1
Congelador	1
Refrigerador	1
Termómetro digital	1
Cronómetro digital	1
Campana de flujo laminar clase 100	1
Balanza semi-analítica	1
Balanza analítica	1

Continuación cuadro 2. Descripción del equipo que dispone el laboratorio de Microbiología.

Descripción	Cantidad
Fumigadora agrícola	2
Licuadaora	1
Escalera	1
Mesa acero inoxidable	2

Cuadro 3. Descripción de equipo de seguridad de laboratorio de Microbiología.

Descripción	Cantidad
Casco de seguridad color blanco	2
Chaleco de seguridad tipo arnés verde	2

### C. Recurso humano

El recurso humano con el que cuenta el laboratorio de Microbiología. está conformado por:

1. Jefe inmediato Stephanie Roxana Pacheco.
2. Técnico de laboratorio Francisco Alexander Paz López.
3. Estudiante de EPS Emeli Ramírez.


## 1.5.2 Principales procesos internos del laboratorio de Microbiología

### A. Elaboración de productos biológicos para la comercialización local e internacional.

Uno de los procesos de mayor importancia que se realizan dentro del laboratorio de Microbiología en la empresa ENLASA S.A. es la elaboración de productos biológicos tales como: BIOMAX TRIPLE SL, BACTROL 5 SL, BIOMAX M1, BIOMAX TH y SARGECIL SL, de los cuales existen diferente metodología para la elaboración de los mismos, se obtiene primero lo que es la materia prima, se hace las medidas de los materiales, que lleva los materiales ya preparados a la autoclave y por último se hace uso de los marmitas que se encuentran en el laboratorio, en el área de formulación 1 y de producción para la obtención de los productos finales y así poder ser envasados.

La cantidad y frecuencia de la elaboración de los productos es dependiendo de las órdenes de producción. En stock se mantiene 5,000 l de los productos, para cuando sean necesarios utilizarlos.

Cuadro 4. Composición química de los principales productos biológicos.

<b>BIOMAX TRIPLE SL: nematicida, insecticida y fungicida biológico.</b>		
Composición química		
Composición	Concentración (% p/v)	
Nitrógeno (N)	0.50 %	
Fósforo (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	0.10 %	
Potasio (K <sub>2</sub> O)	0.40 %	
Enzimas	0.50 %	
Microorganismos benéficos ( <i>Trichoderma harzianum</i> )	100 % UFC	
Países de exportación: Costa Rica, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Perú y Ecuador.		

Continuación del cuadro 4. Composición química de los principales productos biológicos

<b>BACTROL 5 SL:</b> bioinsecticida a base de bacterias y hongos benéficos.		
Composición química		
Composición	Concentración (% p/v)	
Aceite mineral	5.00 %	
Países de exportación: El Salvador, Honduras, Nicaragua y Panamá		
<b>SARGECIL SL:</b> fertilizante y fitoprotectante.		
Composición química		
Composición	Concentración (% p/v)	
Nitrógeno (N)	0.10 %	
Fósforo (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	0.50 %	
Potasio (K <sub>2</sub> O)	1.02 %	
Microorganismos benéficos ( <i>Bacillus subtilis</i> )	1x10 <sup>9</sup> UFC/ gramo	
País de exportación: Costa Rica, Nicaragua y El Salvador.		

Fuente: elaboración propia, 2021.

## **B. Muestreos periódicos de materias primas**

Uno de los procesos que requiere mayor cuidado por parte del técnico de laboratorio es la realización de muestreos periódicos de materia primas, siendo los principales materiales, la papa, agar, caldo nutritivo, melaza 60 %, para la elaboración de productos biológicos, con el objetivo de conservar la materia prima sin contaminantes, haciendo uso de ella y cumpliendo con los estándares requeridos de buenas prácticas de las muestras de laboratorio.

El manejo de la bioseguridad dentro del laboratorio es fundamental para evitar la contaminación, debido a esto se estableció un protocolo de bioseguridad, contando con las principales normas de higiene personal.

Uso del equipo de protección personal:

- Mascarilla
- Redecilla.
- Guates de látex.
- Bata de laboratorio desinfectada.
- Cubre zapatos.

Materiales para el mantenimiento del área de trabajo:

- Alcohol 70 % frecuentemente.
- Cristalería esterilizada.
- Equipo desinfectado.

## **C. Elaboración de medios de cultivos**

El proceso de mayor atención, es la realización de distintos medios de cultivos para el aislamiento de hongos y bacterias para el uso de productos y ensayos, los medios de cultivos utilizados en el laboratorio son:

### **a. Papa Dextrosa Agar**

El medio de cultivo de Papa Dextrosa Agar, aporta elementos nutricionales especialmente enriquecidos para el desarrollo, crecimiento y asilamiento de hongos filamentosos como: *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Lecanicillium (Verticillium)* y *Metarhizium*, los más importantes hongos parásitos de insectos, al igual que los parásitos de plantas y los hongos saprofitos crecen muy bien y esporulan en este medio (Cañedo y Ames 2004).

### **b. Sabouraud**

Es un medio de cultivo sólido utilizado para el desarrollo, crecimiento y aislamiento de hongos patógenos o entomopatógenos, bacterias y levaduras. Debido a su composición, los hongos crecen exuberantemente y esporulan bien. Es el medio estándar para la observación de la morfología de los hongos, sin embargo, no es un el medio ideal de crecimiento o para estudiar la esporulación (Cañedo y Ames 2004).

### **c. Agar nutritivo**

Medio de cultivo, utilizado generalmente para el aislamiento y recuento de microorganismos, con requerimientos nutricionales bajos. Su uso es para los procedimientos para el análisis de alimentos, aguas y otros materiales de importancia sanitaria (Laboratorio Britania S.A. 2008).

Para la elaboración de cada uno de los medios de cultivos se realizan aproximadamente 50 cajas Petri cada dos semanas.

Por ejemplo el proceso de elaboración de agar nutritivo, en un frasco de 1 l se pesa el agar, se agrega agua y se pone a hervir, luego que esté hervido se toma el pH y se ingresa a la autoclave, se limpia la cámara laminar, se saca de la autoclave y se introduce a la cámara laminar y se deja enfriar, cuando ya está a temperatura ambiente se procede a llenar de 15 ml - 20 ml del agar y se deja secar; es uno de los procesos que más requieren atención a la hora de realizar la medición de la materia prima, debido que puede surgir una contaminación dentro del medio de cultivo.

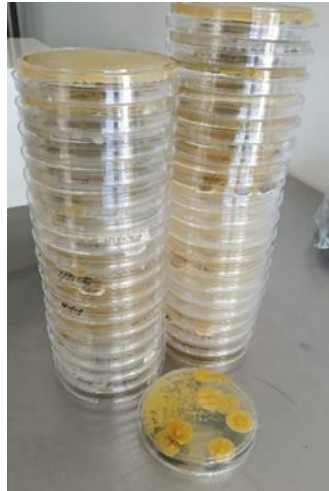


Figura 10. Medios de cultivos elaborados en el laboratorio de Microbiología.

#### **D. Elaboración de antibiogramas**

Los antibiogramas son métodos *in vitro* utilizados para determinar la susceptibilidad de los microorganismos a una diversidad de agentes antimicrobianos, bajo condiciones de laboratorio (Pedrique 2002).

Este proceso se basa en saber si un producto es bueno, si se requieren mejoras o el producto no sirve, el cual depende de la presencia de halos de inhibición (es un método simple de resumir la zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento del microorganismo en una placa de agar inoculada con el producto).

Lo cual quiere decir que si existe un halo de inhibición en el agar quiere decir que el producto es bueno, si no existe un halo de inhibición o el halo de inhibición es menor y el pigmento no es el adecuado y existe sequedad quiere decir que se necesita mejoras en el producto y cuando no existe halo de inhibición quiere decir que el producto no sirve el tiempo estimado para la elaboración de antibiogramas se realiza una vez al mes con distintos productos.

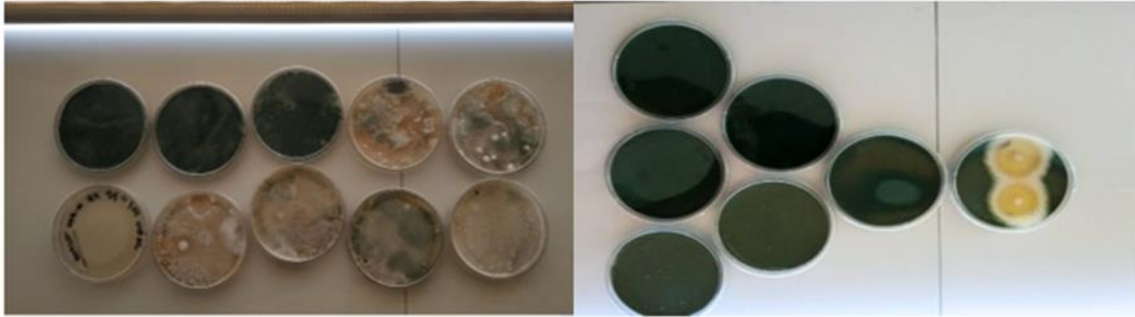


Figura 11. Antibiogramas en el laboratorio de Microbiología.

### E. Extracción de nematodos

En el laboratorio de Microbiología, el proceso de extracción de nematodos se hace periódicamente, el cual se hace con dos distintas metodologías siendo estas la extracción por raíces y la de macerado, estos procesos se realizan en poner en un beaker una cantidad de raíz y lavarla, dejarla reposar por 2 hr, luego se tamiza y el agua tamizada se examina en el estereoscopio con el fin de detectar si en la muestra existe la presencia de nematodos y si, es un nematodo perjudicial o de vida libre. La otra metodología trabajada es por el Embudo de Baermann.

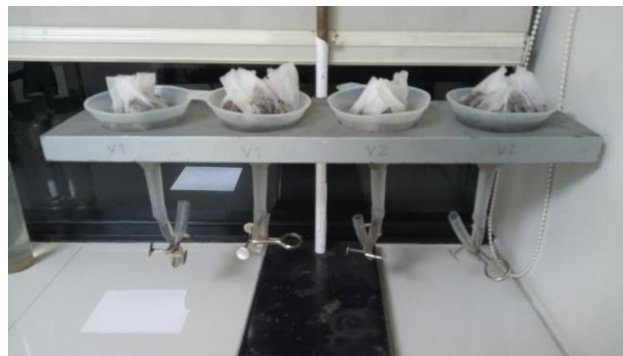


Figura 12. Embudo de Baermann presente en el laboratorio de Microbiología.

### 1.5.3 Análisis FODA

Con la información obtenida, se desarrolló un análisis FODA para el laboratorio de Microbiología, el cual se presenta en el cuadro 5.

Cuadro 5. FODA para el laboratorio de Microbiología.

<b>Fortalezas</b>	<b>Oportunidades</b>
<p>Técnico en microbiología capacitado.</p> <p>Material y equipo adecuado.</p> <p>Adecuada elaboración de productos.</p> <p>Infraestructura adecuada.</p> <p>Control de calidad de productos finales.</p> <p>Uso adecuado de equipo.</p>	<p>Innovación en productos.</p> <p>Actualización de laboratorio.</p> <p>Oportunidad de crecimiento.</p> <p>Brindar asesorías</p> <p>Diferentes herramientas para la obtención de materia prima.</p> <p>Demanda de productos.</p>
<b>Debilidades</b>	<b>Amenazas</b>
<p>Falta de Seguimiento de las investigaciones.</p> <p>Escasa desinfección en las áreas de trabajo.</p> <p>Falta de personal por presupuesto.</p> <p>No cuenta con documentos guías, para la cumplir con los procesos del laboratorio.</p> <p>Larga duración en las jornadas de trabajo.</p>	<p>Nuevos competidores.</p> <p>Demanda en el mercado.</p> <p>Poca divulgación.</p> <p>No se cuenta con laboratorio certificado.</p> <p>Recesión económica de países de exportación.</p>

## A. Matrices de evaluación

### a. Matriz de evaluación de los factores internos (MEIF)

Cuadro 6. Matriz de evaluación de los factores internos (MEIF) (Ponce Talancón 2007).

Factor analizar	Peso	Calificación	Peso Ponderado
<b>FORTALEZAS</b>			
1 Técnico en microbiología capacitado.	0.18	3	0.54
2 Material y equipo adecuado.	0.08	2	0.16
3 Adecuada elaboración de productos.	0.12	3	0.36
4 Infraestructura adecuada.	0.06	2	0.12
5 Control de calidad de productos finales	0.08	3	0.16
6 Uso adecuado de equipo	0.07	2	0.14
<b>DEBILIDADES</b>			
1 Falta de seguimiento de las investigaciones.	0.15	4	0.6
2 Escasa desinfección en las áreas de trabajo.	0.08	3	0.24
3 Falta de personal por presupuesto.	0.06	2	0.12
4 No cuenta con documentos guías, para la cumplir con los procesos del laboratorio.	0.08	3	0.24
5 Larga duración en las jornadas de trabajo	0.04	2	0.08
<b>TOTAL</b>	<b>1</b>		<b>2.76</b>

Como se observa en el cuadro 6 de la matriz MEIF, el peso ponderado total de las fortalezas es de 1.48, comparado con el peso ponderado total de las debilidades de 1.28, esto quiere decir que las fuerzas internas del laboratorio de Microbiología en conjunto son favorables en el ambiente interno. Por tanto, el laboratorio tiene el potencial de poder mejorar en los procesos internos que se realizan con las fortalezas que poseen.

## b. Matriz de evaluación de los factores externos (MEFE)

Cuadro 7. Matriz de evaluación de los factores externos (MEFE) (Ponce Talancón 2007).

Factor a analizar	Peso	Calificación	Peso ponderado
<b>OPORTUNIDADES</b>			
1 Innovación en productos.	0.12	3	0.36
2 Actualización de laboratorio.	0.08	2	0.18
3 Oportunidad de crecimiento.	0.09	3	0.27
4 Brindar asesorías	0.07	3	0.21
5 Diferentes herramientas para la obtención de materia prima	0.06	2	0.12
6 Demanda de productos	0.10	2	0.20
<b>AMENAZAS</b>			
1 Nuevos competidores	0.15	3	0.45
2 Demanda en el mercado.	0.10	3	0.20
3 Poca divulgación	0.08	2	0.16
4 No se cuenta con laboratorio certificado	0.09	3	0.27
5 Recesión económica de países de exportación.	0.06	2	0.12
<b>TOTAL</b>	<b>1</b>		<b>2.54</b>

El total ponderado de la matriz MEFE es 2.54 lo cual indica que el laboratorio de Microbiología está por arriba de la media en cuanto al esfuerzo por seguir estrategias que permita aprovechar las oportunidades externas y evitar las amenazas externas; estrategia de la matriz MEFE consiste en que el valor del peso ponderado total de las oportunidades sea mayor al peso ponderado total de las amenazas. Al evaluar el ejemplo anterior, el peso ponderado total de las oportunidades es de 1.34, y de las amenazas de 1.20, lo cual indica que el medio ambiente externo es favorable para la organización.

## **B. Descripción de la problemática del laboratorio de Microbiología**

En el laboratorio de Microbiología la mayor problemática según la entrevista que se le realizó al técnico microbiólogo Francisco Paz es el tiempo, debido al escaso personal, el laboratorio solo cuenta con una persona, las actividades, ensayos o investigaciones asignadas no se culminan en el tiempo establecidos.

El técnico microbiólogo se organiza con las actividades diarias y cuando se establece una investigación dependiendo el nivel, es como se van realizando, por lo que muchas de las investigaciones y actividades se quedan pausadas, debido a que algunas veces no es suficiente el tiempo lo que provoca realizar las actividades fuera del horario laboral (7:00 AM a 4:00 PM) lo que causa aproximadamente 6 hr extras de trabajo, debido que en el transcurso del día se registran nuevas órdenes de producción y la cantidad de materiales que se necesitan preparar para su elaboración son mayores.

Es necesario la contratación de más personal para el laboratorio de Microbiología para poder realizar todas las actividades en el tiempo estimado y de forma eficaz, ya que el laboratorio presenta varias áreas en las cuales se pueden tener una o dos personas encargadas de las distintas actividades; una persona puede estar encargada de la siembra, inoculación y cepario de microorganismos, formulación de productos biológicos, premezclas y mezclas y otra persona específicamente en el área de metrología, área de esterilización en auto clave, área de formulación 2, encargada de los tanques y en el área de lavado, estas áreas pueden ser distribuidas en las dos o tres personas más.

Otra de las problemáticas que se encuentran en el laboratorio es que no se cuenta con manuales o guías para los principales procesos que se llevan a cabo dentro del laboratorio de Microbiología, lo cual es muy importante porque se necesita la metodología exacta de cada proceso, como los materiales exactos y los pasos a seguir, debido a que varios de los procesos que se realizan son parte de la elaboración de productos biológicos para venta nacional e internacional y para pruebas microbiológicas de calidad de productos terminados y de materias primas.

La elaboración de dichos manuales es necesario, en algunas ocasiones cuando el técnico microbiólogo se encuentra muy saturado de actividades o investigaciones, personal del laboratorio de calidad ayuda al técnico y en ocasiones el personal de calidad no posee los conocimientos de los procesos que se realizan dentro del laboratorio de Microbiología y puede llegar a confundir los procesos o los materiales y eso provoca una pérdida de tiempo y de material.

El laboratorio de Microbiología cuenta con dos líneas de producción de productos biológicos para venta nacional e internacional, los productos principales son: BIOMAX TRIPLE, BACTROL 5 SL, BIOMAX M1, BIOMAX TH y SARGECIL SL, dentro de estas líneas una de las problemáticas es el control de los trabajadores respecto a las buenas prácticas de bioseguridad, debido a que los productos biológicos son parte de los productos más vendidos a nivel nacional o como internacional para ENLASA S.A.

Lo que se requiere realizar pruebas microbiológicas a los trabajadores, material y equipo de trabajo y área de trabajo, con la finalidad de conocer si existen buenas prácticas de bioseguridad para la elaboración de productos terminados, debido a que pueden existir contaminantes o alteraciones en los productos y esto puede verse afectado en la aplicación en campo.

El laboratorio cuenta con 8 áreas de trabajo y un área de sistemas que es ajena al laboratorio de Microbiología, en consecuencia, a esto una problemática que se encuentra es en el paso del personal ajeno al laboratorio que no cuentan con el equipo necesario para el ingreso al laboratorio y esto puede verse afectado en que exista algún contaminante en el ambiente y afectar alguna muestra, materia prima o producto.

Lo que se necesita es una constante desinfección de todas las áreas de trabajo, seguimiento de las normas de bioseguridad para cada persona que ingrese al laboratorio y un equipo altamente calificado, para evitar cualquier tipo de riesgos.

## 1.6 CONCLUSIONES

1. En el laboratorio de Microbiología cuenta con ocho áreas de trabajo las cuales son: área de almacenamiento, área de siembra, área de fisicoquímico, área de formulación 1, área de metrología, área de formulación 2, área de autoclave y área de lavado, así mismo cuenta con la cristalería y equipo necesario para la realización de las distintas actividades dentro del laboratorio y cuenta únicamente con un personal calificado por un técnico en microbiología.
2. Los procesos básicos que se realiza dentro del laboratorio de Microbiología son: elaboración de productos biológicos para la comercialización local e internacional, muestreos periódicos de materias primas, elaboración de medios de cultivos, elaboración de antibiogramas y extracción de nematodos.
3. La problemática principal que se presenta en el laboratorio de Microbiología es la escasez de personal y el tiempo, debido a que solo se cuenta solamente con un técnico en microbiología, por lo que en el laboratorio solo se trabaja al nivel ensayo por lo cual, el técnico tiene que organizar su tiempo para poder realizar las actividades diarias y los ensayos, sin embargo, el tiempo laboral no es suficiente él tiene que trabajar de 6 hr - 10 hr, extras para poder realizar con todo lo solicitado durante la planificación.

## **1.7 RECOMENDACIONES**

1. Debido al escaso personal se debe de contratar una o dos personas más para el laboratorio de Microbiología con el objetivo que las actividades proporcionadas se cumplan con lo establecido y al tiempo requerido para que exista una mayor eficiencia el laboratorio.
2. Elaboración de guías o manuales de los principales procesos que se llevan a cabo en el laboratorio de Microbiología, debido a que será de gran ayuda para el técnico de laboratorio para tener un registro de cada paso, equipo y materiales para la elaboración de los distintos procesos que se llevan a cabo dentro del laboratorio de Microbiología.
3. Realización de capacitaciones al técnico de microbiología para tener mayores conocimientos en distintas áreas y presentar un mejor trabajo y servicio dentro de la empresa.

## 1.8 BIBLIOGRAFÍA

1. Arriaga Rodríguez, LF. 2014. Centro Cultural para el Municipio de Villa Nueva, Guatemala. (en línea) Tesis Arq. En Investigación, Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Arquitectura. 14 p. Disponible en [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/02/02\\_3900.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/02/02_3900.pdf)
2. Cañedo, V; Ames, T. 2004. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Lima Perú, Manual de laboratorio del Centro Internacional de la Papa (CIP). 7,13,44 p. DOI: <https://doi.org/cip@cgiar.org>, [www.cipotato.org](http://www.cipotato.org).
3. ENLASA 2020. Empresa Exportadora ENLASA S.A. Villa Nueva Guatemala. Panfleto.
4. Laboratorio Britania S.A. 2008. Nutritivo Agar. Argentina, Ficha Técnica, Nutritivo Agar. 10-11 p.
5. Paz, L. 2020. Situación actual en el laboratorio de Microbiología (Entrevista). Guatemala, Villa Nueva, 1a. Calle 18-60 Zona 4. Complejo Industrial Mayan Golf, Exportadora ENLASA S.A., laboratorio de Microbiología.
6. Pedrique, M. 2002. Dertminación de la sensibilidad de las bacterias a los antibióticos (Antibiograma) (en línea). s.l., Práctica de laboratorio. 9 p. Disponible en [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedraMicro/10\\_Antibiograma.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_Antibiograma.pdf).









## 2.1 PRESENTACIÓN

En Guatemala se ha buscado alternativas para el control de los insectos plaga con el desarrollo y aplicación de los agentes de control biológico, para la reducción del uso de plaguicidas sintéticos, debido a que han dado como consecuencias negativas en la salud humana, la contaminación del medio ambiente, el desarrollo de la resistencia y aumento de los costos de producción de los alimentos.

Un método de control biológico es el uso de los hongos entomopatógenos el cual ha ido incrementando en los últimos años. Hoy en día existen aproximadamente 100 géneros y 700 especies de hongos entomopatógenos (Monzon 2001). Uno de los agentes entomopatógenos más utilizados como controlador biológico en el mundo es *Beauveria bassiana*, ataca a más de 200 especies de insectos, incluyendo plagas de importancia económica agrícola.

La producción de este hongo para el control biológico, se basa en la multiplicación masiva en sustratos naturales sólidos o líquidos, los cuales proporcionan al agente los nutrientes necesarios para su mayor reproducción de conidios, se busca crecimiento rápido, alta viabilidad cercana al 100 % y a bajo costo de producción. Esta producción se ha implementado desde hace varias décadas, actualmente existen distintos métodos de producción de hongos entomopatógenos a nivel, artesanal, semi-industrial e industrial (Monzon 2001).

Por varios años la empresa ENLASA ha utilizado hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* para la elaboración de los productos biológicos, se buscó una alternativa con esta investigación para poder propagar en forma masiva *Beauveria bassiana* a través de sustratos sólidos naturales. Los sustratos sólidos utilizados fueron: arroz, maíz quebrado, maíz blanco y sorgo, la elección de estos sustratos se debió a los nutrientes que poseen cada uno que son necesarios para la propagación y por el bajo costo de adquisición de cada uno.

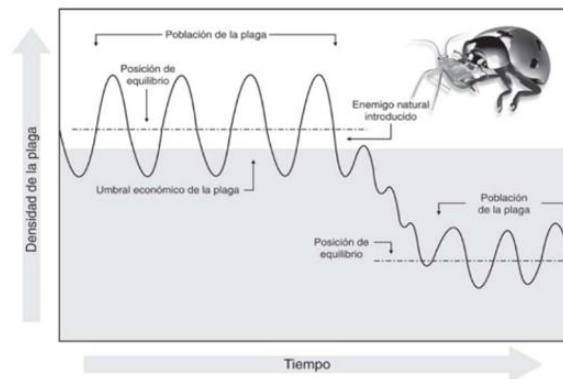
De acuerdo a los resultados obtenidos y los análisis aplicados, los sustratos de arroz y maíz quebrado, presentaron mayor concentración de conidios  $2.36 \times 10^9$  UFC/g y  $1.75 \times 10^9$  UFC/g, alta viabilidad de 97 % y 94 % a los 21 días de incubación y mayor rendimiento del producto final del polvo cosechado con un total de 220.8 g/kg y 194.46 g/kg. Por lo cual el sustrato de arroz es una alternativa para la propagación masiva de *Beauveria bassiana* debido que presentó un alto rendimiento de concentración de UFC/g y alta viabilidad a los 21 días de incubación.

