



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE CARRERA: MEDIO AMBIENTE

**INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO EN MEDIO
AMBIENTE**

MODALIDAD: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**INCIDENCIA DEL *Metarhizium anisopliae* SOBRE LA
ENTOMOFAUNA BENÉFICA DE CULTIVOS DE MAÍZ BAJO
CONDICIONES DE CAMPO CONTROLADAS EN LA ESPAM MFL**

AUTORES:

**SÁNCHEZ BRAVO JUAN GABRIEL
VÉLEZ LÓPEZ ARIEL MARCEL**

TUTOR:

ING. FABRICIO ENRIQUE ALCÍVAR INTRIAGO, M.Sc.

CALCETA, OCTUBRE 2021

DERECHOS DE AUTORÍA

JUAN GABRIEL SÁNCHEZ BRAVO y **ARIEL MARCEL VÉLEZ LÓPEZ**, declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedemos los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su reglamento.



JUAN GABRIEL SÁNCHEZ BRAVO



ARIEL MARCEL VÉLEZ LÓPEZ

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

ING. FABRICIO ENRIQUE ALCÍVAR INTRIAGO M. Sc. certifica haber tutelado la tesis **INCIDENCIA DEL *Metarhizium anisopliae* SOBRE LA ENTOMOFAUNA BENÉFICA DE CULTIVOS DE MAÍZ BAJO CONDICIONES DE CAMPO CONTROLADAS EN LA ESPAM MFL**, que ha sido desarrollada por **JUAN GABRIEL SÁNCHEZ BRAVO** y **ARIEL MARCEL VÉLEZ LÓPEZ**, previa a la obtención del título de Ingeniero en Medio Ambiente, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE TITULACIÓN ESPECIAL DE PROGRAMAS DE GRADO** de la **Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López**.

ING. FABRICIO ENRIQUE ALCÍVAR INTRIAGO M. Sc

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaran que han **APROBADO** el trabajo de titulación **INCIDENCIA DEL *Metarhizium anisopliae* SOBRE LA ENTOMOFAUNA BENÉFICA DE CULTIVOS DE MAÍZ BAJO CONDICIONES DE CAMPO CONTROLADAS EN LA ESPAM MFL**, que ha sido propuesto, desarrollado y sustentado por **JUAN GABRIEL SÁNCHEZ BRAVO** y **ARIEL MARCEL VÉLEZ LÓPEZ**, previa a la obtención del título de **Ingeniero en Medio Ambiente**, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE TITULACIÓN ESPECIAL DE PROGRAMAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. JOFFRE ANDRADE CANDELL M. Sc.

MIEMBRO

Ing. CARLOS VILLAFUERTE VÉLEZ M. Sc

MIEMBRO

Ing. VERÓNICA VERA VILLAMIL M. Sc.

PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día;

A Dios, por ponernos en el camino a personas el Tnlgo. Alfredo Pinargote, Ing. Diego Pazmiño, Ing. Christopher Suarez, Ing. Piero Fajardo, Ing. Sergio Vélez y demás, quienes fueron un gran apoyo en las distintas etapas de la investigación.

A nuestras familias que han sido el soporte económico, sentimental y espiritual para llegar a cada uno de nuestros logros.

A nuestros amigos y compañeros, quienes se convirtieron en hermanos.

A cada una de las autoridades, docentes, administrativos y demás de la carrera de Medio Ambiente y de la ESPAM MFL en general.



JUAN GABRIEL SÁNCHEZ BRAVO



ARIEL MARCEL VÉLEZ LÓPEZ

DEDICATORIA

A Dios.

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí.

A mi familia.

A mis amigos.

A mis compañeros.



ARIEL MARCEL VÉLEZ LÓPEZ

DEDICATORIA

A Dios, quien es la fuente de sabiduría y me brindó la calma en los momentos de desesperanza.

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, que me abrió las puertas hacia el progreso y el aprendizaje dentro y fuera de sus aulas educativas.

A mis hijas, por ser el motor que me impulsa día con día a avanzar y llevarlas conmigo de la mano.

A mi mamá, papá, hermanos y sobrinos por ser la inspiración para alcanzar este logro y ser el pilar fundamental en el trayecto del mismo.

A mis compañeros y amigos.



JUAN GABRIEL SÁNCHEZ BRAVO

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
CONTENIDO GENERAL.....	viii
CONTENIDO DE TABLAS Y FIGURAS	xii
RESUMEN	xiii
PALABRAS CLAVE.....	xiii
ABSTRACT	xiv
KEYWORDS	xiv
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1 PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	2
1.3 OBJETIVOS.....	3
1.3.1 OBJETIVO GENERAL.....	3
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
1.4 HIPÓTESIS.....	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1 MAÍZ (ZEA MAYS).....	5
2.1.1 PREPARACIÓN DEL SUELO	5
2.1.2 TÉCNICA DE CULTIVO DEL MAÍZ.....	6
2.1.3 FORMAS DE RIEGO.....	6
2.1.4 ENFERMEDADES.....	7
2.1.5 PLAGAS	7
2.2 CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS	8
2.2.1 VENTAJAS.....	9

2.2.2	INCONVENIENTES.....	9
2.2.3	PRINCIPALES HOSPEDEROS.....	10
2.3	ENTOMOFAUNA BENÉFICA	10
2.3.1	PREDADORES	11
2.3.2	PARASITOIDES	11
2.4	ENTOMOFAUNA BENÉFICA EN LOS CULTIVOS DE MAÍZ.....	12
2.4.1	DESAPARICIÓN	12
2.5	AMBIENTE CONTROLADO EN UN CULTIVO DE MAÍZ	13
2.6	HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.....	13
2.6.1	MODO DE ACCIÓN	14
2.6.2	CICLO DE VIDA COMO CONTROLADOR DE PLAGAS	14
2.7	METARHIZIUM ANISOPLIAE	14
2.8	GUÍA DE CAMPO	16
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO		17
3.1	UBICACIÓN	17
3.2	DURACIÓN DEL TRABAJO	17
3.3	MÉTODOS Y TÉCNICAS	18
3.3.1	MÉTODOS	18
3.3.2	TÉCNICAS	18
3.4	FACTOR DE ESTUDIO	19
3.5	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	19
3.6	NIVEL.....	20
3.6.1	FUENTE DE VARIABILIDAD	20
3.7	UNIDAD EXPERIMENTAL.....	21
3.8	VARIABLES	21
3.8.1	INDEPENDIENTE	21
3.8.2	DEPENDIENTE	22
3.9	FASE 1. ESTABLECIMIENTO DE LAS CONCENTRACIONES DEL HONGO METARHIZIUM ANISOPLIAE PARA EL CONTROL DE PLAGAS	

DEL CULTIVO DE MAÍZ BAJO CONDICIONES CONTROLADAS EN LA ESPAM MFL.....	22
3.10 FASE 2. DETERMINACIÓN DE LA AFECTACIÓN DE LA ENTOMOFAUNA BENÉFICA EXISTENTE EN LOS CULTIVOS DE MAÍZ PARA MEDIR LA INCIDENCIA DEL HONGO METARHIZIUM ANISOPLIAE EN DIFERENTES CONCENTRACIONES.....	26
3.11 FASE 3. ELABORACIÓN DE UNA GUÍA DE CAMPO PARA EL USO ADECUADO DEL HONGO METARHIZIUM ANISOPLIAE COMO ALTERNATIVA PARA LA PRESERVACIÓN DE LA ENTOMOFAUNA BENÉFICA DE LOS CULTIVOS DE MAÍZ	29
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
4.1 ESTABLECIMIENTO DE LAS CONCENTRACIONES DEL HONGO METARHIZIUM ANISOPLIAE PARA EL CONTROL DE PLAGAS DEL CULTIVO DE MAÍZ BAJO CONDICIONES CONTROLADAS EN LA ESPAM MFL	30
4.1.1 PREPARACIÓN DEL SUELO	30
4.1.2 DELIMITACIÓN DE PARCELAS.....	30
4.1.3 SIEMBRA DEL CULTIVO DE MAÍZ	31
4.1.4 CARACTERIZACIÓN DE LOS INSECTOS PRESENTES EN LOS CULTIVOS DE MAÍZ PRE-APLICACIÓN DEL METARHIZIUM ANISOPLIAE	31
4.1.5 IMPLEMENTACIÓN DE UN AMBIENTE DE CAMPO CONTROLADO	32
4.1.6 INOCULACIÓN DEL METARHIZIUM ANISOPLIAE.....	32
4.2 DETERMINACIÓN DE LA AFECTACIÓN DE LA ENTOMOFAUNA BENÉFICA EXISTENTE EN LOS CULTIVOS DE MAÍZ PARA MEDIR LA INCIDENCIA DEL HONGO METARHIZIUM ANISOPLIAE EN DIFERENTES CONCENTRACIONES	34
4.2.1 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE LA ENTOMOFAUNA BENÉFICA ASOCIADA A LOS CULTIVOS DEL MAÍZ POST-APLICACIÓN DEL HONGO METARHIZIUM ANISOPLIAE.....	34

4.2.2 ANÁLISIS DEL PARASITISMO DEL HONGO METARHIZIUM ANISOPLIAE.....	41
4.2.3 MORTALIDAD DE LA ENTOMOFAUNA BENÉFICA.....	42
4.2.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	44
4.3 ELABORACIÓN UNA GUÍA DE CAMPO PARA EL USO ADECUADO DEL HONGO METARHIZIUM ANISOPLIAE COMO ALTERNATIVA PARA LA PRESERVACIÓN DE LA ENTOMOFAUNA BENÉFICA DE LOS CULTIVOS DE MAÍZ	47
4.3.1 REALIZACIÓN DE UNA GUÍA DE CAMPO	47
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	59
5.1 CONCLUSIONES	59
5.2 RECOMENDACIONES	60
BIBLIOGRAFÍA	61
ANEXOS	72

