



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo
Integral Regional Unidad Oaxaca

Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de
Recursos Naturales

Protección y Producción Vegetal

Diseño de una cosechadora de esporas de hongos
entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*

TESIS

Que para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias

Presenta:

Ing. Alejo Díaz Ramos

Director de tesis:

Dr. Jaime Ruiz Vega

Dr. Fidel Diego Nava

Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca

Agosto 2020



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS

Ciudad de México, 20 de julio del 2020

El Colegio de Profesores de Posgrado de CIIDIR-OAXACA en su Sesión (Unidad Académica)

ORDINARIA No. 5 celebrada el día 14 del mes MAYO de 2018 conoció la solicitud presentada por el (la) alumno (a):

Apellido Paterno:	Alejo	Apellido Materno:	Díaz	Nombre (s):	Ramos
-------------------	-------	-------------------	------	-------------	-------

Número de registro: A 1 8 0 1 7 7

del Programa Académico de Posgrado: Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales

Referente al registro de su tema de tesis; acordando lo siguiente:

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:

Diseño de una cosechadora de esporas de hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*

Objetivo general del trabajo de tesis:

Diseñar una máquina cosechadora de esporas de los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* para la separación de esporas de los sustratos sólidos arroz y maíz quebrado mediante un tamiz en condiciones de hermeticidad

2.- Se designa como Directores de Tesis a los profesores:

Director: Dr. Jaime Ruiz Vega 2° Director: Dr. Fidel Diego Nava

No aplica:

3.- El Trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:

CIIDIR- OAXACA

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente, hasta la aprobación de la versión completa de la tesis por parte de la Comisión Revisora correspondiente.

Director(a) de Tesis

2° Director de Tesis (en su caso)

Dr. Jaime Ruiz Vega

Dr. Fidel Diego Nava

Aspirante

Presidente del Colegio

Alejo Díaz Ramos

Dr. Salvador I. Belmonte Jiménez



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de siendo las horas del día del mes de del se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio del para examinar la tesis titulada:

del (la) alumno (a):

Apellido Paterno:	Díaz	Apellido Materno:	Ramos	Nombre (s):	Alejo
--------------------------	------	--------------------------	-------	--------------------	-------

Número de registro:

Aspirante del Programa Académico de Posgrado:

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el trabajo de tesis tiene 6% de similitud. **Se adjunta reporte de software utilizado.**

Después que esta Comisión revisó exhaustivamente el contenido, estructura, intención y ubicación de los textos de la tesis identificados como coincidentes con otros documentos, concluyó que en el presente trabajo **SI** **NO** **SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.**

JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN: El % de similitud se localiza en metodologías adecuadamente referidas a fuente original

****Es responsabilidad del alumno como autor de la tesis la verificación antiplagio, y del Director o Directores de tesis el análisis del % de similitud para establecer el riesgo o la existencia de un posible plagio.**

Finalmente, y posterior a la lectura, revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR** **SUSPENDER** **NO APROBAR** la tesis por **UNANIMIDAD** o **MAYORÍA** en virtud de los motivos siguientes: La tesis cumple con los requisitos de formato, metodología científica y de aportar conclusiones objetivas.

COMISIÓN REVISORA DE TESIS

Dr. Jaime Ruiz Vega
Director de Tesis
Nombre completo y firma

Dr. Teodulfo Aquino Bolaños
Nombre completo y firma

Dr. José Rodolfo Martínez y Cárdenas
Nombre completo y firma

Dr. Fidel Diego Nava
2° Director de Tesis
Nombre completo y firma

Dr. Alfonso Vásquez López
Nombre completo y firma

Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez
Nombre completo y firma
PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez el día 29 del mes de julio el año 2020, el (la) que suscribe Alejo Díaz Ramos alumno(a) del Programa de Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales con número de registro A180177, adscrito a Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Jaime Ruiz Vega y Dr. Fidel Diego Nava y cede los derechos del trabajo titulado: “Diseño de una cosechadora de esporas para los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*” al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección alejo.d.r@live.com.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Alejo Díaz Ramos

Nombre y firma

RESUMEN

Las esporas de los hongos entomopatógenos reproducidos en sustratos sólidos como el arroz necesitan ser separadas y recolectadas para poder utilizarlas como bioplaguicidas. Los métodos utilizados en la separación tienen baja eficiencia y representan un problema de salud para el operador. Ya que a nivel nacional no se cuenta con el equipo especializado para cosechar esporas y se recurre a adquirir máquinas importadas, el objetivo de este proyecto fue desarrollar una máquina cosechadora de esporas mediante el método de diseño en ingeniería mecánica para implementar un nuevo método de separación entre el hongo y su medio de cultivo sólido de manera segura, eficiente y baja huella de carbono comparado con los métodos basados en la utilización de máquinas importadas. El diseño se basó en las propiedades de las esporas como tamaño y densidad y para una capacidad de producción de 5 kg de sustrato por carga. Para comprobar la eficiencia de la máquina diseñada, se realizaron pruebas de funcionamiento con los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*, sembrados en arroz y maíz quebrado. Se obtuvo la producción media de g de esporas cosechadas por kg para cada combinación de hongo y sustrato y se les realizó una prueba de t de Student. Se realizó una prueba Tukey para determinar el hongo y el sustrato más eficientes en la obtención de esporas con la nueva cosechadora. La combinación del hongo *Metarhizium anisopliae* y arroz obtuvieron la mayor producción de esporas. El rendimiento fue de 54 g de esporas por kg de arroz procesado con una concentración de 1.8×10^{11} esporas mL⁻¹.

ÍNDICE

Sección	Página
LISTA DE CUADROS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1 Objetivo general.....	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
3. HIPÓTESIS.....	4
4. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
4.1 Hongos entomopatógenos como bioplaguicidas.....	5
4.1.1 <i>Metarhizium anisopliae</i>	5
4.1.2 <i>Beauveria bassiana</i>	6
4.1.3 Métodos de cosecha de hongos entomopatógenos.....	6
4.1.4 Rendimiento de los sustratos empleados en la producción de bioplaguicidas.....	9
4.1.5 Riesgos en el manejo de hongos entomopatógenos.....	9
4.2 Tamizado.....	10
5. DISEÑO DE LA COSECHADORA DE ESPORAS.....	12
5.1 Metodología del diseño en ingeniería de Haik y Shahin (2011).....	12
5.1.1 Conceptualización, generación de planos y evaluación del Concepto.....	14
5.2 Diseño conceptual de la cosechadora de esporas.....	16
5.2.1 Carta morfológica.....	19
5.2.2 Evaluación de las alternativas.....	20
5.2.3 Generación de conceptos.....	21
5.2.4 Evaluación y selección del concepto.....	23
5.2.5 Descripción del concepto.....	24

5.3 Diseño detallado.....	24
5.3.1 Definición de geometrías y materiales.....	26
5.4 Procedimiento detallado de fabricación.....	27
5.4.1 Diagrama de proceso.....	27
5.4.2 Fabricación de la cosechadora de esporas.....	29
5.4.3 Máquinas y herramientas utilizadas en la fabricación.....	31
5.5 Cálculo de costos de fabricación.....	32
6. METODOLOGÍA DE LAS PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO Y VIABILIDAD DE LAS ESPORAS.....	34
6.1 Reproducción masiva de los hongos entomopatógenos.....	34
6.2 Pruebas de funcionamiento de la cosechadora.....	38
6.3 Pruebas de control de calidad.....	39
6.3.1 Conteo de esporas.....	39
6.3.2 Conteo de unidades formadoras de colonias UFC.....	40
6.4 Prueba de hipótesis.....	41
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
7.1 Cosechadora de esporas.....	43
7.2 Reproducción del hongo <i>Metarhizium anisopliae</i> en maíz y arroz.....	47
7.3 Unidades formadoras de colonias de las esporas cosechadas.....	51
8. CONCLUSIONES.....	57
9. RECOMENDACIONES.....	58
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
11. ANEXOS.....	63

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Estructura básica del esquema de clasificación con subfunciones y las posibles soluciones.....	15
2	Estructura de una matriz de decisiones para la evaluación de las opciones o alternativas para cada función secundaria.....	16
3	Carta morfológica de diseño.....	19
4	Evaluación de la función alimentar.....	20
5	Evaluación de la función tamizar.....	20
6	Evaluación de la función hermetizar de la función colectar.....	21
7	Evaluación de la función colectar.....	21
8	Generación de los conceptos de diseño.....	22
9	Evaluación de conceptos.....	24
10	Costos de materiales de fabricación adquiridos en noviembre del 2018.....	33
11	Producción de esporas obtenidas de las pruebas de funcionamiento	47
12	Prueba de hipótesis con el estadístico t.....	49

13	Unidades formadoras de colonias de los hongos <i>Metarhizium anisopliae</i> y <i>Beauveria bassiana</i>	55
----	---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Esporas del hongo <i>Metarhizium anisopliae</i>	5
2	Esporas del hongo <i>Beauveria Bassiana</i> (Cañedo y Ames, 2004)...	6
3	Separación de esporas con tamices manuales.....	7
4	Tamices vibratorios de laboratorio.....	7
5	Mezclador de concreto eléctrico.....	8
6	Cosechadora de esporas Mycoharvester.....	9
7	Parámetros principales de una malla de tamiz.....	10
8	Influencia de la forma de las partículas en el tamizado.....	11
9	Proceso general del diseño en ingeniería.....	12
10	Función principal de un producto.....	13
11	Funciones secundarias.....	14

12	Modelo en 3D del concepto 1.....	22
13	Modelo en 3D del concepto 2.....	23
14	Diagrama de proceso de fabricación.....	28
15	Fabricación de los tamices.....	29
16	Tamices rotatorios.....	29
17	Cámara de separación de la cosechadora.....	30
18	Cosechadora de esporas ensamblada.....	30
19	Tamiz con malla ASTM-40.....	31
20	<i>Beauveria bassiana</i> a los 15 días de la siembra en cajas Petri.....	34
21	Bolsas con 200 g de arroz y maíz quebrado.....	35
22	Inoculación de <i>Metarhizium anisopliae</i> en las bolsas de arroz y maíz quebrado.....	35
23	Bolsas de arroz y maíz quebrado inoculados con <i>Beauveria bassiana</i>	36
24	Secado del maíz quebrado y el arroz inoculados con <i>Metarhizium anisopliae</i>	36

25	Secado del maíz quebrado y el arroz inoculados con <i>Beauveria bassiana</i>	37
26	Secado en estufa a 30° C del maíz quebrado inoculado con <i>Beauveria bassiana</i>	37
27	Cosechadora de esporas con una carga de <i>Metarhizium anisopliae</i> inoculado en arroz.....	38
28	Carga de <i>Beauveria bassiana</i> inoculado en maíz quebrado.....	39
29	Preparación de la suspensión para el conteo de esporas.....	39
30	Cámara de conteo Neubauer.....	40
31	Conteo de unidades formadoras de colonias.....	41
32	Modelo en 3D de la cosechadora de esporas.....	43
33	Partes de la cosechadora de esporas.....	44
34	Partes del tamiz la cosechadora de esporas.....	45
35	Vista frontal de la cosechadora de esporas.....	46
36	Cosechadora de esporas.....	47
37	Gráfica de cosecha de esporas.....	47
38	Esporas de <i>Metarhizium anisopliae</i> cosechadas de maíz quebrado...	48
39	Esporas de <i>Metarhizium anisopliae</i> cosechadas de arroz.....	49

40	Esporas de <i>Beauveria bassiana</i> cosechadas de maíz quebrado.....	50
41	Esporas de <i>Beauveria bassiana</i> cosechadas de arroz.....	50
42	Cajas Petri inoculadas con las diluciones del hongo <i>Metarhizium anisopliae</i>	52
43	Cajas Petri inoculadas con las diluciones del hongo <i>Beauveria bassiana</i>	52
44	Colonias germinadas de <i>Metarhizium anisopliae</i> sembrado en maíz.	53
45	Colonias germinadas de <i>Metarhizium anisopliae</i> sembrado en arroz.	53
46	Colonias germinadas de <i>Beauveria bassiana</i> sembrado en arroz.....	54
47	Colonias germinadas de <i>Beauveria bassiana</i> sembrado en maíz.....	54
48	Hongo <i>Metarhizium anisopliae</i> cosechado de maíz quebrado.....	55
49	Hongo <i>Beauveria bassiana</i> cosechado de maíz quebrado.....	56
50	Hongo <i>Beauveria bassiana</i> cosechado de maíz quebrado.....	56

1. INTRODUCCIÓN

La revolución verde aumentó de manera significativa el uso de plaguicidas sintéticos, que si bien, provocaron un crecimiento en la producción agrícola, su uso indiscriminado produjo contaminación en el aire, suelo y agua (Sharma y Singhvi, 2017). Debido a este problema, se han buscado métodos alternativos para el control de plagas agrícolas.

Chandler et al. (2011) documentaron que el uso de bioplaguicidas como agente de control de plagas reduce en un 75% el uso de plaguicidas químicos y aumenta la producción en un 40%. Los bioplaguicidas son fabricados a base de agentes entomopatógenos como hongos, bacterias o nemátodos (Glare et al., 2012). Para el caso de los hongos, al realizar las formulaciones es necesario primero producir las esporas. Una forma de reproducción es mediante la inoculación del hongo en un sustrato sólido. Dos de las especies de hongos entomopatógenos más estudiadas como agentes de control biológico son *Metarhizium anisopliae* Metchnikof y *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin (Gandarilla et al., 2012) y entre los sustratos sólidos más usados en su reproducción se encuentran el arroz y el maíz (Krishna, 2008).