## 2.2 MARCO CONCEPTUAL

### 2.2.1 Control biológico

El control biológico es la utilización de organismos benéficos contra aquellos que pueden llegar a causar algún daño a los cultivos conocidos como plagas. Un organismo que causa daño a los cultivos se puede eliminar o reducir población a una escala que no cause daño económico. La eliminación completa de plagas resulta en la mayoría de los casos como un problema ecológico por consecuencia si un enemigo natural elimina por completamente a una plaga, éste se quedaría sin alimento para continuar su desarrollo.

El control biológico busca reducir la población de la plaga a una proporción que no cause daño económico y permite que exista una cantidad poblacional de la plaga lo que garantiza que exista la supervivencia del agente controlador. Este agente mantiene su propia población y previene que la plaga retorne a grados poblacionales que causan daño (Nicholls Estrada 2013). En la figura 13 se muestra el Efecto regulador de la introducción de un enemigo natural que ejemplifica el control biológico sobre una población plaga en relación con un umbral económico.



Fuente: Nicholls Estrada, 2013.

Figura 13. Efecto regulador de la introducción de un enemigo natural que ejemplifica, control biológico sobre una población plaga en relación con un umbral económico.

Según la forma que se aplique el control biológico este puede ser auto sostenido y se diferencia de otras formas de control debido a la actuación que depende de la densidad de la población de plagas. De manera, los enemigos naturales aumentan en intensidad y destruyen la mayor parte de la población de las plagas en medida que esta aumenta en densidad y viceversa (Nicholls Estrada 2013).

El manejo de insectos plaga, por medio de pesticidas se ha realizado por décadas, causando contaminación al ambiente y al ser humano. Por lo tanto, implementar estrategias amigables en el control de plagas por medio de microorganismos sueltos en la naturaleza, como los hongos entomopatógenos, suena ser una maniobra eficaz dentro de los sistemas agrícolas (González et al. 2012).

### 2.2.2 Hongos entomopatógenos

Según Monzón los hongos entomopatógenos se encuentran de forma natural en el medio ambiente, en rastros de cultivos, estiércol, en el suelo, las plantas, entre otros. Logran un buen desarrollo en lugares frescos, húmedos y con poco sol y obteniendo su nutrición de otros organismos o de materia orgánica (Monzon 2001).

Los hongos entomopatógenos más importantes que son utilizados para el control de insectos plaga, son *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea* e *Hirsutella thompsonii*, estos hongos afectan a una serie de insectos plaga de diferentes órdenes que causan daños en cultivos de importancia económica. Así mismo, se describe la producción de *Pochonia chlamydosporia*, un hongo nematófago que se utiliza en campo para el control de nematodos como *Meloidogyne incognita* y otros nematodos fitopatógenos que afectan a diversos cultivos (Gómez et al. 2014).

#### A. Características fisiológicas

Los hongos entomopatógenos se distinguen por sus rasgos distintivos, siendo organismos heterótrofos es decir que carecen de fotosíntesis ya que ellas poseen células quitinizadas que normalmente no son móviles, entre ellas están:

*Beauveria Bassiana* (Bálsamo) Vuillemin: hongo aislado de más de 200 especies de diversas órdenes de insectos los cuales incluyen los llamados plagas que afectan cultivos de importancia económica Gómez et al. (2014) citado por Alves (1998). contiene células conidiógenas que le ayudan a formar conidias formando seguidamente un raquis. Éste tipo de hongo forma una especie algodonosa en el cuerpo de su víctima que fueron el resultado de micelio y esporas que produce dicho hongo.

## **B. Mecanismo de infección de hongos entomopatógenos**

Los hongos entomopatógenos, actúan en el hospedero, por medio de las conidias, produciendo disturbios en el sistema nervioso, respiratorio, muscular, digestivo; haciéndole difícil el trasladarse, alimentarse, llevándolo hasta la muerte, ocurrida a los 3 a 5 días, de su infección (Senasa 1998).

En la naturaleza las fases en que los hongos entomopatógenos se desarrollan sobre sus hospedantes son:

### **a. Adhesión del conidio a la cutícula de insecto**

Durante la infestación, en primer paso ocurren en las regiones intersegmentales o zonas blandas de la superficie del insecto, es la parte que entra en contacto con la unidad infectiva del hongo o conidio, en el cual participan algunas glicoproteínas que funcionan como un receptor específico para los conidios (Gómez et al. 2014).

### **b. Germinación de conidio**

La germinación ocurre en el momento, cuando la conidia o espora sobre el integumento del insecto, germina, formando un apresorio el cual se encarga de fijarse en la cutícula del insecto (tubo germinativo), dependiendo de las condiciones y la cepa ocurre de 12 hr a 20 hr (Gómez et al. 2014).

### **c. Penetración de integumento**

Esta fase ocurre en cuanto la degradación enzimática de la cutícula y la presión mecánica es ejercida por el tubo germinativo, la cual penetra en la cutícula del insecto. En este proceso el área esclerotizada y membranosa de la cutícula se rompe; este proceso ocurre en un tiempo de 8 hr a 12 hr (Gómez et al. 2014).

### **d. Multiplicación del hongo**

En esta fase, el hongo llega al hemocele, el cual la hifa se ensancha y ramifica dentro del insecto, en forma de levadura, produciendo blastosporas (miceliales libres y unicelulares) (Gómez et al. 2014).

### **e. Producción de toxinas**

Según Gómez, se conoce como fase de parasítica, en la cual el hongo produce toxinas que matan al insecto desde adentro, al consumir todos los nutrientes, causando la muerte del insecto debido a sus propiedades, muy parecidas a la de los insecticidas, produciendo la degradación de los tejidos, seguido de los sistemas funcionales, deshidratando las células de las membranas, inhibiendo las reacciones de defensa (Gómez et al. 2014).

### **f. Muerte del insecto**

Esta fase ocurre cuando el hongo coloniza completamente el interior del insecto, por parte de las toxinas, iniciando la fase saprofita, en la cual la muerte depende de las condiciones ambientales y del hospedante (Gómez et al. 2014).

### **g. Colonización**

Muerto el insecto, en esta fase el micelio del hongo invade los tejidos y órganos, muchas veces produciendo sustancias antibacteriales, impidiendo la descomposición del insecto, realizado en un tiempo de 3 a 8 días (Gómez et al. 2014).

### **h. Emergencia**

Esta fase depende mucho de las condiciones ambientales, como la húmeda, en la cual el hongo emerge de la cutícula a través de las zonas menos esclerosas, esporulando sobre el cadáver, produciendo inóculo para infectar otros insectos, la cual hasta puede durar meses, dependiendo de la humedad relativa, para esporular (Gómez et al. 2014).

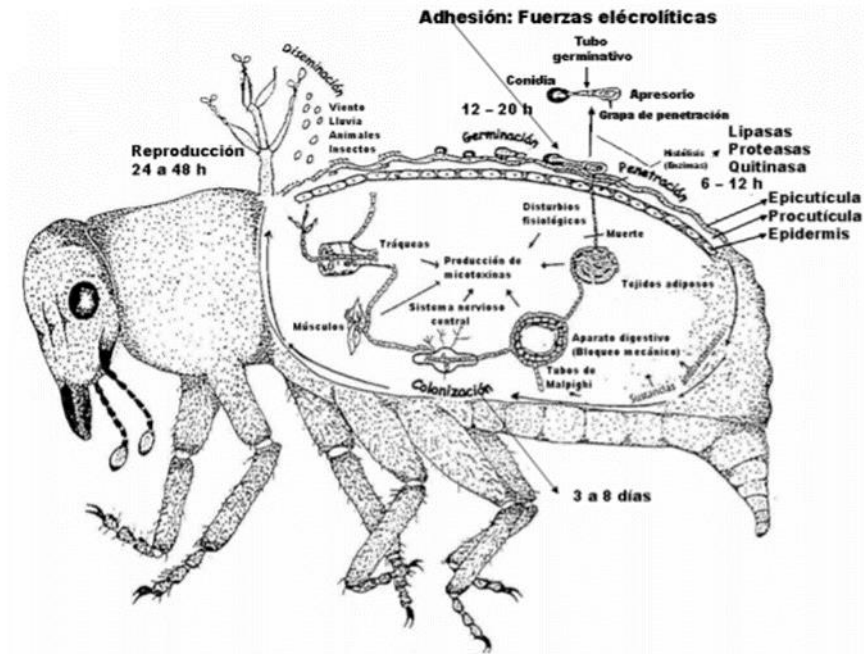
### **i. Esporulación**

La producción de conidios o esporas ocurre en un periodo de 24 hr a 48 hr, la cual está lista para infectar a otros insectos (Gómez et al. 2014).

### **j. Diseminación**

Esta fase depende del viento, lluvia, hombre, la espera de hospederos que transiten en el lugar, para su proceso de infección (Gómez et al. 2014).

En la figura 14 se muestra la relación hongo entomopatógeno – hospedero.



Fuente: Gómez et al., 2014.

Figura 14. Relación hongo entomopatógeno – hospedero.

## C. Factores que influyen en el establecimiento y acción de hongos entomopatógenos

### a. Humedad

Si las condiciones de humedad relativas son favorables, ( $\geq 90\%$ ), el hongo puede producir esporas o conidios (Cañedo y Ames 2004).

Los hongos entomopatógenos necesitan alta humedad relativa para la germinación de los conidios y la formación de estructuras reproductoras, acentuando la estabilidad y persistencia.

Para algunos autores la humedad es relativa es decir de poca importancia durante el proceso de infección pero que sí es indispensable en el proceso de germinación de los conidios, también durante el desarrollo de las hifas y en la reproducción de esporas.

Se ha delimitado que la humedad debe tener un 92 % como mínimo para que se dé la germinación de esporas y así obtener resultados favorables para el desarrollo de hongos entomopatógenos.

### **b. Temperatura**

El rango óptimo de la temperatura para la sobrevivencia, desarrollo y patogenicidad de los hongos entomopatógenos fluctúa entre debe ser de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . (Cañedo y Ames 2004).

### **D. Uso de hongos entomopatógenos**

Las infecciones de insectos son comunes, no se ha logrado un manejo consistentemente exitoso, debido a que la mayoría requieren condiciones precisas de humedad y temperatura para su desarrollo. Hoy en día se carece de formulación comercial que contengan conidios que resistan largos periodos de almacenamiento. El uso de los hongos es promisorio, especialmente cuando se integre con otras medidas de control ya que por sí solos no pueden tener un papel dominante en el control de plagas.

Las características de la población del insecto hospedero que deben ser consideradas en estudios epizootiológicos son, la susceptibilidad, la densidad, el movimiento y la distribución espacial. Se ha observado que, en una población de insectos sensibles a un agente infeccioso, la tasa de enfermedad de una población se incrementa con el aumento de la población de insectos. Los virus, las bacterias y los protozoarios, infectan por vía oral, los hongos y los nematodos, su principal vía de infección es a través del integumento (Merino 2017).

### **E. Producción de hongos entomopatógenos**

El uso de hongos entomopatógenos, es parte de manejo integrado de plagas, contribuyen una alternativa para los productores, manifestando beneficios desde el punto de vista ambiental, agroecológico y salud humana.

Los insecticidas a base de hongos entomopatógenos deben de producirse a mayor escala, es decir necesitan tener métodos de producción para obtener buen rendimiento y un producto de buena calidad. La producción de hongos entomopatógenos, consiste en la propagación masiva del hongo y sus estructuras (esporas y/o conidios) en un sustrato natural. Se han evaluado distintos tipos de sustratos naturales principalmente arroz, maíz, frijol, soya y cebada; siendo los más utilizados arroz, maíz y trigo (Granda 2008).

Según Granda (2008), existen diferentes métodos de propagación masiva de hongos entomopatógenos, como la propagación artesanal, la producción semi-industrial a nivel de media escala y la propagación industrial a gran escala específicamente para empresas o compañías que cuenta con los reactivos y los equipos especializados.

## **F. Métodos de producción**

### **a. Artesanal**

Se toma un hongo llamado patrón o semilla para realizar un cultivo puro, este se ingresa al laboratorio artesanal depositando arroz en bolsas de polipropileno y se pone a hervir por una hora durante tres días consecutivos, Monzon (2001) indica que el arroz en bolsas es inoculado con el hongo semilla y se deja reposar en condiciones ambientales hasta que el hongo logra colonizar el arroz, cuando ya esté completamente colonizada, se lava con agua y el caldo o mezcla obtenido del lavado del arroz se aplica para el control de las plagas.

### **b. Semi-industrial**

La producción semi-industrial se da a mediana escala, está dividida en dos etapas que son: etapa de cepario y la etapa de producción (Monzon 2001). La etapa de cepario comprende aislar la cepa y obtener el cultivo puro, también comprende, tener en cuenta el mantenimiento, reactivación y preservación de las cepas. La etapa de producción comprende la preparación de sustratos, la inoculación e incubación de matrices y bolsas, manejo de secado en bandejas, la cosecha del hongo y la preparación de las formulaciones.

### **c. Industrial**

Para la producción industrial de los hongos entomopatógenos se inicia en los cultivos puros en platos de Petri en medio SDA. Éste inóculo se utiliza para el crecimiento del hongo en frascos que tienen en medio líquido nutritivo aséptico, bajo condiciones de fermentación y agitación a 110 rpm, durante 72 hr éste cultivo produce blastosporas que sirven para inocular bandejas con un sustrato sólido químicamente definido para la producción de esporas aéreas y después de 15 días (depende la temperatura) el hongo está listo para ser cosechado, homogenizado, formulado y secado en forma de polvo (Monzon 2001).

### 2.2.3 *Beauveria bassiana*

#### A. Generalidades

En 1835 Agostino Bassi, científico italiano, descubrió una enfermedad infecciosa llamada *Bombix mori*, mejor conocido como el gusano de seda, causada por la muscardina blanca, *Beauveria bassiana*. Esa enfermedad era altamente infecciosa que se transmitía por contacto, se encuentra en la naturaleza, cuenta con un amplio espectro de hospedantes, por lo cual es utilizado a nivel mundial como biocontrolador de los insectos plaga debido a su estabilidad fuera del hospedante y en los aislados fúngicos (Zimmermann 2007).

*Beauveria bassiana*, es un hongo anamórfico que tiene la capacidad de habitar en diferentes ambientes, incluyendo el suelo, los insectos y las plantas. El hongo vive como saprofito en el suelo, endófito en las plantas y como un entomopatógeno cuando afecta a un numeroso grupo de los artrópodos. Es un hongo haploide y normalmente se reproduce asexualmente, aunque puede reproducirse sexualmente en un estado teleomórfico, llamado *Cordyceps bassiana* (Merino, 2017).

El hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* es el más utilizados para el control de plagas, ataca a más de 200 especies de insectos de los diferentes órdenes, incluyendo las plagas de gran importancia agrícola, entre ellos la broca del café, la palomilla del repollo y el picudo del plátano (Monzon 2001).

El estudio realizado en 2005 por J. Márquez, para identificar agentes de control microbiológico para evitar el uso de productos químicos, la evaluación de 10 cepas del *Beauveria bassiana*, evidenció que existe una capacidad de infección de las cepas con mayor potencial que otros hongos entomopatógenos, presentando parasitismo del 28 % - 54 % en cepas a través del tiempo en una cámara húmeda individual (García 2009).

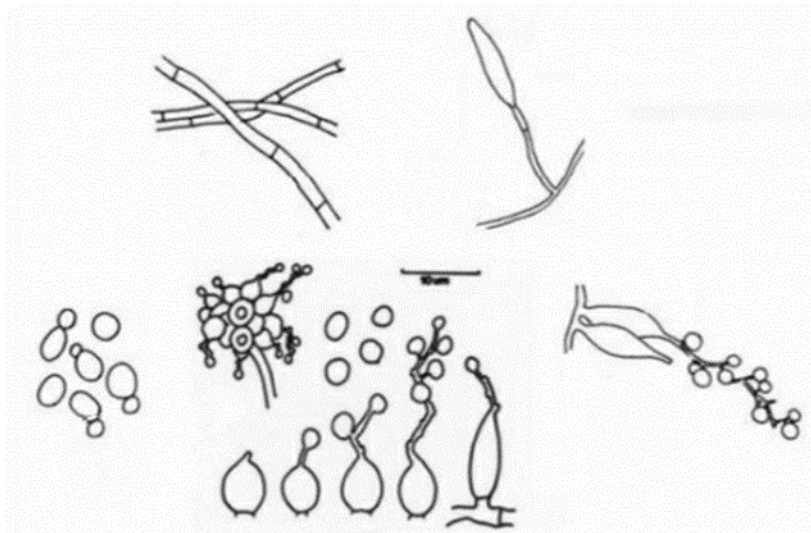
#### B. Taxonomía de *Beauveria bassiana*

Reino: Fungi.  
Filum: Ascomycota.  
Clase: Sordariomycetes.  
Orden: Hypocreales.  
Familia: Cordycipitaceae.  
Género: *Beauveria*.  
Especie: *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.

### C. Características morfológicas

El hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, su apariencia es blanca algodonosa o amarillenta con aspecto polvoroso, está conformado por hifas septadas de  $2.5\ \mu\text{m}$  -  $25\ \mu\text{m}$  de diámetro de donde se forman conidióforos de  $1\ \mu$  -  $2\ \mu$  de diámetro que son simples e irregulares terminando en vértices en forma de racimos, los cuales sostienen los conidios hialinos y globosos, de  $2\ \mu$  -  $3\ \mu$  o  $2\ \mu$  -  $2.5\ \mu$  originados de formar irregular o con una apariencia en forma de zigzag al raquis hasta  $20\ \mu$  de longitud y  $1\ \mu$  de diámetro (Carrillo 2003).

En la figura 15 se muestra las estructuras morfológicas principales de *Beauveria bassiana*.



Fuente: Carrillo, 2003.

Figura 15. Estructuras morfológicas principales del hongo *Beauveria bassiana*.

Para el desarrollo de *Beauveria bassiana*, las condiciones óptimas para un buen desarrollo son: temperatura de  $25\ ^\circ\text{C}$  -  $30\ ^\circ\text{C}$ , pH es de  $5.7$  -  $5.9$ , una humedad relativa de  $90\ \%$  y para la generación de los conidios en el rango de  $5$  días -  $7$  días. Generalmente a los  $12$  días, una colonia de *B. bassiana* en un cultivo puro presenta una esporulación abundante cremosa, amarillenta pálida incoloras al reverso, o rojizas en medio Papa Dextrosa Agar (PDA) (Gómez et al. 2014).

## **D. Modo de infección de *Beauveria bassiana***

A continuación, se detalla el modo de infección de *Beauveria bassiana* según Kouassi (2001):

### **a. Adhesión**

Existe un mecanismo de reconocimiento y compatibilidad de los conidios con células del tegumento del insecto. Esta fase se divide en dos etapas: en la primera etapa el conidio se pega a la cutícula por medio de fuerzas hidrofóbicas y electrostáticas, y la segunda etapa el conidio produce un mucílago que realiza una modificación en la epicutícula, lo que produce la germinación.

### **b. Germinación**

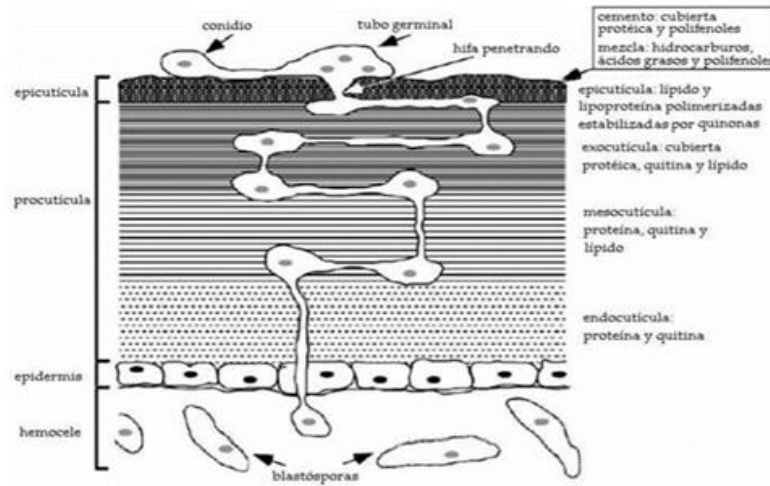
Esta fase es dependiente principalmente de condiciones que existen del medio ambiente y la fisiología del hospedante. Está puede producir la inhibición de la germinación.

### **c. Diferenciación**

Este proceso se caracteriza por la formación de un apesorio o estructura terminal para que exista un punto de agarre y remoción de la cutícula para favorecer la penetración. La producción de los apesorios es dependiente del valor nutritivo de la cutícula del hospedante.

### **d. Penetración**

Se realiza con la mezcla de la presión mecánica y enzimática conformadas por las lipasas, proteasas y quitinasas, de las cuales la más importante en la penetración, son las proteasas (figura 16).



Fuente: Kouassi, 2001.

Figura 16. Estructura y composición de la cutícula del insecto y esquema del ciclo infección de *Beauveria bassiana* en el insecto.

## E. Uso y aplicaciones de *Beauveria bassiana*

### a. Plagas a controlar

*Beauveria bassiana* ha sido reconocido en muchas especies de insectos en climas templados y regiones tropicales y es usado para el control de plagas en una moderada escalas en Europa del este y en China. Existen muchos reportes de la incidencia natural de *B. bassiana* causando epizootias que varían en magnitud sobre insectos de importancia agrícola y forestal en su mayoría.

Sus primeros intentos por controlar insectos están entre 1888 y 1896, para controlar la chinche de los cereales *Blissus leucopterus* (Say); en Kansas, E.U.A., los cuales fueron favorables, la incidencia natural de la enfermedad fue efectiva reducción la población del insecto, concluyendo que la presencia artificial del hongo disminuyo considerablemente la presencia de la plaga de los cereales (Hernández Velázquez 1999).

Según estudios de Senasa (1998), algunas de las plagas a controlar por *Beauveria bassiana* son: picudo del chile, mosquita blanca, picudo del algodón, broca del cafeto, chapulín, palomilla de la manzana, gallina ciega, picudo del agave entre otros.

## **b. Cultivos que beneficia**

Según estudio realizado por Integi los cultivos que beneficia *Beauveria bassiana* son: chile, repollo, platano, caña de azúcar, tomate, papa, berenjena, café, algodón, maíz, manzano, frijol (Intagri 2016).

## **c. Aplicaciones del hongo *Beauveria bassiana* en campo**

Para *Beauveria bassiana* la aplicación en el campo deben ser bajo condiciones adecuadas para su desarrollo, deben existir condiciones idóneas del medio ambiente (temperatura y humedad) y la presencia de hospederos (plaga objetivo). Las formas de aplicación pueden ser: mediante aplicaciones foliares, siendo estas la más común y se emplean mediante formulaciones líquidas o sólidas a pH 5 o 6, uso de trampas con organismos inoculados con el hongo, adicionando feromonas como atrayente. Para que *Beauveria bassiana* actúe necesita ponerse en contacto directo con el insecto, para que exista una acción (Intagri 2016).

## **d. Conservación**

Refrigerar a una temperatura de 1 °C - 10 °C. A esta temperatura el producto se puede conservar hasta 4 meses, tanto en forma granulada como líquida (Intagri 2016).

### **2.2.4 Producción del hongo *Beauveria bassiana***

Según Cañero, el medio de cultivo, consiste en una sustancia que permite el desarrollo de microorganismos, produciendo el crecimiento del organismo, el cual debe ser una solución que cuente con los ingredientes necesarios en cuanto a nutrientes y un pH ligeramente ácido, para asegurar el crecimiento, desarrollo y reproducción de los hongos, es recomendable la aplicación de antibióticos para inhibir el desarrollo de bacterias saprofitas a modo de evitar la contaminación de los cultivos.