CONTENIDO DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

Tabla 2.1. Taxonomía del maíz.	5
Tabla 3.1. Descripción del DBCA.	19
Tabla 3.2. Descripción de los tratamientos.	20
Tabla 4.1. Caracterización de la entomofauna presente en los cultivos de maíz.	31
Tabla 4.2. Muerte de avispa cubo (<i>Synoeca septentrionalis</i>).	35
Tabla 4.3. Muerte de araña saltarina (<i>Phidippus johnsoni</i>).	36
Tabla 4.4. Muerte de chinche zelus (<i>Zelus renardii</i>).	37
Tabla 4.5. Muerte de chalaco (<i>Nannotrigona perilampoides</i>).	37
Tabla 4.6. Muerte de avispa negra de puntas blancas (<i>Parachartergus apicalis</i>).	38
Tabla 4.7. Muerte de Polistes cinerascens.	39
Tabla 4.8. Muerte de avispa chaqueta amarilla (<i>Ropalidia marginata</i>).	40
Tabla 4.9. Muerte de abeja europea (<i>Apis mellífera</i>).	40
Tabla 4.10. Especies de hongos encontrados en las especies de insectos benéficos.	41
Tabla 4.11. Mortalidad de la Entomofauna.	43
Tabla 4.12. Prueba de normalidad de la distribución de datos, basada en el Test de Shapiro-Wilk.	44
Tabla 4.13. ANOVA de la incidencia del <i>Metarhizium anisopliae</i> sobre la entomofauna benéfica de cultivos de maíz.	45
Tabla 4.14. Prueba post hoc (HDS Tukey).	46
Tabla 4.15. Mortalidad de entomofauna benéfica por tratamiento.	47

FIGURAS

Figura 3.1. Mapa de ubicación del sitio de estudio experimental.	17
Figura 3.2. Croquis de campo.	¡Error! Marcador no definido.

RESUMEN

El objetivo de la investigación consistió en evaluar la incidencia del *Metarhizium anisopliae* sobre la entomofauna benéfica del cultivo de maíz, bajo condiciones de campo controladas en la ESPAM. El estudio fue experimental y de campo, comprendido en tres etapas. La primera consistió en el establecimiento de las concentraciones de *Metarhizium anisopliae* mediante: preparación del terreno (labranza y abonado), delimitación de parcelas bajo un DBCA, siembra experimental, caracterización de la entomofauna, control de las condiciones experimentales, obtención y reactivación del *Metarhizium anisopliae* en laboratorio, e inoculación, 15 días después de la germinación del maíz (T_0 : 0,00; T_1 : 0,5; T_2 : 1,00; y T_3 : 1,5 g/l). En la etapa 2 se determinó la afectación de la entomofauna benéfica mediante la estimación de parasitismo y mortalidad, apoyada con pruebas estadísticas (ANOVA y Tukey). La última etapa comprendió la elaboración de una guía de campo para la obtención, multiplicación y aplicación del *Metarhizium anisopliae*. Los resultados mostraron un total de 17 especies asociadas al cultivo experimental: 8 del orden Himenóptera, 4 del Hemiptera, 2 del Lepidoptera, y 1 del Araneae, Coleópteros, Mantodea, y Lepidóptera. Se determinó que el *Metarhizium anisopliae* afectó a 8 especies benéficas; siendo más letal T_3 y menos letal T_2 . Hubo significancia ($p < 0,05$) entre tratamientos, particularmente en T_3 . En T_2 y T_1 la tasa de mortalidad no superó el 20%, lo que permite aceptar la hipótesis del estudio. Se concluye que, a mayor dosis, el *Metarhizium anisopliae* incide significativamente en la afectación de la entomofauna benéfica del cultivo de maíz.

PALABRAS CLAVE

Metarhizium anisopliae; muerte de especies; individuos de entomofauna benéfica.

ABSTRACT

The objective of the research was to evaluate the incidence of *Metarhizium anisopliae* on the beneficial entomofauna of maize under controlled field conditions at ESPAM. The study was experimental and field-based, comprising three stages. The first stage consisted of the establishment of *Metarhizium anisopliae* concentrations by means of: soil preparation (tillage and fertilisation), delimitation of plots under a DBCA, experimental sowing, characterization of the entomofauna, control of experimental conditions, obtaining and reactivation of *Metarhizium anisopliae* in the laboratory, and inoculation, 15 days after maize germination (T_0 : 0.00; T_1 : 0.5; T_2 : 1.00; and T_3 : 1.5 g/l). In stage 2, the impact on beneficial entomofauna was determined by estimating parasitism and mortality, supported by statistical tests (ANOVA and Tukey). The last stage involved the development of a field guide for the procurement, multiplication and application of *Metarhizium anisopliae*. The results showed a total of 17 species associated with the experimental crop: 8 from the order Hymenoptera, 4 from Hemiptera, 2 from Lepidoptera, and 1 each from Araneae, Coleoptera, Mantodea, and Lepidoptera. *Metarhizium anisopliae* was found to affect 8 beneficial species; T_3 being more lethal and T_2 less lethal. There was significance ($p < 0.05$) between treatments, particularly in T_3 . In T_2 and T_1 , the mortality rate did not exceed 20%, which allows us to accept the study hypothesis. It is concluded that, at higher doses, *Metarhizium anisopliae* significantly affects the beneficial entomofauna of the maize crop.

KEYWORDS

Metarhizium anisopliae; Species death; Beneficial entomofauna individuals.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1 PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

A partir de la Revolución Industrial, el planeta experimentó un incremento masivo en las zonas urbanas, las cuales a su vez dependen de las zonas rurales para la obtención de alimentos. Con la Revolución Verde, en la década de los 60, se impulsó una mayor productividad bajo el uso de sustancias químicas, las cuales controlaban las plagas que atacaban a los cultivos (Del Puerto, Suárez y Palacio, 2014). Con la sobrepoblación mundial, la agricultura tradicional tomó un giro importante dentro de la revolución verde, donde se desarrollaron semillas de alto rendimiento para mejorar la producción del maíz, arroz y trigo principalmente (Bonilla y Singaña, 2019).

Campoverde (2018) manifiesta que, en Guayas, Los Ríos, Santa Elena y los cantones Santa Ana, Paján y Chone de Manabí, se declaró emergencia sanitaria para los cultivos de maíz debido a la proliferación de plagas, tales como el gusano cogollero, gusano ejército, hongos, bacterias y otras enfermedades. Esto provocó la intensificación del uso de plaguicidas, bajo aplicaciones empíricas; lo que afecta a la biota existente en los cultivos y en zonas adyacentes a las áreas de aplicación. Por otro lado, el uso excesivo de plaguicidas afecta tanto a organismos plaga como a la entomofauna benéfica, la cual ha visto una disminución potencial en los últimos años (García y Rodríguez, 2012).

Basados en la creciente necesidad por convertir y transformar el modelo agrícola convencional hacia modelos ecológicos y sustentables, como en el caso de la agroecología y el uso de biocidas, se hace primordial la protección de la entomofauna benéfica, la cual es considerada, como una herramienta útil y estratégica para manejo integrado de plagas en los agroecosistemas de cultivos de ciclo corto como en el caso del maíz, por otro lado, la mayor preocupación radica en la disminución de polinizadores y enemigos naturales de las especies plaga que atacan este cultivos (Guzmán *et al.*, 2016).

La diversidad de insectos cumple con un papel importante en los procesos de fragmentación de la cobertura vegetal, en los ciclos de nutrientes y en la dieta de

otros organismos consumidores (Fernandez, Pérez y Bedoya, 2017). Arboleda (2019) manifiesta que la aplicación de hongos entomopatógenos considera un impacto menor al ambiente, sin embargo, deben ser aplicados bajo condiciones idóneas de temperatura y humedad además necesitan de la presencia de hospederos. Por todo lo antes mencionado se plantea la siguiente interrogante:

¿Cómo incide la aplicación del hongo *Metarhizium anisopliae* en diferentes concentraciones sobre la entomofauna benéfica de los cultivos de maíz bajo condiciones de campo controladas en la ESPAM MFL?

1.2 JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo de investigación toma importancia considerando diferentes puntos de vista; ya que al aprobar la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible, hubo un compromiso por parte de los organismos internacionales para mejorar las condiciones de vida de la humanidad, el ambiente y la forma de producir alimentos (FAO, 2017); sin embargo, en Ecuador es muy común el uso de toda clase de fitosanitarios, debido a la alta demanda de alimentos y en pro de mantener la seguridad alimentaria, un tema de relevancia mundial (FAO [Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura], 2012).

Desde lo ambiental, la investigación enmarca el impacto que ocasionan los agroquímicos en la entomofauna del cultivo de maíz, muchos insectos se eliminan de forma indirecta a partir del uso de estos, sin mencionar los efectos causados al ambiente por las partículas residuales de los mismos (Hurtado, 2013). Es importante determinar los diferentes tipos de insectos que resultan afectados, considerando que varios de estos son esenciales y beneficiosos (Hidalgo, 2017).

Desde lo económico, ya que en Manabí se cultiva un total de 80.000 ha de maíz, siendo la segunda provincia del Ecuador con mayor superficie sembrada (El Diario, 2019); sin embargo, Reyes y Paucar (2017) manifiestan que los insectos-plaga se propagan hasta en el 40% de la siembra, razón por la cual los agricultores utilizan una gran gama de fitosanitarios para su control; esto ha

ocasionado desequilibrios biológicos que han originado la casi desaparición de los depredadores naturales de dichos organismos (Cabrera *et al.*, 2016).