El paso posterior a la inoculación del hongo es la cosecha de esporas. El objetivo de este paso es coleccionar la mayor cantidad de esporas contenidas en el sustrato (Jenkins et al., 1998). Hasta hace 2 décadas no existía un equipo adecuado que realizara el proceso de cosecha de esporas y se realizaba mediante tamices manuales y vibratorios, pero presentaban problemas como una deficiente separación de las esporas del sustrato y pérdidas considerables por dispersión en el ambiente. Este bajo rendimiento en la obtención de las esporas aumenta el costo final del bioplaguicida.

En la actualidad la única cosechadora de esporas en el mercado es Mycoharvester, una máquina desarrollada y comercializada por la organización CABI (Bateman, 2017), con la que se obtiene aproximadamente el doble de esporas por kg de material procesado en comparación con el obtenido por los métodos de tamizado manual y vibratorio (Elósegui et al., 2009), lo cual representa una mayor eficiencia en el proceso de separación de las esporas, pero su alto costo dificulta la adquisición del equipo.

Por lo tanto, el presente trabajo consistió en el diseño y fabricación de una cosechadora de esporas para los hongos entomopatógenos *M. anisopliae* y *B. bassiana*. Una vez fabricada la máquina, se inocularon los hongos en maíz quebrado y arroz y se realizaron las pruebas de funcionamiento para determinar los gramos de polvo de esporas que entrega la máquina con cada hongo y sustrato. Finalmente, mediante un conteo en una cámara Neubauer se estimó la cantidad de esporas por gramo de polvo cosechado y se realizó una prueba de viabilidad para corroborar que el material obtenido de la cosechadora contenía esporas con porcentajes de germinación altos para garantizar su efectividad como agente de control biológico.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Diseñar una máquina cosechadora de esporas de los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* para la separación de esporas de los sustratos sólidos arroz y maíz quebrado mediante un tamiz en condiciones de hermeticidad.

2.2 Objetivos específicos

- Obtener el diseño conceptual de la máquina cosechadora de esporas mediante el método de diseño para su materialización con máquinas convencionales de taller.
- Fabricar el prototipo de la máquina en el Taller de Ingeniería y Tecnologías Adecuadas del CIIDIR Oaxaca mediante la utilización de máquinas sencillas convencionales para la obtención de un equipo sencillo y funcional.
- Evaluar el funcionamiento de la cosechadora mediante pruebas con los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* sembrados en arroz y maíz quebrado para la detección de fallas y defectos del equipo.
- Evaluar la viabilidad en condiciones de laboratorio de las esporas de hongos cosechadas mediante el conteo de unidades formadoras de colonias para la medición de la sobrevivencia de las esporas.

3. HIPÓTESIS

Ho: La cosechadora de esporas diseñada presentará un rendimiento medio igual o menor a 31.50 g por kg de sustrato procesado

Ho: La cosechadora de esporas diseñada presentará un rendimiento medio mayor a 31.50 g por kg de sustrato procesado

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Hongos entomopatógenos como bioplaguicidas

Los bioplaguicidas son eficaces en el control de plagas agrícolas, sin causar daños graves al ambiente o empeorar la contaminación de este (Nava et al., 2012). Algunos son elaborados a base de hongos entomopatógenos, cuya función es regular la densidad de plagas a un nivel que no causen daño económico al productor (Mota y Murcia, 2011).

Los métodos de producción de estos hongos varían, muchos están basados en fermentaciones sobre sustrato sólido con granos de cereales donde el arroz es el más común.

4.1.1 *Metarhizium anisopliae*

El *M. anisopliae* es un hongo entomopatógeno usado para el control biológico de insectos, pertenece la división Ascomycota, a la clase Sordariomycetes, orden Hypocreales y a la familia Clavicipitaceae (Roy et al., 2006). Las esporas de este hongo son unicelulares, cilíndricas y truncadas, formadas en cadenas muy largas, hialinas a verde oliváceo (Figura 1). Miden 3.5 a 9 μ de longitud x 1.5 a 3.5 μ de diámetro (Cañedo y Ames, 2004).

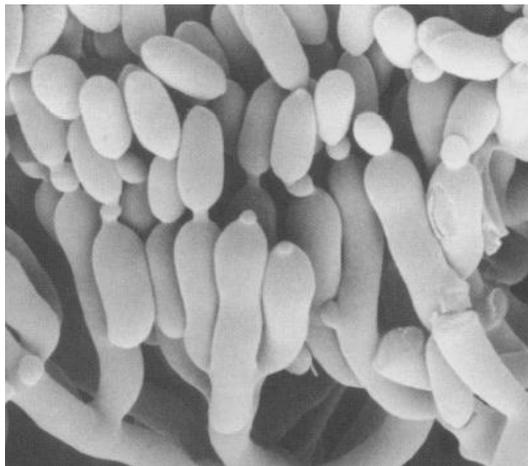


Figura 1. Esporas del hongo *Metarhizium anisopliae* (Glare et al., 1996).

4.1.2 *Beauveria bassiana*

Es un hongo entomopatógeno capaz de parasitar más de 700 especies de insectos, pertenece la división Ascomycota, a la clase Sordariomycetes, orden Hypocreales y familia Cordycipitaceae (Imoulan et al., 2017). *B. bassiana* (Figura 2), se caracteriza por presentar células conidiógenas globosas a sub-globosas (2-3 x 2.0-2.5 μm) con un cuello muy corto, las estructuras conidiógenas forman grandes grupos, conidióforos apiñados formando sinnemas o grupos de conidióforos muy juntos, las conidias son hialinas y lisas, globosas elipsoidales y raquis en forma de zíg-zag (Castillo et al., 2012).



Figura 2. Esporas del hongo *Beauveria Bassiana* (Cañedo y Ames, 2004).

4.1.3 Métodos de cosecha de hongos entomopatógenos

En la producción de bioplaguicidas a base de hongos entomopatógenos la separación de las esporas de su sustrato sólido se ha realizado de diferentes maneras, sin embargo, al no existir un equipo diseñado especialmente para realizar dicha tarea, el proceso resulta ineficiente, lo cual se traduce en pérdidas económicas.

Una forma de realizar la separación de las esporas es por medio de tamices manuales (Figura 3). Este método es de bajo costo y para pequeña producción, su desventaja es que se pierde hasta el 50% de material por dispersión en el ambiente y al mismo tiempo representa un peligro para el operador al estar en contacto directo con las esporas.

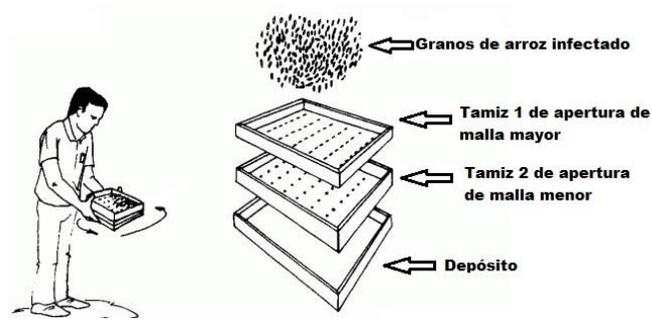


Figura 3. Separación de esporas con tamices manuales.

La separación por tamiz vibratorio es otro método en donde se apilan 2 o tres tamices de diferentes tamaños de apertura sobre un depósito (Figura 4). Los tamices son montados sobre un aparato vibratorio y el tiempo de separación es de 25-30 minutos. La desventaja de este método es su baja producción, las mallas de los tamices se saturan de material y se bloquean, lo que impide la separación adecuada de las esporas y el sustrato; además, es necesario el uso de cinta aislante en las uniones entre tamices para evitar la pérdida de las esporas por dispersión. Por lo que este método presenta baja eficiencia y es muy laborioso.



Figura 4. Tamices vibratorios de laboratorio.

Otro método para cosecha de esporas en mediana escala es el desarrollado por Dan Johnson, University of Lethbridge, Alberta Canadá y consiste en un mezclador para concreto acondicionado con una tapa de acrílico sujeta al mezclador por medio de imanes (Figura 5). Su modo de funcionamiento consiste que al rotar el mezclador las esporas se separan del arroz y forman una nube en el interior la cual es succionada por una aspiradora, de este modo las esporas quedan depositadas en el filtro de la aspiradora. Este método es adecuado para la producción a mediana escala sin embargo resulta muy laborioso descontaminar la aspiradora después de realizar la cosecha de esporas, por lo que es necesaria una aspiradora para cada cepa de hongos (Jaronski, 2014).



Figura 5. Mezclador de concreto eléctrico.

Una máquina más sofisticada es el Mycoharvester que consiste en una cosechadora de esporas de hongos que trabaja mediante un lecho fluidizado, es lavable, fácil de limpiar y de descontaminar (Figura 6). De esta cosechadora existen en el mercado versiones desde pequeña hasta gran escala, una desventaja es el precio ya que la versión de pequeña producción tiene un costo de 6367 libras esterlinas. Otra desventaja es que para funcionar correctamente el sustrato antes de la cosecha debe tener 5% o menos de humedad (Bateman, 2017).



Figura 6. Cosechadora de esporas Mycoharvester.

4.1.4 Rendimiento de sustratos empleados en la producción de bioplaguicidas

Diversos artículos mencionan que el arroz es el grano que mayor rendimiento presenta en la producción de bioplaguicidas con los hongos entomopatógenos *M. anisopliae* y *B. bassiana* por medio de fermentación sólida.

Karanja et al., (2010) encontraron que para *M. anisopliae* los sustratos más eficientes para la producción de esporas son el arroz y el maíz quebrado con una producción en promedio de 28.80 y 14.72 g por cada kg de sustrato respectivamente, mientras que para *B. bassiana* el sustrato más eficiente fue el arroz con una producción en promedio de 29.52 g de esporas por cada kg de sustrato. Mediante lecho fluidizado y ciclón dual con el uso del Mycoharvester se obtuvo en promedio 31.5 g de esporas por cada kg de sustrato procesado (Jaronski, 2014).

4.1.5 Riesgos en el manejo de hongos entomopatógenos

Está comprobado que los plaguicidas químicos afectan la salud de las personas, sin embargo, una mala manipulación de los hongos entomopatógenos también puede provocar daños a la salud. Labarrete et al., (2014) relacionaron la aparición o el

agravamiento de diferentes enfermedades alérgicas y respiratorias con la exposición a altas concentraciones de esporas durante el proceso de producción de los bioplaguicidas a base de hongos.

4.2 Tamizado

El tamizado es un método de separación de partículas que se basa en la diferencia de tamaño de las partículas. Las mallas de los tamices consisten en alambres tejidos y sus parámetros principales son el diámetro del alambre, tamaño de abertura y el número de hilos por pulgada (Figura 7). Los tamices se agrupan según normas. La serie ASTM gruesa tiene 22 tamices desde 107.69 mm hasta 6.35 mm mientras que la serie ASTM fina tiene 30 tamices desde 5.66 mm hasta 0.37 mm. Las aberturas en estas series descienden según la razón $\sqrt[4]{2}$. Como esta relación es muy pequeña, resultan demasiados tamices y demasiado próximas sus aberturas para trabajos que no requieren separaciones muy agudas. También se utiliza la serie Tyler basada en el número de mallas por pulgada. Así, un tamiz de 200 mallas corresponde a 200 mallas/pulgada con una luz de malla de 0,074 cm. La abertura depende del grosor de hilo. La relación de un tamiz al siguiente de la serie es de 1,41 ($\sqrt{2}$) veces la luz de malla, aunque pueden existir tamices intermedios.

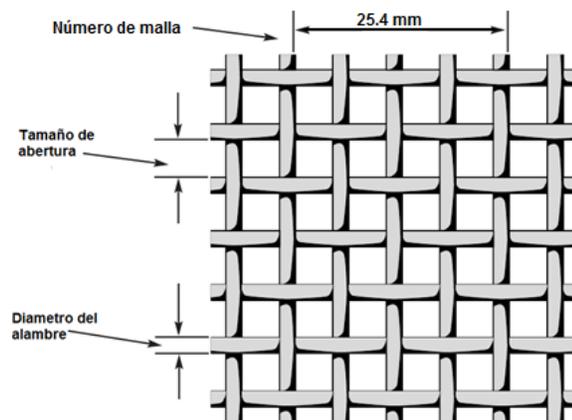


Figura 7. Parámetros principales de una malla de tamiz.

Al colocar sobre un tamiz una sustancia constituida por granos de distinto tamaño y proceder a su tamizado, deben quedar sobre aquél todas las partículas de tamaño mayor que la abertura del tamiz, y pasar por éste todos los que tienen tamaño más pequeño.

Hay situaciones que impiden la separación adecuada de las partículas en el tamizado, quedan retenidas una parte de las partículas finas con las partículas gruesas que constituyen el rechazo del tamiz, y pasan también una cierta cantidad de partículas gruesa a formar parte del producto fino o cernido. Esto último se debe, casi siempre, a irregularidades de la superficie tamizadora, bien porque el tejido esté mal construido, o porque se sitúen entre las mallas algunas partículas de forma irregular y de tamaño muy próximo al de la abertura de la malla, y que por la presión y rozamiento de las que se mueven sobre de ellas originan corrimientos de los hilos que dilatan las mallas y, por tanto, aumentan el tamaño de abertura (Figura 8). Lo más frecuente es que sean las partículas finas los que no pasen totalmente y queden en el rechazo del tamiz.