Las especies de *Beauveria bassiana* se desarrollan con facilidad en medios de cultivo de (PDA), Agar Dextrosa Saboraud (SDA) y Agar Morfológicas para Levaduras (YMA). En el caso de producir en estos medios los costos de producción son muy altos.

Se ha reportado también la producción a gran escala de *Beauveria bassiana* en medios sólidos utilizando como soporte substratos de origen vegetal como fuente de soporte para el crecimiento, por mencionar algunos arroces, trigo, salvado entre otros cereales. El más utilizado, y en el cual se ha obtenido los mejores resultados es el arroz (Monzon 2001). La producción por esto medios los costos de producción son menores.

Debido a que *Beauveria bassiana* tiene la capacidad de poder reproducirse de forma masiva por ser un hongo filamentoso, siendo este un microorganismo de con un alta utilización para los procesos de fermentación sólida, le proporciona ventajas sobre otros microorganismos en la colonización de sustratos sólidos y la utilización como fuente de nutrientes para la propagación masiva.

### **2.2.5 Procesos de control de calidad microbiológica**

En el proceso de producción masiva de hongo entomopatógenos, implica una serie de aspectos a evaluar para realizar un buen manejo de control de calidad.

#### **A. Control de contaminantes**

Durante la producción del hongo se tiene que verificar si existe algún microorganismo no deseado que se desarrolla en el medio de cultivo ya que los contaminantes se encuentran en el ambiente y en materiales empleados en el laboratorio.

Los contaminantes pueden comportarse como hiperparásitos, alimentándose del hongo en producción o interrumpir el crecimiento y la forma de la estructura reproductiva.

Las bacterias son el contaminante más importante en la producción masiva de acuerdo a la especie presentan colonias redondeadas, también las bacterias pueden desarrollarse en bolsas sembradas y éstas despidieran un mal olor, descomponiéndose rápido (Gómez et al. 2014).

#### **B. Control de calidad del producto final**

Al finalizar el proceso se debe registrar el número de conidios por gramo de sustrato, su viabilidad y pureza. Para que el biopreparado sea considerado de buena calidad debe reunir ciertos parámetros que son: concentración de conidios, porcentaje de germinación o viabilidad mayor o igual al 90 %, pureza 100 % (Gómez et al. 2014). El recuento de conidios es indispensable para determinar la concentración, recuento de ellas mediante cámaras.

## 2.3 MARCO REFERENCIAL

### 2.3.1 Ubicación del área de estudio

#### A. Ubicación e instalación

Villa Nueva cuenta con un área de aproximadamente de 114 km<sup>2</sup>, su límite está en el norte con los municipios de la ciudad de Guatemala y Mixco, al este con San Miguel Petapa y Villa Canales, al sur con Amatitlán y al oeste con Santa Lucía Milpas Altas, municipio del departamento de Sacatepéquez (Arriaga Rodríguez 2014).

La investigación se realizó en el laboratorio de Microbiología de la empresa exportadora ENLASA S.A. se encuentra ubicada a 22 km al sur-occidente de la ciudad capital, ubicada en 1a. Calle 18-60 Zona 4. Complejo Industrial Mayan Golf, Villa Nueva.

En la figura 17 se muestra el mapa de ubicación de exportadora ENLASA S.A.



Fuente: Google Earth, 2020.

Figura 17. Mapa de ubicación, exportadora ENLASA S.A.

Exportadora ENLASA S.A. es una empresa guatemalteca que se especializa en el desarrollo, formulación, distribución y mercadeo de insumos agropecuarios y asistencia técnica agropecuaria, reconocidos mundialmente por la calidad de sus productos. Cuenta con un laboratorio de Microbiología que se dedica principalmente a la elaboración de productos biológicos para la venta local e internacional.

### 2.3.2 Sustratos

#### A. Sustrato sólido para la propagación de hongos entomopatógenos

Un sustrato es todo material sólido diferente del suelo, de forma natural, mineral u orgánico. Al momento de colocarlo en un contenedor, en forma pura o en mezcla, permite que exista un anclaje del sistema radicular de la planta para darle el soporte a la planta (Ilbay Ilvay 2012).

Los sustratos utilizados con mayor frecuencia para la propagación masiva de hongos entomopatógenos varían según la región y la finalidad de la multiplicación. se han probado arroz pelado, trigo, cebada, maíz partido, hollejo de cereales, pasto seco picado entre otros (Cañedo y Ames 2004).

En referencia al agricultor andino propaga el hongo *Beauveria bassiana* en estiércol (ganado vacuno, cabrío, lanar o de aves) incorporándole.

##### a. Arroz

Es el cereal más rico en almidón con un 77.20 %. Contenido de proteína es bajo con un 7.30 %, lípidos 2.56 % y con un 4.10 % de lisina. Su contenido de cenizas es escaso de 1.40 % y su aporte en macrominerales prácticamente despreciable. Asimismo, el contenido de vitamina es bajo.

El arroz es rico en aceite, este aceite tiene un alto contenido en ácido linoleico por lo que se enrancia fácilmente. Su contenido de grasa es mínimo de 0.60 %. El contenido de energía del grano es elevado, debido a su alto contenido de almidón (Pincioli et al. 2010).

##### b. Maíz

El maíz es uno de los cereales más complejos, por el aporte de materiales energéticos, hidratos de carbono, proteínas y grasas que aporta. Al contener mucha agua resulta ligero, aporta el 16 % de carbohidratos frente al 67 % de los granos secos. En cuanto a los minerales, el maíz proporciona abundante fósforo, magnesio y zinc, proteínas 8 % y celulosa 23 %. Posee un alto contenido de almidón de 87 %, fibra cruda de aproximadamente 87 % y con un contenido de proteínas del 8 % (FAO 1993).

### c. Maíz quebrado

El maíz quebrado regularmente es utilizado para alimentar a los animales domésticos, contiene nutrientes que superan la conversión a carne. Su contenido de fibra es de 87 % y un elevado contenido de almidón de 87 %, proteínas 8 %, fibra cruda 87 % y azúcar 0.62 %. Dicho sustrato se utilizó debido a la facilidad de su disponibilidad en cualquier región del país y por su bajo costo (Benítez Cardoza y Pfeiffer Perea 2006).

### d. Sorgo

La composición química del sorgo es similar al de maíz. Contiene alto contenido de almidón entre sus componentes estructurales como se muestra en el cuadro 8.

Cuadro 8. Composición química del grano de sorgo.

Componentes	Porcentaje (%)
Proteínas	12.30
Lípidos	3.60
Cenizas	1.70
Almidón	73.80

Fuente: Domanski et al., 1997.

### 2.3.3 Antecedentes

- A. Rodríguez Gámez et al. (2017), evaluaron 2 cepas nativas de *Beauveria bassiana* (HIB-4 e H IB-7) y una de colección (GHA), utilizando arroz, avena, cebada, maíz, sorgo y trigo como sustratos. Se presentó una producción de conidios en los distintos sustratos utilizados con un rango de  $10 \times 10^8$  UFC/g. La mayor producción se obtuvo en el sustrato de avena con una concentración de  $5.0 \times 10^8$  UFC/g; la menor producción la presentó la cebada de  $1.72 \times 10^8$  UFC/g; en el sustrato de arroz se produjo  $3.15 \times 10^8$  UFC/g; para los sustratos de sorgo y maíz fue de  $2.68 \times 10^8$  UFC/g; el sustrato de trigo se presentó de  $2.38 \times 10^8$  UFC/g, respectivamente. En cuanto a la viabilidad, para cada una de las cepas fue mayor al 95 % durante cuatros semanas de almacenamiento, para temperatura ambiente y como en temperatura de refrigeración.

- B. Jaramillo (2019) evaluó cuatro cepas de *Beauveria bassiana* en dos medios de cultivo y la efectividad para el control de adultos de *Cosmopolites sordidus*. Para la producción se utilizaron como sustratos arroz y maíz. Se incubaron ambos sustratos por siete días, se inocularon con una concentración de  $1.78 \times 10^{11}$  UFC/ha y tuvieron un proceso de secado por siete días para luego cosechar las esporas. El mayor rendimiento se obtuvo en el sustrato arroz. La cepa Zamorano en el sustrato arroz, obtuvo el mayor rendimiento de producto final, 17.20 g/kg y la cepa El Salvador en el sustrato de maíz, obtuvo el mejor rendimiento de producto final 6.50 g/kg. La cepa CATIE-415 obtuvo el mayor control del picudo con 46 % de mortalidad en condiciones de laboratorio.
- C. Calel Hernández (2019) cita que utilizó para la propagación de *Beauveria bassiana* seis sustratos orgánicos como medio de cultivo; maíz quebrantado, gallinaza, harina de maíz, pulpa de café, arroz y sorgo; tres diferentes recipientes para su almacenaje; bolsas de plástico resistentes a altas temperaturas de dos libras, botellas de vidrio de un litro y botellas pets de 2.50 l. Esta investigación se estableció con el propósito de encontrar un sustrato orgánico, económico y de fácil adquisición, con el que *Beauveria bassiana* tenga una alta producción de esporas.

Los resultados obtenidos luego de realizar el análisis del experimento y las pruebas de media realizadas, indican que, de los seis medios de cultivos el más eficiente para la propagación de *Beauveria bassiana* fue el sustrato de arroz con un promedio de producción de conidios de  $1.99 \times 10^4$  UFC/g y el mejor recipiente para almacenamiento fue el envase pet de 2.50 l, además se obtuvo un 60 % de mortalidad de *Hypothenemus hampei F.* en el laboratorio y en campo un 44.83 %.

## **2.4 OBJETIVOS**

### **2.4.1 Objetivo general**

Establecer el sustrato idóneo para la propagación masiva de *Beauveria Bassiana* en función al rendimiento y viabilidad.

### **2.4.2 Objetivos específicos**

1. Determinar el sustrato más eficiente en función al rendimiento de UFC/g para la propagación masiva de *Beauveria Bassiana*.
2. Determinar el sustrato con mayor capacidad de producción de esporas viables a los 21 días.

## **2.5 HIPÓTESIS**

### **2.5.1 Alternas**

1. Existe diferencia significativa en la media de concentración de conidios al menos en un periodo de incubación en las unidades de muestreo.
2. Existe diferencia significativa en la media de la viabilidad de conidios de los sustratos evaluados a las 24 hr, 7, 14 y 21 días de incubación en las unidades de muestreo.

### **2.5.2 Nulas**

1. La media de concentración de conidios a los 7, 14 y 21 días de incubación en las unidades de muestreo son iguales.
2. La media de la viabilidad de conidios de los sustratos evaluados a las 24 hr, 7, 14 y 21 días de incubación en las unidades de muestreo son iguales.

## 2.6 METODOLOGÍA

### 2.6.1 Diseño experimental

La investigación se realizó bajo condiciones de laboratorio, por lo que el diseño experimental utilizado fue el diseño completamente al azar con arreglo factorial.

#### A. Modelo estadístico

El modelo estadístico de diseño completamente al azar con arreglo factorial para el análisis de las variables de respuesta, se describe a continuación:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = Observación de la variable respuesta obtenida del tratamiento con el i-ésimo nivel de A, el j-ésimo nivel de B y la repetición K-ésima.

$\mu$  = Media general;  $A_i$  = Efecto del i-ésimo nivel del factor A.

$B_j$  = Efecto del j-ésimo nivel del factor B.

$AB_{ij}$  = Efecto de la interacción del i-ésimo nivel del factor A y j-ésimo nivel del factor B en su repetición K.

$\epsilon_{ij}$  = error experimental.

### 2.6.2 Descripción de los tratamientos

Para evaluar el efecto de los sustratos sólidos sobre la formación de UFC de *Beauveria bassiana* se analizaron cuatro diferentes tratamientos se seleccionaron estos sustratos debido a sus altos contenidos de nutrientes, especialmente de almidón que es necesario para la producción del hongo (cuadro 9).

Cuadro 9. Tratamiento a evaluar en la investigación.

Tratamiento	Sustrato sólido natural	Presentación
T1	Arroz (testigo)	Grano de arroz
T2	Maíz quebrado	Grano quebrado de maíz amarillo
T3	Maíz blanco	Grano de maíz
T4	Sorgo	Grano de sorgo

Fuente: elaboración propia, 2020.

El sustrato utilizado en ENLASA S.A. anteriormente en investigaciones fue arroz, por lo que en la presente investigación fue utilizado como testigo.

### 2.6.3 Descripción de la unidad experimental

Cada unidad experimental constó de 4 tratamientos con 6 repeticiones, fueron distribuidos en 6 estantes verticales divididos en 4 por bandeja para cada sustrato, las cuales se colocaron con iluminación artificial, humedad 70 % - 90 % y temperatura constante de 25 °C – 27 °C a unidad experimental.

La cantidad de sustrato colocado en cada bolsa fue de 200 g como se presenta en el cuadro 10.

Cuadro 10. Cantidad de sustrato utilizado por bolsa.

Sustrato a evaluar	Cantidad por bolsa (g)
Arroz (Testigo)	200
Maíz quebrado	200
Maíz blanco	200
Sorgo	200

Fuente: elaboración propia, 2020.

### 2.6.4 Arreglo espacial de la investigación

Se realizó el proceso de aleatorización de las unidades experimentales el espacio físico 6 estantes verticales, divididas en 4 espacios horizontales.

Cuadro 11. Arreglo espacial de la investigación.

Estante 1	T1	T3	T2	T4
Estante 2	T2	T4	T1	T3
Estante 3	T3	T2	T1	T4
Estante 4	T4	T1	T2	T3
Estante 5	T2	T1	T3	T2
Estante 6	T3	T1	T2	T4

Fuente: elaboración propia, 2020

### 2.6.5 Manejo del experimento

#### A. Manejo de la bioseguridad

El manejo de la bioseguridad dentro del laboratorio era fundamental para evitar la contaminación de los sustratos por lo que se puede presentar un error en los datos a obtener, debido a esto se estableció un protocolo de bioseguridad, contando con las principales normas de higiene personal;

- Uso del equipo de protección personal: mascarilla, redecilla, guates de látex y bata de laboratorio desinfectada.
- Materiales para el mantenimiento del área de trabajo: alcohol 70 % frecuentemente, cristalería esterilizada y equipo desinfectado.

#### B. Obtención de inóculo de *Beauveria bassiana*

Esta fue proporcionada en el laboratorio de Microbiología del cepario que ellos cuentan.

### C. Preparación de matriz

Se pesó 1.20 g de harina de papa y 5 g de glucosa, se vertieron los materiales en frasco de 1 l con tapadera y se le ajustó a 1 l con agua desmineralizada, dentro del frasco se colocó un magneto solo para homogenizar la muestra, se agitó durante dos min la mezcla en la plancha de calentamiento y se retirarlo después que este homogenizado, cumplido el tiempo se tomó el pH. Por 15 min se dejó la mezcla en la plancha de calentamiento a una temperatura de 280 °C y 400 rpm. Cumplido el tiempo se esterilizó la mezcla en la autoclave a 20 PSI a 120 °C por 20 min. Se trasladó el material estéril a la campana de flujo laminar (previamente desinfectada) se esperó que estuviera a una temperatura de 30 °C (Gómez et al. 2014).

Se trabajó con mechero a base de alcohol para flamear el frasco. Se realizó raspado en su totalidad de una caja Petri con *Beauveria bassiana*, utilizando un asa de argolla esterilizada, al rasparla se introdujo todas las esporas al Caldo de papa anteriormente preparado. Se colocó el caldo de papa en un shaker a 20 rpm, durante 5 días de incubación a 25 °C para la obtención de la matriz para la inoculación de los sustratos. En el transcurso del tiempo se realizó un montaje húmedo para verificar la germinación de esporas del hongo y que no existiera contaminación (figura 18).



Fuente: elaboración propia, 2020.

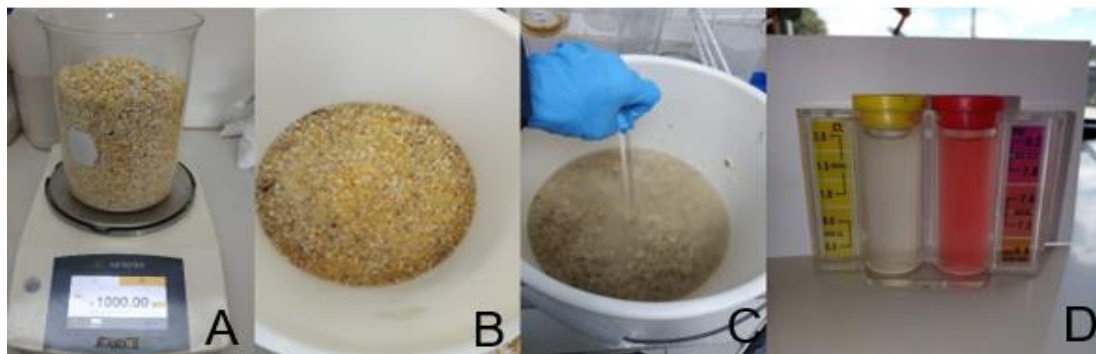
Figura 18. Obtención y verificación de la matriz madre. A. *Beauveria bassiana* en agar. B. Fermento de *Beauveria bassiana*. C. Montaje húmedo del fermento.

## D. Preparación de sustratos

El proceso de preparación de los sustratos consiste de 2 diferentes fases:

### - Fase 1 (Lavado)

Se pesó 1,200 g de cada sustrato. En un recipiente, se desinfectó cada uno de los sustratos, se lavaron con agua destilada para remover cualquier suciedad y luego se sumergieron en solución de cloro al 2 % por 20 min para evitar crecimiento bacteriano. Se realizaron 5 con agua desmineralizada para retirar la solución de cloro, posteriormente se realizó una medición de cloro libre con el kit de medición, con el objetivo de eliminar la totalidad del cloro, debe de quedar menor al 0.30 según el indicador colorimétrico. El exceso de humedad se eliminó con un colador. Procedimiento se realizó para para uno de los sustratos (figura 19).



Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 19. A. Pesado del sustrato de maíz quebrado B. Aplicación y reposo del sustrato de maíz quebrado con cloro C. Lavado del sustrato maíz quebrado D. Verificación de cloro del sustrato maíz quebrado.

### - Fase 2 (Esterilización)

En dos beaker de 1 l se colocó en cada uno 60 g de sustrato con 350 ml de agua destilada estéril, se procedió a esterilizar en autoclave a 20 PSI y 121 °C por 20 min. Posterior se dejó enfriar en la cámara de flujo laminar para facilitar la manipulación.

Se pesó 200 g de sustrato, los cuales se colocaron en una bolsa celofán (se realizó el mismo procedimiento 6 veces por sustrato). A cada bolsa se le cortó el extremo que estaba sellado, se procedió a sellar con tres grapas cada extremo de las bolsas, con el fin que existiera oxígeno para el hongo durante el periodo de incubación (figura 20). Por último, se identificó cada bolsa con fecha, tratamiento y repetición. Luego se realizó la esterilización en la autoclave durante 15 min a 121 °C y 20 PSI y de dejó enfriar por 24 hr. Se tomó una muestra de 5 g de cada sustrato para medir el porcentaje de humedad en la termobalanza.



Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 20. A. Fase de pesado de sustrato. B. Embolsado de sustratos. C. Esterilización de sustratos D. Toma de humedad de sustratos.

### **E. Inoculación al sustrato**

Se trasladó la matriz madre a un Erlenmeyer de 1 l, se calibró la jeringa dosificadora para 15 ml ( $1 \times 10^6$  conidios/ml) Se inyectó cada bolsa con 15 ml de la solución madre (figura 21). Se homogenizó las bolsas manualmente, con el propósito de que el fermento se distribuya en la totalidad del sustrato (Gómez et al. 2014).



Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 21. Fase de inoculación en cada sustrato.

## F. Incubación del sustrato

Se realizó un análisis microbiológico superficial con el método de hisopado, antes y después de ser desinfectado el cuarto de incubación.

Se desinfecto con glutaraldehido al 4 % Se procedió a trasladar las bolsas al cuarto de incubación previamente desinfectado se colocaron las bolsas en bandejas desinfectadas (figura 22). En el cuarto se colocó un medidor de humedad y temperatura, para poder controlarla y que estuviera a una humedad promedio de 80 % - 90 % y a una temperatura de 25 °C - 30 °C. (Gómez et al. 2014).

Se homogenizó las bolsas a los 7 y 15 días para que existiera un crecimiento homogéneo. Semanalmente se realizaba la desinfección del cuarto para mantener la humedad. Este proceso tuvo una duración de 21 día.

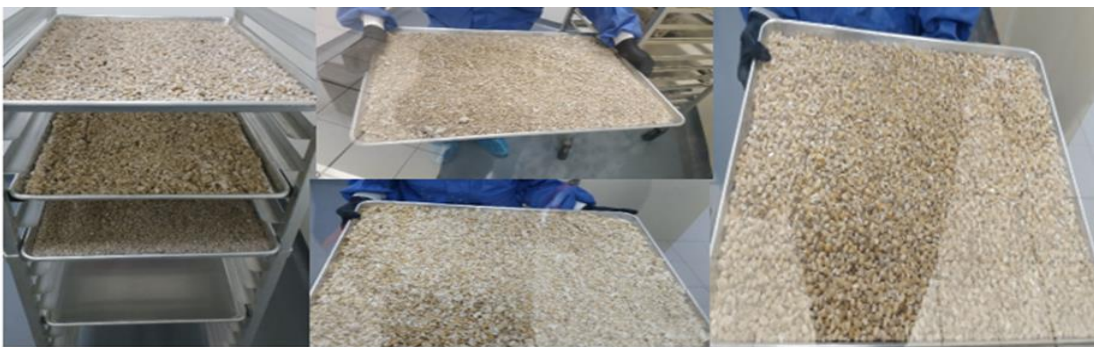


Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 22. Fase de desinfección del cuarto de incubación y homogenización del sustrato.

### G. Secado de producto

Cumplido el tiempo de 21 días, se procedió a la desinfección del cuarto de incubación y bandejas. Se vació las bolsas en las bandejas para exponer el micelio de *Beauveria bassiana* al estrés por la deshidratación de los sustratos con el uso de un deshumidificador en el cuarto de incubación (figura 23). Se tomó una muestra de 5 g cada dos días para tomar la humedad, hasta que el rango fuera de 15 % - 10 % (Gómez et al. 2014).



Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 23. Fase de secado de los sustratos en bandejas.

## H. Extracción de conidios

Se colocó 100 g del sustrato seco (capacidad del tamiz) en una serie de tamices ordenados de la siguiente manera: malla 0, 60, 20 y 16 se montaron en un shaker. Tuvo una agitación por 2 hr a 40 rpm. (metodología implementada por la empresa). Se revisó el tamiz 16 después de tiempo transcurrido para evaluar la muestra inicial y verificar si contiene esporas, se evaluó al criterio del analista para saber si es necesario tamizar por más tiempo. Se sacó el rendimiento del producto final de malla 0 (figura 24). Repetir todo el proceso hasta terminar con todos los sustratos (Gómez et al. 2014).



Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 24. Fase de la extracción de conidios y el producto final.

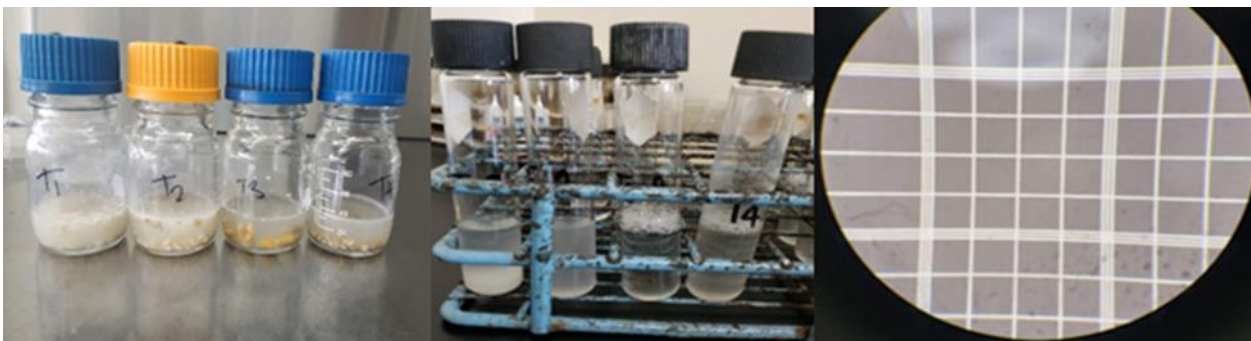
### 2.6.6 Variables de respuesta

1. Rendimiento de UFC/g a los 7,14 y 21 días de incubación.
2. Viabilidad a las 24 hr de incubación.

### A. Rendimiento de UFC/g

Se determinó por medio de lecturas en cámara Neubauer, para realizar la solución (1:1) se pesó 1 g del sustrato y se diluyeron en 9 ml de una solución de agua destilada estéril con Tween 20 al 0.10 %, luego la suspensión se agitó por 3 min, con el objetivo de separar los conidios del sustrato. De la suspensión obtenida, se tomó 1 ml el cual se depositó en un tubo con 9 ml de agua destilada este se agitó por 1 min, este procedimiento se repitió hasta obtener una dilución de  $1 \times 10^{-3}$  para la realización del recuento de conidios, con esta dilución fue posible el conteo. Con una micropipeta, se tomó una muestra de la dilución 10  $\mu$ l y se colocó en la cámara de Neubauer. Se llevó al microscopio para realizar el conteo de los conidios en el cuadrante central de la cámara.