Dentro del contexto local, esta investigación busca determinar el efecto que produce la aplicación del biocida compuesto por el hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* a la entomofauna benéfica del cultivo de maíz en condiciones de campo controlada, tomando como base las metodologías existentes en cuanto a la utilización de estos controladores biológicos, así como lo establecido en la Ley Orgánica del Régimen de la Soberanía Alimentaria, Cap. 3, literal d; citado por la FAO (2016) la cual promueve incentivar el consumo de alimentos sanos, nutritivos de origen agroecológico y orgánico, evitando en lo posible la expansión del monocultivo y la utilización de cultivos agroalimentarios en la producción de biocombustibles, priorizando siempre el consumo alimentario nacional; además de establecer precedentes útiles para investigaciones posteriores.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la incidencia del hongo *Metarhizium anisopliae* sobre la entomofauna benéfica de cultivos de maíz bajo condiciones de campo controladas en la ESPAM MFL.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer las concentraciones del hongo *Metarhizium anisopliae* para el control de plagas del cultivo de maíz bajo condiciones de campo controladas en la ESPAM MFL.
- Determinar la afectación de la entomofauna benéfica existente en los cultivos de maíz para medir la incidencia del hongo *Metarhizium anisopliae* en diferentes concentraciones.
- Elaborar una guía de campo para la obtención, multiplicación y aplicación del hongo *Metarhizium anisopliae* como alternativa para la preservación de la entomofauna benéfica de los cultivos de maíz.

1.4 HIPÓTESIS

Al menos una de las concentraciones de los tratamientos a base de *Metarhizium anisopliae* afectó en una proporción menor al 20% a la entomofauna benéfica presente en los cultivos de maíz de la ESPAM MFL.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 MAÍZ (*Zea mays*)

El maíz es una gramínea anual, originaria de México, introducida en Europa durante el siglo XVI, luego de la invasión española (Pliego, 2020). Esta gramínea constituye uno de los principales alimentos en la dieta de la población latinoamericana (Penelo, 2018). La mayor parte de la energía y proteína que se consume en estos países proviene de este cultivo, es por ello que, en la actualidad, es el cereal de mayor producción en el mundo, por encima del trigo y el arroz (FAO, 2020). Varios autores, al igual que Sánchez (2014) mencionan que el maíz está ubicado en la siguiente posición taxonómica:

Tabla 2.1. Taxonomía del maíz.

Reino:	Plantae
Subdivisión:	Magnoliophyta
Clase:	Liliopsida
Subclase:	Commelinidae
Orden:	Poales
Familia:	Poaceae
Subfamilia:	Panicoideae
Tribu:	Andropogoneae
Subtribu:	Tripsacinae
Género:	<i>Zea</i>
Especie:	<i>Mays</i>

Fuente: (Sanchez, 2014).

2.1.1 PREPARACIÓN DEL SUELO

Es importante revisar las condiciones en las que se encuentra el suelo, debido a que la compactación de estos, causan efectos adversos en las plantaciones, es por ello que se recomienda un suelo manejable, lleno de terrones que formen macroporos, estos permiten el paso del aire y ayuda a que las raíces dentro del suelo puedan recibir una cantidad de oxígeno adecuada para su correcto desarrollo (AGRIPAC, 2016). El óptimo laboreo y una limpieza adecuada del terreno son un factores fundamentales para el perfecto desarrollo del cultivo durante todo su ciclo de producción, se recomienda un correcto abonado y la elección de la variedad según las condiciones climatológicas, morfología del terreno y edafología del suelo (Blanco, 2016).

2.1.2 TÉCNICA DE CULTIVO DEL MAÍZ

Una de las técnicas de sembrío del maíz más conocida es la conocida como a golpes, que consiste en abrir orificios de 3 cm aproximadamente con un espeque, en cada hoyo se depositan tres o más semillas, teniendo en cuenta la eliminación del excedente cuando la planta alcance una altura que oscile entre los 25-30 cm. Es conveniente dejar un espacio entre matas de entre 20 y 30 cm de paso, esto con el fin de evitar una polinización cruzada; la forma usual de sembrar este tipo de cultivos es en hileras, estas deben tener una separación de 0,75-1 m de ancho (Franquesa, 2016).

2.1.3 FORMAS DE RIEGO

El riego por goteo: Es uno de los sistemas más eficientes y al ser combinado con la fertilización, genera una nutrición uniforme en el cultivo, menor incidencia de malezas, menores costos de mano de obra, menor impacto al ambiente y un uso eficiente de insumos como fertilizantes, plaguicidas, entre otros (AgroSíntesis, 2016). Demin (2014) manifiesta que este es uno de los sistemas de mayor eficiencia tanto en el gasto corriente de agua como en la puntualidad con que se riega la planta, además de ayudar a la formación de un bulbo húmedo que favorece al desarrollo de la raíz en la planta.

Riego por surcos: Es una técnica que se aplica a través de un canal principal, este se conecta con canales secundarios que poseen un declive que oscila entre el 1 y 3%, la distancia entre surcos dependerá de la cobertura foliar del cultivo a sembrar; por otro lado, en los extremos finales de los surcos, existen canales secundarios de evacuación que sirve para eliminar el exceso de agua (Cueva y Groten, 2010). Según Demin (2014) esta técnica requiere cantidades considerables de agua para poder regar una mayor superficie de cultivo, por otro lado, la longitud promedio de los cultivos y la separación entre surcos depende en gran medida de la infiltración y el perfil de suelo.

Riego por aspersión: Esta técnica simula las gotas de lluvia, al esparcir un chorro de agua pulverizada, en este caso, el agua se transporta mediante tuberías hasta los aspersores (Agropinos, 2020). Para Demin (2014) este método tiende a utilizar cantidades considerables de energía eléctrica debido a que la

presión que necesita esta técnica es potenciada por un sistema de bombeo, además de causar muchas pérdidas de agua debido a la cantidad de terreno innecesario que cubre tras su riego.

2.1.4 ENFERMEDADES

El ambiente, localidad, época, y campo de cultivo, son los principales factores que inciden en la proliferación de organismos plaga de diversa índole (bacterias, hongos, virus y nemátodos) que pueden provocar la mayoría de enfermedades en los cultivos (Ruiz, 2018). Las alternativas para controlar dichas enfermedades incluyen el uso de semillas híbridas que sean resistentes a enfermedades o mediante la aplicación de buenas prácticas de cultivo como lo son el control de maleza y uso correcto de fertilizantes, fungicidas y regío (Ruiz *et al.*, 2015).

2.1.5 PLAGAS

La producción de maíz tiene una gran incidencia con los daños que ocasionan enfermedades climáticas y plagas, estas últimas al no ser controladas, causan daños en la cosecha y la economía de los productores (AgroSíntesis, 2016). Cabeza (2018) manifiesta que todo tipo de insectos plaga reduce la producción agrícola, destruyendo los diferentes órganos de la planta en forma parcial o total. Entre las plagas más importantes están:

- **El gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*):** Es la principal plaga de follaje del maíz, pudiendo causar la muerte de la planta en sus primeras etapas de desarrollo, también la larva puede atacar tanto a la mazorca como a la panoja de la planta. (Lezaun, 2015).
- **El gusano gris y el gusano verde:** Dado que afectan las hojas y frutos, son perjudiciales para los cultivos. Estas plagas pueden ser controladas con el uso de *Bacillus* en el momento de la germinación, ya que este es el momento de mayor vulnerabilidad de la planta (Cabeza, 2018).
- **El gusano blanco:** También se denomina popularmente como gallinita ciega, estas larvas de diversos tipos viven bajo tierra y consumen las raíces de la planta para alimentarse (Paredes, 2019).

- **Pulgón del maíz:** En cualquier plantación de maíz puede haber muchas especies de pulgones; estos causan estragos en diferentes partes de la plantación, como la hoja y la espiga. (Lezaun, 2015).
- **Taladro del maíz:** Aunque es una oruga, se la conoce con este nombre porque se inserta en el centro del fruto para consumirlo desde el interior. Dado que los tratamientos existentes carecen de acción directa sobre el fruto, lo más recomendable es aplicar el tratamiento cuando el fruto empieza a desarrollarse (Penelo, 2018).
- **Araña roja:** Ataca al cultivo en cualquier etapa, siendo más frecuente con las altas temperaturas. Existen tratamientos muy agresivos para neutralizar estos ácaros, por tanto, es indispensable aplicar la dosis recomendada por los laboratorios (Cabeza, 2018).
- **Mosquitos verdes:** Son muy difíciles de identificar a causa de su diminuto tamaño, suelen encontrarse en cultivos de maíz, vuelan con facilidad y tienen un aspecto de triángulo (Martinez, 2016).
- **El gusano del alambre:** Esta plaga está formada por larvas de escarabajo que viven bajo tierra a lo largo de los años, es por ello que son difíciles de combatir (Cabeza, 2018).

2.2 CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS

Aunque muchos organismos pueden ser eficaces para el control de plagas, no todos pueden ser utilizados como agentes de control microbiano (Pacheco, Resendiz y Victor, 2019). El proceso de desarrollo de un agente de control microbiano conlleva a varias etapas desde el aislamiento hasta su uso, las cuales deben tener una secuencia determinada (Zamudio *et al.*, 2015).

De acuerdo con OIEA [Organización Internacional de Energía Atómica], (2018) el control biológico consiste en la manipulación de enemigos naturales para disminuir o neutralizar por completo a parásitos que ataquen una plantación determinada.

Los insecticidas permiten eliminar plagas en la agricultura, sin embargo, estos han causado preocupaciones a nivel mundial debido a los efectos nocivos en el ambiente y en la salud de las personas, por lo cual, existe una creciente sustitución de estas sustancias por controladores biológicos e insecticidas ecológicos (Elorza, 2015). El control biológico fue originalmente definido como la acción de parásitos, depredadores o patógenos que mantienen poblaciones de otros organismos a un nivel más bajo de lo que pudiera ocurrir en su ausencia (UNAB [Universidad Andrés Bello], 2017).