Las causas de esto son varias:

- Si el producto está húmedo, se aglomeran las partículas finas y se comportan como gruesas, por lo que no pasan en el tamiz
- El frotamiento electriza a las partículas pulverulentas y provoca también su adherencia
- Tiempo de tamizado insuficiente

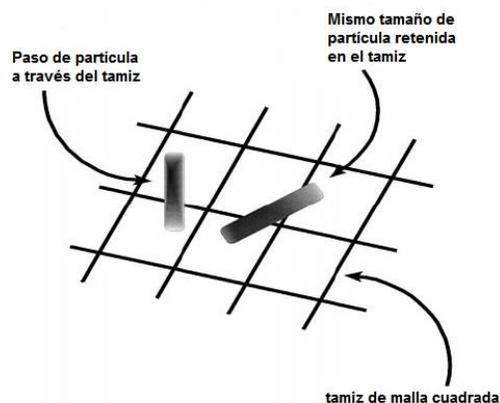


Figura 8. Influencia de la forma de las partículas en el tamizado.

5. DISEÑO DE LA COSECHADORA DE ESPORAS

Existen varios métodos para realizar el diseño de una máquina, mecanismo o producto, en general el proceso de diseño sigue los pasos como se ilustra en la Figura 9 (Budynas y Keith, 2015). El proceso de diseño es iterativo, se evalúa al finalizar cada paso para corroborar que se están realizando las acciones adecuadas para obtener el prototipo de la máquina con las características requeridas.



Figura 9. Proceso general del diseño en ingeniería.

5.1 Metodología del diseño en ingeniería de Haik y Shahin (2018)

Para el diseño de la cosechadora de esporas se usó el método de diseño de Haik y Shain (2018), el cual identifica las funciones principales y secundarias del producto a diseñar, propone alternativas para satisfacer cada función, genera conceptos de diseño, evalúa los conceptos y finalmente se genera el diseño a detalle.

Definición y reconocimiento del problema. En este paso se analiza e identifica el problema existente y al cual se le dará solución con el diseño de la maquinaria o mecanismo.

Análisis de mercado. Una vez identificado el problema, se hace una investigación exhaustiva con el fin de localizar alguna máquina en el mercado que pueda satisfacer las necesidades y solucionar el problema, de no ser así, se procede a diseñar la máquina.

Requerimientos del usuario. Los requerimientos del usuario son las características que se necesita tenga el producto diseñado. Dichas características o requerimientos son dados por el usuario o cliente de manera desordenada y en palabras coloquiales. Es trabajo del diseñador ordenarlas, priorizarlas y generar las especificaciones técnicas que tendrá la máquina diseñada.

Especificaciones. En este punto los requerimientos del usuario son ordenados por el diseñador, se les asigna una métrica y un valor, es decir, se convierten los “deseos del usuario” en especificaciones técnicas. Durante todo el proceso de diseño, el diseñador o diseñadores deberán verificar que las especificaciones sean cumplidas.

Funciones. Los requisitos del usuario son las actividades que describen lo que el producto deberá hacer. Las funciones son las acciones de ingeniería que el producto va a realizar. La función principal es la acción general que el producto realizará, también se le define como la relación entre las entradas y las salidas de un sistema (Figura 10).

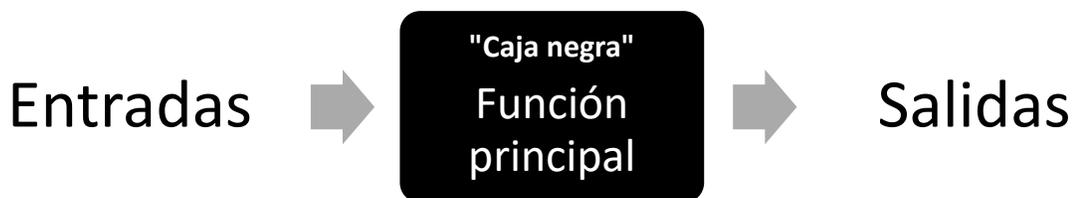


Figura 10. Función principal de un producto.

Las funciones secundarias o subfunciones son las acciones individuales que se realizarán en el producto para poder lograr la función principal (Figura 11).

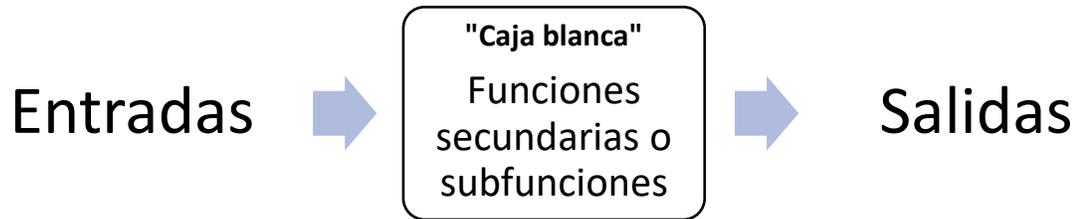


Figura 11. Funciones secundarias

5.1.1 Conceptualización, generación de planos y evaluación del concepto

Conceptualización. Una vez enlistadas las funciones se procede a identificar los principios en los que trabaja cada una de las funciones o subfunciones. Un principio de funcionamiento se refiere al efecto físico necesario para lograr la función dada. Cada función o subfunción se puede lograr de varias maneras. Una forma útil para ordenar las opciones o alternativas a cada función es mediante el uso de la carta morfológica. En el Cuadro 1 se muestra el esquema general de una carta morfológica de diseño, en la columna de la izquierda se muestran cada una de las subfunciones del producto y todas las posibles soluciones en las filas correspondientes.

Cuadro 1. Estructura básica del esquema de clasificación con subfunciones y las posibles soluciones.

		Opciones					
		Op ₁	Op ₂	...	Op _j	...	Op _m
Subfunciones							
	1	F ₁	Op ₁₁	Op ₁₂		Op _{1j}	
2	F ₂	Op ₂₁	Op ₂₂		Op _{2j}		Op _{2m}
...							
<i>i</i>	F _{<i>i</i>}	Op _{<i>i</i>1}	Op _{<i>i</i>2}		Op _{<i>i</i>j}		Op _{<i>i</i>m}
...							
<i>n</i>	F _{<i>n</i>}	Op _{<i>n</i>1}	Op _{<i>n</i>2}		Op _{<i>n</i>j}		Op _{<i>n</i>m}

F = subfunciones o funciones secundarias, Op= opciones, *i*= *i*-ésima subfunción, *j*= *j*-ésima solución u opinión.

Evaluación de alternativas. El siguiente paso en el proceso de diseño es la evaluación de las alternativas de las subfunciones mediante la matriz de decisiones que se basa en la comparación de las alternativas con las especificaciones técnicas definidas en pasos anteriores. En la columna de la izquierda se enumeran las especificaciones técnicas de diseño para cada función secundaria y su calificación para cada opción o alternativa en el renglón correspondiente. Las calificaciones para cada alternativa tienen una escala de cero a *m*, será cero la calificación menor y *m* la calificación mayor, de tal manera que, si a una función secundaria se le evalúan 5 alternativas, la calificación más alta en la matriz de decisiones será 5.

En el renglón inferior se concentran las sumas totales de las calificaciones de cada alternativa (Cuadro 2). Se seleccionan las alternativas con mayor puntaje, se generan los posibles arreglos o combinaciones de opciones y se exponen los más viables. A estos arreglos se les conoce como conceptos, que son los bocetos de diseño a evaluar para seleccionar la propuesta final que se desarrollará a detalle.

Cuadro 2. Estructura de una matriz de decisiones para la evaluación de las opciones o alternativas para cada función secundaria.

		Opciones				
		1	2	...	j	...
Especificaciones						
1	E_1	C_{11}	C_{12}		C_{1j}	C_{1m}
2	E_2	C_{21}	C_{22}		C_{2j}	C_{2m}
...						
i	E_i	C_{i1}	C_{i2}		C_{ij}	C_{im}
...						
n	E_n	C_{n1}	C_{n2}		C_{nj}	C_{nm}
Total	

E = Especificaciones técnicas, C= Calificación, i = i -ésima especificación técnica, j = j -ésima solución u opinión.

Evaluación y selección del concepto. Se califican los conceptos con las mismas herramientas de evaluación de las alternativas para cada subfunción. El arreglo o concepto que obtenga mayor calificación será seleccionado para generar el diseño a detalle del producto. Este concepto es el diseño preliminar propuesto. Tanto las alternativas como los conceptos en conjunto deben satisfacer los requerimientos del usuario, de lo contrario, será eliminada.

Experimentación. Se genera el diseño conceptual a detalle y se construye el prototipo. Se pone en marcha el funcionamiento del dispositivo y se evalúa su desempeño. Si durante la etapa de pruebas se presenta alguna falla, se hacen las modificaciones y reparación pertinentes y se vuelven a realizar las evaluaciones.

5.2 Diseño conceptual de la cosechadora de esporas

El presente trabajo se trata de un diseño nuevo, porque que no parte de algún otro equipo existente. Es un concepto nuevo, generado y desarrollado desde cero. Para el diseño de la máquina se siguió los principios de la manufactura sustentable, la cual busca reducir los desperdicios y la huella de carbono de un producto (Monge et al., 2013).

Definición del problema

En la producción de bioplaguicidas a base de hongos entomopatógenos por medio de fermentación sólida el proceso de separación de las esporas presenta un bajo rendimiento debido a que, al no existir en el mercado un equipo diseñado especialmente para realizar la cosecha se recurre al uso de tamices, ya sea manuales o vibratorios, sin embargo, estos métodos presentan baja eficiencia en la producción de esporas (Jenkins et al., 1998; Posada, 2008).

Se detectaron dos problemas en la cosecha de esporas; en primer lugar, la pérdida de material por dispersión en el ambiente produce la baja eficiencia y, por otra parte, la salud del operador se ve afectada por la interacción directa de las esporas (Labarrete et al., 2014).

Exposición de la necesidad

Se necesita diseñar y construir una cosechadora de esporas de los hongos entomopatógenos *M. anisopliae* y *B. bassiana* para la producción de bioplaguicidas. La máquina cosechadora debe cumplir con los siguientes requerimientos:

- La cosechadora debe trabajar en la obtención de esporas con una eficiencia mayor a la que presentan los tamices comerciales vibratorios.
- En la máquina no deben existir pérdidas de esporas por fuga.
- La seguridad del usuario es uno de los puntos principales por lo que no debe existir contacto directo entre el operador y las esporas.
- Se debe evitar que las esporas se contaminen al interactuar con el material de fabricación de la cosechadora.
- La máquina debe ser de bajo costo de fabricación.
- El procesamiento debe ser de pequeña a mediana escala.
- El funcionamiento de la procesadora debe ser de consumo energético menos al de los tamices comerciales vibratorios.

Investigación de productos existentes

La alternativa encontrada en el mercado cumple con las especificaciones de seguridad de operación, pero su costo es elevado y al ser diseñada para las condiciones atmosféricas y climatológicas de Inglaterra, su operación con parámetros distintos afectará directamente su eficiencia.

Potenciales compradores de la máquina

Laboratorios, centros de investigaciones y empresas privadas que trabajen con bioplaguicidas fabricados a base de hongos entomopatógenos.

Diagnóstico

Después de analizar los requerimientos del usuario en la exposición de la necesidad se obtuvieron las siguientes características de desempeño que la cosechadora diseñada cumplirá:

- Deberá trabajar en un medio hermético para evitar las pérdidas de esporas por dispersión en el ambiente
- Capacidad de 5 kg de sustrato por carga
- Para esporas de 1-3 μm de tamaño
- Fabricada con acero inoxidable AISI-304
- Capacidad de funcionamiento con los sustratos arroz y maíz quebrado
- Deberá cosechar 29.44-31.5 g de esporas por kilogramo de sustrato procesado
- Costo total de la máquina no mayor a 20 mil pesos
- Bajo consumo energético en su funcionamiento

Función principal

La función principal de la cosechadora es la obtención de las esporas de hongo entomopatógeno del sustrato sólido de manera eficiente.

Funciones secundarias

Las funciones secundarias de la cosechadora se presentan a continuación:

- Alimentar a la cosechadora con el material a procesar
- Tamizar el sustrato sólido para separar las esporas
- Hermetizar la cámara de separación para evitar que las esporas se dispersen en el ambiente
- Colectar las esporas tamizadas

5.2.1 Carta morfológica

Una vez identificadas las funciones secundarias de la cosechadora, se propusieron las alternativas para cada función y se plasmaron en una carta morfológica (Cuadro 3) para su evaluación y elección de las alternativas más adecuadas a los requerimientos del usuario.

Cuadro 3. Carta morfológica de diseño.

Funciones		Alternativas		
1. Alimentar	Compuerta 	Tolva 	Tolva con tapa 	
2. Tamizar	Criba 	Tamiz vibratorio 	Zaranda mecánica 	Tamiz rotatorio 
3. Hermetizar	Sello de polímero de baja densidad 	Sello de polímero de alta densidad 	Silicón 	
4. Tamizar	Depósito general 	Depósito desmontable 		

5.2.2 Evaluación de las alternativas

En los cuadros 4, 5, 6 y 7 se muestran las evaluaciones cada una de las alternativas propuestas para cada función secundaria. Se utilizaron matrices de toma de decisiones. Los criterios de evaluación se definieron con base a los requerimientos del usuario.

Cuadro 4. Evaluación de la función alimentar.

Función	Alternativas			
	Alimentar	Tolva	Tolva con tapa	Compuerta
Funcionalidad	1	2	2	3
Seguridad	1	1	2	3
Costo	3	3	1	2
Estética	1	1	3	2
Fabricación	2	2	1	3
Total	8	8	9	13

Cuadro 6. Evaluación de la función hermetizar

Función Sellar	Alternativas		
	Sellos de polímero de baja densidad	Sello de polímero de alta densidad	Silicón
Costo	2	3	1
Funcionalidad	3	2	1
Estética	2	3	1
Fabricación	2	1	3
Mantenimiento	3	2	1
Total	12	11	7

Cuadro 7. Evaluación de la función colectar.