El recuento de conidios se realizó a través de la cámara de Neubauer, se llevaron a cabo 4 lecturas por cada unidad experimental (bolsa con sustrato), este procedimiento permitió determinar la cantidad de unidades formadoras de colonia por gramo. Para propágulos pequeños como el caso de *Beauveria bassiana* debido a que los conidios son pequeñas, se usaron los 25 cuadrantes (cuadro central). El recuento se determina sumando el total de esporas presentes en los 25 cuadrantes centrales de la cámara. Tomando en cuenta los conidios que estén dentro del cuadro y además los conidios que se encuentran en las líneas de borde superior e izquierda del cuadro, no se cuentan los conidios que se encuentran en las líneas de borde inferior y derecha. Se hizo el reconocimiento de conidios que son hialinos, globosos, ovoides ligeramente cilíndricas (Figura 25).



Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 25. Fase para el conteo de conidios por gramo.

## B. Viabilidad de conidios

Para obtener los datos de viabilidad, se prepararon cajas de Petri con agar-agua al 3 % a las cuales se realizaron cuatro cuadros y se depositaron alícuotas que contenían esporas (provenientes de suspensión de conidios) las cajas se incubaron durante 24 hr a 25 °C.

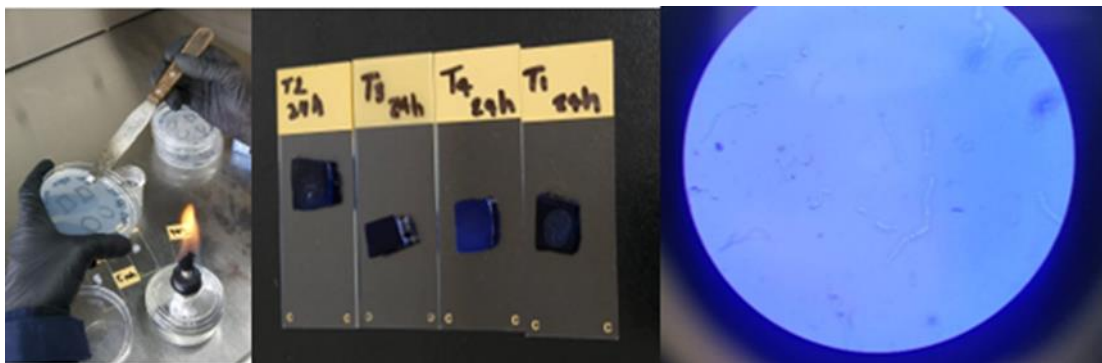
Cumplido el tiempo de incubación, se trasladaron las cajas Petri a la cámara de flujo laminar, previamente desinfectada, se agregó una gota de azul de lactofenol a cada una de las alícuotas, para teñir la estructura del hongo, posteriormente se cortaron los cuadros con las alícuotas, se depositaron sobre un portaobjetos y fueron cubiertos con un cubreobjetos.

Estas láminas fueron observadas en 10 campos visuales de 40x, se tomó en cuenta los conidios germinados y no germinados. Se registró el número de conidios germinados, aquellos cuyo tubo germinativo sea dos veces mayor al diámetro del conidio (Cañedo y Ames 2004).

Con los datos obtenidos de conidios germinados y no germinados se calculó el porcentaje de germinación mediante la siguiente fórmula:

$$PV = Cg/Ct * 100$$

Dónde: PV: es el porcentaje de germinación o viabilidad, Cg: es el número de conidios germinados y Ct; es el número de conidios totales.



Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 26. Proceso de la viabilidad de conidios.

### **2.6.7 Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos en la evaluación de los tratamientos (arroz, maíz quebrado, maíz blanco y sorgo), fueron realizados mediante la prueba de hipótesis con un nivel de confianza de 95 % por medio de análisis de varianza (ANDEVA), en la obtención de resultados fueron significativamente diferente los tratamientos, posteriormente se realizó comparaciones de medias a través de Tukey al 5 %, se utilizó el programa INFOSSTAT®, lo que permitió estimar la diferencia entre las medias para las distintas variables de respuesta evaluadas.

## 2.7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 2.7.1 Rendimiento de UFC/g

Para determinar los resultados de la variable se determinaron el rendimiento de UFC/g a los 7, 14 y 21 días de incubación.

En el cuadro 25A, se presenta un resumen de los datos obtenidos en el laboratorio y tabulados a la variable: rendimiento de UFC/g a los 7, 14 y 21 días de incubación, la cual varía con respecto al tiempo con tendencia a incrementar diariamente.

El grano de arroz en los distintos periodos de incubación presentó el mejor rendimiento de UFC/g, lo cual se ve reflejado en la figura 27, con una concentración de  $1.23 \times 10^9$  UFC/g, seguido de la figura 28 con una concentración de  $1.61 \times 10^9$  UFC/g y presentando la mayor concentración a los 21 días de incubación lo cual se ve reflejado en la figura 29, con una concentración de  $2.36 \times 10^9$  UFC/g.

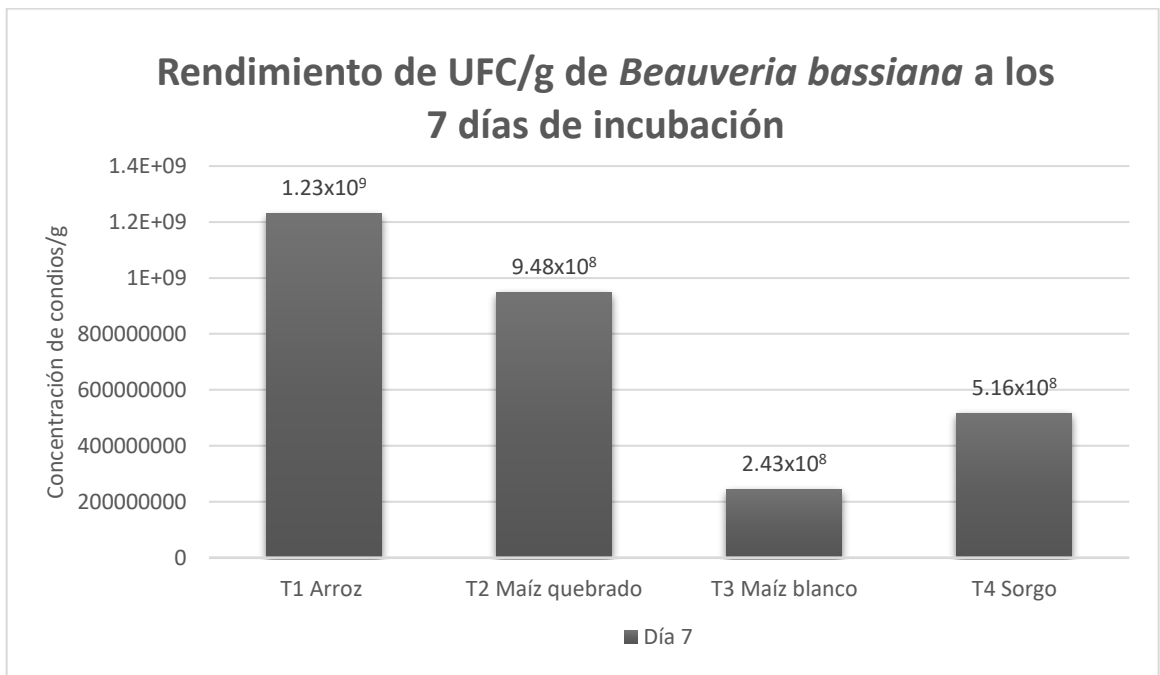


Figura 27. Distribución de los datos en respuesta a la variable: rendimiento de UFC/g, cada uno de los tratamientos a los 7 días de incubación.

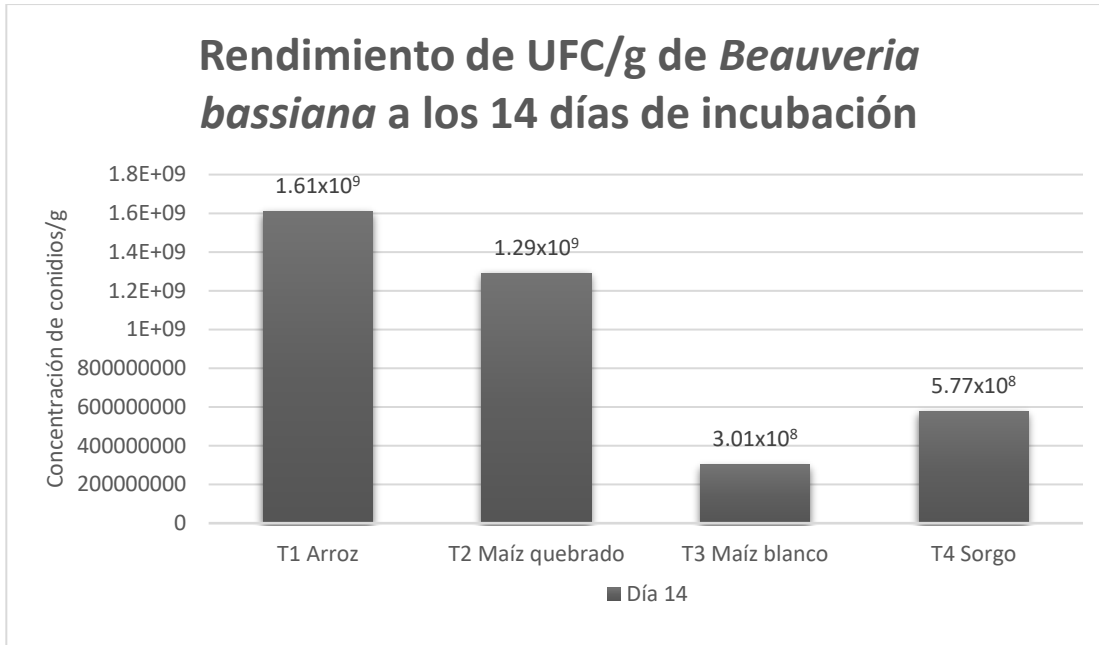


Figura 28. Distribución de los datos en respuesta a la variable: rendimiento de UFC/g, cada uno de los tratamientos a los 14 días de incubación.

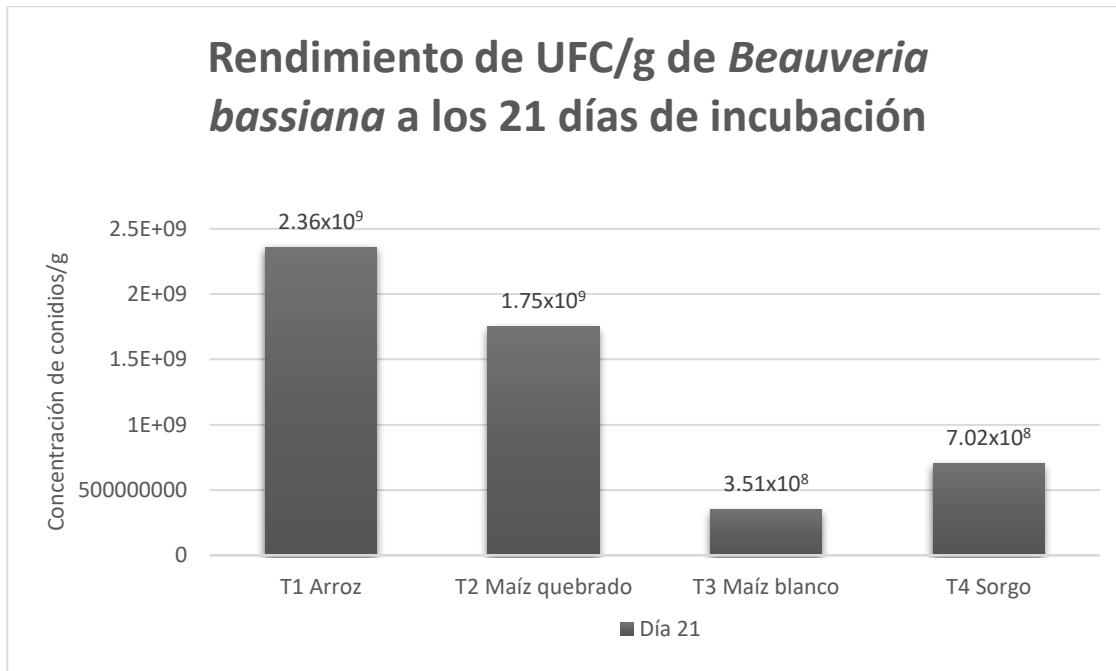


Figura 29. Distribución de los datos en respuesta a la variable: rendimiento de UFC/g, cada uno de los tratamientos a los 21 días de incubación.

Según los resultados obtenidos, el mayor rendimiento de producción de UFC/g de *B.bassiana* se logró a los 21 días de incubación en el tratamiento 1 que fue en el sustrato de arroz (figura 38A), con un promedio de  $2.36 \times 10^9$  UFC/g y el mínimo rendimiento de producción de UFC/g lo consiguió en el tratamiento 3 de maíz blanco a los 21 días de incubación (figura 41A) con un promedio de  $3.51 \times 10^8$  UFC/g. La tasa de incremento por día, es un valor para tomar la decisión de cuál es el periodo de tiempo de incubación.

El cuadro 12 a continuación presenta los datos obtenidos en el ANDEVA en el programa INFOSTAT®.

Cuadro 12. Resumen del ANDEVA para la variable, rendimiento de UFC/g, los 7,14 y 21 días.

F.V.	SC	gl	F (cal)	F (tab)	p-valor
Tratamiento	2.35E+19	3	7.83E+18	1899.99	<0.0001
Días	3.78E+18	2	1.89E+18	459.04	<0.0001
Tratamiento*Días	2.25E+18	6	3.76E+17	91.19	<0.0001
Error	2.47E+17	60	4.12E+15		

\*Significancia estadística 5 %, CV: 6.48 %.

El cuadro 12 muestra el análisis de la varianza que se aplicó a los 4 tratamientos en respuesta a la variable: concentración de conidios a los 7,14 y 21 días. Donde indica que el p-valor de la interacción de los tratamientos y los días son inferiores a 0.05, lo que quiere decir que existe diferencia significativa entre los tratamientos y en los periodos de días a un nivel de significancia de 95 %. Lo que significa que la los tratamientos y los días influyeron en el incremento de la producción de rendimiento de UFC/g de *Beauveria bassiana*. Por lo que se realizó una comparación de medias de Tukey.

El cuadro 13 a continuación presenta los datos obtenidos en la comparación de medias por medio de Tukey del programa INFOSTAT®.

Cuadro 13. Comparación de medias por medio de Tukey, para la variable rendimiento de UFC/g los 7, 14 y 21 días de incubación, para la interacción de tratamientos y periodos de días.

TRATAMIENTOS	DIAS	MEDIAS	GRUPO TUKEY							
T1	21	2.36E+09	A							
T2	21	1.75E+09		B						
T1	14	1.61E+09			C					
T2	14	1.29E+09				D				
T1	7	1.24E+09				D				
T2	7	9.49E+08					E			
T4	21	7.02E+08						F		
T4	14	5.77E+08						F	G	
T4	7	5.16E+08							G	
T3	21	3.51E+08								H
T3	14	3.01E+08								H
T3	7	2.43E+08								H

Los resultados obtenidos en el cuadro 13 de la comparación de medias, con el efecto de los tratamientos y días de incubación. Se presenta una diferencia significativa en rendimiento de UFC/g en distintos periodos de incubación, destacándose mayor concentración en sustrato de arroz (T1) a los 21 días de incubación con producción promedio de  $2.36 \times 10^9$  UFC/g (figura 38A), en comparación con los resultados reportados por Rodríguez Gámez et al. (2017), logro un promedio en arroz de  $3.15 \times 10^8$  UFC/g a los 15 días de incubación, concentración inferior a la presente investigación.

Lo que quiere decir que los días de incubación es un dato importante para la toma de decisión de cuantos días se debe de incubar los sustratos para tener un mayor rendimiento de UFC/g. El sustrato de arroz presentó el mayor rendimiento de UFC/g en todos los periodos de tiempo como se presenta en el cuadro 25A.

El segundo sustrato con el mejor rendimiento de UFC/g, fue el sustrato de maíz quebrado (T2) presentó un rendimiento promedio de  $1.75 \times 10^9$  UFC/g a los 21 días de incubación. Como se presenta en la figura 39A, donde se presenta el crecimiento por día de incubación.

Los tratamientos de arroz y maíz quebrado presentaron un mayor desarrollo de micelio y concentración de conidios presentaron en común un alto contenido de almidón y proteínas mediadamente, nutrientes necesarios para que exista un buen desarrollo de *Beauveria bassiana*.

El sustrato de sorgo (T4) su mayor rendimiento lo obtuvo a los 21 días con un rendimiento promedio de  $7.02 \times 10^8$  UFC/g. en comparación de Rodríguez Gámez et al. (2017) obtuvo un promedio en sorgo de  $2.68 \times 10^8$  UFC/g el resultado es menor a la investigación presente, esto se pudo verse reflejado que en la investigación los sustratos se inocularon por 21 días en comparación a Rodríguez Gámez et al. (2017), citan que la incubación fue por 15 días.

El sustrato que reflejó menor rendimiento de UFC/g a los 21 días de incubación fue el sustrato de maíz blanco (T3) con una concentración promedio de  $3.51 \times 10^8$  UFC/g. Este sustrato también presentó el menor rendimiento de UFC/g en los diferentes periodos de incubación. En la investigación de Rodríguez Gámez et al. (2017), obtuvo una concentración menor a la investigación realizada de  $2.68 \times 10^8$  UFC/g.

Uno de los problemas que se presenta más al momento de utilizar sustratos sólidos para la producción masiva de conidios se relaciona con la alta compactación que se presenta en los sustratos. Cortez Madrigal (2007). Afecta principalmente en la aireación interna y en la reducción en la producción de conidios. Este problema puede verse afectado en la presente investigación con *Beauveria bassiana*, en algunos sustratos utilizados como en maíz quebrado y arroz presentando un aspecto apelmazado después de la esterilización debido al exceso de humedad, pero se realizó un buen control de humedad por lo que no fue un problema y no se vio afectada en la cantidad de concentración de conidios presentes en estos sustratos.

También como se presentó en la concentración del maíz blanco se obtuvo la menor concentración esto pudo verse afectado por la calidad del producto pudo ser una materia prima con mayor tiempo de almacenamiento o un producto de baja calidad.

Se presenta en la figura 30 la distribución de los tratamientos por días de incubación, como fue dando un incremento por días, el máximo en todos los tratamientos fue a los 21 días de incubación.

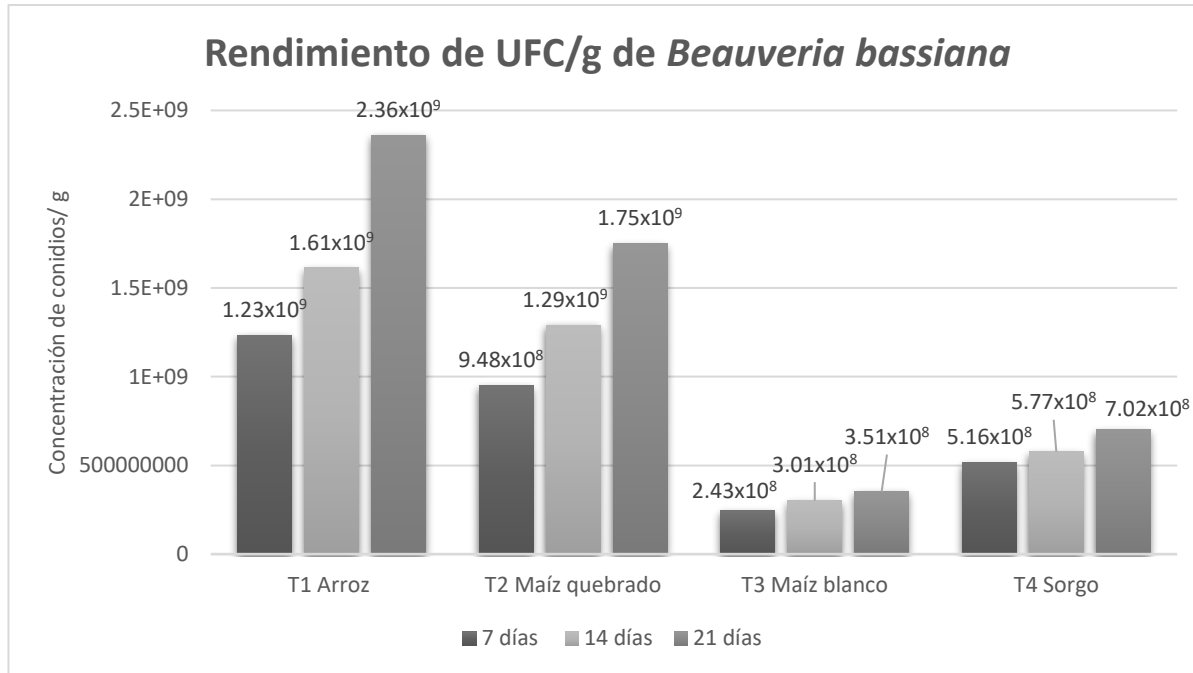


Figura 30. Distribución gráfica de los datos en respuesta a la variable: rendimiento de UFC/g en tres distintos periodos de incubación.

### 2.7.2 Viabilidad de conidios

Para la determinación de esta variable se realizó el conteo de conidios germinados y no germinados de *Beauveria bassiana* de cada uno de los sustratos evaluados en distintos periodos de tiempo a los 7, 14 y 21 días de incubación a las 24 hr, se tomó en cuenta los parámetros establecidos por CENICAFE (1997) donde se considera que exista una formulación de calidad debe de tener una germinación superior al 85 % en un periodo de 24 hr, debido a que un producto pierde su efectividad sobre los organismos a controlar. Este parámetro indica que una vez aplicado en el campo tiene que existir un efecto rápido sobre la población que se quiere combatir y en un corto periodo de exposición en condiciones medioambientales.

En el cuadro 26A, presenta un resumen de los datos obtenidos en el laboratorio y tabulados a la variable: viabilidad de conidios a los 7, 14 y 21 días de incubación a las 24 hr.

El grano de arroz en los distintos periodos de incubación presentó la viabilidad, lo cual se ve reflejado en la figura 31, con una viabilidad de 92.88 %, seguido de la gráfica en la figura 32, con una viabilidad de 95.11 % y presentando la mayor viabilidad a los 21 días de incubación lo cual se ve reflejado en la gráfica de la figura 33, con viabilidad 97.39 %.

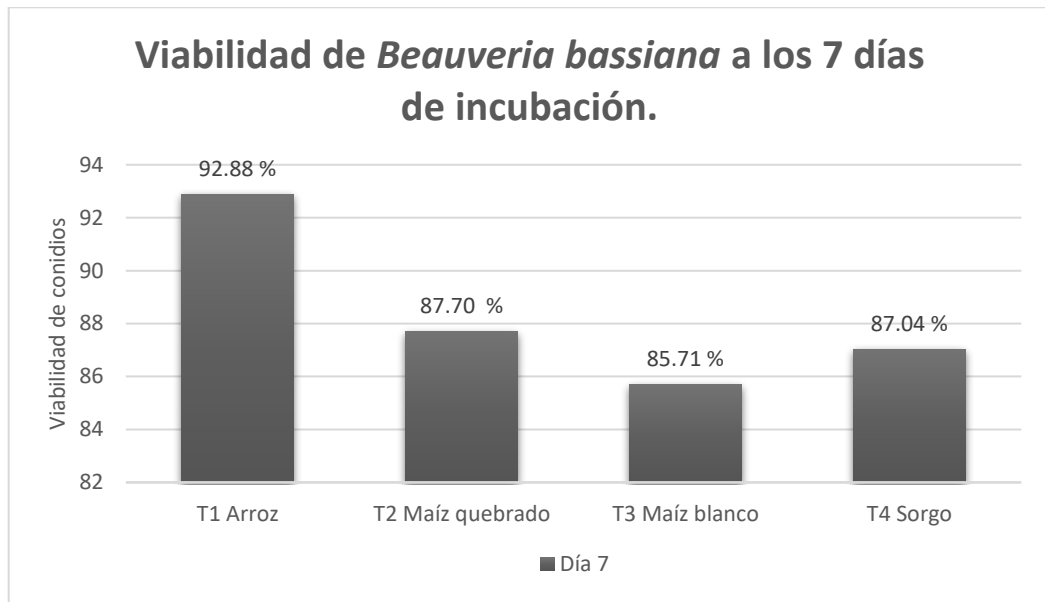


Figura 31. Distribución de los datos en respuesta a la variable: viabilidad, cada uno de los tratamientos a los 7 días de incubación.