2.2.1 VENTAJAS

El control biológico es un pilar fundamental para la seguridad e inocuidad en los alimentos, produce un menor daño al ambiente y brinda seguridad en la salud de los seres vivos (Roorevelt, 2017). Este método impide de forma natural las poblaciones de parásitos en los cultivos, asegurando altos niveles de cosecha a los productores (Bustamante y Gomez, 2010). Acosta (2020) menciona que entre las ventajas más relevantes del control biológico se pueden citar:

- Se omite la necesidad de emplear insecticidas para el control de parásitos.
- El efecto de este método tiene un comportamiento cíclico.
- La relación costo-beneficio se subsana a largo plazo.

2.2.2 INCONVENIENTES

La técnica de control biológico requiere mucha paciencia y entretenimiento y un mayor estudio biológico (Acosta, 2020). Muchos enemigos naturales son susceptibles a pesticidas por lo que su manejo debe de ser cuidadoso (Roorevelt, 2017). Los resultados del control biológico son lentos, ya que los enemigos naturales atacan a un tipo específico de insectos, contrario a los insecticidas que matan una amplia gama de plagas y benéficos (Fernández, 2015). Roorevelt (2017) manifiesta que las limitaciones más importantes del control biológico son:

- Falta de conocimiento sobre los principios del método
- Inexistencia de personal especializado

- Escasez de apoyo económico
- Inaccesible para la mayoría de productores
- Presenta enemigos naturales
- Son de acción lenta.

2.2.3 PRINCIPALES HOSPEDEROS

De acuerdo con Acosta (2020) los hospedantes que afectan patogénicamente depende del aislamiento y de la especie en cuestión:

- *Metarhizium* y *Beauveria*: tiene efecto sobre varios órdenes de insectos con especies como lepidópteros (*Mocis*, *Spodoptera*), Ortópteros (*Locusta*, *Schistocerca*), coleópteros (*Cosmopolitas*, *Pachnaeus*).
- *Lecanicillum lecanii*, *L. longisporum* y *L. muscarium*: neutraliza especies de áfidos (*Myzus*, *Aphis*) y mosca blanca (*Bemisia*),
- *Paecilomyces fumosoroseus*: afecta lepidópteros (*Spodoptera*); especies de áfidos (*Aphis*, *Myzus*) y mosca blanca (*Bemisia*),
- *Trichoderma spp*: contra patógenos fúngicos de suelo y foliares (*Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Sclerotium*, *Alternaría*) y sobre nemátodos.
- *Pochonia chlamidosporia* (*Verticillum chlamidosporium*): ataca quistes de nemátodos (*Giobodera*) u ootecas de nemátodos agalladores (*Meloidogyne*),

2.3 ENTOMOFAUNA BENÉFICA

Según Estrada y Clara, (2016) la entomofauna benéfica, son aquellos organismos que se alimentan de otros insectos plaga para poder completar su desarrollo. Martínez (2010) menciona que se consideran benéficos a aquellos que contribuyen a mantener la población de las plagas a niveles en los que no causen un umbral de daño significativo a las plantaciones del cultivo ni a la economía del productor. Algunas especies de insectos son enemigos naturales de las plagas, bajo este criterio se emplean entomopatogenos, saprofitos

depredadores y parasitoides con el fin de reducir el uso de pesticidas químicos (Sela, 2018).

De Acuerdo con Escobar (2015) se emplean controladores naturales, con el fin de disminuir los niveles de plaga dentro de los cultivos, siendo un método inocuo para la salud de las plantas, animales y los seres humanos. Según la FAO (2017) estos organismos se alimentan de los insectos plaga de dos formas diferentes: como predadores y como parásitos.

2.3.1 PREDADORES

Tienen dentro de su dieta alimenticia otros insectos o ácaros los cuales pueden estar dentro de la etapa larvaria, adulta o en ambas etapas (Penelo, 2018). Dentro de los principales predadores se encuentran:

- ***Mantis religiosa***: Sus presas son insectos como: pulgones, escarabajos, orugas, etc.
- ***Dalotia coriaria***: Devora plagas de cuerpo blando tales como: mosca del mantillo, las cochinillas de la harina, y pupas de trips.
- ***Orius laevigatus***: Controla trips, y además, moscas blancas, pulgones, y ácaros.
- ***Cryptolaemus montrouzieri***: Depreda insectos escamas como cochinillas.
- **Ácaros depredadores**: Neutralizan algunas especies de ácaros, mosca blanca de los invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum*) y etapas jóvenes del trips occidental de las flores (*Frankliniella Occidentalis*).

2.3.2 PARASITOIDES

Utilizan los cuerpos de otros insectos para poner sus huevos, al eclosionar, las larvas devoran al insecto huésped, utilizándolo como medio de alimentación durante los primeros días de su etapa de vida. Existen diversas especies de parasitoides que pueden atacar larvas o adultos de otras especies (Sela, 2019). Los parasitoides más reconocidos son:

- **Avispa *Trichogramma*:** Inserta sus huevos dentro de los huevos de las polillas y mariposas, tales como los gusanos cortadores, oruga militar tardía (*Spodoptera frugiperda*) y la oruga de la col.
- ***Aphidius colemani*:** Depreda pulgones cuando la hembra *Aphidius colemani* deposita sus huevos dentro de la plaga. Al eclosionar, las larvas devoran el insecto plaga desde el interior (Nello, 2020).

2.4 ENTOMOFAUNA BENÉFICA EN LOS CULTIVOS DE MAÍZ

El uso de insectos benéficos para el control de plagas es cada vez más común, algunos tipos de insectos son enemigos naturales de las plagas, debido a ello, se emplea el uso de estos insectos para reducir el uso de pesticidas químicos, los cuales tienen un amplio uso en cultivos de invernadero, viveros, flores de corte, fresas y papas, sin embargo, también se usan en cultivos como el maíz y los cítricos (Sela, 2019).

2.4.1 DESAPARICIÓN

Cerca de la mitad de todos los organismos vivos conocidos son insectos, estos desempeñan roles clave el ciclo de nutriente, cadenas alimenticias y polinización, siendo pilares de los ecosistemas. No obstante, la aplicación desmesurada de insecticidas y el cambio climático han provocado la fragmentación de hábitats amenazando gravemente la supervivencia de estos individuos, por lo que sus poblaciones decrecen constantemente (ONU [Organización de Naciones Unidas], 2019).

Dicho autor menciona que el principal causante del declive de los insectos es:

- La pérdida de hábitats debido a la expansión de la agricultura intensiva
- Los contaminantes agroquímicos
- Las especies invasoras
- El cambio climático.

Algunos de estos insectos son fundamentales para muchos campos como la agricultura y la ciencia e indispensables para la polinización de alimentos (FAO, 2017). Uno de los polinizadores por excelencia son las abejas, las cuales han visto un descenso importante dentro de sus especies. Además de las abejas, otros animales como los pájaros y las lagartijas cumplen con esta función. Pero toda la diversidad de la fauna se ve amenazada si una especie se extingue (Plitt, 2017).

2.5 AMBIENTE CONTROLADO EN UN CULTIVO DE MAÍZ

Constituye una técnica de cultivo en la que se controlan las variables que tienen efecto sobre el crecimiento de las plantas (temperatura, luz, nutrición, humedad y CO₂), lo cual permite la optimización de estos recursos alcanzando altos niveles de producción (Proenza, 2016).

Es muy importante para el cultivo de maíz en estos sitios, aplicar las cantidades de fósforo, potasio y nitrógeno necesarias para el buen desarrollo de la planta. Durante el cultivo de maíz en invernadero, cuando la planta alcanza un tamaño cercano a los 30 cm, se debe dejar 2 plantas por golpe y se elimina el excedente (Cimmit, 2013).

2.6 HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Los hongos entomopatógenos constituyen el grupo de mayor importancia en el control biológico de insectos plagas (Cortez, 2014) aunque se conocen aproximadamente 100 géneros y 700 especies de hongos entomopatógenos, los más importantes son los géneros del *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoophthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Verticillium* (Kuxulkab, 2018); sin embargo, entre los que mayormente han sido estudiados se pueden nombrar los géneros de *Beauveria*, *Metarhizium*, *Verticillum* y *Paecilomyces* (Sepulveda, 2017).

2.6.1 MODO DE ACCIÓN

El ataque inicia cuando una conidia contacta al insecto huésped, se adhiere a la cutícula del insecto y forma un tubo germinativo que garantiza la penetración del hongo al hemocele debido a la acción de varias enzimas que degradan la cutícula del hospedero (MHHN [Servicio Nacional del Patrimonio Cultural], 2015). Una vez en el interior del cuerpo, el hongo coloniza los distintos órganos del insecto liberando toxinas que inhiben su desarrollo fisiológico, ocasionando finalmente la muerte del insecto (Zamudio, *et al.*, 2015). Por su parte Russo (2016) menciona que los hongos entomopatógenos tienen un amplio rango de acción, siendo selectivos a la hora de parasitar a su huésped.

2.6.2 CICLO DE VIDA COMO CONTROLADOR DE PLAGAS

Dentro de su ciclo de vida, se puede mencionar una fase parasitaria, que va desde la infección hasta la muerte del hospedero; y una fase saprófita, que transcurre después de la muerte del insecto (MHHN, 2015). Este aspecto de su biología les permite actuar como patógenos facultativos, es decir, son capaces de sobrevivir a expensas de la materia orgánica del suelo u otro sustrato, mientras no haya insectos disponibles para infectar (Nuñez, 2015).

2.7 *Metarhizium anisopliae*

Metarhizium presenta un color verde oliva y es un hongo imperfecto que pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, clase Hyphomycetes. Presenta reproducción asexual mediante conidióforos que brotan desde hifas ramificadas. Esta especie puede adherirse a la cutícula de los insectos e insertarse por las partes blandas o por vía oral (Obando, Bustillo, y Mesa, 2013). Es uno de los principales entomopatógenos empleado como bioinsecticida, puesto a que tienen un amplio rango de insectos hospederos de diferentes órdenes, entre los que se incluyen los de importancia agrícola (López *et al.*, 2015).