Función Colectar	Alternativas	
	Depósito general	Depósito desmontable
Costo	1	2
Material	2	2
Funcionalidad	1	2
Durabilidad	2	2
Fabricación	2	1
Operación	2	1
Estética	1	2
Total	11	12

5.2.3 Generación de conceptos

Se realizaron las evaluaciones de las alternativas para las funciones secundarias, se plasmaron las calificaciones obtenidas en la carta morfológica y se generaron 2 conceptos de diseño como se muestra en el Cuadro 8. Los conceptos obtenidos representan las propuestas tentativas de diseño.

Cuadro 8. Generación de los conceptos de diseño.

Funciones	Alternativas			
	Concepto 1		Concepto 2	
1. Alimentar	Compuerta 	Tolva 	Tolva con tapa 	
2. Tamizar	Criba 	Tamiz vibratorio 	Zaranda mecánica 	Tamiz rotatorio 
3. Hermetizar	Sello de polímero de baja densidad 	Sello de polímero de alta densidad 	Silicón 	
4. Colectar	Depósito general 	Depósito desmontable 		

Concepto 1. Figura 12, se trata de un tamiz rotatorio con depósito general, sellos de polímero de baja densidad y alimentación por compuerta.

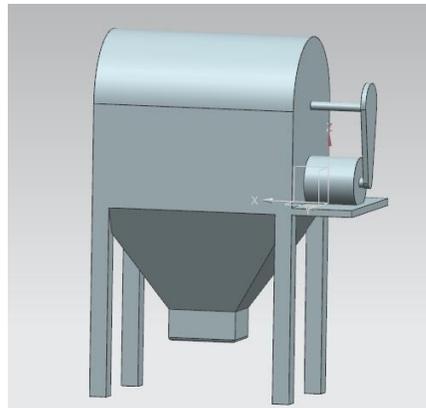


Figura 12. Modelo en 3D del concepto 1.

Concepto 2. Figura 13, se trata de un tamiz rotatorio con depósito general, sellos de polímero de alta densidad y alimentación por tolva con tapa.

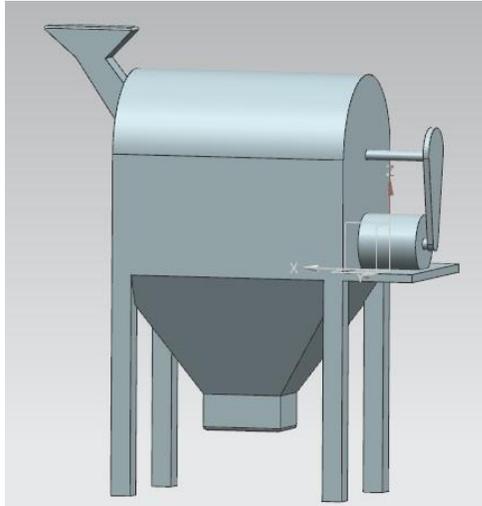


Figura 13. Modelo en 3D del concepto 2.

5.2.4 Evaluación y selección del concepto

Los dos conceptos generados se evaluaron en la Cuadro 9 con el fin de elegir el más adecuado para posteriormente generar el diseño a detalle. La escala de calificaciones que se utilizó es la siguiente:

2 -Poco

4 -Regular

6 -Medianamente

8 -Casi por completo

10 -Totalmente

Cuadro 9. Evaluación de conceptos.

Requerimientos del usuario	Concepto I	Concepto II
Eficiencia	10	8
Bajo costo de fabricación	10	10
Materiales resistentes a la oxidación	10	10
5 kg de sustrato por carga	10	10
Seguridad operaria	10	8
Bajo consumo energético	10	10
Costo de inversión inicial	8	8
Fácil mantenimiento	8	6
Fácil operación	8	10
Facilidad de ensamble	8	6
Costo de operación	10	10
Total	102	96

5.2.5 Descripción del concepto

Después de calificar los dos conceptos obtenidos se eligió el concepto número 1 ya que es el más adecuado. Se desarrolló el diseño a detalle, definición de geometrías, materiales, dimensiones y finalmente el proceso de fabricación.

Se eligió el concepto número uno ya que es el que mejor cumple los requerimientos del usuario. Esta propuesta de diseño consiste en un tamiz rotatorio, el cual trabaja dentro de una cámara de separación hermética de acero inoxidable y un depósito donde se recolectarán las esporas cosechadas.

5.3 Diseño detallado

La máquina cosechadora de esporas se diseñó de manera que sea completamente desmontable, consta de una estructura en la que se atornillará la cámara de separación, las chumaceras del tamiz rotatorio, un eje, un tamiz rotatorio y un depósito. A excepción de la estructura de la máquina y las chumaceras, todos los componentes de la máquina serán fabricados en acero inoxidable para evitar la contaminación de las esporas.

El tamaño de las esporas de los hongos entomopatógenos es de micras, por lo que la selección del tamaño de apertura de las mallas de tamiz adecuadas fue con base a las dimensiones del medio de cultivo sólido. La selección de las mallas se basó en literatura Jaronski y Jackson (2012) indica que las mallas ASTM-20 son adecuadas para la cosecha de esporas de los hongos *M. anisopliae* y *B. bassiana*, sin embargo, mencionan que el producto cosechado es una mezcla de esporas y partículas de arroz. Para evitar el paso de las partículas del sustrato en el tamizado se eligieron las mallas ASTM-20, ASTM-30 y ASTM-40 con apertura de malla de 0.841 mm, 0.595 mm y 0.420 mm, fabricadas en acero inoxidable AISI 304.

El medio de cultivo son granos de arroz y maíz quebrado. El arroz tiene un largo promedio de 5.90 a 7.30 mm, ancho de 1.60 a 1.90 mm, espesor de 1.20 a 1.60 mm y densidad aproximada de 795 a 897 kg m⁻³ (Ghadge et al., 2012). El maíz tiene una densidad aproximada de 1204.30 a 1228.79 kg m⁻³ y 11 mm de largo, 7 mm de ancho, y 3 mm de espesor en promedio (Kumar et al., 2017).

Se calculó un cilindro con un volumen que pudiera contener 5 kg de arroz o maíz. Un cilindro de 0.25 m de diámetro y 0.6 m de largo podrá contener la carga de arroz o maíz y tendrá espacio suficiente para que los granos puedan desplazarse entre sí durante el giro del cilindro.

El cilindro del tamiz rotatorio deberá girar a 30 rpm debido a que, a mayor velocidad, las fuerzas normales generadas por el peso del sustrato procesado y el giro del tamiz provocarían adherencia entre las mallas y el material procesado y ese fenómeno reduciría la eficiencia del tamizado.

La potencia necesaria para accionar una maquina rotatoria está dada por la ecuación 1.

$$P = \frac{2*\pi*n*T}{60} (W) \tag{1}$$

Donde:

n= revoluciones por minuto (rpm)

T= torque (N*m)

$$T = F * d(N * m)$$

(2)

Donde:

F= fuerza (N)

d= brazo de palanca (m)

Las fuerzas que actuaran en el cilindro están dadas por la ecuación 2 y son 45.05 N de los 5 kg del peso del tamiz y 49.05 N del peso de los 5 kg de arroz, se necesita una potencia de 39.11 W. Debido a que la potencia necesaria para accionar la máquina es baja, se asumió que un hombre puede aplicar un torque de 12.45 N*m y hacer girar el cilindro a 30 rpm.

5.3.1 Definición de geometrías y materiales

A excepción de la estructura de la máquina y las chumaceras, todos los componentes de la máquina se requieren sean fabricados en acero inoxidable, esto con el fin de evitar la contaminación de las esporas.

Las partes que la componen son:

1. Estructura de la máquina. Será fabricada en perfil tubular cuadrado de 31.75 mm calibre 18
2. Cámara de separación. Será fabricada en lámina de acero inoxidable calibre 22
3. Tapa de la cámara de separación. Será fabricada en lámina de acero inoxidable calibre 22.
4. Estructura del tamiz. Será fabricado en solera de acero inoxidable de 19.05 x 3.17 mm
5. Mamelón del tamiz. Fabricado en tubo redondo de acero inoxidable de diámetro interior de 15.87

5.4 Procedimiento detallado de fabricación

5.4.1 Diagrama de proceso

Una vez realizado el diseño detallado de a máquina, se procedió a definir el diagrama de proceso de fabricación (Figura 14). Los óvalos en el diagrama hacen referencia a una acción realizada, una flecha significa un cambio de área de trabajo y un óvalo dentro de un rectángulo simboliza una acción que requiere de monitoreo continuo.

El diagrama de proceso sirve como guía en la etapa de fabricación de una máquina diseñada, también sirve para calcular el costo de mano de obra, pues se estiman las horas de trabajo del personal técnico especializado, como paileros, tornero y soldadores.

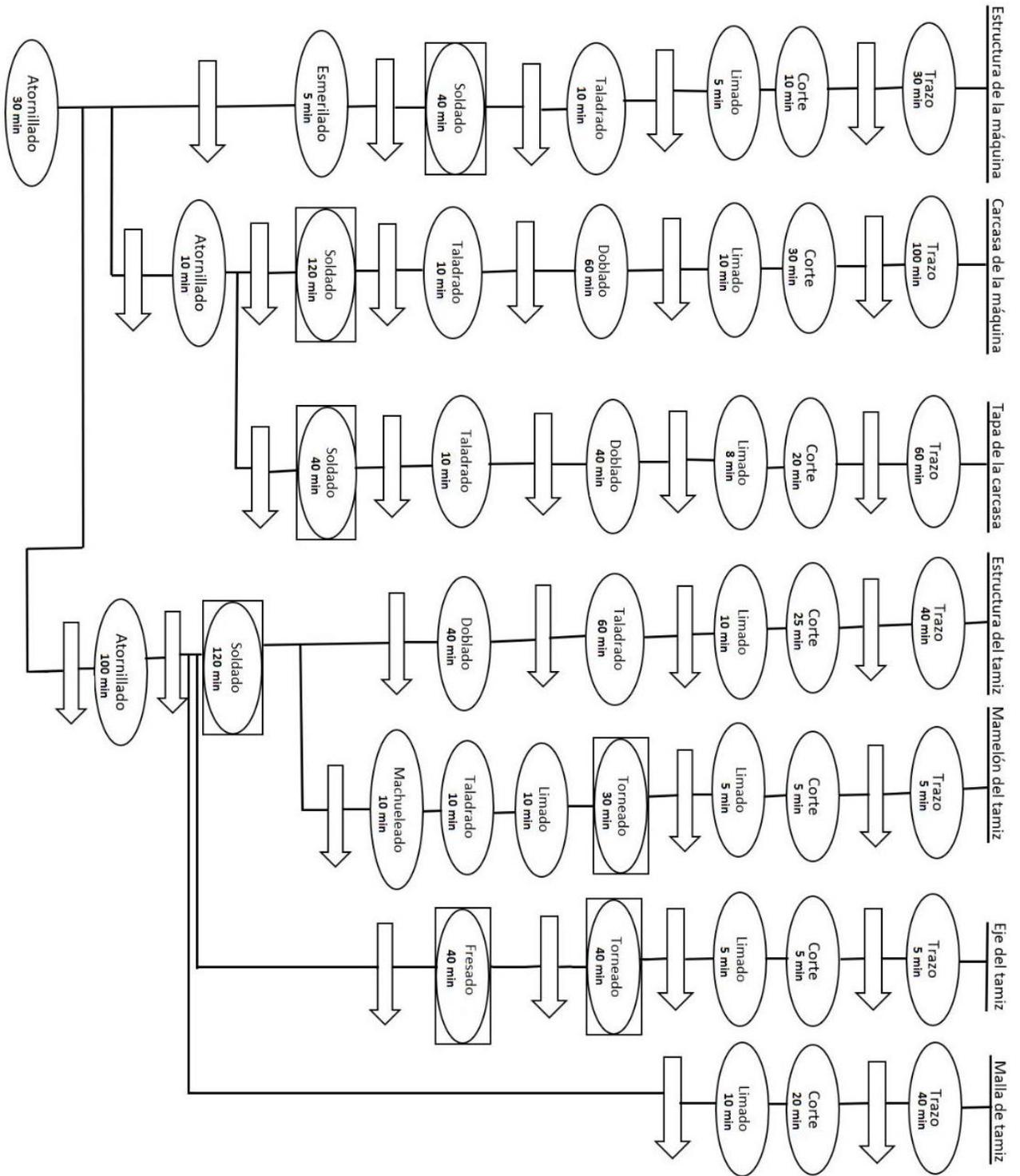


Figura 14. Diagrama de proceso de fabricación.

5.4.2 Fabricación de la cosechadora de esporas

La fabricación del prototipo se realizó en el Taller de Ingeniería y Tecnologías Adecuadas del CIIDIR Oaxaca de febrero a mayo del 2019. Se siguieron las actividades del diagrama de proceso de la Figura 14. De la Figura 15 a la 19 se muestra el proceso de construcción de la cosechadora.



Figura 15. Fabricación de los tamices.



Figura 16. Tamices rotatorios.



Figura 17. Cámara de separación de la cosechadora.



Figura 18. Cosechadora de esporas ensamblada.

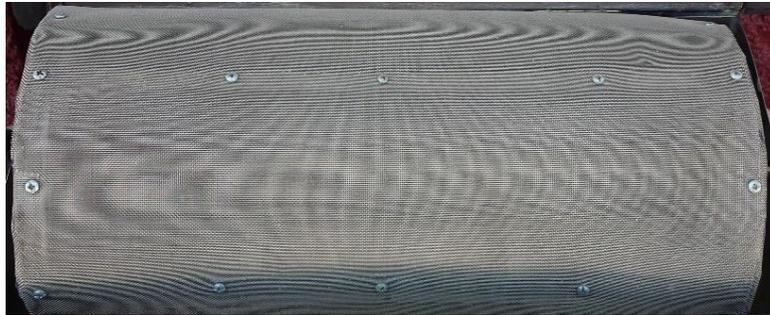


Figura 19. Tamiz con malla ASTM-40.