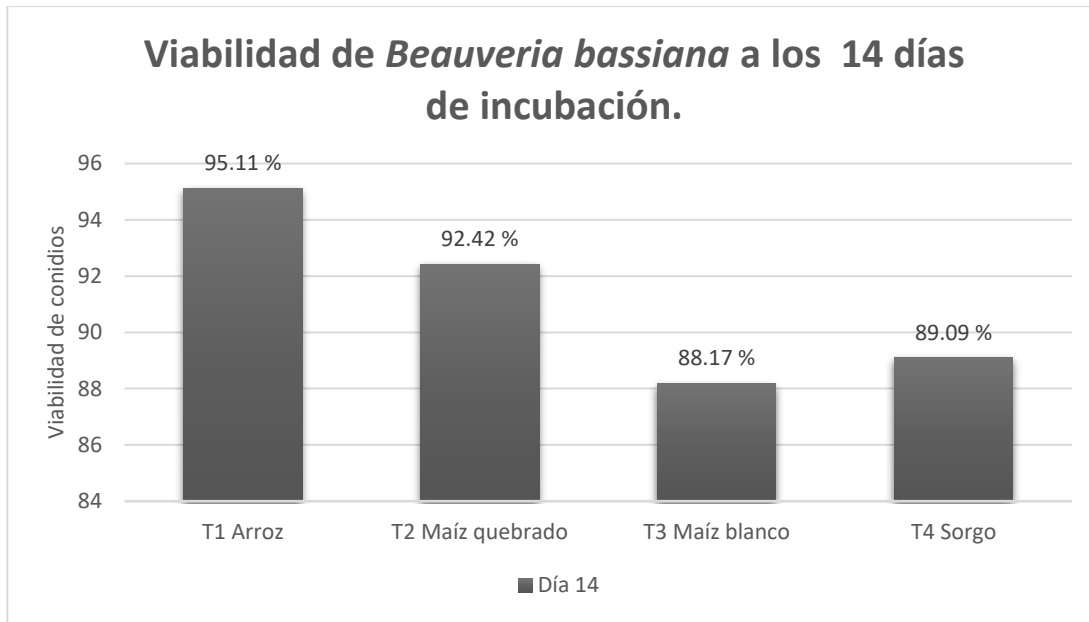


Figura 32. Distribución de los datos en respuesta a la variable: viabilidad, cada uno de los tratamientos a los 14 días de incubación.

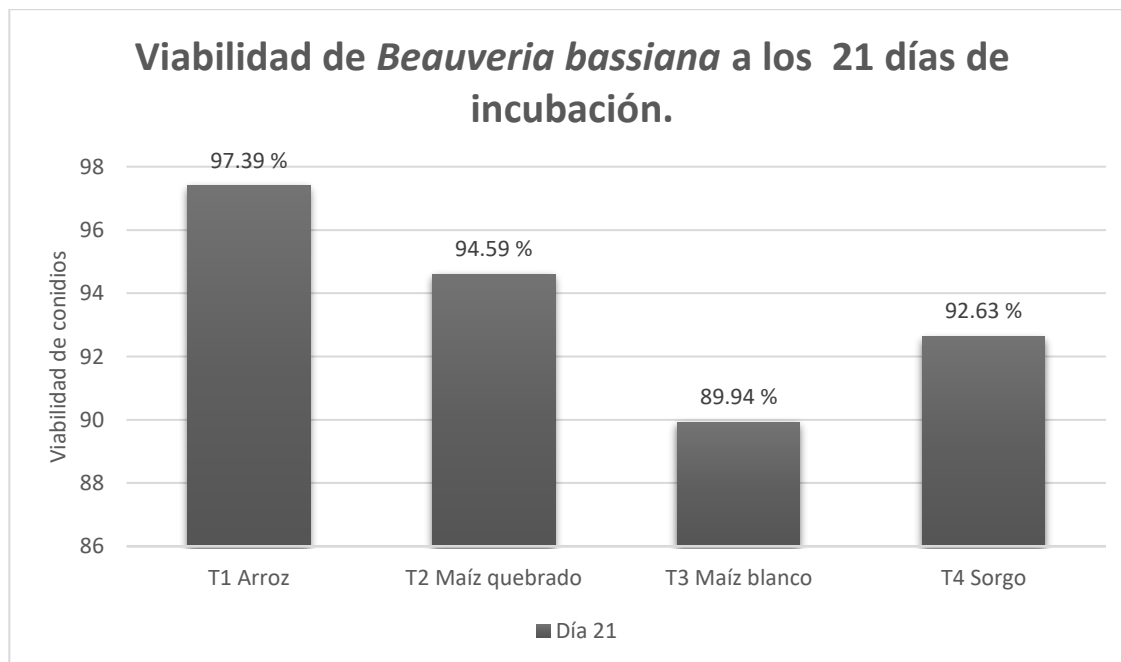


Figura 33. Distribución de los datos en respuesta a la variable: viabilidad, cada uno de los tratamientos a los 21 días de incubación.

Se determinó la viabilidad en tres periodos de tiempo de incubación para establecer su capacidad de establecerlo en el campo en un periodo de 24 hr de incubación esto dependiendo de las condiciones medioambientales que puedan existir.

Siempre cumpliendo con los parámetros establecidos por CENICAFE (1997) donde se considera que exista una formulación de calidad debe de tener una germinación superior al 85 %.

Cuadro 14. Resumen del ANDEVA para la variable porcentaje de viabilidad a 24 hr, los 7, 14 y 21 días de incubación.

F.V.	SC	gl	F (cal)	F (tab)	p-valor
TRATAMIENTO	516.76	3	172.25	147.7	<0.0001
DIAS	338.44	2	169.22	145.09	<0.0001
TRATAMIENTO*DIAS	21.71	6	3.62	3.1	0.0103
Error	69.98	60	1.17		
Total	946.88	71			

Significancia estadística 5 %, CV: 1.19 %.

Se realizó un análisis de varianza a la variable de respuesta: porcentaje de viabilidad en tres periodos de incubación a los 7, 14 y 21 días de incubación a las 24 hr. En el cuadro 14 se demuestra que existió diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en los tratamientos con un nivel de confiabilidad del 95 % para los porcentajes de germinación evaluados y presenta un bajo coeficiente de variación de 1.19 %, lo que indica que las viabilidades para los distintos periodos de incubación son muy homogéneas. Por lo cual se procede a realizar una prueba de medias por el método de Tukey.

En el cuadro 15 a continuación presenta la comparación de medias por el método Tukey del programa INFOSSTAT® en respuesta de la variable: porcentaje de viabilidad en tres periodos de incubación los 7, 14 y 21 días de incubación a las 24 hr.

Cuadro 15. Comparación de medias para la variable porcentaje de viabilidad a las 24 hr, los 7, 14 y 21 días de incubación, para la interacción de tratamientos por días.

TRATAMIENTO	DIAS	MEDIAS	GRUPO TUKEY						
T1	21	97.39	A						
T1	14	95.11		B					
T2	21	94.59		B	C				
T1	7	92.88			C	D			
T4	21	92.63			C	D			
T2	14	92.42				D			
T3	21	89.94					E		
T4	14	89.09					E	F	
T3	14	88.17					E	F	
T2	7	87.70						F	G
T4	7	87.04						F	G
T3	7	85.71							G

Los datos obtenidos en la comparación de medias presente en el cuadro 15 existe diferencia significativa entre tratamientos, indica que el sustrato de arroz tuvo mayor viabilidad a los 21 días de incubación de 97.39 % (figura 42 inciso A), siendo el sustrato con mejor viabilidad debido a que se acercó al 100 %, seguido de un grupo independiente con el sustrato de maíz quebrado con viabilidad de 94.59 % (figura 42 inciso B). El sustrato de sorgo presentó viabilidad a los 21 días de 92.63 % (figura 42 inciso D) y el sustrato que presentó menor viabilidad a los 21 días fue el de maíz blanco con 89.94 % (figura 42 inciso C).

Todos los sustratos a los a partir del día 7 de incubación cumplieron con los parámetros establecidos por CENICAFE (1997) donde se considera que exista una formulación de calidad debe de tener una germinación superior al 85 %, importante para estos agentes de control biológico.

En la figura 34, se presenta el comportamiento el porcentaje de viabilidad de *Beauveria bassiana* con respecto a los diferentes periodos de tiempos de incubación a las 24 hr. En la gráfica se presenta que a partir del día 7 de incubación en todos los sustratos sobre pasa el 85 % de viabilidad a las 24 hr, lo que quiere decir que *Beauveria bassiana* presentó una germinación excelente para poder ser aplicada en el campo, por lo que la germinación en los tres periodos de tiempo de incubación es aceptable, presentando la mejor viabilidad de todos los sustratos a los 21 días de incubación.

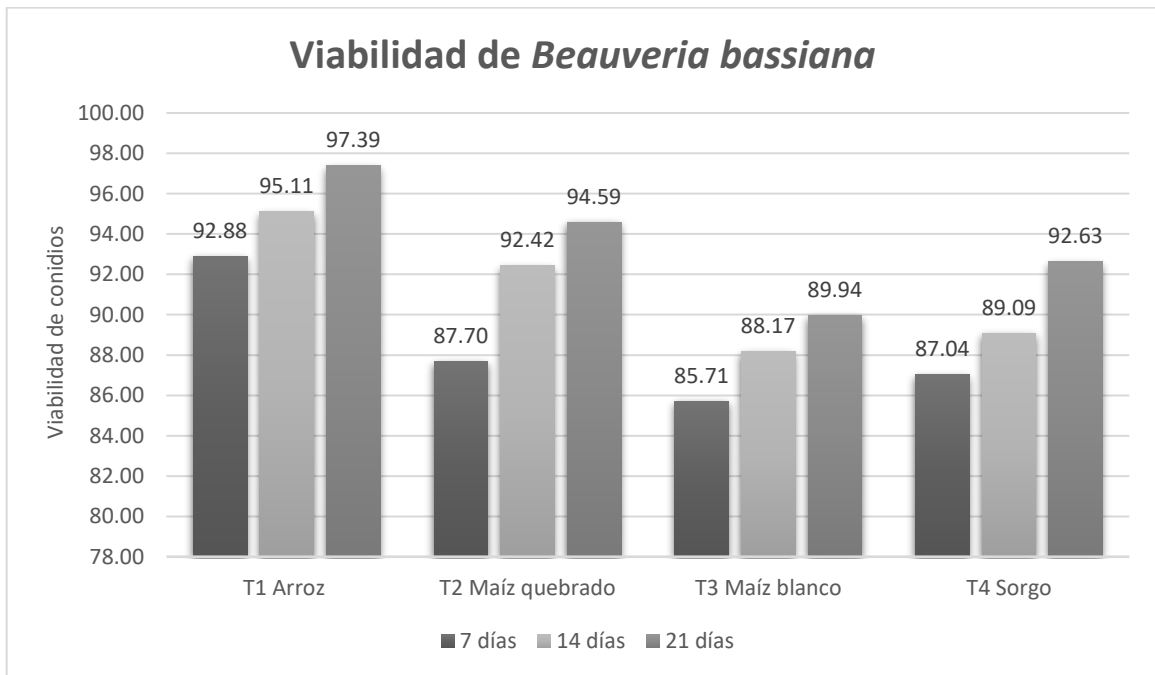


Figura 34. Distribución gráfica de los datos en respuesta a la variable: viabilidad de conidios en tres distintos periodos de incubación.

### 2.7.3 Rendimiento de UFC/g de producto final

Se determinó la concentración de conidios por gramo del producto final, en este caso fue el polvo, que se obtuvo de la extracción de conidios a través del método de tamizado manualmente, con la finalidad de saber si es apto para la elaboración de productos para control biológico. Según Monzon (2001) el rendimiento está determinado por la cepa y por el estado de la misma en un rango de  $5 \times 10^3$  hasta  $2.5 \times 10^{11}$  UFC/g de polvo.

En el cuadro 16 presenta un resumen de los datos obtenidos en el laboratorio y tabulados de la concentración de conidios/g del producto final.

Cuadro 16. Resumen de rendimiento de UFC/g del producto final.

RENDIMIENTO UFC/g DE COSECHA				
REPETICIONES	T1 ARROZ	T2 MAÍZ QUEBRADO	T3 MAÍZ BLANCO	T4 SORGO
1	5.69E+09	3.65E+09	5.73E+08	1.43E+09
2	5.49E+09	3.21E+09	6.71E+08	1.17E+09
3	5.72E+09	2.68E+09	6.54E+08	1.23E+09
4	5.67E+09	2.49E+09	8.87E+08	1.28E+09
5	5.53E+09	3.47E+09	5.33E+08	1.35E+09
6	5.45E+09	3.64E+09	6.62E+08	1.50E+09
PROMEDIO	<b>5.59E+09</b>	3.19E+09	6.63E+08	1.33E+09

Los datos presentados en el cuadro 16, se presenta los promedios de rendimiento de UFC/g de cada uno de los sustratos, se utilizaron para el análisis de varianza para observar si existe una diferencia significativa entre los sustratos evaluados.

En el cuadro 17 a continuación presenta los datos obtenidos del ANDEVA en el cual fue realizado en el programa INFOSTAT ®.

Cuadro 17. Resumen del ANDEVA para la variable rendimiento de UFC/g del producto final.

F.V.	SC	Gl	F (cal)	F (tab)	p-valor
TR	8.78E+19	3	2.93E+19	400.39	<0.0001
Error	1.46E+18	20	7.3107E+16		
Total	8.93E+19	23			

Significancia estadística 5 %, CV: 10.04 %.

Se realizó el análisis de varianza para la concentración de conidios/gramos para el producto final, en el cuadro 17 se presenta que existió diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en los tratamientos con un nivel de confiabilidad del 95 % para la concentración de conidios/gramos del producto final, por lo que se procedió a realizar la prueba de Tukey.

En el cuadro 18 a continuación se presenta los datos obtenidos en la comparación de medias por el método de Tukey realizado en el programa INFOSTAT®. para rendimiento de UFC/g de producto final.

Cuadro 18. Comparación de medias por medio de Tukey, para el rendimiento UFC/g del producto final.

TRATAMIENTOS	MEDIAS	GRUPO TUKEY			
T1	5.59E+09	A			
T2	3.19E+09		B		
T4	1.33E+09			C	
T3	6.63E+08				D

Los datos obtenidos en la comparación de medias presentadas en el cuadro 18 se puede observar que el sustrato de arroz presentó la mayor concentración promedio de  $5.59 \times 10^9$  UFC/g, en comparación en la investigación de Calel Hernández (2019) presentó una concentración promedio de  $1.99 \times 10^4$  UFC/g, como se observa fue mayor en la investigación presente. Presenta similitud estadística independiente de los otros sustratos. De la misma manera que los otros tres sustratos presentan similitudes independientes con la concentración de UFC/g.

El segundo sustrato con mayor rendimiento de UFC/g fue maíz quebrado con una producción de  $3.19 \times 10^9$  UFC/g, en comparación a Calel Hernández (2019) cita que el sustrato de Maíz quebrado presentó una concentración de  $1.53 \times 10^4$  UFC/g, concentración menor a los resultados obtenidos en la presente investigación. El sustrato sorgo presento una producción promedio del producto final cosechado de  $1.33 \times 10^9$  UFC/g, Calel Hernández (2019) cita que el sustrato sorgo presentó una producción de  $1.71 \times 10^4$  UFC/g, se obtuvo un mejor manejo de la producción y los días de incubación, la menor concentración del producto final cosechado lo presentó el sustrato de maíz blanco con una concentración promedio de  $6.63 \times 10^8$  UFC/g.

Las concentraciones de todos los tratamientos del producto final se encuentran en el promedio de la concentración aceptada de la concentración de conidios/gramo según Mozon (2001) está determina en un rango de  $5 \times 10^3$  hasta  $2.5 \times 10^{11}$  UFC/g de polvo. Por lo cual las concentraciones más altas siendo estas los sustratos de arroz y maíz quebrado son ideales para la formulación de productos para el control biológico.

Se presenta en la figura 35, la distribución de los tratamientos en repuesta a la concentración de conidios/gr del producto final cosechado, la máxima concentración se presentó en el sustrato de arroz.

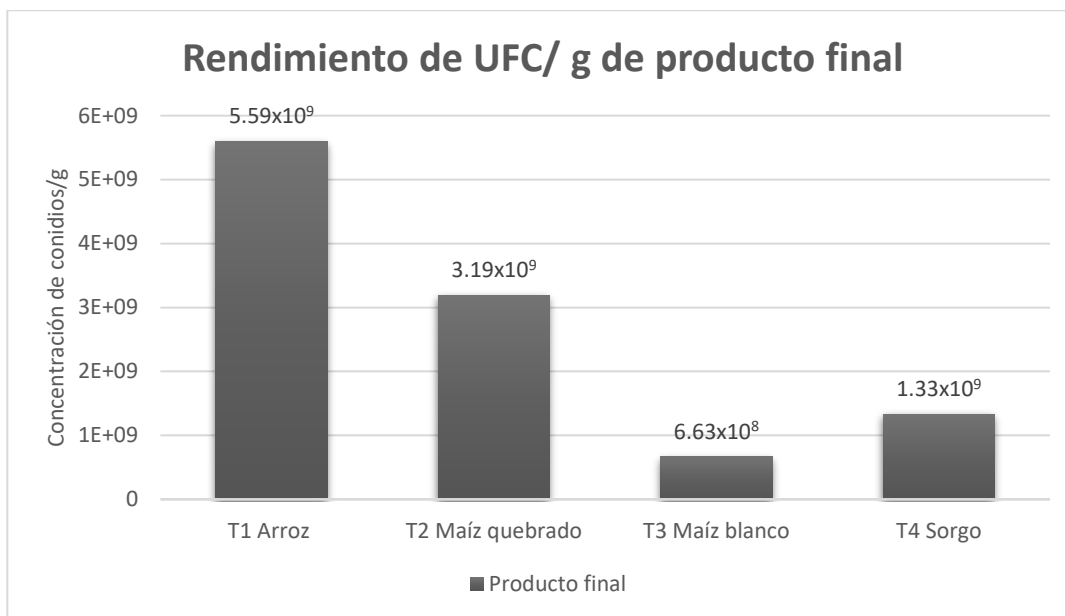


Figura 35. Distribución gráfica de los datos en respuesta a la variable: rendimiento de UFC/g del producto final cosechado.

#### 2.7.4 Viabilidad de producto final

Se obtuvieron datos de la viabilidad del producto final para tener un control de calidad, para la formulación de productos biológicos. Monzon (2001), indica que para que un producto se considere de buena calidad debe de tener un porcentaje de germinación cercano al 100 % a las 24 hr de incubación, con el tiempo de almacenamiento del producto tiende a perder su viabilidad y se reduce la capacidad de establecerse en el campo, reduciendo la efectividad sobre el agente a controlar.

En el cuadro 19 presenta un resumen de los datos obtenidos en el laboratorio y tabulados de la viabilidad del producto final.

Cuadro 19. Resumen de la viabilidad del producto final.

VIABILIDAD DEL PRODUCTO COSECHADO				
REPETICIONES	T1 ARROZ	T2 MAÍZ QUEBRADO	T3 MAÍZ BLANCO	T4 SORGO
1	99.25	97.89	88.77	94.34
2	98.56	98.67	92.56	92.67
3	99.15	99.78	90.16	93.45
4	99.34	95.89	89.23	91.45
5	99.39	97.78	91.34	97.28
6	98.56	96.45	93.78	95.25
PROMEDIO	<b>99.04</b>	97.74	90.97	94.07

Los datos presentados en el cuadro 19, se presentan los promedios de porcentaje de germinación de cada uno de los sustratos evaluados, se utilizaron para el análisis de varianza para observar si existe una diferencia significativa entre los sustratos evaluados.

En el cuadro 20 a continuación presenta los datos obtenidos del ANDEVA en el cual fue realizado en el programa INFOSTAT ®.

Cuadro 20. Resumen del ANDEVA para la variable porcentaje de viabilidad a 24 hr del producto final.

F.V.	SC	gl	F (cal)	F (tab)	p-valor
TR	240.57	3	80.19	31.49	<0.0001
Error	50.93	20	2.55		
Total	291.50	23			

Significancia estadística 5 %, CV: 1.67 %.

Se realizó el análisis de varianza para el porcentaje de germinación para el producto final, en el cuadro 20 se presenta que existió diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en los tratamientos con un nivel de confiabilidad del 95 % para el porcentaje de germinación del producto final, por lo que se procedió a realizar la prueba de medias por el método de Tukey.

En el cuadro 21 a continuación se presenta obtenidos en la comparación de medias por el método de Tukey realizado en el programa INFOSTAT ® para el porcentaje de germinación.

Cuadro 21. Comparación de medias para el porcentaje de viabilidad del producto final.

TRATAMIENTO	MEDIAS	GRUPO TUKEY		
T1	99.04	A		
T2	97.74	A		
T4	94.07		B	
T3	90.97			C

En la comparación de medias para el porcentaje de germinación a las 24 hr de incubación del producto final existió diferencia significativa, el sustrato de arroz, presenta el mejor resultado de porcentaje de germinación de 99.04 %, sin embargo, el sustrato de maíz quebrado estadísticamente no es significativa con el sustrato de arroz con un porcentaje de germinación de 97.74 %, sin embargo, superado el sustrato de arroz.

El sustrato de sorgo con un porcentaje de germinación de 94.07 % y el sustrato de maíz blanco con un porcentaje de germinación de 90.97 % se alejan de las similitudes estadísticas al estar en grupos independientes al de los sustratos de arroz y maíz quebrado. Todos los sustratos cumplen con lo establecido por Monzon (2001) que se obtenga un porcentaje de germinación cerca al 100 %. El sustrato de arroz es recomendable para la elaboración de productos biológicos.

Se presenta en la figura 36, la distribución de los tratamientos en respuesta a la viabilidad del producto final cosechado, la máxima viabilidad se presentó en sustrato de arroz.

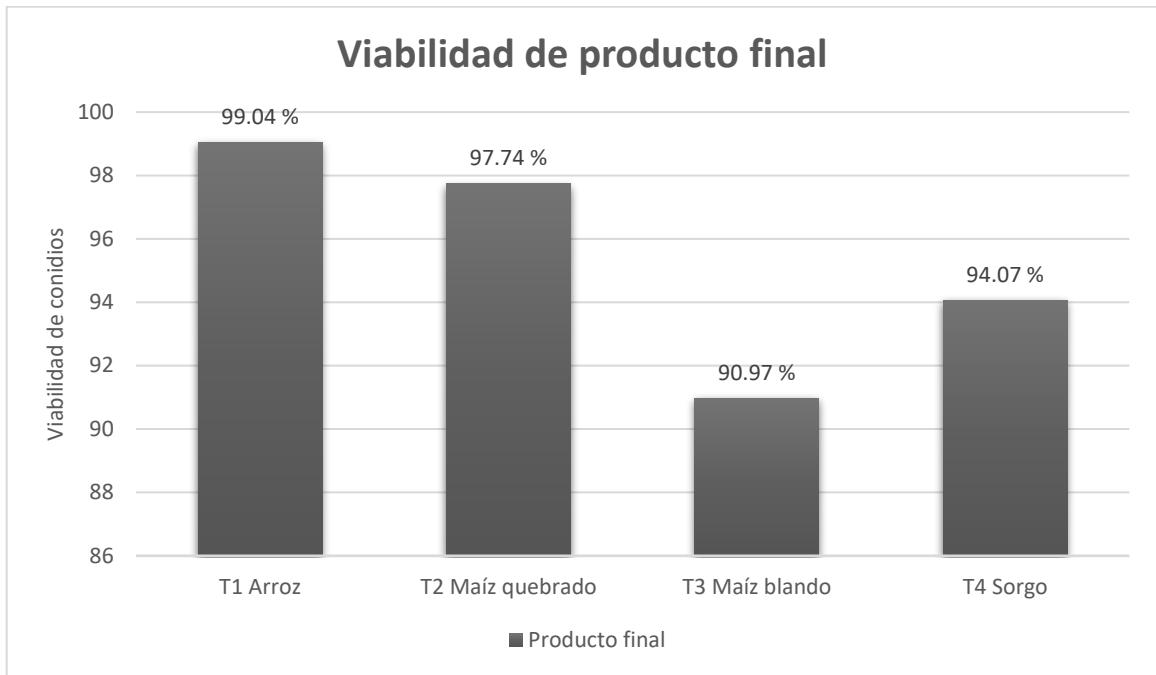


Figura 36. Distribución gráfica de los datos en respuesta de la variable: viabilidad del producto final cosechado.