Los insectos muertos por este hongo son inicialmente cubiertos de forma total por micelio de color blanco, el cual se torna verde cuando el hongo esporula (Gómez *et al.*, 2014). Dicho autor manifiesta que en cuanto a los mecanismos de

acción del *M. anisopliae*, presentan ventaja sobre las bacterias y virus, debido a que éstos deben ser ingeridos por el insecto para actuar.

MODO DE ACCIÓN: De acuerdo con Obregón (2018), la especie *M. anisopliae* tiene muchos insectos objetivo como: ácaros, trips, babosas, cochinillas, jobotos, caracoles, abejones, prosapia, termitas, garrapatas entre otros. La peculiaridad de estas cepas es que controla insectos resistentes a los insecticidas comunes. Cortez (2019) puntualiza que cuando las conidias del hongo alcanzan el insecto producen un tubo germinativo capaz de traspasar el tegumento del insecto, al competir con la microflora cuticular; el hongo se ramifica dentro del hospedador y provoca su muerte al secretar toxinas, luego de momificarlo, aparece una esporulación verde amarilla sobre el cuerpo del insecto.

FORMULACIÓN DE CEPAS: El ingrediente activo en este proceso son las conidias del hongo que se mezclan con sustancias inertes las cuales protegen al entomopatógeno durante la aplicación a los cultivos. Se debe evitar la formación de grumos en las boquillas de las bombas de fumigación y la sedimentación del microorganismo para que la acción del biocida surta efecto en toda la plantación afectada (López *et al.*, 2015).

REACTIVACIÓN: Esta condición es necesaria para mantener la patogenicidad y virulencia del hongo, es recomendable realizar al menos 2 reactivaciones al año, para ello, se puede emplear como medio de cultivo a insectos vivos sin síntomas de afectación patogénica (López *et al.*, 2015).

PRODUCCIÓN: Al obtenerse la colonia pura patogénica, se debe preparar una suspensión de conidias que se siembra en el medio de cultivo (PDA más extracto de levadura) con la ayuda de un esparcidor o rastrillo de vidrio; se deben sellar las cajas Petri con parafilm e incubarse a 27°C con luz continua por 15 días, que es el tiempo necesario para que el hongo complete su desarrollo y esporule por completo, al transcurrir la esporulación completa, se retira el parafilm de las cajas de Petri, con la finalidad de que la cepa pierda humedad y mejore el intercambio gaseoso (López *et al.*, 2015).

INOCULACIÓN: De acuerdo con Ochoa (2016) estos hongos son susceptibles a los cambios bruscos de temperatura, por lo cual se recomienda aplicarlos en

las primeras horas de la mañana, sin embargo, ha tenido mejores efectos en las horas de la tarde (4 de la tarde) debido a que el clima nocturno les ayuda a aclimatarse.

2.8 GUÍA DE CAMPO

Una guía de campo no es más que un material didáctico que permite al lector informarse sobre asuntos referidos al ambiente o a la vida silvestre (plantas o animales). Normalmente, se utiliza en campo donde su uso resulte pertinente y complementario para comprender su objetivo. (MAE [Ministerio de Ambiente del Ecuador], 2015). Estas guías pueden ser similares en apariencia, pero pueden presentar finalidades muy diferentes (FAO, 2017).

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1 UBICACIÓN

La presente investigación se realizó en las inmediaciones de CIIDEA (Ciudad de la Investigación, Innovación y Desarrollo Agropecuario) de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, ubicada en el sitio El Limón del cantón Bolívar, provincia de Manabí. Geográficamente se encuentra ubicada entre las coordenadas 0° 49'27.9" latitud sur; 80° 10'47.2" longitud oeste y una altitud de 15 msnm.

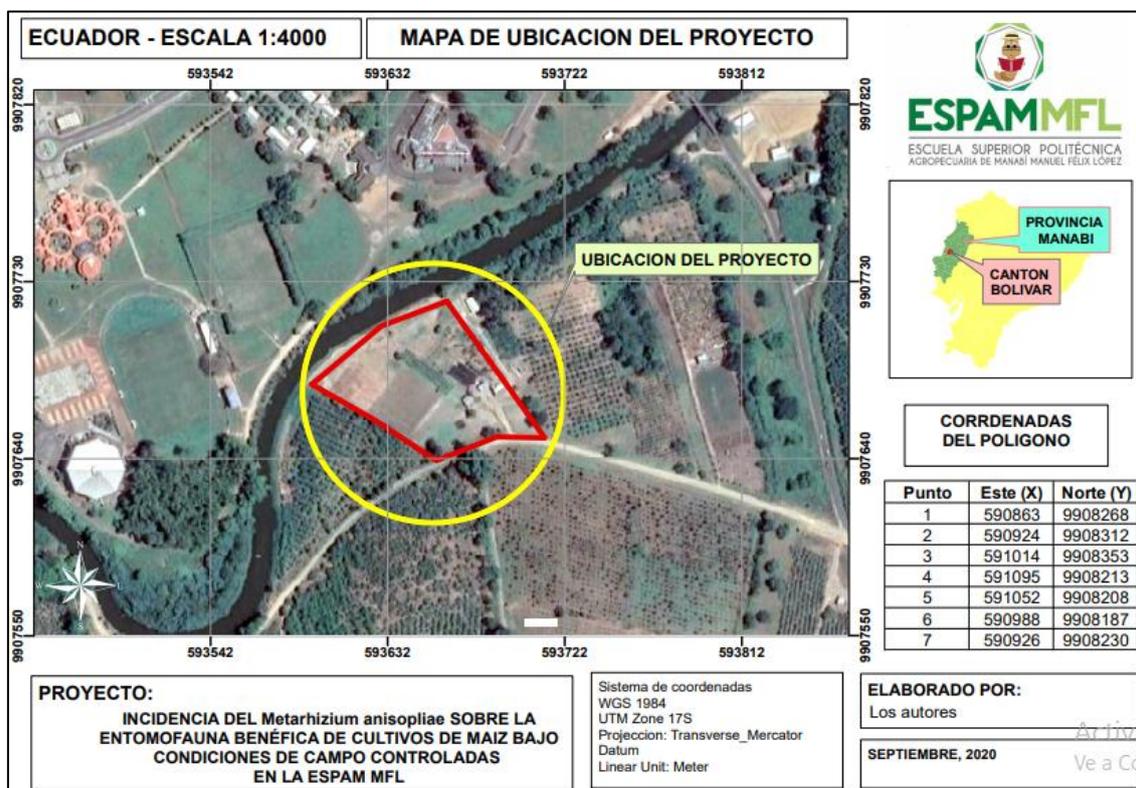


Figura 3.1. Mapa de ubicación del sitio de estudio experimental.

3.2 DURACIÓN DEL TRABAJO

La presente investigación tuvo una duración de 6 meses.

3.3 MÉTODOS Y TÉCNICAS

Para el cumplimiento de los objetivos planteados se emplearon métodos, técnicas y herramientas que permitieron el desarrollo de las fases de la investigación y la comprensión de las variables de estudio.

3.3.1 MÉTODOS

3.3.1.1 MÉTODO CUANTITATIVO

Permitió reconocer los aspectos numéricos que dieron relevancia a los resultados de la aplicación del biocida en diferentes concentraciones; considerando las dosificaciones aplicadas a cada uno de los tratamientos (Cadena *et al.*, 2017).

3.3.1.2 MÉTODO DESCRIPTIVO

Según Aguirre y Jaramillo (2015) este método aportó a la representación y entendimiento de las actividades desarrolladas en la caracterización del mejor tratamiento, asimismo fue fundamental en la descripción de los equipos y materiales utilizados en el trayecto de la investigación.

3.3.1.3 MÉTODO DEDUCTIVO

Según la metodología de Prieto (2017), este método fue necesario para escoger el tratamiento con la dosis más favorable del biocida, decisión que se determinó mediante los resultados que demostraron mayor eficiencia sobre las plagas y la menor afectación sobre la entomofauna benéfica.

3.3.2 TÉCNICAS

3.3.2.1 OBSERVACIÓN

Permitió una visualización más precisa de los hechos o acciones registrados con la aplicación del producto (Rekalde, Vizcarra y Macazaga, 2014). En conjunto con los métodos antes descritos, contribuyó a la elección del tratamiento de mayor eficacia para su posterior recomendación en una guía de campo.

3.4 FACTOR DE ESTUDIO

El factor que se estudió fue:

- **FACTOR A:** Concentraciones del hongo *Metarhizium anisopliae*.

3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental que se utilizó en la investigación fue un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA); para el cual se consideró como fuente de variabilidad al tiempo. En este diseño, cada bloque contuvo todos los tratamientos y éstos fueron asignados al azar al interior del bloque dentro de una misma parcela experimental (Bustamante y Valbuena 2015).

Tabla 3.1. Descripción del DBCA.

Tratamientos	Sub-muestras	Bloques (tiempo post-aplicación del <i>Metarhizium anisopliae</i>)						
		15	22	29	36	43	50	57
T ₀	M ₁							
	M ₂							
	M ₃							
T ₁	M ₁							
	M ₂							
	M ₃							
T ₂	M ₁							
	M ₂							
	M ₃							
T ₃	M ₁							
	M ₂							
	M ₃							

Fuente: Los autores

Este diseño permitió obtener estimaciones más precisas, bajo condiciones de campo controladas (Fallas, 2012). Las sub-muestras contribuyeron a la recopilación más acertada de los datos; es por ello que en el presente trabajo de investigación se presentaron 3 tratamientos más un testigo, con 3 sub-muestras por cada tratamiento y 7 repeticiones, consideradas como fuente de variabilidad. Posteriormente, se efectuaron revisiones de la entomofauna benéfica cada 7 días, a partir del día 15 post-aplicación del *M. anisopliae* hasta el día 57 cuando finalizó el experimento.