5.4.3 Máquinas y herramientas utilizadas en la fabricación

A continuación, se enlistan las herramientas utilizadas en la fabricación de la cosechadora:

- Juego de destornilladores planos y de cruz
- Tijeras para lámina de acero
- Juego de llaves españolas
- Juego de llaves Allen
- Pinzas de presión
- Escuadra metálica de 1 m de longitud
- Flexómetro de 5 m
- Regla de acero inoxidable de 1 m de longitud
- Prensa troquelada de acero
- Juego de brocas de cobalto para acero inoxidable
- Cepillo de cerdas de alambre
- Guantes de carnaza
- Segueta y arco manual
- Careta transparente
- Careta automática para soldar
- Lentes de seguridad transparentes
- Gis para marcar metal

- Disco de corte de metal de 114.3 mm y 355.6 mm
- Disco abrasivo de 114.3 mm

Las máquinas utilizadas fueron:

- Cortadora circular eléctrica de metales
- Esmeril portátil
- Esmeril de banco
- Soldadora de arco eléctrico
- Taladro eléctrico portátil
- Taladro eléctrico de banco
- Cizalla eléctrica
- Dobladora de lámina
- Soldadora eléctrica por puntos de calor
- Torno
- Fresadora

5.5 Cálculo de costos de fabricación

En el cuadro10 se enlistas los materiales utilizados en la fabricación de la cosechadora y su precio de compra. El monto total fue de \$7,539.52, solo se tomó en cuenta el costo de los materiales ya que la fabricación se realizó en el taller de Tecnologías Adecuadas del CIIDIR Oaxaca. Los materiales de fabricación fueron comprados en noviembre del 2018 por lo que, con el paso del tiempo, el monto total puede variar.

Si el prototipo de la cosechadora se comercializa, es necesario estimar el precio de venta mediante la suma del costo de los materiales, costo del trabajo intelectual y el costo de mano de obra de personal técnico especializado como torneros, soldadores y paileros. Se calculó un aproximado de 22 h de trabajo necesario para la fabricación de la máquina cosechadora.

Cuadro 10. Costos de los materiales de fabricación adquiridos en noviembre del 2018.

Cantidad	Material	Precio unitario	Precio total
5 piezas	Solera de acero inoxidable AISI-304 de 3 m de largo, 12.7 mm de ancho por 3.17 mm de grosor	\$156.28	\$781.40
1/2 pieza	Barra redonda de acero inoxidable AISI-304 de 6 m de largo y 12.7 mm de diámetro	\$900.00	\$500.00
1 pieza	Lámina de acero inoxidable AISI-304, calibre 22	\$1200.00	\$1200.00
1 m	Malla de acero inoxidable ASTM-20	\$1078.80	\$1078.80
1 m	Malla de acero inoxidable ASTM-30	\$1078.80	\$1078.80
1 m	Malla de acero inoxidable ASTM-40	\$1078.80	\$1078.80
1kg	Soldadura 3081 para acero inoxidable de 3.17 mm de diámetro	\$300.00	\$300.00
1 kg	Soldadura 6013 de 3.17 mm de diámetro	\$65.00	\$65.00
6 piezas	Cierre de presión	\$10.00	\$60.00
2 piezas	Chumacera de piso de 12.7 mm de diámetro	\$180.00	\$360.00
2 piezas	Perfil tubular cuadrado calibre 18 de 31.75 mm de ancho	\$182.36	\$364.72
200 piezas	Pija para metal de 3.17 mm de diámetro	\$0.20	\$40.00
4 piezas	Tornillo de 9.5 mm x 63.5 mm	\$5.00	\$20.00
8 piezas	Tornillo de 4.7 mm x 50.8 mm	\$2.00	\$16.00
20 piezas	Tornillo de 3.17 mm x 76.2 mm con tuerca de mariposa con resorte	\$4.00	\$80.00
1 pieza	Tornillo de 11.11 mm x 38.1 mm	\$5.00	\$5.00
1 frasco	Pegamento de contacto de nitrilo	\$50.50	\$50.50
2 piezas	Lija para metal del número 100	\$15.00	\$30.00
1 pieza	Pintura en aerosol color cromo	\$60.50	\$60.50
8 metros	Sello de uso industrial de espuma	\$40.00	\$320.00
1 pieza	Sellador de silicón blanco	\$50.00	\$50.00
	Total		\$7539.52

6. REPRODUCCIÓN MASIVA DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS, PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO Y PRUEBAS DE VIABILIDAD DE LAS ESPORAS

6.1 Reproducción masiva de los hongos entomopatógenos

La reproducción de los hongos se realizó en el laboratorio de control biológico del CIIDIR Oaxaca y se basó en la metodología de Jaronski y Jackson, (2012). En primer lugar, se reprodujeron los hongos *M. anisopliae* y *B. bassiana* en cajas Petri (Figura 20) y posteriormente se inocularon en bolsas de arroz y maíz quebrado. Se utilizaron 1 kg de arroz y 1 kg de maíz, los cuales se limpiaron de impurezas y se dejaron remojar en agua durante 2 h, posteriormente se le escurrió el agua con un tamiz. Una vez eliminado el exceso de agua, se depositó 200 g de arroz en 5 bolsas de plástico y 200 g de maíz quebrado en 5 bolsas de plástico. Las bolsas se sellaron y se les insertó un tapón de algodón y gasa en una de sus esquinas (Figura 21). Las bolsas, las jeringas y un matraz con agua destilada fueron esterilizados en un autoclave a 120 °C y 1.0 kg cm⁻² durante 15 minutos.

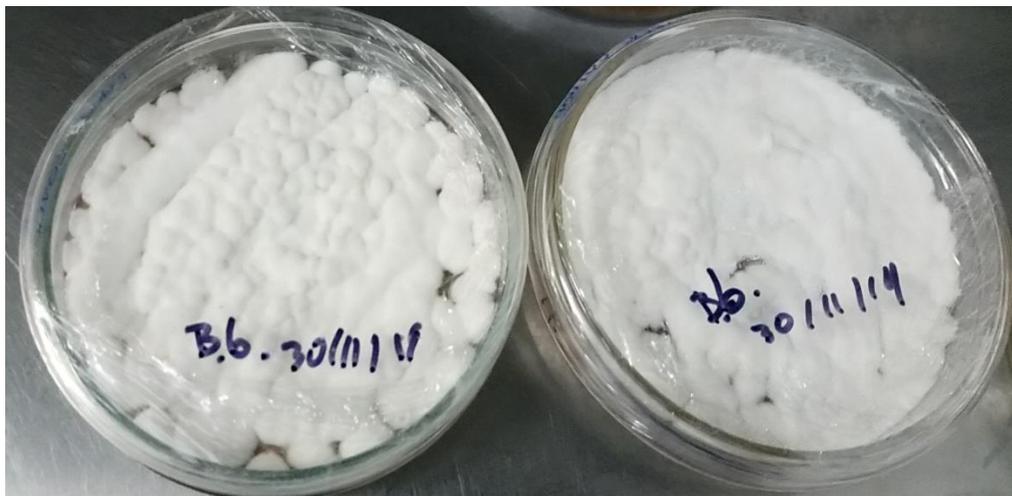


Figura 20. *Beauveria bassiana* a los 15 días de la siembra en cajas Petri.



Figura 21. Bolsas con 200 g de arroz y maíz quebrado.

Se preparó una solución de cada hongo con tween al 0.05% y agua destilada. Se inoculó 10 mL de solución con una jeringa estéril en cada bolsa de arroz y maíz dentro de una campana de flujo laminar (Figura 22), después se revolvió cada bolsa con la finalidad de distribuir de manera homogénea la solución.



Figura 22. Inoculación de *Metarhizium anisopliae* en las bolsas de arroz y maíz quebrado.

Durante los siguientes 15 días después de la inoculación, se revolvió cada dos días el arroz y el maíz de las bolsas para evitar la aglomeración del sustrato y lograr un crecimiento adecuado del hongo (Figura 23). Posterior a los 15 días, como se muestra en la Figura 24 y 25, se vació el contenido de las bolsas en paneras y se dejó reposar una semana con la finalidad de reducir la humedad del sustrato para realizar la extracción de esporas en el prototipo de la cosechadora. Debido a las variaciones de humedad y temperatura en el ambiente, el maíz quebrado inoculado con *B. bassiana* se secó a 30° C en una estufa durante 3 días (Figura 26).



Figura 23. Bolsas de arroz y maíz quebrado inoculados con *Beauveria bassiana*.



Figura 24. Secado del maíz quebrado y el arroz inoculados con *Metarhizium anisopliae*.



Figura 25. Secado a temperatura ambiente del maíz quebrado y el arroz inoculados con *Beauveria bassiana*.



Figura 26. Secado en estufa a 30° C del maíz quebrado inoculado con *Beauveria bassiana*.

6.2 Pruebas de funcionamiento de la cosechadora

Debido a que la máquina diseñada trabaja con los sustratos arroz y maíz quebrado y los hongos entomopatógenos *M. anisopliae* y *B. bassiana*, la cosechadora fabricada se sometió a pruebas de funcionamiento (Figura 27 y 28).

El objetivo de las pruebas fue estimar la cantidad promedio de gramos de esporas obtenidas por kg de sustrato procesado. Antes de realizar las pruebas de funcionamiento, se lavó la máquina con agua y jabón para retirar la suciedad adquirida durante el proceso de fabricación las piezas.



Figura 27. Cosechadora de esporas con una carga de *Metarhizium anisopliae* inoculado en arroz.

Para las pruebas, se vació por separado en el tamiz ASTM-40 de la cosechadora el contenido de cada bolsa de arroz y maíz inoculados con los hongos. Se selló la compuerta del tamiz y la tapa de la cámara de separación. Una vez sellada, se accionó la máquina cosechadora durante 15 minutos por carga para el arroz y 20 minutos por carga para el maíz quebrado.



Figura 28. Carga de *Beauveria bassiana* inoculado en maíz quebrado.

6.3 Pruebas de control de calidad

6.3.1 Conteo de esporas

Se realizó un conteo para estimar la cantidad de esporas que contiene cada gramo de polvo cosechado. Se preparó en un tubo de ensayo una suspensión con 9 mL de tween al 0.5% y una muestra de 1 g de polvo de esporas; se agitó la mezcla para homogeneizarla. Con una micropipeta se tomó 1 mL de la suspensión y se mezcló en otro tubo de ensayo con 9 mL de agua destilada (Figura 29), se repitió el proceso 4 veces para obtener una concentración adecuada y realizar el conteo de esporas en una cámara Neubauer (Figura 30).

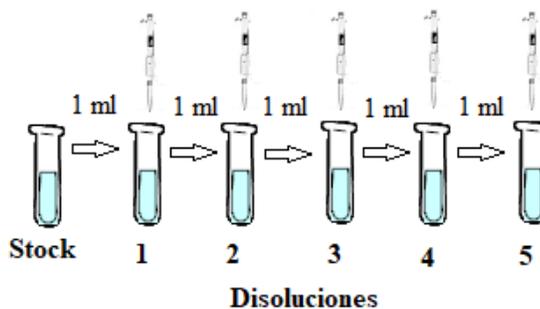


Figura 29. Preparación de la suspensión para el conteo de esporas.

Para realizar el conteo de esporas, con una micropipeta se colocó 0.1 mL de la dilución número 3 sobre el portaobjetos de la cámara Neubauer cubierto con un portaobjetos. Se observó la cámara en un microscopio compuesto. Una vez ubicados los cuadros de 0.04 mm², se procedió a contabilizar las esporas de cada cuadro, se contaron las esporas localizadas en el límite lateral derecho, límite superior e interior de cuadro. Las esporas localizadas en la parte inferior y lateral derecha del cuadro no se contabilizaron.

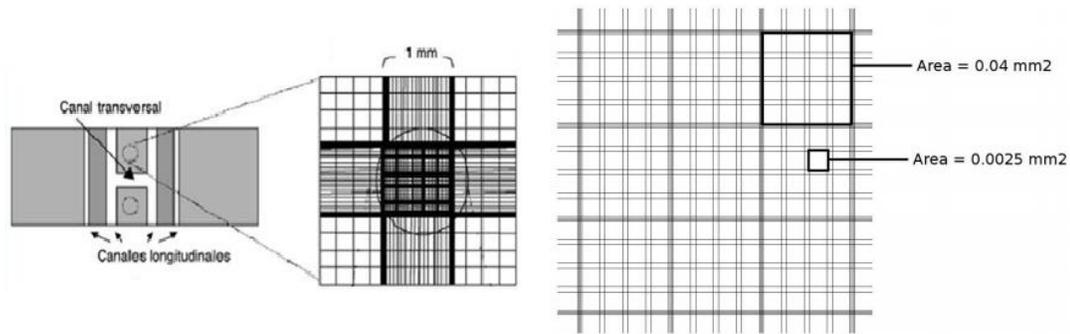


Figura 30. Cámara de conteo Neubauer.

El número de esporas mL⁻¹ se determinó con la ecuación 3.

$$\text{Esporas mL}^{-1} = (\text{promedio de esporas}) (25) (\text{factor de dilución}) (10^4) \quad (3)$$

El número promedio de esporas por cuadro de 0.04 mm² se multiplica por 25 para obtener el número total de esporas en un volumen de 0.1 mm³ (volumen de la cámara = 1 mm por lado x 0.1 mm de profundidad). Este valor se debe multiplicar por 10⁴ para obtener el número de esporas mL⁻¹.