### 2.7.5 Rendimiento en g/kg de producto final

Se tomaron los datos del rendimiento del producto final del peso del polvo cosechado, por lo cual se pesó la cantidad de polvo cosechado de *Beauveria bassiana* por bandeja de cada uno de los sustratos evaluados por el método de tamizado. Monzon (2001) indica que el rendimiento en el proceso semi-industrial puede variar de 200 g a 300 g de polvo/kg para *Beauveria bassiana*.

En el cuadro 22 presenta un resumen de los datos obtenidos en el laboratorio y tabulados del rendimiento en g/kg del producto final cosechado.

Cuadro 22. Resumen del rendimiento del producto final cosechado.

REPETICIÓN	RENDIMIENTO g/kg			
	T1	T2	T3	T4
1	36.72	34.40	13.94	20.90
2	36.45	34.21	13.72	19.80
3	32.78	33.12	15.98	18.50
4	41.23	26.34	12.80	21.80
5	40.50	30.16	11.57	17.70
6	33.12	36.23	14.79	23.50
PROMEDIO	<b>36.80</b>	32.40	13.80	20.40
TOTALES DE RENDIMIENTO g/kg				
	T1	T2	T3	T4
TOTAL	<b>220.80</b>	194.46	82.80	122.20

En el cuadro 23 a continuación presenta los datos obtenidos del ANDEVA en el cual fue realizado en el programa INFOSTAT®.

Cuadro 23. Resumen del ANDEVA para la variable rendimiento de g/kg del producto final.

F.V.	SC	GI	F (cal)	F (tab)	p-valor
TR	2029.23	3	676.41	83.43	<0.0001
Error	162.16	20	8.11		
Total	2191.39	23			

Significancia estadística 5 %, CV= 11.02 %.

Se realizó el análisis de varianza para el rendimiento de polvo cosechado de *Beauveria bassiana*, en el cuadro 23 se presenta que existió diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en los tratamientos con un nivel de confiabilidad del 95 % para el rendimiento de producto final, por lo que se procedió a realizar la prueba de medias por el método de Tukey.

En el cuadro 24 a continuación se presenta obtenidos en la comparación de medias por el método de Tukey realizado en el programa INFOSTAT® para el rendimiento de polvo cosechado de *Beauveria bassiana*.

Cuadro 24. Comparación de medias para el rendimiento de g/kg del producto final.

TRATAMIENTO	MEDIAS	GRUPO TUKEY		
T1	36.80	A		
T2	32.41	A		
T4	20.37		B	
T3	13.80			C

En la comparación de medias para el rendimiento de polvo cosechado de *Beauveria bassiana*, se puede observar que el sustrato de arroz, presenta el mejor resultado de rendimiento de 36.80 g/kg.

El sustrato de maíz quebrado estadísticamente no es significativo con el sustrato de arroz se obtuvo un rendimiento de 32.41 g/kg. El sustrato de sorgo con rendimiento de 20.37 g/kg y el sustrato de maíz blanco con un rendimiento de 13.80 g/kg se alejan de las similitudes estadísticas al estar en grupos independientes al de los sustratos de arroz y maíz quebrado. El rendimiento de maíz blanco en comparación de Jaramillo (2019) fue de 6.50 g/kg, siendo menor al rendimiento de la presente investigación 13.80 g/kg esto se pudo dar porque existió un mejor manejo de la investigación.

El sustrato de arroz es el único que cumplen con lo establecido por Monzon (2001) señala que el rendimiento en el proceso semi-industrial puede variar de 200 g a 300 g de polvo/kg para *Beauveria bassiana*.

Se presenta en la figura 37, la distribución de los tratamientos en repuesta al rendimiento del producto final cosechado, el máximo rendimiento se presentó en sustrato de arroz.

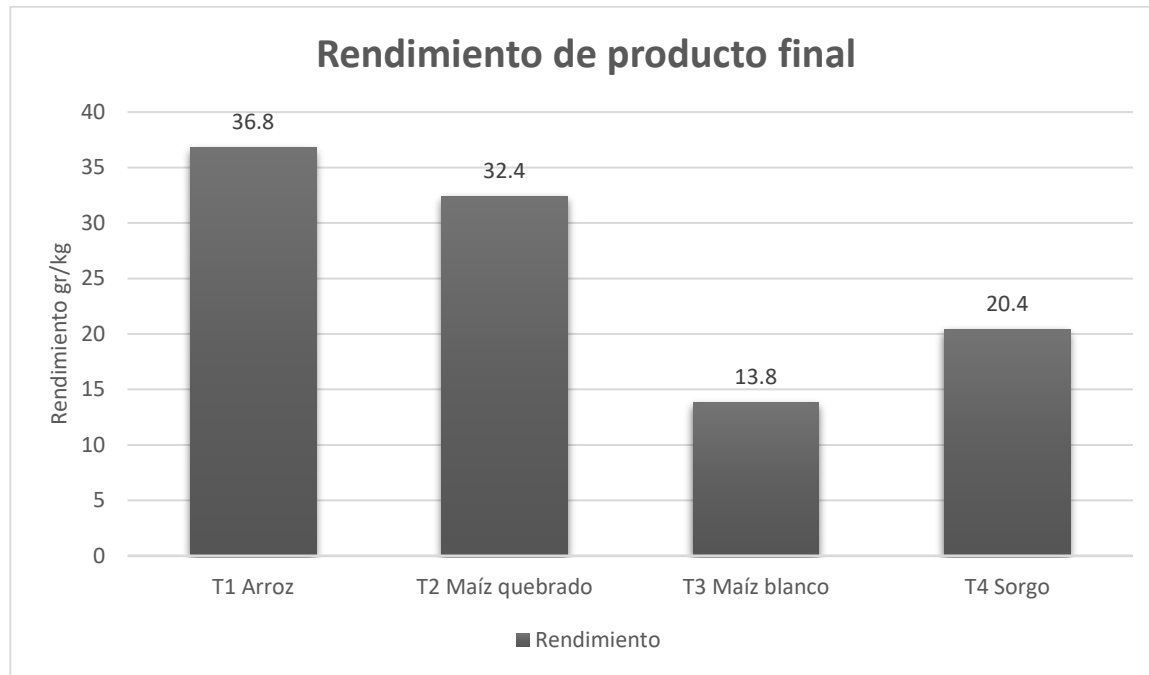


Figura 37. Distribución gráfica de los datos en respuesta a la variable: rendimiento de g/kg del producto final.

## 2.8 CONCLUSIONES

1. En base de los resultados obtenidos se puede concluir que el arroz es el mejor de los cuatro sustratos evaluados, presentó mayor cantidad de conidios de *Beauveria bassiana*, durante los distintos periodos de incubación evaluados, principalmente a los 21 días, donde se obtuvo una concentración de  $2.36 \times 10^9$  UFC/g, cumpliendo con los estándares de calidad para la elaboración de productos biológicos. El producto final del polvo cosechado presentó una concentración de  $5.59 \times 10^9$  UFC/g y un rendimiento de 220.80 g/kg; esto indica que el arroz es el sustrato idóneo para la propagación masiva de *Beauveria bassiana*.

2. El mayor porcentaje de germinación de esporas de *Beauveria bassiana* se presentó en el sustrato de arroz a los 21 días de incubación, donde se obtuvo una viabilidad de 97.39 %, esto indica que al momento de ser aplicado en el campo tiene que existir un efecto rápido sobre la población que se quiere combatir y en un corto periodo de exposición en condiciones medioambientales, debido a presentó una viabilidad mayor al 85 %. El producto final de polvo cosechado presentó una viabilidad de 99.04 %. Por lo tanto, es ideal su aplicación en campo.

## 2.9 RECOMENDACIONES

1. Se recomienda utilizar el sustrato de arroz para la propagación masiva de *Beauveria bassiana* debido a que presentó las mejores características en producción, con el mayor rendimiento y viabilidad a los 21 días de incubación y mayor rendimiento del producto final del polvo cosechado.
2. Se recomienda evaluar distintas presentaciones de arroz, siendo las más comerciales: arroz precocido, arroz de rechazo, arroz quebrado, arroz integral, arroz vaporizado, entre otros; por ser el sustrato más eficiente para la propagación de *Beauveria bassiana*.
3. Se sugiere que durante el proceso de inocular y de deshidratación de los sustratos es necesario mantener una cubierta en las bandejas en los primeros 3 días, con la finalidad de proporcionar un mejor desarrollo de micelio para que exista un mayor desarrollo de estructuras reproductoras.
4. Evaluar diferentes sustratos de bajo costo para propagación masiva de *Beauveria bassiana* y la efectividad de conidios en ensayos formulados en campo, sobre una plaga de importancia económica.

## 2.10 BIBLIOGRAFÍA

1. Alves, S. 1998. Relatorio sobre la consulta para la construcción de un laboratorio de producción de entomopatógenos y formación de personal. SENASA/BID.
2. Arriaga Rodríguez, LF. 2014. Centro Cultural para el Municipio de Villa Nueva, Guatemala. s.l., Tesis Arq. 14 p.
3. Benítez Cardoza, C; Pfeiffer Perea, H. 2006. Materiales mesoporosos. El maíz: origen, composición química y morfología. México, Revista Materiales Avanzados Instituto de Investigación en Materiales, UNAM. 4 (7) 16-19 p.
4. Calel Hernández, PL. 2019. Evaluación de medios de cultivos y tipos de envases para almacenaje en la producción de *Beauveria bassiana* en Finca Santa Anita, Zunillito, Suchitepéque. s.l., Tesis Ing. Agrónomo.
5. Cañedo, V; Ames, T. 2004. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Lima Perú, Manual de laboratorio del Centro Internacional de la Papa (CIP). 7,13,44 p. DOI: <https://doi.org/cip@cgiar.org>, [www.cipotato.org](http://www.cipotato.org).
6. Carrillo, L. 2003. Los Hongos De Los Alimentos Y Forrajes. Official Methods of Analysis :49.
7. CENICAFE (Centro Nacional de Investigación de Café, Colombia). 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos.
8. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Italia).1997. El maíz en la nutrición humana.
9. García, MGE. 2009. Evaluación de la temperatura sobre la esporulación de entomopatógenos en plagas de raíz de caña de azúcar (*Saccharum spp.*) en el laboratorio de CENGICAÑA, Santa Lucía Cotzumalguapa. Guatemala. p.



10. Gómez, H; Zapata, A; Torres del Águila, E; Tenorio, M. 2014. Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos (en línea). Perú, Laboratorio de entomopatógenos SCB-SENASA. 37 p. Disponible en <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2017/09/Manual-de-Producción-y-Uso-de-Hongos-Entomopatógenos.pdf>.
11. González, M; Aguilar, N; Rodríguez, R. 2012. Control de insectos-plaga en la agricultura utilizando hongos entomopatógenos: retos y perspectivas (en línea). Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila 4(8):42-53. Disponible en <http://www.postgradoeinvestigacion.uadec.mx/divulgacionAQM.html>.
12. Granda, D. 2008. Producción y uso de hongos entomopatógenos. Fundación para el desarrollo Tecnológico Agropecuario y Forestal de Nicaragua :12.
13. Hernández Velázquez, VM. 1999. Ficha técnica CB-03 Uso de *Beauveria bassiana* como insecticida microbial. (Ferron 1978).
14. Ilbay Ilvay, AL. 2012. «Evaluación de sustratos orgánicos para la producción de plántulas de brócoli (*Brassica oleracea* Var. Itálica)». Ambato Ecuador, Tesis Ing. Agrónoma. 6 p.
15. INTAGRI (Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura, México). 2016. *Beauveria bassiana* en el Control Biológico de Patógenos (en línea). Disponible en <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/beauveria-bassiana-en-el-control-biologico-de-patogenos>.
16. Jaramillo, JR. 2019. Evaluación de cuatro cepas de *Beauveria bassiana* producidas en dos medios diferentes y su eficacia en el control sobre adultos de *Cosmopolites sordidus* (Picudo negro del plátano). noviembre, s.l., Tesis Ing. Agrónomo.
17. Kouassi, M. 2001. Les possibilités de la lutte microbiologique emphase sur le champignon entomopathogène *B. bassiana*. Universidad de Québec, Montreal, Canada. VertigO. Revista en ciencias ambientales.



18. Merino, C. 2017. Efecto de los sustratos nutritivos en la producción y virulencia de *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin y *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin sobre un insecto plaga (en línea). Lima Perú, Tesis Doctoral. 30-100 p. Disponible en [https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/6483/Merino\\_pc.pdf?sequence=3&isAllowed=y](https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/6483/Merino_pc.pdf?sequence=3&isAllowed=y).
19. Monzon, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatogenos en Nicaragua. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) (63):95-103.
20. Nicholls Estrada, CI. 2013. Control biológico de insectos Un enfoque agroecológico. Colombia, Universidad de Antioquia, vol.53. 1689-1699 p.
21. Pincioli, M; Martínez, EN; Vidal, AA. 2010. Proteínas de arroz. Propiedades estructurales y funcionales. La Plata Buenos, s.e. 30 p.
22. SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria, Perú). 1998. *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (en línea) Disponible en <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2014/12/FICHA-TÉCNICA-1-B.-bassiana.pdf>.
23. Zimmermann, G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. Inglaterra, Taylor & Francis Science and Technology, vol.17. 553-596 p <https://doi.org/10.1080/09583150701309006>.



## 2.11 ANEXOS

Cuadro 25A. Resumen del rendimiento de UFC/gr de cada uno de los tratamientos a los 7, 14 y 21 días de incubación.

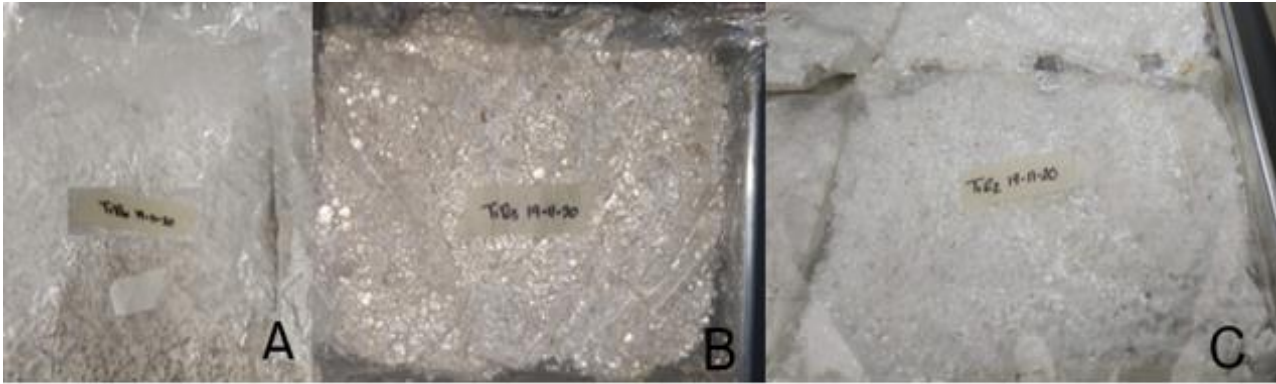
<b>Concentración de conidios/gr a los 7 días</b>				
Repeticiones	T1 Arroz	T2 Maíz quebrado	T3 Maíz blanco	T4 Sorgo
1	1.18E+09	9.37E+08	3.18E+08	5.28E+08
2	1.22E+09	1.04E+09	1.88E+08	5.63E+08
3	1.29E+09	9.85E+08	2.57E+08	4.78E+08
4	1.23E+09	9.25E+08	2.47E+08	5.22E+08
5	1.27E+09	9.42E+08	2.02E+08	5.42E+08
6	1.22E+09	8.62E+08	2.48E+08	4.62E+08
PROMEDIO	<b>1.23E+09</b>	9.48E+08	2.43E+08	5.16E+08
<b>Concentración de conidios/gr a los 14 días</b>				
Repeticiones	T1 Arroz	T2 Maíz quebrado	T3 Maíz blanco	T4 Sorgo
1	1.67E+09	1.26E+09	3.37E+08	6.37E+08
2	1.68E+09	1.33E+09	2.85E+08	5.42E+08
3	1.59E+09	1.34E+09	3.27E+08	5.58E+08
4	1.65E+09	1.23E+09	2.63E+08	5.25E+08
5	1.51E+09	1.31E+09	2.42E+08	6.12E+08
6	1.58E+09	1.27E+09	3.52E+08	5.88E+08
PROMEDIO	<b>1.61E+09</b>	<b>1.29E+09</b>	<b>3.01E+08</b>	<b>5.77E+08</b>
<b>Concentración de conidios/gr a los 21 días</b>				
Repeticiones	T1 Arroz	T2 Maíz quebrado	T3 Maíz blanco	T4 Sorgo
1	2.33E+09	1.74E+09	2.82E+08	5.78E+08
2	2.26E+09	1.84E+09	2.50E+08	7.32E+08
3	2.39E+09	1.82E+09	4.15E+08	7.83E+08
4	2.42E+09	1.69E+09	3.72E+08	6.95E+08
5	2.55E+09	1.65E+09	4.38E+08	7.65E+08
6	2.22E+09	1.77E+09	3.48E+08	6.60E+08
PROMEDIO	<b>2.36E+09</b>	1.75E+09	3.51E+08	7.02E+08

Fuente: elaboración propia, 2021.

Cuadro 26A. Resumen de la viabilidad de cada uno de los tratamientos a las 24 hr a los 7, 14 y 21 días de incubación.

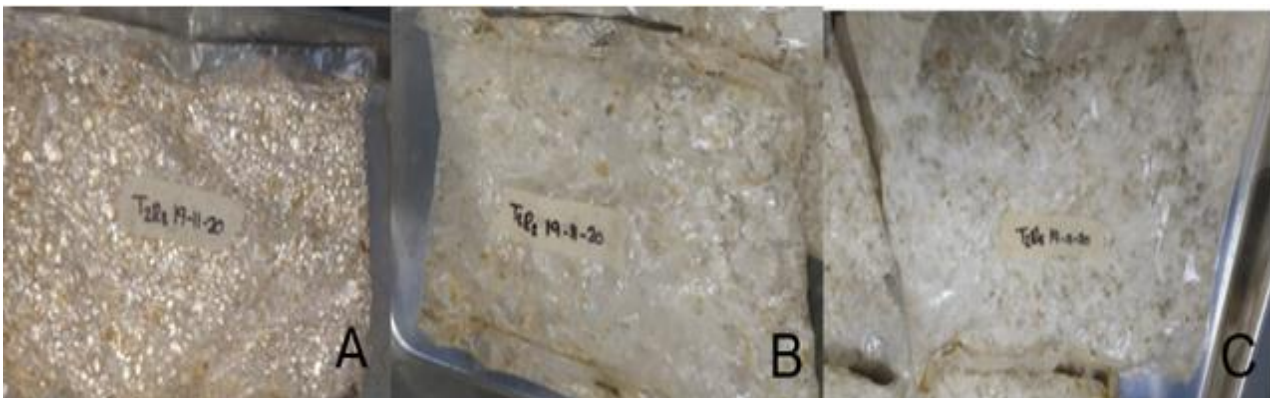
<b>Viabilidad a las 24 horas a los 7 días</b>				
Repeticiones	T1 Arroz	T2 Maíz quebrado	T3 Maíz blanco	T4 Sorgo
1	91.82	86.65	84.87	86.47
2	92.84	89.04	85.01	87.77
3	92.4	88.2	85.58	87.17
4	92.57	85.91	84.54	87.1
5	93.86	89.89	85.77	87.52
6	93.8	86.48	88.47	86.2
<b>PROMEDIO</b>	<b>92.88</b>	87.70	85.71	87.04
<b>Viabilidad a las 24 horas a los 14 días</b>				
Repeticiones	T1 Arroz	T2 Maíz quebrado	T3 Maíz blanco	T4 Sorgo
1	95.81	94.52	88.02	88.21
2	93.97	92.62	89.75	87.9
3	95.66	91.61	88.14	89.33
4	94.34	91.73	86.17	89.19
5	95.57	92.09	87.81	89.64
6	95.28	91.96	89.1	90.26
<b>PROMEDIO</b>	<b>95.11</b>	92.42	88.17	89.09
<b>Viabilidad a las 24 horas a los 21 días</b>				
Repeticiones	T1 Arroz	T2 Maíz quebrado	T3 Maíz blanco	T4 Sorgo
1	98	95.07	89.19	94.11
2	97.69	94.83	89.28	92.48
3	97.11	93.7	91.3	91.13
4	97.1	94.59	88.78	93.76
5	96.98	95.14	89.16	90.64
6	97.44	94.2	91.92	93.65
<b>PROMEDIO</b>	<b>97.39</b>	94.59	89.94	92.63

Fuente: elaboración propia, 2021.



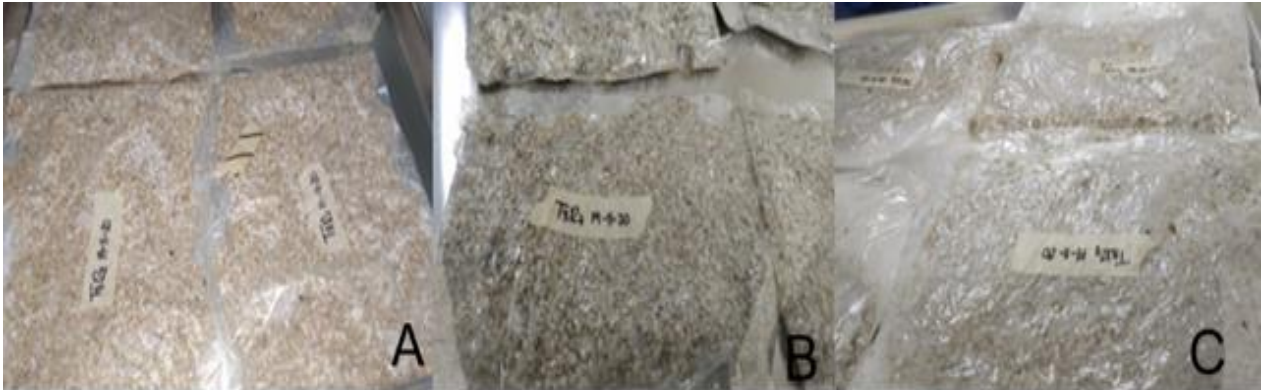
Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 38A. Sustrato arroz (T1) crecimiento de *Beauveria bassiana* en los distintos periodos de incubación. A. 7 días de incubación B. 14 días de incubación C. 21 días de incubación.