A los valores obtenidos se le realizó la prueba de Sharpiro-Wilk para la determinación de la distribución normal de los datos (Flores, Muñoz y Sánchez, 2019). Posterior a ello, se realizó la prueba de Tukey para la determinación de las diferencias en los tratamientos evaluados; con un nivel de significancia del 0,05 (Fallas, 2012). Finalmente, se realizó los análisis estadísticos mediante el uso del Paquete Estadístico para las Ciencias Sociales (SPSS, por sus siglas en inglés) versión 23 (Di Rienzo *et al.*, 2014).

3.6 NIVEL

Las concentraciones que se efectuaron estuvieron regidas por 3 dosis únicas del hongo *Metarhizium anisopliae* más un testigo (tratamiento control) que no fue sometido a la aplicación de dosis del biocida, con la finalidad de evaluar los resultados en condiciones naturales, es decir, sin influencia de agentes químicos o biológicos. En este estudio, se realizó la experimentación basada en las dosificaciones establecidas por Fajardo, Alcívar y Navarrete (2014) que varían entre un rango de 0,5 g/l (dosis baja) a 1,5 g/l (dosis alta).

- T₀ (Testigo): 0,0 g/l
- T₁ (Tratamiento 1): 0,5 g/l
- T₂ (Tratamiento 2): 1 g/l
- T₃ (Tratamiento 3): 1,5 g/l

3.6.1 FUENTE DE VARIABILIDAD

El muestreo se realizó a partir del día 15, posterior a la aplicación del *Metarhizium anisopliae*, en cada uno de los niveles antes mencionados; considerando los criterios de Mota (2018), quien afirma que este producto es de acción lenta y que las observaciones de los resultados se verifican cada 7 días hasta llegar a la floración del cultivo.

Tabla 3.2. Descripción de los tratamientos

Tratamientos	Códigos	Descripción
0	T ₀	Testigo
1	T ₁	Inoculación de <i>M. anisopliae</i> en concentraciones de 0,5 g/l
2	T ₂	Inoculación de <i>M. anisopliae</i> en concentraciones de 1,0 g/l
3	T ₃	Inoculación del <i>M. anisopliae</i> en concentraciones de 1,5 g/l

Fuente: Los autores

3.7 UNIDAD EXPERIMENTAL

Para Vargas y Navarro (2017) una unidad experimental es el conjunto de reglas que se siguieron para:

- La asignación de tratamientos,
- La toma de datos, y
- El análisis estadístico.

Dicho autor manifiesta que la unidad experimental es el área donde se asignó aleatoriamente los tratamientos en una prueba crítica y que el material experimental es el medio en el que se evaluaron los resultados. En este estudio se pudo señalar como:

- Unidad experimental: Parcelas de cultivo de maíz
- Material experimental: Entomofauna benéfica.

Esta investigación tuvo 12 unidades experimentales de 7,5 m², las cuales constaron de 3 tratamientos más un testigo, a los cuales se les realizaron 3 submuestras y 7 bloques, tomando el tiempo como fuente de variabilidad el cual fue bloqueado. Acorde a los tratamientos planteados, se realizaron las diferentes formulaciones con base en las siguientes concentraciones: testigo (T₀) sin ninguna dosificación, 0,5 g/l (T₁), 1 g/l (T₂) y 1,5 g/l (T₃); además, se recolectó durante 7 semanas la entomofauna que pereció en cada uno de los tratamientos.

3.8 VARIABLES

3.8.1 INDEPENDIENTE

- Concentraciones de la cepa del hongo *Metarhizium anisopliae*.

Indicadores:

- Dosis baja
- Dosis media y
- Dosis alta.

3.8.2 DEPENDIENTE

- Entomofauna benéfica.

Indicadores:

- Efecto (muerte de la entomofauna benéfica).

3.9 FASE 1. ESTABLECIMIENTO DE LAS CONCENTRACIONES DEL HONGO *Metarhizium anisopliae* PARA EL CONTROL DE PLAGAS DEL CULTIVO DE MAÍZ BAJO CONDICIONES CONTROLADAS EN LA ESPAM MFL

Para llevar a cabo esta fase, se ejecutaron las siguientes actividades:

Actividad 1. Preparación del suelo

Tras la recomendación de Chérrez (2015), se realizó la preparación del suelo previo a la siembra (ver anexo 1), con el propósito de que la materia orgánica presente sufriera un proceso de descomposición adecuado. Siguiendo la metodología propuesta por Deras (2014), se realizaron los siguientes pasos:

- Riego del suelo durante 3 ocasiones antes de la siembra (ver anexo 2 y 3), y se esperó 3 días después del último riego para la colocación de la semilla.
- Aplicación de abonos orgánicos al suelo como fuente de nitrógeno (ver anexo 4) para las plantaciones, previo a la plantación.
- Control de malezas cuando superaban los 50 cm. Antes durante y posterior a la siembra (entre 8-15 días). En este caso, se realizó un control manual de la maleza mediante el uso de machete.

Actividad 2. Delimitación de parcelas

Se realizó la delimitación de parcelas del cultivo de maíz mediante la metodología de Gavilánez *et al.* (2017), quienes indican que el área de una parcela de maíz por unidad de muestreo puede variar desde 4,47 m². En este estudio, se trabajó con un área total de 142,5 m² (15mx9,5m), los cuales fueron divididos en 12 parcelas de 7,5 m² (3mx2,5m), con callejones de 1 m de distancia entre cada bloque, como se muestra en la figura 3.1.

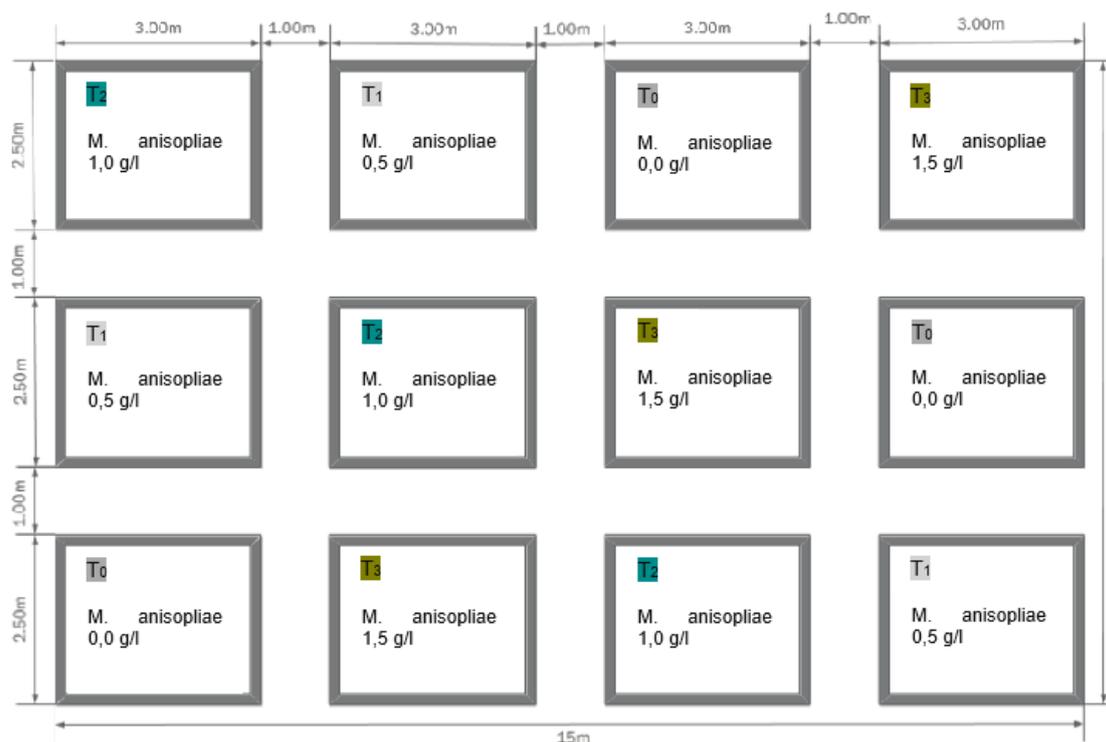


Figura 3.2. Croquis de campo

Actividad 3. Siembra del cultivo de maíz

Se aplicó la metodología propuesta por Chérrez (2015), quien en el caso de híbridos de maíz lo sembró a una distancia de 0,75 m entre surco (5 surcos) y de 0,25 m por golpe (20 plantas), dando un total de 100 plantas por unidad experimental (ver anexo 5). Se utilizó un espeque para abrir orificios en el suelo, a una profundidad de 0,05 m donde se introdujeron 3 semillas de maíz, en cada uno de ellos. Cuando la planta alcanzó un tamaño de 0,30 m, se realizó un raleo con el fin de dejar 2 plantas por golpe (ver anexo 6), eliminando el excedente. Finalmente, se adaptó un sistema de riego por goteo para que las plantas estuvieran continuamente hidratadas (ver anexo 7).

Actividad 4. Caracterización de los insectos presentes en los cultivos de maíz pre-aplicación del *Metarhizium anisopliae*

Desde el día 12 hasta el 15 se procedió a la caracterización de los insectos presentes en las parcelas de maíz, debido a que Eteza, García y Gordillo (2018) manifiestan que la aparición de insectos benéficos y plagas en estos cultivos se presentan a partir del día 10 de la siembra. Los insectos benéficos fueron identificados mediante la guía propuesta por Nájera y Souza (2010) y los insectos

plagas fueron caracterizados mediante la guía propuesta por Jiménez (2016), con el fin desarrollar una base de datos sobre los insectos encontrados en el área de cultivo.