6.3.2 Conteo de unidades formadoras de colonias UFC

Para realizar el conteo de UFC se tomó con una micropipeta 0.1 mL de la dilución número 5 (Figura 29) y se distribuyó de manera uniforme en una caja Petri con agar. Se dejó incubar 24 horas y se realizó el conteo de las colonias presentes (Figura 31).

Para estimar el número aproximado de unidades formadoras de colonias por mL (UFC mL⁻¹) se utilizó la ecuación 4. El factor de dilución se calcula con la ecuación 5.

$$UFC/mL = \frac{(\text{número de colonias})(\text{factor de dilución})}{ml \text{ de muestra}} \quad (4)$$

$$\text{factor de dilución} = \frac{1}{\text{dilución}} = \frac{\text{volumen total del líquido (agua+muestra)}}{\text{volumen de la muestra}} \quad (5)$$

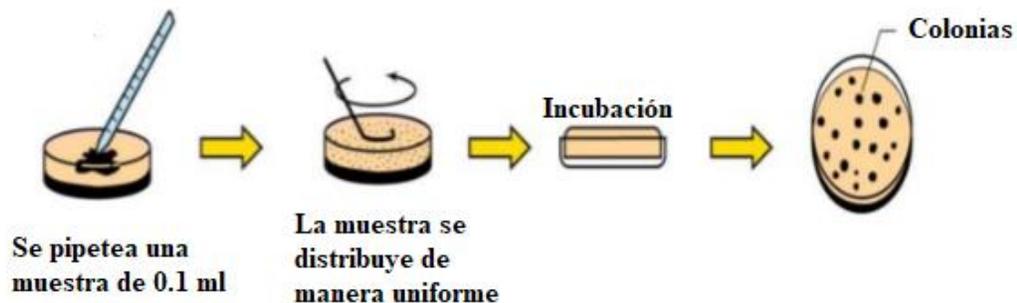


Figura 31. Conteo de unidades formadoras de colonias.

6.4 Prueba de hipótesis

Se realizó una prueba de comparación múltiple de medias a los valores obtenidos en las pruebas de cosecha de esporas con el fin de determinar si hubo diferencias en la cantidad de g de esporas cosechadas por kg de sustrato procesado entre cada una de las combinaciones de sustrato sólido y los hongos.

También se realizó una prueba de hipótesis de t de Student para una media poblacional con varianza desconocida a cada combinación de sustrato sólido con los hongos *M. anisopliae* y *B. bassiana* para comprobar si se produjo un mayor rendimiento al reportado en artículos. Se tomó como media $\mu = 31.50$ g por kg de sustrato sólido procesado ya que es el mayor rendimiento mencionado por Jaronski (2014) con el uso de una cosechadora de tamiz y ciclón dual.

Las hipótesis para evaluar fueron:

$$H_0: \mu = \bar{x}$$

$$H_a: \mu < \bar{x}$$

Se calculó una t^* con la ecuación 6.

$$t^* = \frac{\bar{x} - \mu}{s / \sqrt{n}} \quad (6)$$

y una $t(\text{gl}, \alpha)$ de tablas para determinar los valores y la región crítica en la curva de distribución t de Student.

La toma de decisiones fue con el criterio si $t^* > t(\text{gl}, \alpha)$ se rechaza la hipótesis nula.

Si $t^* < t(\text{gl}, \alpha)$ no se rechaza la hipótesis nula.

Se utilizó el nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Cosechadora de esporas

Se obtuvo el diseño conceptual de la cosechadora de esporas y mediante un software de diseño se generó el modelo en 3D (Figura 32). Este modelo sirvió de guía para la fabricación y ensamble de la máquina.

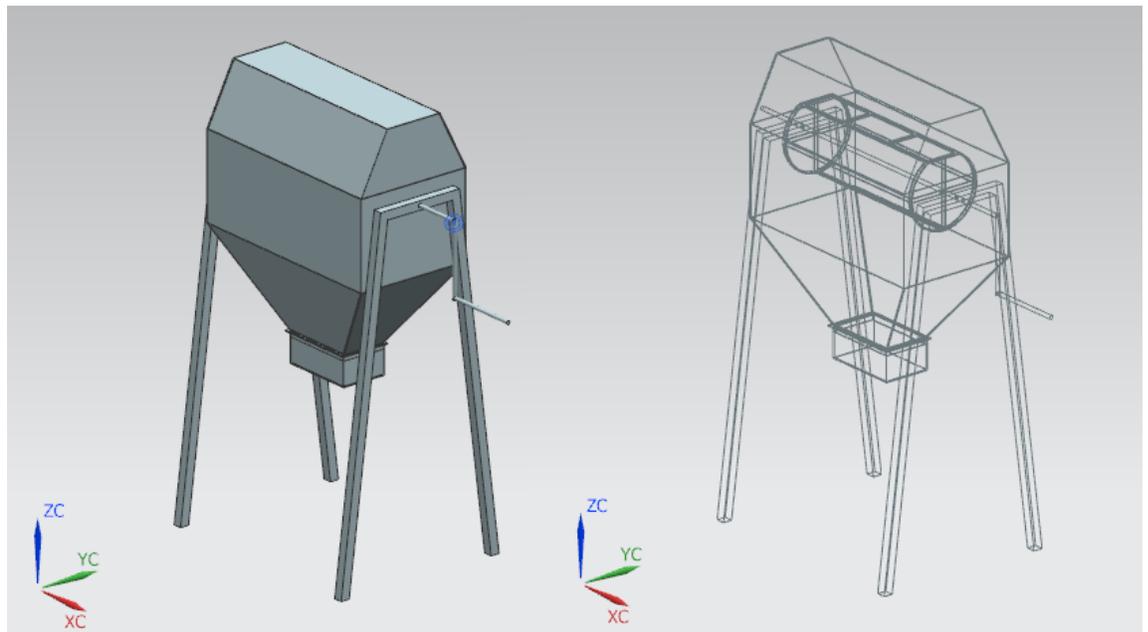


Figura 32. Modelo en 3D de la cosechadora de esporas.

Después de conceptualizar el diseño, se dimensionó cada componente de la máquina y se generaron sus planos. En la figura 33 se muestran las partes de la cosechadora:

a) Cámara de separación. Se fabricó en lámina de acero inoxidable, su función es la de mantener hermético el proceso de cosecha de esporas.

b) Tapa de la cámara de separación. Fabricada en lámina de acero inoxidable. Se desmonta de la máquina y permite depositar el sustrato inoculado de hongos dentro del tamiz rotatorio.

c) Depósito de esporas. Fabricado en lámina de acero inoxidable. Su función es la de coleccionar y almacenar las esporas cosechadas en el tamiz rotatorio.

d) Estructura. Fabricada en perfil tubular cuadrado de hierro. Su función es la de servir de soporte para todos los componentes de la máquina.

e) Eje y manivela. Fabricados en barra de acero inoxidable. Su función es accionar y guiar el movimiento de rotación del tamiz de la máquina cosechadora.

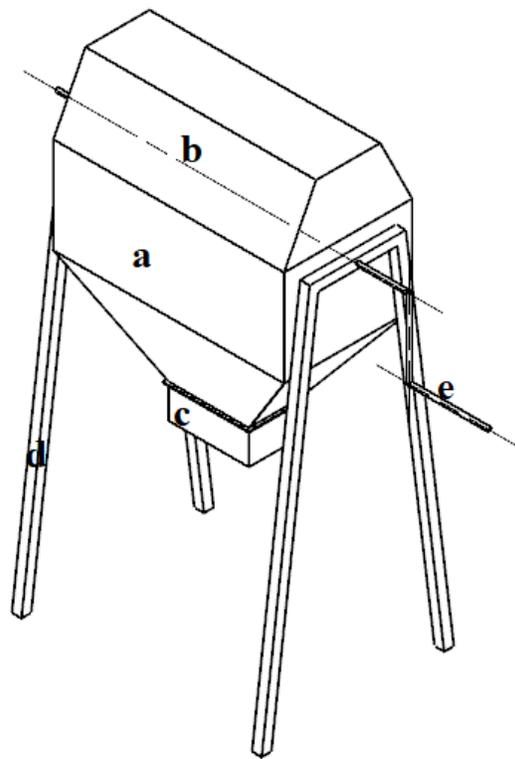


Figura 33. Partes de la cosechadora de esporas.

En la Figura 34 se presentan las partes del tamiz:

a) Cuerpo del tamiz rotatorio de la cosechadora. Fabricado en solera de acero inoxidable. Su función es estructural en el tamiz, le da forma y es la base donde se acopla la malla de acero inoxidable ASTM-40.

b) Compuerta y tapa del tamiz rotatorio. La compuerta fue fabricada con solera de acero inoxidable, la tapa de lámina de acero inoxidable, su función es permitir la entrada del material a procesar en la cosechadora, también permite la salida del sustrato sólido desechado después de la cosecha de las esporas.

c) Eje. Fabricado en barra de acero inoxidable. Se acopla mediante tornillos al cuerpo del tamiz rotatorio.

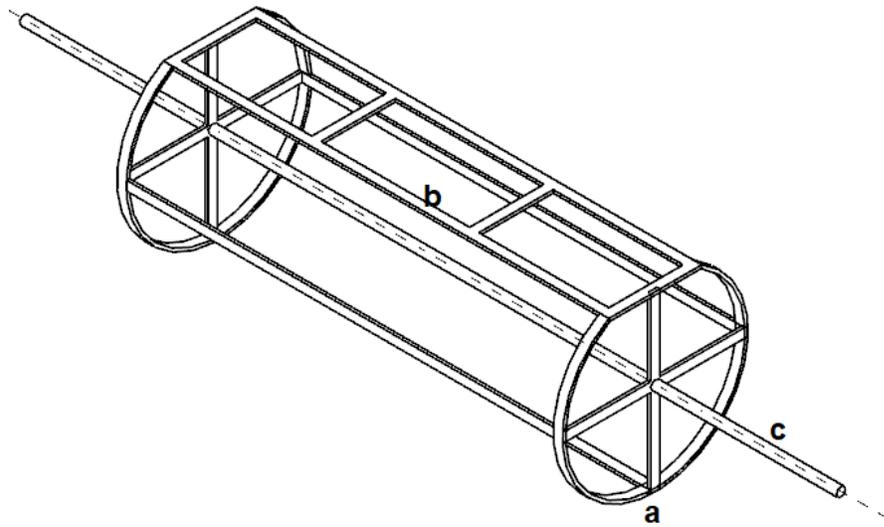


Figura 34. Partes del tamiz la cosechadora de esporas.

En la Figura 35 se muestra el plano del alzado o vista frontal de la cosechadora. Los planos de cada pieza de la máquina se encuentran en el anexo 1. En la Figura 36 se presenta el prototipo fabricado de la cosechadora de esporas.

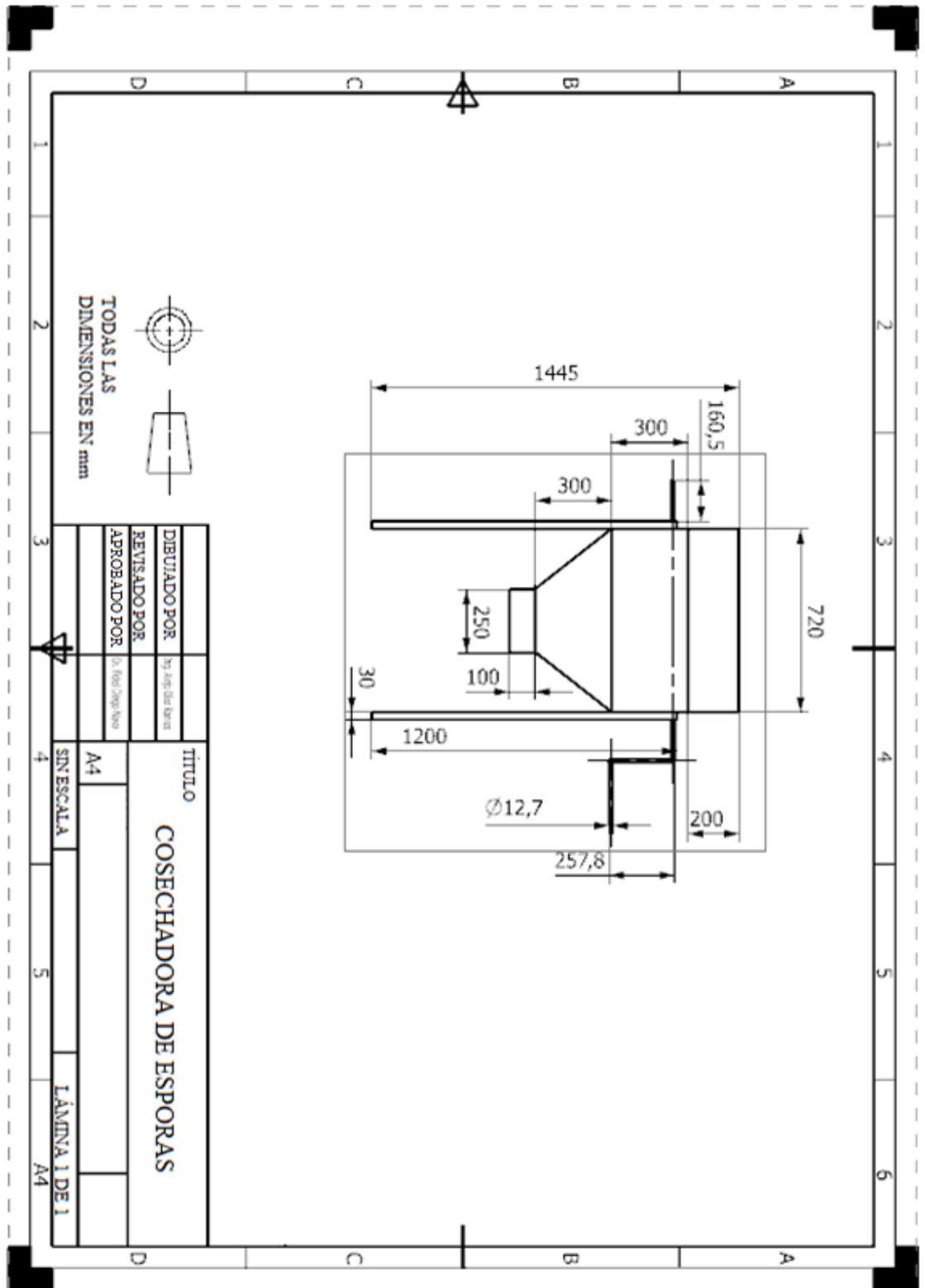


Figura 35. Vista frontal de la cosechadora de esporas.