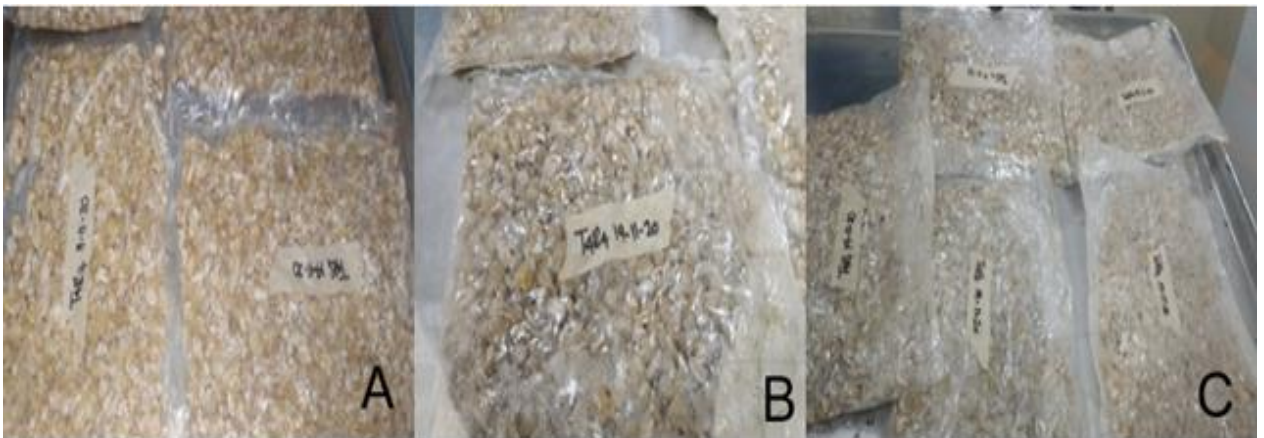
Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 39A. Sustrato maíz quebrado (T2) crecimiento de *Beauveria bassiana* en los distintos periodos de incubación. A. 7 días de incubación B. 14 días de incubación C. 21 días de incubación.



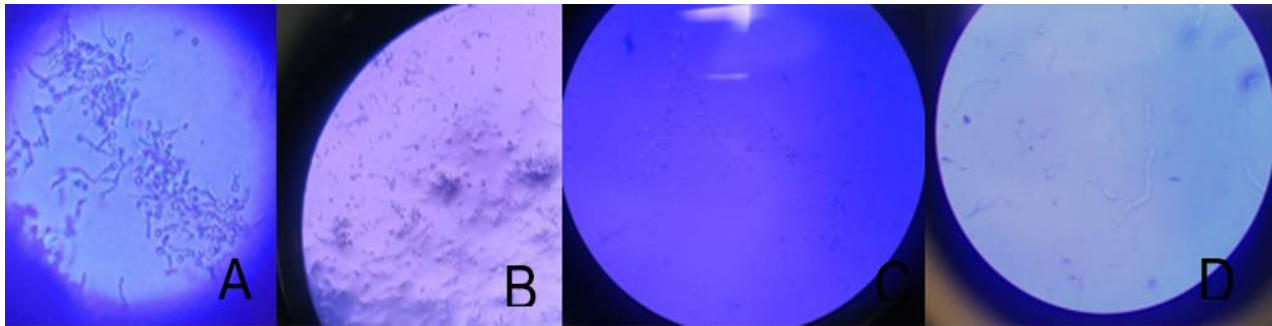
Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 40A. Sustrato sorgo (T4) crecimiento de *Beauveria bassiana* en los distintos periodos de incubación. A. 7 días de incubación B. 14 días de incubación C. 21 días de incubación.



Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 41A. Sustrato maíz blanco (T3) crecimiento de *Beauveria bassiana* en los distintos periodos de incubación. A. 7 días de incubación B. 14 días de incubación C. 21 días de incubación.



Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 42A. Germinación de *Beauveria bassiana*. A. Sustrato arroz, conidios germinados. B. Sustrato maíz quebrado, conidios germinados. C. Sustrato maíz blanco, conidios germinados.



Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 43A. Sustratos embolsados para su almacenamiento. A. Sustrato arroz embolsado B. Sustrato maíz quebrado embolsado. C. Sustrato maíz blanco embolsado D. Sustrato sorgo embolsado.



**CAPÍTULO III: SERVICIOS REALIZADOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Y EN EL ÁREA DE REGISTRO, EN EXPORTADORA ENLASA S.A, GUATEMALA, C.A.**



### **3.1 PRESENTACIÓN**

Exportadora ENLASA S.A., es una empresa guatemalteca fundada en enero del 2000, formula, desarrolla, produce y comercializa insumos de calidad al mercado agropecuario y agroindustrial, es una marca reconocida a nivel global principalmente del sector de la nutrición y sanidad vegetal.

ENLASA es reconocida principalmente por sus productos biológicos, tanto a nivel local como internacional. Por lo tanto, los productos biológicos son indispensables para la empresa, estos son elaborados en el laboratorio de Microbiología.

En el laboratorio se realizan otras actividades como: análisis microbiológicos, antibiogramas, elaboración de medios de cultivos, pruebas de bacterias, identificación de nematodos, alistamiento de cepas.

Por lo que en los servicios se estableció la elaboración de manuales de los procesos internos del laboratorio y un análisis microbiológico en este caso fue un análisis de mano en una línea de producción de los productos biológicos. También se realizó un servicio en el área de registros, en la tabulación de índices de capacidad de desempeño para tener el control de los estados de procesos de la producción de los productos terminados.

## **3.2 OBJETIVOS**

### **3.2.1 Objetivo general**

Colaborar en las distintas actividades técnicas y agrícolas, para completar las necesidades dentro del laboratorio de Microbiología y área de registros, en exportadora ENLASA S.A.

### **3.2.2 Objetivos específicos**

1. Elaborar un manual de los principales procesos internos en el laboratorio de Microbiología.
2. Realizar la tabulación de la información de los índices de capacidad y desempeño de productos terminados para el área de registros.
3. Realizar un análisis de manos por el método de hisopado con la finalidad de conocer la situación de los trabajadores de producción de productos biológicos, elaborados en laboratorio de Microbiología.

### **3.3 SERVICIO 1: MANUAL DE LOS PRINCIPALES PROCESOS INTERNOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA**

#### **3.3.1 OBJETIVOS**

##### **A. Objetivo general**

Elaborar un manual de los principales procesos internos en el laboratorio de Microbiología.

##### **B. Objetivos específicos**

1. Identificar los principales procesos del laboratorio de Microbiología.
2. Describir cada uno de los procesos del laboratorio.
3. Proporcionar los conceptos y las prácticas fundamentales, frecuentemente aplicadas en el laboratorio.

#### **3.3.2 METODOLOGÍA**

La obtención de la información para la elaboración de los procesos internos en el laboratorio, fue necesario la utilización de información de origen primario y secundario. Con el objetivo de obtener un manual que pueda orientar al técnico y futuros auxiliares, epesistas o cualquier persona que se encuentre en el laboratorio para poder realizar los procesos internos.

La información primaria se realizó por medio de una entrevista con el técnico del laboratorio de Microbiología, en la cual se dio a conocer los procesos que se llevan a cabo dentro del laboratorio y en las distintas áreas que se llevan a cabo dichos procesos.

Posteriormente, se recopiló la información secundaria. Esta se obtuvo mediante investigación en libros, revisión de tesis, manuales microbiológicos, sitios web. Cabe mencionar que tuvo cuidado en las fuentes para la obtención de dicha información para obtener información de confianza y calidad.

Con la información obtenida, se procedió a la elaboración del manual, utilizando recursos como computadora, programa Word y documentos. Por último, se procedió a la impresión del manual para el área del laboratorio de Microbiología.

### **3.3.3 RESULTADOS**

Se obtuvo un manual técnico de los principales procesos internos del laboratorio de Microbiología, el cual fue entregado al técnico del laboratorio con el fin de que existiera una revisión bibliográfica de los dichos procesos. Es indispensable que exista un manual que presente de manera formal los procedimientos y que se tenga las herramientas básicas para trabajarlos.

#### **A. MANUAL DE LOS PRINCIPALES PROCESOS INTERNOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA**

El manual de procesos internos en el laboratorio de Microbiología cuenta con cinco capítulos, estos procesos fueron descritos en el manual debido a que son los procesos que se realizan con más frecuencia en el laboratorio, entre los cuales se abordaron los siguientes procesos: aislamiento de bacterias y hongos, elaboración de medios de cultivos, antibiogramas, identificación de nematodos y tinción de Gram.

1. El aislamiento de bacterias y hongos se realiza, en la mayoría de veces mediante la técnica de estriado en cajas Petri con agar y en fermentación líquida, dependiendo de las bacterias y hongos se utiliza un medio de cultivo para el agar y los fermentos líquidos. Estos se utilizan para la elaboración de productos biológicos y para la elaboración y mantenimiento del cepario dentro del laboratorio (Zúñiga 2012).
2. Los principales medios de cultivos que se elaboran en el laboratorio son: agar nutritivo, agar agua, agar papa dextrosa agar (PDA), agar Sabouraud, agar MP (originario del laboratorio) agar nutritivo, caldo agar papa dextrosa agar (PDA) y caldo nutritivo.
3. Los antibiogramas son métodos in vitro utilizados para determinar la susceptibilidad de los microorganismos a una diversidad de agentes antimicrobianos, bajo condiciones de laboratorio (Pedrique 2002).

Los antibiogramas se basan en saber si un producto es bueno, si se requieren mejoras o el producto no sirve, el cual depende de la presencia de halos de inhibición (es un método simple de resumir la zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento del microorganismo en una placa de agar inoculada con el producto). lo cual quiere decir que si existe un halo de inhibición en el agar quiere decir que el producto es bueno, si no existe un halo de inhibición o el halo de inhibición es menor y el pigmento no es el adecuado y existe sequedad quiere decir que se necesita mejoras en el producto y cuando no existe halo de inhibición quiere decir que el producto no sirve el tiempo estimado para la elaboración de antibiogramas se realiza una vez al mes con distintos productos.

4. Para la identificación de nematodos dentro del laboratorio se utilizan los métodos de: Obtención de quistes de raíz en flotación y de embudo de Baermann, estos se realizan para la elaboración de ensayos para la elaboración de productos biológicos para tratar nematodos principalmente en el cultivo de banano.
5. La Tinción de Gram consiste en realizar una prueba de 20 pasos aproximadamente, con la que es posible identificar los diferentes grupos de bacterias para así poder estudiarlas y clasificarlas en:
  - Bacteria Gram + (Gram positiva) se tiñe de color azul-violeta.
  - Bacteria Gram – (Gram negativa) se tiñe de color rojo-rosado (Esaú López Jácome et al. 2014).

El aislamiento de bacterias y hongos, se realiza semanalmente para la elaboración de productos biológicos para la venta nacional e internacional, también se realizan con la finalidad de reconocimientos de bacterias y hongos para la implementación de una investigación para un producto nuevo y principalmente para el mantenimiento del cepario.

La elaboración de medios de cultivos, se hace un monitoreo en el inventario cada 5 días para tener conocimiento de la cantidad de cajas Petri o frasco de vidrio con tapa, con los distintos medios y si existe ineficiencia en alguno se hace la notificación para la elaboración.

Los antibiogramas se realizan principalmente para la verificación de un producto si está cumpliendo con los estándares de calidad o si necesita una mejora, también se realizan pruebas cada 15 días o un mes para distintas investigaciones para mejoras de productos ya establecidos o para productos nuevos que se pretenden lanzar al mercado nacional e internacional.

La identificación de nematodos es eventualmente, debido a que se realizan cuando se requiere establecer una investigación de un cultivo específico y realizar un nuevo producto para poder combatirlos y proceder a la realización y venta del producto.

La tinción de Gram se realiza para la verificación de análisis microbiológicos de calidad a mezclas, pre mezclas y producto terminado.

Se presentó un resumen de los cinco capítulos descritos en el manual, elaborado por Emeli Ramírez, el cual fue impreso y entregado al Jefe inmediato y el técnico de microbiología, el cual es utilizado actualmente en el laboratorio.

### **3.3.4 EVALUACIÓN**

1. Este documento se realizó con el objetivo de que en el laboratorio existiera un manual de los principales procesos internos, para que el técnico o cualquier persona que trabaje dentro del laboratorio pueda tener una revisión bibliográfica de dichos procesos.
2. El manual fue revisado por el jefe inmediato y el técnico del laboratorio, por lo que fue aprobada y se está utilizando actualmente. Principalmente por si surgen dudas técnicas de algún proceso interno, puedan orientarse en los materiales y equipo y en los procesos.


### **3.3.5 CONCLUSIÓN**

Se elaboró un manual con los principales procesos internos que se realizan en el laboratorio de Microbiología, describiendo los materiales y equipo a utilizar y los procedimientos, para poder realizar dichos procesos. Con el fin de poder ser proporcionado al técnico del laboratorio para su uso diario y que cualquier persona que llegue a trabajar al laboratorio pueda utilizarlo para poder guiarse.

### **3.3.6 RECOMENDACIÓN**

Actualizar cada año el manual de los principales procedimientos e incorporar nuevos procesos o nuevas metodologías que sean más actualizadas o ir adaptando dichos procesos a los utilizados en el laboratorio, para poder garantizar resultado de mayor calidad.

### 3.3.7 ANEXOS

		<b>Identificación de Nematodos</b>	
Fecha de Emisión:	No. De Edición: 01	Fecha de Edición: 25/04/20	Página: 1 de 11

#### PROCEDIMIENTO PARA IDENTIFICACIÓN DE NEMATODOS

##### 1. OBJETIVO

Identificación de nematodos por distintos métodos.

##### 2. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

###### 2.1. DEFINICIONES

Nematodo son un filo de vermes pseudocelomados, el cuarto filo más grande del reino animal. Son organismos esencialmente acuáticos, aunque proliferan también en ambientes terrestres. Se distinguen por ser pseudocelomados. Existen especies de vida libre, marinas, en el suelo, y especies parásitas de plantas y animales, incluyendo el hombre. Son agentes causales de Enfermedades de transmisión alimentaria y provocan enfermedades como la triquinosis, filariasis, anisakiasis, anquilostomiasis, ascariasis, estrongiloidiasis, toxocariasis, etc.

###### 2.2. ABREVIATURAS

• pvc	Policloruro de vinilo
• cm	Centímetros
• ml	Millilitro
• mm	milímetros
• g	gramos
• cc	centímetro cúbico
• rpm	Revoluciones Por Minuto

##### 3. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

###### 3.1. EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL (EPP)


- Gafas de Protección,
- Guantes,
- Ropa de seguridad (bata)

###### 3.2. MANEJO DE RESIDUOS PELIGROSOS

No aplica.

Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 44A. Carátula del manual de identificación de nematodos.

	Realización de antibiograma		
Fecha de Emisión:	No. de Edición: 01	Fecha de Edición: 23/04/2020	Página: 1 de 5

## PROCEDIMIENTO PARA REALIZAR ANTIBIOGRAMAS

### 1. OBJETIVO

Realizar ensayos de sensibilidad de un cultivo bacteriano de distintos antibióticos.

### 2. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

#### 2.1. DEFINICIONES

El antibiograma es la prueba microbiológica que se realiza para determinar la susceptibilidad (sensibilidad o resistencia) de una bacteria a un grupo de antibióticos.

#### 2.2. ABREVIATURAS

- PSI Libras por pulgada cuadrada por sus siglas en inglés
- °C Grados centígrados
- mm Milímetro

### 3. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

#### 3.1. EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL (EPP)

- Guantes,
- Protección respiratoria
- Ropa de seguridad (bata)

#### 3.2. MANEJO DE RESIDUOS PELIGROSOS


No aplica.

#### 3.3. PRECAUCIONES ESPECIALES

- Es importante y de carácter obligatorio que se utilice el EPP indicado en el inciso anterior.

Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 45A. Carátula del manual de antibiogramas.

	Medios de cultivos		
Fecha de Emisión:	No. De Edición: 01	Fecha de Edición: 23/04/2020	Página: 1 de 3

## PROCEDIMIENTO PARA ELABORACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVOS

### 1. OBJETIVO Y ALCANCE

Elaboración de medios de cultivos para distintos microorganismos.

### 2. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

#### 2.1. DEFINICIONES

Un **medio de cultivo** es una técnica de laboratorio (véase microbiología) que consta de un gel o una solución que contiene los nutrientes necesarios para permitir, en condiciones favorables de pH y temperatura, el crecimiento de virus, microorganismos, células, tejidos vegetales o incluso pequeñas plantas.

#### 2.2. ABREVIATURAS

- |       |  |
|-------|--|
| • PDA | PAPA DEXTROSA AGAR                                   |
| • g   | Gramos   |
| • PSI | Libras por pulgada cuadrada por sus siglas en inglés |
| • ml  | mililitro  |
| • °C  | Grados centígrados                                   |

### 3. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

#### 3.1. EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL (EPP)

- Calzado de Seguridad,
- Guantes,
- Protección respiratoria
- Ropa de seguridad (bata)

#### 3.2. MANEJO DE RESIDUOS PELIGROSOS


No aplica.

#### 3.3. PRECAUCIONES ESPECIALES

- Es importante y de carácter obligatorio que se utilice el EPP indicado en el inciso anterior.

Fuente: elaboración propia, 2020

Figura 46A. Carátula del manual de medios de cultivos.

	Aislamiento de hongos y bacterias y preservación de cepas		
Fecha de Emisión: 24/04/2020	No. De Edición: 01	Fecha de Edición:	Página: 1 de 9

## PROCEDIMIENTO PARA AISLAMIENTO Y PRESERVACIÓN DE CEPAS

### 1. OBJETIVO Y ALCANCE

Establecer el método mejor para la obtención de aislamiento y preservación de cepas.

### 2. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

#### 2.1. DEFINICIONES

Aislamiento es la separación de un determinado microorganismo del resto que lo acompaña.

Preservación de cepas consiste en mantener viables las cepas, eliminando la necesidad de repiques frecuentes, impidiendo así las mutaciones en general, una de cuyas consecuencias es la pérdida de virulencia.

#### 2.2. ABREVIATURAS

• g	Gramos
• ml	Millilitro
• °C	Grados Celsius
• µl	microlitro
• cm <sup>2</sup>	Centímetros cuadrados
• PSI	Libras por pulgada cuadrada por sus siglas en Inglés
• cc	centímetro cúbico

### 3. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

#### 3.1. EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL (EPP)

- Calzado de Seguridad,
- Guantes,
- Protección respiratoria
- Ropa de seguridad (bata)

#### 3.2. MANEJO DE RESIDUOS PELIGROSOS

No aplica.

#### 3.3. PRECAUCIONES ESPECIALES

- Es importante y de carácter obligatorio que se utilice el EPP indicado en el inciso anterior.

Fuente: elaboración propia, 2020

Figura 47A. Carátula del manual de aislamiento de hongos y bacterias.

	Tinción de Gram		
Fecha de Emisión: 24/04/2020	No. De Edición: 01	Fecha de Edición:	Página: 1 de 5

## PROCEDIMIENTO PARA REALIZAR UNA TINCIÓN DE GRAM

### 1. OBJETIVO Y ALCANCE

Establecer el método para la elaboración de una tinción de Gram.

### 2. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

#### 2.1. DEFINICIÓN

La tinción de Gram es un tipo de tinción que se realiza sobre las bacterias para observarlas mejor bajo el microscopio. Ya se puede observar la muestra al microscopio donde se visualizarán de color violeta las Gram positivas y de color rosa-rojizo las Gram negativas.

#### 2.2. ABREVIATURAS

- |      |                   |
|------|-------------------|
| • g  | Gramos            |
| • ml | Millilitro        |
| • °C | Grados Celsius    |
| • µl | microlitro        |
| • cc | centímetro cúbico |

### 3. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

#### 3.1. EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL (EPP)

- Calzado de Seguridad,
- Guantes,
- Protección respiratoria
- Ropa de seguridad (bata)

#### 3.2. MANEJO DE RESIDUOS PELIGROSOS

No aplica.

#### 3.3. PRECAUCIONES ESPECIALES

- Es importante y de carácter obligatorio que se utilice el EPP indicado en el inciso anterior.

Fuente: elaboración propia, 2020

Figura 48A. Carátula del manual de tinción de Gram.

### **3.4 SERVICIO 2. TABULACIÓN DE LA INFORMACIÓN DE LOS ÍNDICES DE CAPACIDAD Y DESEMPEÑO DE PRODUCTOS TERMINADOS**

#### **3.4.1 OBJETIVOS**

##### **A. Objetivo general**

Establecer la información de los índices de capacidad y desempeño de productos terminados para su tabulación y uso en las hojas de seguridad y certificados.

##### **B. Objetivos específicos**

1. Determinar la información para la tabulación de los índices de capacidad y desempeño.
2. Categorizar los índices de capacidad y desempeño.
3. Describir cada uno de los índices de capacidad y desempeño en los formatos establecidos.

#### **3.4.2 METODOLOGÍA**

La obtención de la información para la tabulación de información de los índices de capacidad y desempeño de productos terminados, fue proporcionada por el estadístico del área de registros. El cual se realizaron con el Software statgraphics centurion 18.

Se obtuvieron las gráficas y los índices máximos, mínimos, promedios, las variables CP, CPK PP, PPK y DPMO. Con dicha información se procedió a la tabulación de la información en una estructura previamente realizada en el programa de Excel, para cada producto terminado.

Luego de la tabulación de la información esta fue subida al Onedrive y al sharepoint de la empresa, para que esta pueda estar a la disposición del personal de laboratorio de calidad y el personal del área de registros.

### 3.4.3 RESULTADOS

La tabulación de la información de los índices de capacidad y desempeño de los productos terminados, consisten en conocer el control del estado de los procesos de la producción de los productos terminados.

Estos controles se obtuvieron con los resultados que fueron calculados con el software Statgraphics Centurion 18, donde se obtuvieron los límites máximos (3 +), límites mínimos (3 -), tolerancia estándar, según variable de medición. También se calcularon: CP (Mide el control de datos para mantener dentro de las especificaciones del producto), CPK (mide el control de datos que se mantiene cerca del promedio, para saber si es un proceso es correcto tiene que ser mayor a 1.33), PPK (límites a largo plazo) y DPM (defectos partes por millón). Estos parámetros fueron tabulados en documentos de Word.

Para esto se tomaron las variables de medición de los productos terminados, tomando los parámetros como especificaciones técnicas. Se tomó un rango de las especificaciones técnicas del producto, esto se obtuvo, con la aplicación de las 6 sigmas, 3- izquierda, tolerancia estándar y 3 + derecha y con los gráficos de controles abarcando una confiabilidad del 98 %. Esto para saber si el proceso es capaz, incapaz, estable e inestable. Para mantenerse dentro del rango o cercano al promedio.

Con los datos obtenidos se pudieron obtener los parámetros fisicoquímicos de cada uno de los productos terminados, conociendo los promedios, el límite superior y límite inferior, para saber si están cumpliendo con los estándares de calidad para su venta nacional e internacional.

La tabulación consistió de pasar toda la información que se obtuvieron de los índices de capacidad y desempeño del software Statgraphics Centurion 18, fueron ingresados a un documento de Word las gráficas que contienen la normal, la media, Cp, Cpk, Ppk, la DPM a corto plazo, DPM a largo plazo y los índices superiores e inferiores individuales de cada parámetro fisicoquímico, especificaciones, estimados, observados y defectos, distribución normal, tamaño de la muestra, media, la desviación estándar, sigma superior y sigma inferior.

Esta información fue trasladada según las variables de medición a un documento de Excel ya establecido por la empresa, se registró el plan de muestreo por atributos, plan de muestreo por variables, desviación estándar, capacidad o desempeño, límite superior, límite inferior, especificaciones, intervalos de confianza del 95 % y principalmente los parámetros fisicoquímicos. Dichas variables de los parámetros fisicoquímicos dependían si el producto era líquido o sólido.

Cuadro 27. Parámetros fisicoquímicos para productos terminados líquidos y sólidos.

Parámetros fisicoquímicos para productos terminados			
LÍQUIDO	<ul style="list-style-type: none"> <li>- pH al 10 %</li> <li>- pH puro</li> <li>- Densidad aparente a 25 °C</li> <li>- Conductividad eléctrica</li> <li>- Total de sólidos disueltos (TDS)</li> <li>- Concentración de sales</li> <li>- Materia orgánica</li> <li>- Relación (C/N)</li> <li>- % Nitrógeno</li> <li>- % Fosforo</li> <li>- % Potasio</li> <li>- % Magnesio</li> <li>- % Boro</li> <li>- % Zinc</li> <li>- % Azufre</li> </ul>	SÓLIDO	<ul style="list-style-type: none"> <li>- pH al 10 %</li> <li>- Densidad aparente a 25 °C</li> <li>- Tamiz # 20</li> <li>- Tamiz # 40</li> <li>- Tamiz # 60</li> <li>- Tamiz # 100</li> <li>- Tamiz # 200</li> <li>- Tamiz # 325</li> <li>- % Humedad</li> <li>- % CaO</li> <li>- % MgO</li> <li>- % SiO<sub>2</sub></li> <li>- Granulometría &lt; 2 mm</li> <li>- Granulometría &gt; 2 y &lt;4 mm</li> <li>- Granulometría &gt; 2 y 4.76 mm</li> <li>- Granulometría &gt; 4 mm</li> <li>- Granulometría &gt; 4.76 mm</li> <li>- % Polvo</li> </ul>

Con la información tabulada se procedió a subirla al Onedrive y al Sharepoint de la empresa que es la manera que la empresa registra y guarda la información, con la finalidad que se encontrará la información disponible para las distintas áreas requeridas siendo estas; área de registros, área de calidad, área de control estadístico y área de atención al cliente.