Siguiendo la metodología de Mota (2018), en horas de la mañana se empleó una recolección manual de la entomofauna con ayuda de una malla entomológica. Toda la información levantada fue respaldada por los autores en una libreta de apuntes. Posteriormente, se trasladó a los insectos recolectados hasta el Laboratorio de Microbiología de la carrera de Ingeniería Agrícola de la ESPAM “MFL” para realizar la identificación según la morfología del insecto mediante un estereomicroscopio y con ayuda de un especialista en la rama.

Actividad 5. Implementación de un ambiente de campo controlado

Acorde a Jiménez (2009) después de 20 días de la siembra del maíz se colocó una malla de sarán sobre, entre y alrededor de las parcelas de cada tratamiento (ver anexo 8). La finalidad de este método consistió en que las dosificaciones no interfieran entre tratamientos, además sirvió para conservar la entomofauna existente dentro de cada una de las parcelas y de esta manera poder contar con una base de datos para el cálculo de los resultados finales de la investigación.

Actividad 6. Obtención del *Metarhizium anisopliae*

La cepa nativa de Ecuador CMa 03 (ver anexo 9) del *Metarhizium anisopliae* fue recolectada y aislada por el Ing. Christopher Wilson Suarez Palacios en la Región Oriental del Ecuador, provincia de Sucumbíos, la cual necesitaba ser validada para posteriores aplicaciones en el campo agropecuario y ambiental como entomopatógenos. Bustillos (2015) discute que tanto para el almacenaje y aplicación del hongo, el transporte debe ser realizado en hieleras que puedan mantener al hongo vivo sin condiciones de estrés ya que son sensibles a los cambios bruscos de temperatura y condiciones de insolación, donde finalmente la cepa del hongo se somete a multiplicación en laboratorio.

Actividad 7. Reactivación del hongo *Metarhizium anisopliae*

Se procedió a preparar el medio de cultivo con PDA (ver anexo 10). Siguiendo las recomendaciones de la CINCAE (2013), por cada 1000 ml de agua destilada estéril (ADE) se preparó 39 g de PDA. En este caso, se preparó 200 ml de ADE con una concentración de 7,8 g de PDA, valor que se determinó mediante la ecuación:

$$\frac{200 \text{ ml} \times 39 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} = 7,8 \text{ g (1)}$$

Una vez obtenida la solución, se procedió a calentarla en un vaso de precipitación con el agitador magnético hasta que esta se tornó de un color marrón oscuro, posteriormente se envasó en un matraz volumétrico, se selló con papel de aluminio y se aseguró con cinta de papel para ser esterilizado en autoclave. Una vez esterilizada la solución, se trasladó a la cabina de extracción de gases donde se vertieron, a 5 cm del mechero de alcohol y con una apertura de 45°, 10 ml de solución a cada caja de Petri propiamente esterilizada; posteriormente fueron selladas con cinta parafina y rotuladas con cinta de papel, para luego ser trasladadas a la incubadora a 27°C.

Actividad 8. Multiplicación del hongo *Metarhizium anisopliae*

Según la metodología del MAGAP [Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca], (2014) para la multiplicación del hongo, se utilizó como sustrato arrozillo pre-cocido y suficientemente suelto para manejarlo (corazón duro), para ello, se dejó hervir el agua y se introdujo el sustrato por 5 minutos aproximadamente. Luego se colocó en una incubadora a 27 °C, donde permanecieron con luz continua durante 15 días, tiempo en el cual el hongo completó su desarrollo y alcanzó a esporular completamente.

Actividad 9. Inoculación del hongo *Metarhizium anisopliae*

Se siguió la metodología de Mota (2018), quien manifiesta que es posible ver los efectos del *Metarhizium anisopliae* al hacer una única aplicación en el cultivo. Se mezcló en una licuadora un volumen de 1000 ml de ADE (para cada tratamiento) con 3 g (T₁), 6 g (T₂) y 9 g (T₃) de hongo-arroz, adicionalmente se aforó un

volumen de 6 litros (6000 ml de agua) que arrojaron como resultado dosificaciones de 0,5, 1 y 1,5 g/l respectivamente. Para determinar la concentración de unidades formadoras de colonias (UFC) se utilizó el método de las diluciones seriadas hasta 10^{-2} , posteriormente se colocó 1 gota de dilución en la cámara de Neubauer, se llevó hasta el microscopio y se cuantificaron los conidios en los 25 cuadrantes para tener resultados más confiables (MAGAP, 2014).

Según Lezama *et al.*, (2005) las plagas del maíz inician su ataque y presencia en el cultivo a los 11 días después de haber brotado la planta, por lo que Mota (2018) afirma que se debe realizar una sola aplicación del producto 15 días después de la siembra, motivo por el cual se procedió a rociar con una bomba de mochila (20 litros de capacidad) el suelo, follaje y el tallo de la planta. Según la metodología de Ojeda *et al.*, (2011) se deben rehidratar a los conidios durante las primeras 48 horas, puesto a que, en condiciones de estrés (condiciones de campo) se produce poco manitol y los conidios no pueden tolerar altas temperaturas.

3.10 FASE 2. DETERMINACIÓN DE LA AFECTACIÓN DE LA ENTOMOFAUNA BENÉFICA EXISTENTE EN LOS CULTIVOS DE MAÍZ PARA MEDIR LA INCIDENCIA DEL HONGO *Metarhizium anisopliae* EN DIFERENTES CONCENTRACIONES

Actividad 10. Recolección de muestras de la entomofauna benéfica asociada a los cultivos del maíz post-aplicación del hongo *Metarhizium anisopliae*

A partir del día 15 de la aplicación del hongo, se realizó un muestreo aleatorio simple semanalmente (7 veces) en todas las parcelas estudiadas. Se aplicó la metodología de Oporta (2017), quien propone el desarrollo de observaciones de los insectos muertos o aletargados por efecto del hongo para la identificación macroscópica, en función de los colores, que van desde amarillo, verde olivo, hasta el grisáceo oscuro. Luego se realizó la recolección de los insectos, los cuales fueron separados por especie, guardados en recipientes plásticos y trasladados al laboratorio.

Actividad 11. Análisis del parasitismo del hongo *Metarhizium anisopliae*

En el Laboratorio de microbiología de la carrera de Ingeniería Agrícola de la ESPAM “MFL” se procedió a verificar mediante la observación, cuál fue el nivel del parasitismo del hongo *Metarhizium anisopliae* en diferentes concentraciones, hacia la entomofauna benéfica de los cultivos del maíz. Se siguió la metodología de Gómez *et al.* (2014), quienes establecen realizar un conteo de los insectos que presentaban esporulación en su exterior para establecer mediante un análisis estadístico comparativo la significancia entre cada tratamiento.

Se preparó un medio de cultivo (700 ml de ADE + 27,3 g de PDA + 700 µl de gentamicina) el cual se esterilizó y plaqueó en cajas de Petri. A cada uno de los insectos muertos que presentaron micelación, se les sustrajo el micelio expuesto en la parte externa de su cuerpo con una pinza de disección curva de punta fina (desinfectada en alcohol y flameada en mechero de alcohol 3 veces antes de usarse en cada insecto). Luego se inoculó por especie en cajas de Petri, separándolos por especie y tratamiento.

A los 5 días, los hongos inoculados presentaron micelio, sin embargo, mediante la comparación de las placas de *Metarhizium anisopliae* realizadas al principio de la investigación, se pudo observar una reproducción del hongo distinta, tanto en coloración como esporulación. El hongo se dejó en incubación durante 15 días para que la espora madurara y se pudiera observar el cuerpo fructífero del hongo en el microscopio. Para el plaqueo, se colocaron 2 gotas de ADE para los hongos dematiáceos (con coloración en las hifas) y para los hongos hialinos (sin coloración en las hifas) 2 gotas de lugol en los portaobjetos. Se sustrajo con 5 cm de cinta scotch el micelio, dicha cinta se colocó sobre el portaobjetos y se llevó al microscopio para observar la morfología del hongo.

Actividad 12. Mortalidad de la entomofauna benéfica

Al principio de la investigación, se cuantificó a 30 individuos por cada especie identificada que sirvieron como material experimental a evaluar en cada uno de los tratamientos y sus respectivas submuestras. Desde el día 15 hasta el día 57 después de la aplicación del hongo *Metarhizium anisopliae*, se cuantificó el número de individuos muertos, con el fin de estimar el porcentaje de mortalidad

en cada una de las especies afectadas por el *Metarhizium anisopliae*. Es decir, se aplicó el principio de las especies vivas de cada especie, al inicio de la investigación y se restaron las que perecieron en el transcurso de la misma. Para medir el porcentaje de mortalidad se aplicó la metodología propuesta por Mota (2018), en la cual se utilizó la fórmula de Henderson-Tilton:

$$\% \text{ Mortalidad} = \left(1 - \frac{N_t}{N_o}\right) \times 100 \quad (2)$$

Donde:

N_t = número de individuos en lote tratado, al cabo de t días

N_o = número de individuos en lote testigo, al cabo de t días.

Esto permitió identificar la dosis óptima para el control integrado de plagas en los cultivos de maíz, sin que llegue a afectar a la entomofauna benéfica de este agroecosistema.

Actividad 13. Aplicación de análisis estadístico

Se desarrolló el análisis estadístico mediante el ANOVA de una vía, debido a que en el experimento se trabajó con un solo factor de estudio. El propósito de este análisis consistió en determinar si existe diferencias significativas entre los tratamientos estudiados. El análisis partió con la verificación de los 6 supuestos establecidos para el ANOVA:

- Una variable dependiente continua.
- Una variable independiente con dos o más grupos categóricos e independientes
- Independencia de las observaciones
- No registrar valores atípicos significativos
- Variable dependiente normalmente distribuida para cada grupo de la variable independiente (Test Shapiro–Wilk)

- Homogeneidad de varianzas (Prueba de Levene).