Figura 36. Cosechadora de esporas.

7.2 Pruebas de funcionamiento de la cosechadora y calidad del producto obtenido

De las pruebas de funcionamiento (Figura 37), (Cuadro 11), con el hongo *M. anisopliae* se obtuvo de la cosecha un promedio de 34.15 g de polvo de esporas por kg de maíz procesado (Figura 38), mientras que de la cosecha de arroz (Figura 39) se obtuvo 57.35 g de polvo por cada kg procesado. Del hongo *B. bassiana* se obtuvo 35.47 g de polvo de esporas por kg de maíz procesado (Figura 40) y 38.26 g de polvo de esporas por kg de arroz (Figura 41).

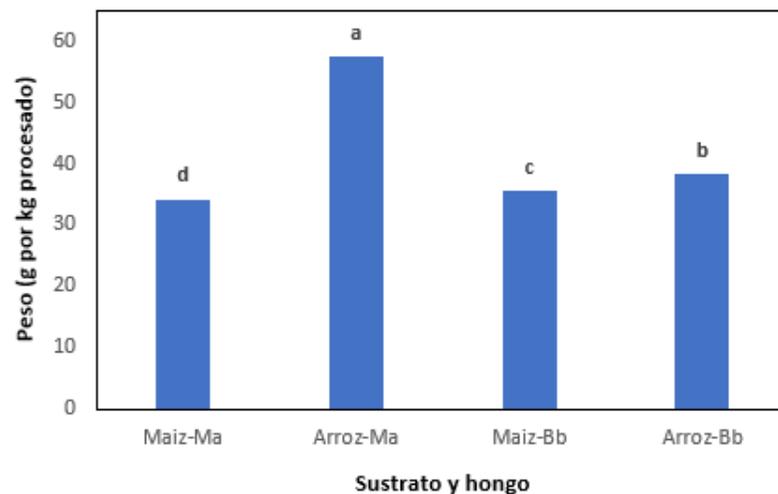


Figura 37. Gráfica de cosecha de esporas.



Figura 38. Esporas de *Metarhizium anisopliae* cosechadas de maíz quebrado.

Cuadro 11. Producción de esporas obtenidas de las pruebas de funcionamiento.

Sustrato	Hongo	Cantidad de esporas cosechadas (g por kg de sustrato)	Concentración (esporas mL ⁻¹)
Maíz	Ma	34.15 ± 0.19 d	2 x 10 ¹¹
Arroz	Ma	57.35 ± 0.17 a	1.8 x 10 ¹¹
Maíz	Bb	35.47 ± 0.25 c	3.1 x 10 ¹⁰
Arroz	Bb	38.26 ± 0.23 b	3.2 x 10 ¹⁰

Ma= *Metarhizium anisopliae*, Bb= *Beauveria bassiana*, ± Error estándar, Comparación múltiple de medias de Tukey, $\alpha = 0.05$.

De la prueba de t de Student a cada una de las cuatro combinaciones de los sustratos sólidos maíz quebrado y arroz con los hongos *M. anisopliae* y *Beauveria bassiana*, la t^* calculada es mayor que la t (gl, α) de tablas (Cuadro 12), por lo cual con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$ se rechaza la hipótesis nula:

Ho: La cosechadora de esporas diseñada presentará un rendimiento medio igual o menor a 31.50 g por kg de sustrato procesado.

Debido a que se cuenta con la evidencia estadística para demostrar que la cosecha obtenida con la nueva máquina cosechadora de esporas es mayor a 31.50 g por kg de sustrato procesado.

Cuadro 12. Prueba de hipótesis con el estadístico t.

Tratamiento	\bar{x}	s^2	s	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	t (gl, α)	t*
Maíz-Ma	34.15	0.187	0.433	0.194	2.132	13.685
Arroz-Ma	57.35	0.148	0.384	0.172	2.132	150.505
Maíz-Bb	35.47	0.314	0.560	0.250	2.132	15.850
Arroz-Bb	38.26	0.273	0.522	0.234	2.132	28.941

Ma= *Metarhizium anisopliae*, Bb= *Beauveria bassiana*, $\alpha= 0.05$, gl= 4.



Figura 39. Esporas de *Metarhizium anisopliae* cosechadas de arroz.



Figura 40. Esporas de *Beauveria bassiana* cosechadas de maíz quebrado.



Figura 41. Esporas de *Beauveria bassiana* cosechadas de arroz.

El arroz presentó la mayor producción de gramos de esporas del hongo *M. anisopliae* por kg de sustrato procesado. La concentración de esporas g^{-1} es similar en el polvo cosechado de maíz y de arroz.

Pandey y Kanaujia (2008) reportaron una concentración de 4.42×10^7 esporas g^{-1} en un experimento de reproducción de *M. anisopliae* con maíz como sustrato sólido.

Sahayaraj y Karthick (2008) contabilizaron 1.12×10^9 esporas g^{-1} de *B. bassiana* con arroz y 9.4×10^8 esporas g^{-1} de *B. bassiana* con maíz como sustrato sólido.

La producción de gramos de esporas en la cosechadora fue mayor a la reportada por Karanja et al. (2010) que obtuvieron 28.8 g de esporas de *M. anisopliae* por kg de arroz y 14.72 g de esporas por kg de maíz quebrado mediante el uso de tamices vibratorios mientras que del hongo *B. bassiana* obtuvieron 29.52 g por kg de arroz y 7.08 g de esporas por kg de maíz quebrado procesado.

Jaronski y Jackson (2012) mencionan se obtiene aproximadamente 5×10^{10} esporas g^{-1} de *M. anisopliae* sembrado en arroz.

Gómez et al. (2014) menciona que concentraciones de 10^{10} esporas g^{-1} son aptas para su uso en campo.

7.3 Unidades formadoras de colonias de las esporas cosechadas

Después de realizar la inoculación de las diluciones en cajas Petri (Figura 42 y 43), a las 24 horas posteriores se contabilizaron las colonias germinadas como se muestra en las figuras 44, 45, 46 y 47.

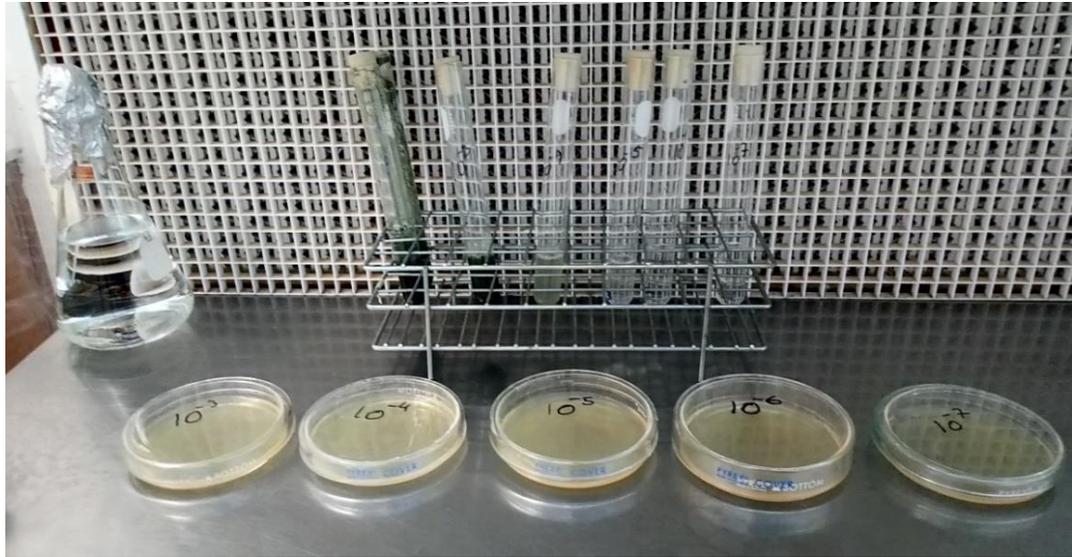


Figura 42. Cajas Petri inoculadas con las diluciones del hongo *Metarhizium anisopliae*.

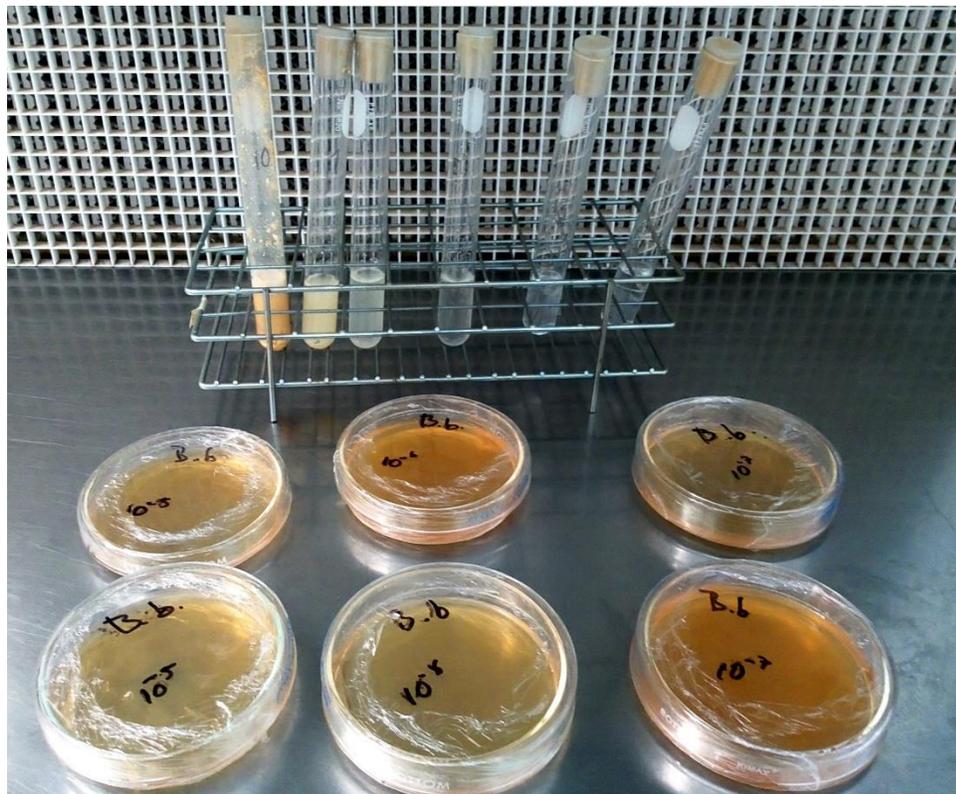


Figura 43. Cajas Petri inoculadas con las diluciones del hongo *Beauveria basusiana*.

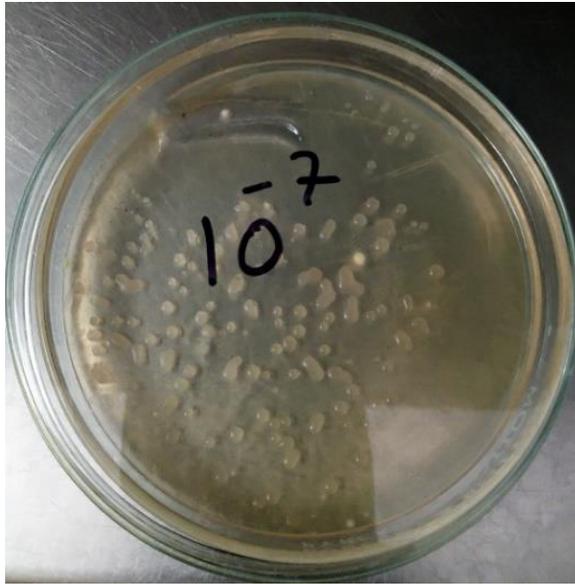


Figura 44. Colonias germinadas de *Metarhizium anisopliae* sembrado en maíz.

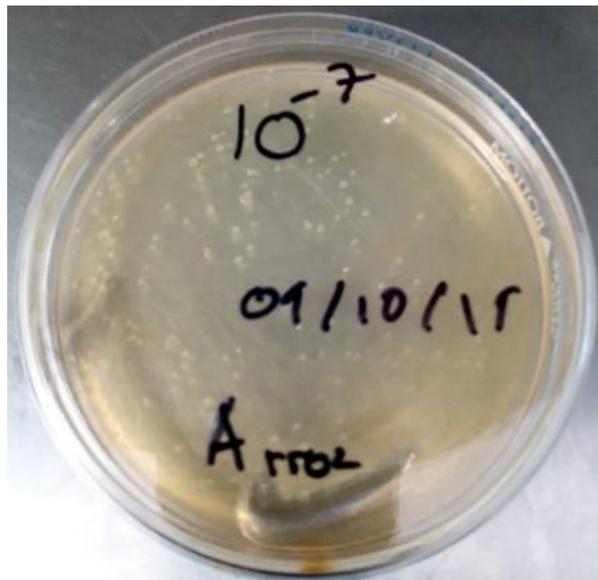


Figura 45. Colonias germinadas de *Metarhizium anisopliae* sembrado en arroz.