La información que se obtuvieron de los índices de capacidad y desempeños son utilizados para:

- Hojas de seguridad
- Certificados de composición cualitativos y cuantitativos
- Certificados de análisis
- Dossier
- Fichas técnicas
- Consulta de un producto en específico

Con la información obtenida de las hojas de seguridad, certificados de composición cualitativos y cuantitativos y dossier son utilizados para la elaboración de registros a nivel nacional en el Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación (MAGA) o algún registro internacionalmente como en: El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Ecuador, California, entre otros.

La información es actualizada cada vez que se realiza un cambio en el producto, lo que hace cambios en los índices de capacidad y desempeño de los parámetros fisicoquímicos de los productos terminados y se vuelve a realizar todo el proceso antes mencionado, hasta llegar a subir la información al Onedrive y al Sharepoint, para poder ser utilizada para las distintas informaciones, el técnico de control estadístico tiene que notificar a las distintas áreas de registros, área de calidad, área de control estadístico y área de atención al cliente, que se realizó un cambio.

La información tabulada con resultados actualizados hace que los procesos sean más eficientes y con información exacta y actualizada. En total se tabularon 157 índices de capacidad y desempeño de productos terminados.

### **3.4.4 EVOLUCIÓN**

Se realizó la tabulación de información de índices de capacidad y desempeño con la necesidad de tener a la disposición de la información de los parámetros fisicoquímicos de los productos terminados. Con el fin de cuando se quiera realizar un certificado de análisis y certificados de composición química cualitativo y cuantitativo, para registro a nivel local en el Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación (MAGA) o algún registro internacionalmente como en: El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Ecuador, California, entre otros. Se pueda contar con esta información. Esta información también es indispensable para la elaboración de hojas de seguridad y fichas técnicas y certificados de control de calidad.

### **3.4.5 CONCLUSIONES**

1. Se elaboró estos índices de capacidad y desempeño, con la información obtenida a través del software Statgraphics Centurion 18, donde se calculó las variables de medición para los parámetros fisicoquímicos de los productos terminados.
2. La información obtenida fue tabulada y subida al onedrive y al sharepoint de la empresa, para poder tener la información disponible para cuando quiera ser requerida, para la realización de certificados, hojas de seguridad y fichas técnicas.

### **3.4.6 RECOMENDACIONES**

1. Actualizar la información de los índices de capacidad y desempeño, cada vez que se realice un cambio de materias primas por un cambio de proveedor, debido a que surgen cambios en los parámetros fisicoquímicos y esto puede alterar los datos y no dar resultados reales.
2. Realizar un formato que contenga únicamente la información necesaria, para no confundir a las personas con la información adicional que posee el formato anterior.

3.4.7 ANEXOS

**Análisis de Capacidad de Proceso (Individuales) - pH puro**

Datos/Variable: pH puro

Transformación: ninguna

Distribución: Normal  
 tamaño de muestra = 61  
 media = 6.29164  
 desv. est. = 0.26968

6.0 Límites Sigma  
 +3.0 sigma = 7.10068  
 media = 6.29164  
 -3.0 sigma = 5.4826

	Observados		Estimados	Defectos
Especificaciones	Fuera Especs.	Valor-Z	Fuera Especs.	Por Millón
LSE = 6.771	0.000000%	1.78	3.774144%	37741.44
LIE = 5.79	3.278689%	-1.86	3.143351%	31433.51
Total	3.278689%		<b>6.917494%</b>	<b>69174.94</b>

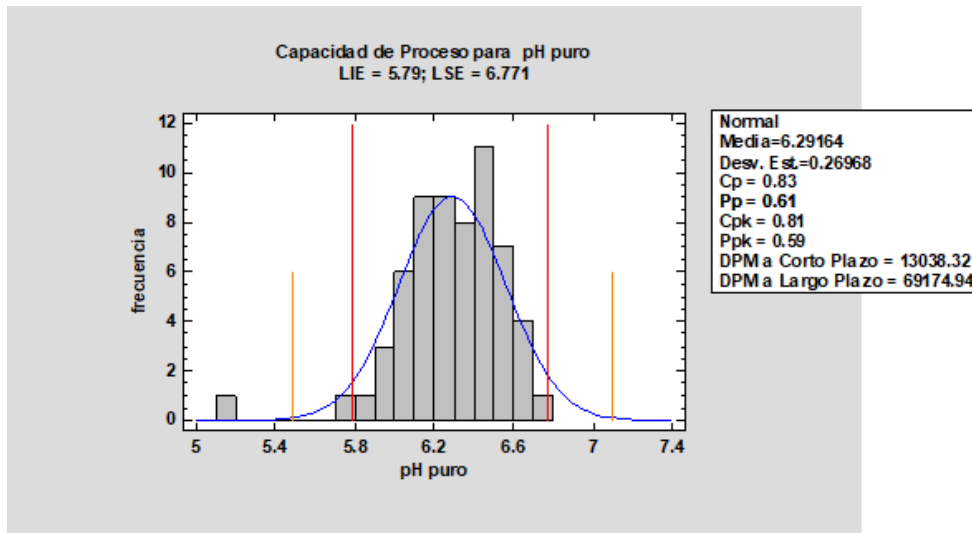
Para determinar si la distribución Normal es apropiada para estos datos, seleccione Pruebas de Bondad de Ajuste de la lista de Opciones Tabulares. Puede evaluar visualmente el ajuste seleccionando la Gráfica de Capacidad de la lista de Opciones Gráficas.

**índices de Capacidad para pH puro**

Especificaciones  
 LSE = 6.771  
 LIE = 5.79

Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 49A. Datos obtenidos de Statgraphics Centurion 18 para el parámetro pH puro de índices de capacidad y desempeño para un producto terminado.



Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 50A. Gráfica del parámetro pH puro de índices de capacidad y desempeño para un producto terminado.

ESPECIFICACIONES TECNICAS PARA PRODUCTOS TERMINADO										
Plan de muestreo por atributos				Plan de muestreo por variables						
Ensayos	Especificacion			ENSAYOS						
Apariencia				pH puro		pH al 10%		Densidad aparente		
Color										
Olor										
Se rechaza la idea que el ensayo proviene de una normal con una cofianza al 95%				No		No		No		
Desviacion estandar (s)				0.26968		0.483352		0.015935		
Capacidad/Desempeño				$\sigma$	0.197252	0.26968	0.319449	0.483352	0.0075591	0.015935
				Cp/Pp	0.82889	0.606274	0.820683	0.542393	0.621987	0.295052
				Cpk/Ppk	0.810066	0.592506	0.686424	0.453661	0.156226	0.074109
				DPM	13038.3	69174.9	21820.2	115913	320199	472840
+3 $\sigma$				7.10068		8.09322		1.18067		
$\mu$				6.29164		6.64317		1.13287		
-3 $\sigma$				5.4826		5.19311		1.08506		
Especificaciones				LSE	6.771		7.301		1.13641	
				LIE	5.79		5.728		1.1082	
<b>Intervalos de confianza del 95.0%</b>										
Indices de capacidad Cp (corto plazo)										
LI	LS	LI	LS	LI	LS	LI	LS			
0.680849	0.976647	0.672877	0.968204	0.5109	0.732862					
Indices de capacidad Cpk (corto plazo)										
LI	LS	LI	LS	LI	LS	LI	LS			
0.642722	0.977409	0.536581	0.836267	0.0680301	0.244422					
Indices de desempeño pp (Largo plazo)										
LI	LS	LI	LS	LI	LS	LI	LS			
0.497993	0.714348	0.444708	0.639891	0.242356	0.347648					
Indices de desempeño ppk (largo plazo)										
LI	LS	LI	LS	LI	LS	LI	LS			
0.457467	0.727545	0.336128	0.571194	-0.0105848	0.158803					
DPM (corto plazo)										
LI	LS	LI	LS	LI	LS	LI	LS			
2779.31	48427.2	6347.62	64757.3	231745	423437					
DPM (Largo plazo)										
LI	LS	LI	LS	LI	LS	LI	LS			
25925.8	159436	53513.7	227652	344210	632817					

Fuente: elaboración propia, 2020.

Figura 51A. Parámetros tabulados de índices de capacidad y desempeño para producto terminado.

### **3.5 SERVICIO 3. ANÁLISIS DE MANOS POR EL MÉTODO DE HISOPADO**

#### **3.5.1 OBJETIVOS**

##### **A. Objetivo general**

Realizar un análisis de manos por el método de hisopado para dos líneas de producción de productos biológicos con la finalidad de conocer la situación actual de los procesos de higiene de los trabajadores de estas dos líneas de producción.

##### **B. Objetivos específicos**

1. Describir el proceso del análisis de manos por el método del hisopado.
2. Caracterizar al personal para el análisis de manos.
3. Identificar si existen factores que pueden interferir en el cumplimiento del método del hisopado.

#### **3.5.2 METODOLOGÍA**

##### **A. Materiales y equipo**

1. Tubos de ensayo.
2. Hisopos.
3. Algodón.
4. Papel aluminio.
5. Hielera.
6. Autoclave.
7. Incubadora.
8. Medio de cultivo Cromogénico.


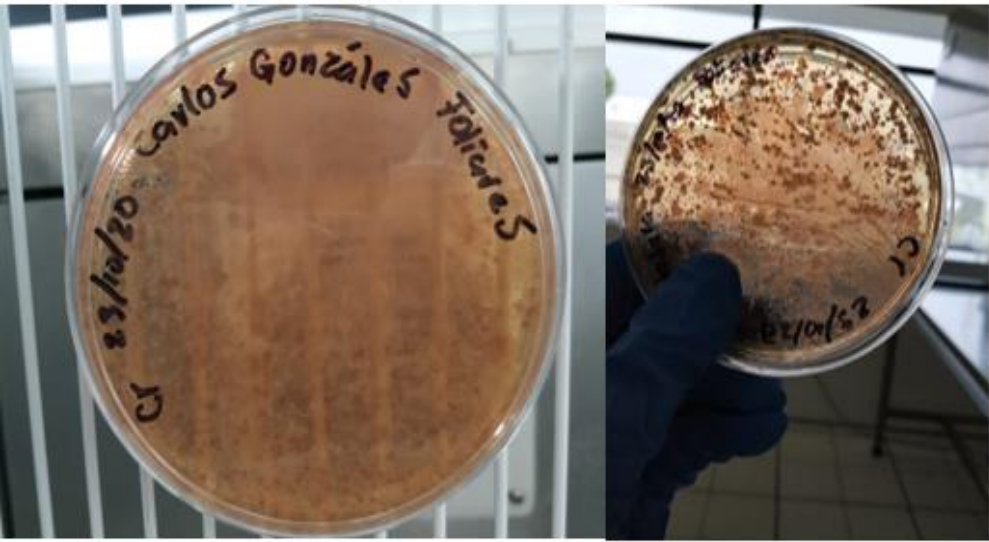
**B. Procedimiento**

1. En 5 tubos de ensayo agregar 9 ml de agua desmineralizada a cada tubo.
2. Tomar 5 hisopos y envolverlos en papel aluminio.
3. Los tubos y los hisopos se esterilizan en la autoclave, 20 PSI a 120 °C por 20 min.
4. Transcurrido el tiempo se espera que los materiales esterilizados estén fríos y se procede a guardarlos en una hielera.
5. Trasladar a las líneas de producción.
6. Se realiza un hisopado de la parte de enfrente y detrás de la mano y se procede a guardar el hisopo en un tubo de ensayo identificado. Se realiza este proceso con cada persona a analizar.
7. Los tubos de ensayo se guardan en la hielera y se trasladan al laboratorio.
8. Se realiza un aislamiento con los hisopos en un medio de cultivo CR.
9. Cajas Petri con el medio de cultivo CR se ingresan en la incubadora y se inoculan por 24 hr a 48 hr.
10. Transcurrido el tiempo las cajas Petri se observan en el estereoscopio y se procede a dar resultados.

### 3.5.3 RESULTADOS

Se realizó un análisis de manos con el método de hisopado a 5 trabajadores de las dos líneas de producción de productos biológicos, con la finalidad de conocer las buenas prácticas de bioseguridad dentro de cada línea de producción.

Cuadro 28. Resumen de resultados de análisis de manos por el método de hisopado de Carlos Gonzáles.

<p><b>Descripción:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Nombre: Carlos González.</li><li>- Línea: 7.</li><li>- Actividad: llenado de producto.</li></ul>
<p>Manos antes del análisis de manos por el método de hisopado.</p> 
<p>Resultados microbiológicos de análisis de manos por el método de hisopado.</p> 
<p>Presencia de <i>Coliformes fecales</i>.</p>

Cuadro 29. Resumen de resultados de análisis de manos por el método de hisopado de Axel Nájera.

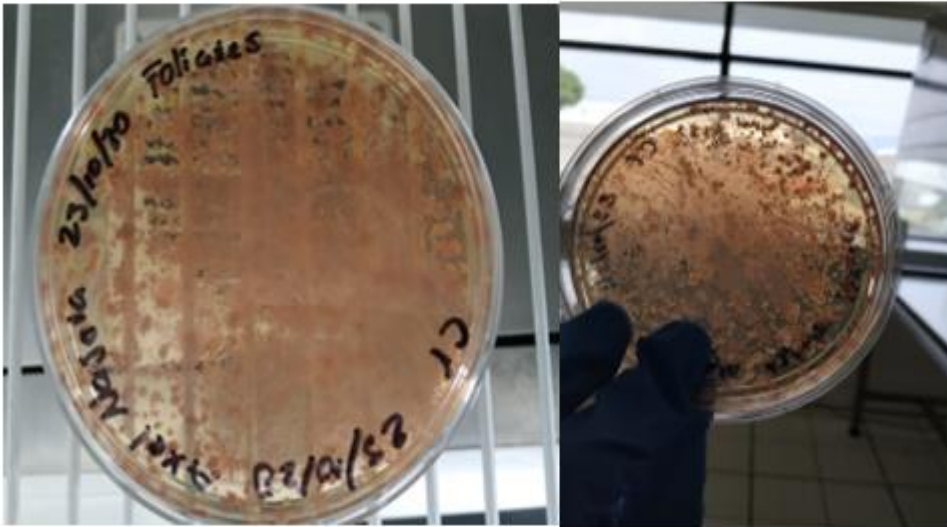
**Descripción:**

- Nombre: Axel Nájera.
- Línea: 7.
- Actividad: llenado de producto.

Manos antes del análisis de manos por el método de hisopado.



Resultados microbiológicos de análisis de manos por el método de hisopado.



Presencia de *Coliformes fecales*.

Cuadro 30. Resumen de resultados de análisis de manos por el método de hisopado de Hugo Gutiérrez.

<p><b>Descripción:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Nombre: Hugo Gutiérrez.</li><li>- Línea: 3.</li><li>- Actividad: colocación de productos en tarimas.</li></ul>
<p>Manos antes del análisis de manos por el método de hisopado.</p>

<p>Resultados microbiológicos de análisis de manos por el método de hisopado.</p>

<p>Presencia de <i>Coliformes fecales</i>.</p>

Cuadro 31. Resumen de resultados de análisis de manos por el método de hisopado de Santos Tecum.

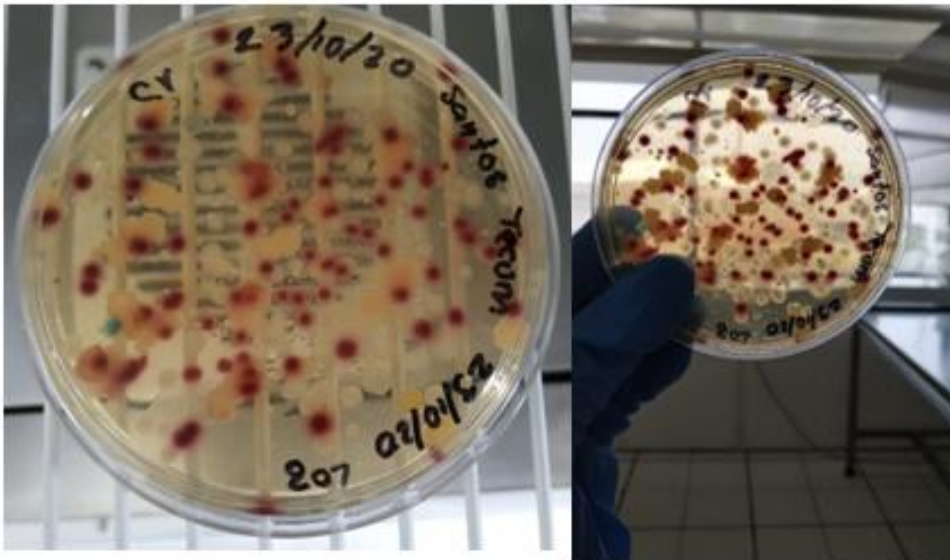
**Descripción:**

- Nombre: Santos Tecum.
- Línea: 3.
- Actividad: envasado de producto.

Manos antes del análisis de manos por el método de hisopado.



Resultados microbiológicos de análisis de manos por el método de hisopado.



Presencia de *Coliformes fecales*.

Cuadro 32. Resumen de resultados de análisis de manos por el método de hisopado de Aroldo Ical.

<p>Descripción:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Nombre: Aroldo Ical.</li><li>- Línea: 3.</li><li>- Actividad: Colocación de producto en tarimas.</li></ul>
<p>Manos antes del análisis de manos por el método de hisopado.</p>

<p>Resultados microbiológicos de análisis de manos por el método de hisopado.</p>

<p>Presencia de <i>Coliformes fecales</i>.</p>

El análisis de manos por el método de hisopado se realizó con la finalidad de encontrar los principales contaminantes en las manos en los trabajadores de las dos líneas de producción de productos biológicos, en los resultados obtenidos se encontraron *coliformes fecales*, estos son microorganismos patógenos, se encuentran de forma natural en el agua, suelo y forman parte de la flora intestinal de los seres humanos.

Los *coliformes fecales*, se encuentra principalmente en las heces y en las aguas residuales, los trabajadores de las dos líneas de producción de productos biológicos pudieron verse afectado al no tener un buen lavado de manos después de manipular algún materia o equipo de trabajo, no tener un cuidado al momento del lavado de manos antes y después de ir al sanitario o antes de ingerir alimentos una de las causas principales puede ser que el agua no está completamente libre de contaminantes.

Para poder evitarlos o inhibirlos dentro del área de producción se debe de implementar una limpieza y desinfección de mesas de trabajo, herramienta y equipo de protección individual, constantemente antes y después de la manipulación para poder evitar cualquier contaminante en sus manos y su equipo de protección.

Realizar una capacitación a los trabajadores de las dos líneas de producción de productos biológicos sobre las buenas prácticas de bioseguridad, principalmente sobre el buen uso del equipo de trabajo, equipo individual y sobre todo la técnica correcta de lavado de manos, como poder implementar carteles con los pasos del lavado de manos en los lavamanos para que tengan una guía de como poder hacerlo.

Un análisis de agua para las dos líneas de producción de productos biológicos, es ideal para conocer el estado actual del agua y sabe si existen algún contaminante que esté afectando y si es posible realizar un tratamiento de agua potable.

Estos procesos son indispensables realizarlos debido a que se debe de tener en cuenta la salud también de los trabajadores de poseer un espacio con todas las condiciones necesarias para poder trabajar

La salud de los trabajadores es importante tanto como la calidad de los productos que se venden a nivel nacional como internacional. Porque estos patógenos pertenecen en las manos de los trabajadores y estos se trasladan al producto final y este se puede ver afecto al momento de aplicarlo en el campo. Por lo cual es indispensable velar por la salud de los trabajadores y la calidad de producto que se venda.

### 3.5.4 EVALUACIÓN

Se planteó realizar un análisis de manos por el método de hisopado a un promedio de trabajadores de dos líneas de producción de productos biológicos, con el objetivo de obtener la información actual del manejo de las buenas prácticas dentro de las instalaciones de producción. Dicha información es útil para poder evaluar la situación actual de los trabajadores y buscar alternativas para poder mejorar, para tener un buen manejo de prácticas dentro de las instalaciones.

### 3.5.5 CONCLUSIÓN

1. Se realizó un análisis de manos por el método de hisopado a trabajadores, para saber si tenían un buen manejo de prácticas de bioseguridad, pero en los resultados como se pudo observar existía presencia de *Coliformes fecales*, lo que quiere decir que no existe un buen lavado de manos y prácticas de bioseguridad dentro de las instalaciones de producción. Debido a que los trabajadores comentaron que por ahorro de tiempo ellos lavan las manos con la misma agua que se utiliza para los productos o simplemente no hacen una rutina de lavado de manos, por lo que se necesita implementar un área específicamente para el lavado de manos para que exista un buen manejo de prácticas de bioseguridad.

### 3.5.6 RECOMENDACIONES

1. Implementar una mejor área de lavado de manos, incluyendo jabones, toallas limpias para poder secarse las manos. Principalmente realizar un análisis de agua, debido a que el agua puede estar contaminada o poseer residuos los cuales pueden provocar a los trabajadores enfermedades.
2. Implementar un registro en donde se incluyan, los días y los encargados para la realización de desinfección y limpieza de las mesas y equipo de protección individual.
3. Dar capacitaciones de manejo de buenas prácticas de manufactura en higiene y bioseguridad a los trabajadores de producción para poder tener un mejor resultado para ellos en su salud.

### 3.5.7 BIBLIOGRAFÍA

1. Esaú López Jácome, L; Hernández Durán, M; Colín Castro, CA; Ortega Peña, S; Cerón González, G; Franco Cendejas, R. 2014. Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología (en línea). s.l., Artículo de revisión, vol.3. Disponible en [www.medigraphic.org.mx](http://www.medigraphic.org.mx)
2. Pedrique, M. 2002. Dertminación de la sensibilidad de las bacterias a los antibioticos (Antibiograma) (en línea). s.l., Práctica de laboratorio. 9 p. Disponible en [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedraMicro/10\\_Antibiograma.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_Antibiograma.pdf).
3. Zúñiga, AT. 2012. MÓDULO PRÁCTICO TÉCNICAS DE LABORATORIO (en línea) s.l., Universidad Nacional Agraria, Facultad de Agronomía. p. 59. Disponible en <http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/handle/11554/8048>.





UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA -FAUSAC-  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS  
Y AMBIENTALES -IIA-



REF. Sem. 70/2021

EL TRABAJO DE GRADUACIÓN TITULADO: "EVALUACIÓN DE SUSTRATOS SÓLIDOS PARA LA PROPAGACIÓN MASIVA DE *Beauveria bassiana* EN EXPORTADORA ENLASA, S.A., VILLA NUEVA, GUATEMALA, C.A."

DESARROLLADO POR EL ESTUDIANTE: EMELI ANDREA RAMÍREZ FLORES

CARNÉ: 201513605

HA SIDO EVALUADO POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Álvaro Hernández Dávila  
Ing. Agr. Gustavo Adolfo Álvarez Valenzuela  
Dra. Ligia Maribel Monterroso

Los Asesores y la Dirección del Instituto de Investigaciones Agronómicas y Ambientales de la Facultad de Agronomía, hace constar que ha cumplido con las Normas Universitarias y el Reglamento de este Instituto. En tal sentido pase a la Dirección del Área Integrada para lo procedente.

Ing. Agr. Gustavo Adolfo Álvarez Valenzuela  
ASESOR ESPECÍFICO

Dra. Ligia Maribel Monterroso  
DOCENTE - ASESOR EPS

Ing. Agr. Carlos Fernando López Buitrago  
DIRECTOR DEL INSTITUTO



CFLB/nm  
c.c. Archivo



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA

*Acreditada Internacionalmente*



No. 06.2022

Trabajo de Graduación: "EVALUACIÓN DE SUSTRATOS SÓLIDOS PARA LA PROPAGACIÓN MASIVA DE *Beauveria bassiana*, DIAGNÓSTICO Y SERVICIOS REALIZADOS EN EXPORTADORA ENLASA, S. A., VILLA NUEVA, GUATEMALA, C.A."

Estudiante: Emeli Andrea Ramírez Flores

Carné: 201513605

"IMPRÍMASE"

Ing. Agr. Waldemar Nufio Reyes  
DECANO