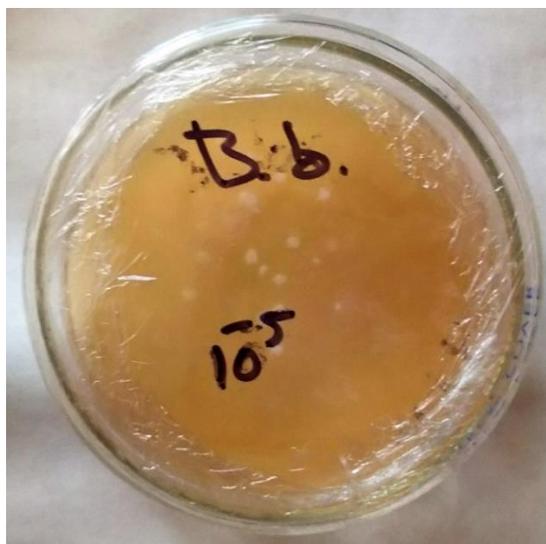


Figura 46. Colonias germinadas de *Beauveria bassiana* sembrado en arroz.

Se realizó el conteo de las UFC de las cajas con *M. anisopliae* sembrado en maíz quebrado, *M. anisopliae* sembrado en arroz, *B. bassiana* sembrado en maíz y *B. bassiana* sembrado en arroz. Con estos datos se estimó las unidades formadoras de colonias por mL de esporas (Cuadro 13). Se dejó crecer los cultivos de las cajas Petri y el resultado se muestra en las figuras 48, 49 y 50.



Figura 47. Colonias germinadas de *Beauveria bassiana* sembrado en maíz.

Cuadro 13. Unidades formadoras de colonias de los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*.

Sustrato	Hongo	UFC mL ⁻¹
Maíz quebrado	Ma	1.51 x 10 ⁹
Arroz	Ma	1.59 x 10 ⁹
Maíz quebrado	Bb	1 x 10 ⁹
Arroz	Bb	4.5 x 10 ⁸

Ma= *Metarhizium anisopliae*, Bb= *Beauveria bassiana*

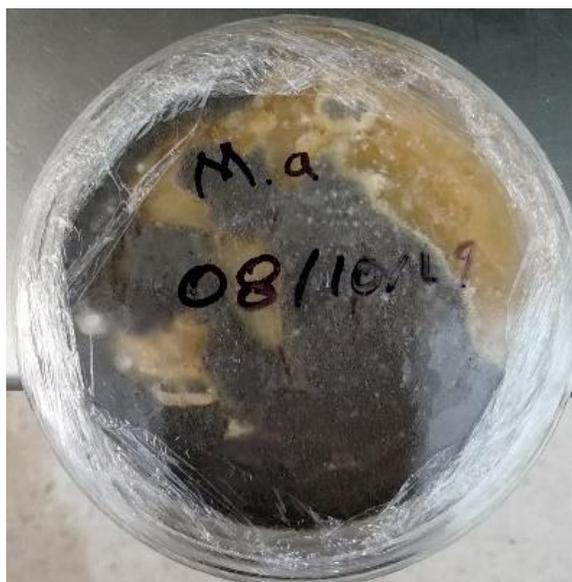


Figura 48. Hongo *Metarhizium anisopliae* cosechado de maíz quebrado.

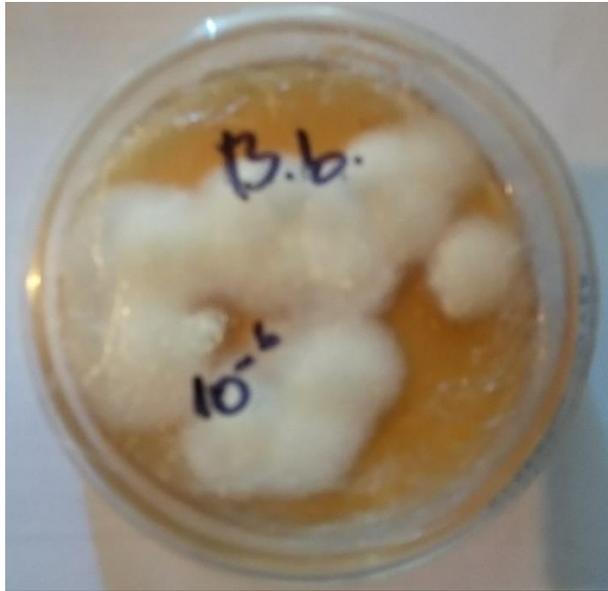


Figura 49. Hongo *Beauveria bassiana* cosechado de maíz quebrado.



Figura 50. Hongo *Beauveria bassiana* cosechado de maíz quebrado.

8. CONCLUSIONES

- Se realizó el diseño conceptual y fabricación de una cosechadora de esporas para los hongos entomopatógenos *M. anisopliae* y *B. bassiana* con baja huella de carbono y accionada solamente por la fuerza de la mano de un operario.
- Para el diseño y fabricación de la cosechadora se seleccionaron los materiales adecuados para cada función y disponibles a nivel local y nacional, con lo cual se cumplió con los principios de la manufactura sustentable.
- En las pruebas de funcionamiento, la cosechadora de esporas trabajó de manera adecuada con los sustratos sólidos arroz y maíz quebrado.
- La máquina cosechadora presentó mayor rendimiento a 31.50 g de esporas por kg de sustrato procesado con cada combinación de los dos sustratos y los dos hongos.
- La combinación de arroz y el hongo *M. anisopliae* presentaron el mejor rendimiento.
- Se detectó que el maíz quebrado requiere mayor tiempo de cosecha que el arroz.
- La cosechadora reduce las pérdidas por dispersión en el ambiente al trabajar en un medio hermético, sin embargo, los gramos cosechados no solo dependen de la máquina cosechadora, también de factoras como la cepa sembrada y el manejo que se le dé en el laboratorio al momento de la siembra.
- El prototipo diseñado de la cosechadora de esporas es un aporte significativo a la tecnificación del proceso de producción de bioplaguicidas formulados a base de hongos entomopatógenos.

9. RECOMENDACIONES

- Para cosechar esporas sembradas en arroz, se deberá accionar la máquina a 30 RPM aproximadamente durante 15 minutos por carga y 5 minutos de reposo antes de abrir el colector de esporas.
- En cosecha de esporas sembradas en maíz, se deberá accionar la máquina durante 20 minutos por carga, ya que la separación de las esporas es más lenta debido a que las partículas de maíz quebrado presentan menor dureza que el arroz.
- Lavar la cosechadora con agua y jabón y secarla antes de ponerla en funcionamiento.
- Revisar que no existan orificios en la cámara de separación antes de usar la cosechadora para prevenir fuga de esporas.
- Limpiar y guardar la cosechadora de esporas en un lugar seco y libre de polvo y/o agentes contaminantes.
- Un mal estado de los tamices provocará una mayor concentración de partículas de sustrato en el polvo de esporas obtenido en la cosecha, por lo que se deberá revisar los tamices y cambiar las mallas cuando presenten deterioro.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bateman, R. (2017). Dropdata. El nuevo MycoHarvester (versión 2017). Recuperado de http://www.dropdata.net/mycoharvester/MycoHarvester6_Spanish.pdf

Budynas, R. G., y Keith, N. J. (2015). *Shingley's Mechanical Engineering Design*. DF, México: McGrawHills.

Cañedo, V., y Ames, T. (2004). *Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos*. Lima, Perú: Centro Internacional de la Papa (CIP).

Castillo, C. E., Cañizalez, L. M., Valera, R., Godoy, J. C., Guedez, C., Olivar, R., y Morillo, S. (2012). Caracterización morfológica de *beauveria bassiana*, aislada de diferentes insectos en Trujillo – Venezuela. *ACADEMIA*, 11(23), 275-281.

Chandler, D., Bailey, A. S, Mark, G. T., Davidson, G., Greaves, J., y Grant, W. P. (2011). The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management (review). *Phil. Trans. R. Soc. B*, 366(1573), 1987-1998. doi:10.1098/rstb.2010.0390

Elósegui, C., Fernández, L. O., Ponce, E., Borgues G., Rovesti, L. y Jimenez, J. (2009). Colecta de esporas de *Trichoderma Harzianum* Rifai cepa A-34 por lecho fluidizado y ciclón dual y por tamizaje vibratorio. *Fitosanidad*, 13(4), 265-270.

Gandarilla, P. F., Arevalo, N. K., Galán, W. L., Sandoval, C. C. y Quintero, Z. I. (2012). Evaluation of conidia production and mycelial growth in solid culture media from

native strains of entomopathogenic fungi isolated from citrus-growing areas of México. *African Journal of Biotechnology*, 11(79), 14453-14460. doi:10.5897/AJB12.1658

Ghadge, P. N., y Prasad, K. (2012). Some Physical Properties of Rice Kernels: Variety PR-106. *J Food Process Techno*, 3(175). doi:10.4172/2157-7110.1000175

Glare, T. R., Milner, R. J. y Beaton, C. D. (1996). Variation in *Metarhizium*, a Genus of Fungal Pathogens Attacking Orthoptera: Is Phialide Morphology A Useful Taxonomic Criterion?. *Journal of Orthoptera Research*, (5), 19-27. doi:10.2307/3503572

Glare, T., Caradus, J., Gelernter, W., Jackson, T., Keyhani, N., Kohl, J., Marrone, P., Morin, N., y Stewart, A. (2012). Have biopesticides come of age?. *CelPress*, 30(5), 250-258. doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.01.003

Gómez, H. R., Zapata, A. G., Torres, E. D., y Tenorio, M. C. (2014). *Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos*. Perú: SENASA.

Haik, Y., y Shahin, T. M. (2018). *Engineering Design Process, 3rd Edition*. Stanford, USA: Cengage Learning.

Imoulan, A., Hussain, M., Kirk, P. M., Mesiane, A. E., y Yao, Y. (2017). Entomopathogenic fungus *Beauveria*: Host specificity, ecology and significance of morpho-molecular characterization in accurate taxonomic classification. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 20(4), 1204-1212. doi.org/10.1016/j.aspen.2017.08.015

- Jaronski, S. T., y Jackson M. A. (2012). Mass production of entomopathogenic Hypocreales. *Academic Press*. doi.org/10.1016/B978-0-12-386899-2.02001-7
- Jaronski, S. T. (2014). Mass Production of Entomopathogenic Fungi: State of the Art. *Academic Press*. doi.org/10.1016/B978-0-12-391453-8.00011-X
- Jenkins, N. E., Heviefó, G., Langewald, J., Cherry, E. J., y Lomer, C. J. (1998). Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycopesticides. *Biocontrol News and Information*, 19(1), 21-31.
- Karanja, L. W., Phiri, N. A., y Oduor, G. I. (2010). Effect of different solid substrates on mass production of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* entomopathogens. In 12th KARI Biennial Science Conference proceedings, pp. 789– 797.
- Krishna, C. (2008). Solid-State Fermentation Systems—An Overview. *Critical Reviews in Biotechnology*. doi.org/10.1080/07388550590925383
- Kumar, A. B., Rao, P. V. y Edukondalu, L. (2017). Physical propeties of maize of grains. *International Journal of Agriculture Sciences*, 9(27), 4338-434.
- Labarrete, S. N., Ávila, R. I., Orozco, M. J. E., Pauste, R. H., Fernández, L. B. L., Guevara, A. M. E., y Díaz, P. H. (2014). Afecciones limitantes para trabajar en la elaboración de bioplaguicidas fúngicos producidos sobre sustratos sólidos. *Revista Cubana de salud y Trabajo*, 15(1), 21-24.

- Monge, C., Cruz, J. y López, F. (2013). Impacto de la Manufactura Esbelta, Manufactura Sustentable y Mejora Continua en la Eficiencia Operacional y Responsabilidad Ambiental en México. *Información Tecnológica*, 24(4), 15-32. doi.org/10.4067/S0718-07642013000400003
- Mota, D. P. A., y Murcia, O. B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Ambi-Agua*. doi:10.4136/ambi-agua.187
- Nava, P. E., García, G. C., Camacho, B. J. R., y Vázquez, M. E. L. (2012). Bioplaguicidas: Una opción para el control biológico de plaga. *Ra Ximhai*, 8(3), 17-29.
- Pandey, A. K. y Kanaujia, K. R. (2008). Effect of different grains as solid substrates on sporulation, viability and pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin. *Journal of Biological Control*, 22(2), 369-374.
- Posada, F. F. (2008). Production of *Beauveria bassiana* fungal spores on rice to control the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Colombia. *Journal of Insect Science*, 8(41), 1-13. doi: 10.1673/031.008.4101
- Roy, H. E., Steinkraus, D. C., Eilenberg, J., Hajek, A. E., y Pell, J. K. (2006). BIZARRE INTERACTIONS AND ENDGAMES: Entomopathogenic Fungi and Their Arthropod Hosts. *Annu. Rev. Entomol*, 51(1), 331-357. doi: 10.1146/annurev.ento.51.110104.150941
- Sharma, N., y Singhvi, R. (2017). Effects of Chemical Fertilizers and Pesticides on Human Health and Environment: A Review. *Environment and Biotechnology*, 10(6), 675-679. doi: 10.5958/2230-732X.2017.00083.3

11. ANEXOS

ANEXO 1. Planos de la cosechadora