Mediante el SPSS, versión 23 se desarrolló el análisis del ANOVA, con un nivel de confianza del 95%, el cual permitió determinar si las dosis del *Metarhizium anisopliae* en el cultivo de maíz experimental incidió significativamente en la mortalidad de individuos de 8 especies de entomofauna benéfica. En última instancia, se aplicó la prueba de separación de medias (Tukey) para determinar, mediante diferencia estadísticamente significativa, al mejor tratamiento para proteger a estas especies. La suma de estos resultados permitió verificar la hipótesis planteada para esta investigación.

3.11 FASE 3. ELABORACIÓN DE UNA GUÍA DE CAMPO PARA EL USO ADECUADO DEL HONGO *Metarhizium anisopliae* COMO ALTERNATIVA PARA LA PRESERVACIÓN DE LA ENTOMOFAUNA BENÉFICA DE LOS CULTIVOS DE MAÍZ

Actividad 14. Realizar una guía de Campo

Para llevar a cabo esta fase, se emplearon los resultados obtenidos en las fases previas e información bibliográfica extraída de diferentes medios como artículos científicos e informes, en la guía se incluyeron: cuadros, tablas e imágenes informativas del tema; además se utilizó la metodología de Rufina (2018), conjuntamente con la Secretaría de Relaciones Exteriores (2004), para diseñar el formato de la guía, la cual se estructuró de la siguiente manera:

- Introducción.
- Objetivos.
- Desarrollo bibliográfico (conceptos básicos, procedimientos estándares, aplicación y manejos del Biocida).
- Conclusiones.

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ESTABLECIMIENTO DE LAS CONCENTRACIONES DEL HONGO *Metarhizium anisopliae* PARA EL CONTROL DE PLAGAS DEL CULTIVO DE MAÍZ BAJO CONDICIONES CONTROLADAS EN LA ESPAM MFL

4.1.1 PREPARACIÓN DEL SUELO

Se obtuvo un suelo fértil y manejable para la siembra, coincidiendo con la investigación de Deras (2014), quien afirma que este proceso de mineralización es idóneo para la implementación de viveros e invernaderos; por su parte el INIAP [Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Ecuador] (2011) recomienda una labranza mínima de 30 cm, 2 meses antes de la siembra para la eliminación de plagas y maleza, además enfatiza que por cada 100 m² de cultivo se debe adherir, una sola vez antes de la siembra, de 1 a 2 sacos de compost.

Por ejecutarse el trabajo de integración curricular en la época seca del año, se implementó una cinta de riego por goteo con el fin de mantener la humedad suficiente en las plántulas del maíz, de acuerdo a Deras (2014), esta técnica dota la cantidad suficiente de agua para el normal desarrollo de la planta y es eficiente en cuanto al uso responsable del recurso hídrico; INIAP (2011) afirma que la cantidad de agua que requiere el cultivo depende exclusivamente de la etapa del mismo y que desde la etapa de desarrollo hasta la floración es cuando mayor cantidad de agua requiere.

4.1.2 DELIMITACIÓN DE PARCELAS

En el proceso de delimitación se obtuvieron 12 parcelas de 3 m de ancho por 2,5 m de largo (7,5 m²), con callejones de 1 m de distancia entre cada tratamiento. Gavilánez et al. (2017), demostraron que para la validación de datos es importante tener parcelas superiores a 4,47 m² debido a la complejidad de recolección de muestras en parcelas muy reducidas. Por su parte, Vitery (2011) sugiere que para un muestreo al azar se debe tener como referencia 100 plantas

por parcela para poder revisar cuidadosamente y a detalle la evaluación de cada tratamiento.

4.1.3 SIEMBRA DEL CULTIVO DE MAÍZ

La siembra de la semilla de maíz trueno NB 7443, dio como resultado 100 plantas por unidad experimental a una distancia de 0,75 m entre surco, 0,25 m entre planta y 2 plantas por golpe luego de eliminar el excedente a los 15 días de germinada la planta (0,20 m de altura), datos que se pueden contrastar con Chérrez (2015), quien obtuvo un crecimiento idóneo de la planta en las mismas condiciones de separación y multitud. Por su parte INIAP (2011), manifiesta que el espacio entre surcos debe tener un mínimo de 0,80 m, además de enfatizar que el raleo se lo debe hacer a los 0,25-0,30 m de altura de la planta.

4.1.4 CARACTERIZACIÓN DE LOS INSECTOS PRESENTES EN LOS CULTIVOS DE MAÍZ PRE-APLICACIÓN DEL *Metarhizium anisopliae*

Las trampas de luz colocadas a 1 m de altura, luego de la puesta del sol durante 2 horas (18:00-20:00), en conjunto con la recolección manual mediante una malla entomológica, dieron como resultado la recolección de 16 especies de insectos, distribuidas en 7 órdenes: Himenópteros, Araneae, Coleópteros, Mantodea, Lepidóptera, Hemiptera, y Lepidoptera. El pulgón verde, el gusano cogollero y la mosca blanca proliferaron dentro del ciclo vegetativo del maíz.

Tabla 4.1. Caracterización de la entomofauna presente en los cultivos de maíz.

Nombre común	Orden	Familia	Nombre científico
Abeja europea	Himenópteros	Apidae	<i>Apis mellifera</i>
Chalaca negra	Himenópteros	Apidae	<i>Nannotrigona perilampoides</i>
Avipa negra puntas blancas	Himenópteros	Vespidae	<i>Parachartergus apicalis</i>
Avispa chaqueta amarilla	Himenópteros	Vespidae	<i>Ropalidia marginata</i>
Avispa guerrera (Cubo)	Himenópteros	Vespidae	<i>Synoeca septentrionalis</i>
Avispa de papel	Himenópteros	Vespidae	<i>Polistes versicolor</i>
Avispa	Himenópteros	Vespidae	<i>Polistes cinerascens</i>
Araña saltarina	Araneae	Salticidae	<i>Phidippus johnsoni</i>
Mariquita	Coleópteros	Coccinellidae	<i>Exochomus quadripustulatus</i>
Mantis	Mantodea	Mantidae	
Polilla de franela	Lepidóptera	Megalopygidae	<i>Norape ovina</i>
Chinche	Hemiptera	Pentatomidae	<i>Podisus maculiventris</i>
Chinche Zelus	Hemiptera	Reduviidae	<i>Zelus renardii</i>
Pulgón verde del maíz	Hemiptera	Aphididae	<i>Rhopalosiphum maidis</i>
Mosca blanca	Hemiptera	Aleyrodidae	<i>Bemisia tabaci</i>
Gusano cogollero del maíz	Lepidoptera	Noctuidae	<i>Spodoptera frugiperda</i>

Fuente: Los Autores

Las trampas de luz tuvieron poca efectividad en la recolección de insectos, donde contrastando con los resultados de García y Gordillo (2018), quienes obtuvieron resultados favorables al aplicar esta técnica dentro de su investigación 15 días después de la germinación de la semilla; por otra parte, la recolección manual dio resultados favorables en la recolección de la entomofauna presente en el cultivo de maíz, coincidiendo favorablemente con los resultados de Mota (2018) quien mediante este método obtuvo una amplia diversidad de especies recolectadas. Sin embargo, la normalidad de los datos en las diferentes parcelas no era uniforme, por lo cual se recolectaron insectos en los alrededores del cultivo hasta obtener un promedio de 30 individuos de cada especie en cada parcela experimental. En el caso de la mantis religiosa, solo se pudo recolectar 1 individuo por submuestras.

4.1.5 IMPLEMENTACIÓN DE UN AMBIENTE DE CAMPO CONTROLADO

La población de plagas como el pulgón verde, la mosca blanca y el gusano cogollero del maíz proliferaron en el transcurso del ciclo vegetativo de la planta y estuvieron presente en las distintas parcelas, a lo largo de la investigación. Resultados similares a los reportados por Jiménez (2009), donde existió presencia de estos insectos desde el inicio hasta el final de la investigación, sin interferencia significativa de un tratamiento a otro. Por su parte, Téllez *et al.*, (2009) afirman que el aislamiento de insectos afecta sus mecanismos sociales de defensa debido a que los individuos que crecen hacinados son más resistentes que los que se desarrollan en colonias de baja densidad.

4.1.6 INOCULACIÓN DEL *Metarhizium anisopliae*

Para la reactivación del hongo se utilizó un cultivo a base de papa dextrosa y agar (PDA) y se dejó en incubación con luz continua durante 15 días, una vez reactivado, se removieron las conidias con una dilución de Tween al 0,05%, se sembró en arrozillo precocido y se dejó en reposo durante 15 días, tiempo en el cual según CINCAE (2013) la patogenicidad del *M. anisopliae* es idónea para la eliminación de plagas en los cultivos.

Para la preparación de la mezcla se colocó en una licuadora un volumen de 1 litro de ADE para cada tratamiento, con 3 g (T₁), 6 g (T₂) y 9 g (T₃) de hongo-arroz y se mezcló hasta obtener homogeneidad en las diferentes preparaciones, con una tela fina se tamizó la mezcla con el fin de separar los residuos del arroz, posteriormente se aforó en un volumen de 6 litros de agua dando como resultado concentraciones de 0,5, 1 y 1,5 g/l respectivamente.

La inoculación del hongo se la realizó a las 6 de la tarde 15 días después de la germinación del maíz, se aplicó la mezcla al suelo, tallo y follaje de la planta. FAO (2013) asegura que, con 10 litros de preparación orgánica se pueden fumigar hasta 100 m² de cultivo, por otro lado, CINCAE (2013) afirma que los resultados de la inoculación varían según la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC) presentes en cada gramo de producto, por lo que se procedió a realizar diluciones seriadas de la dilución madre hasta 10⁻² para luego cuantificar con ayuda del microscopio los conidios que se encontraban dentro de los 25 cuadrantes de la cámara de Neubauer.

La solución tuvo un total de 386 UFC, donde se multiplicó por el positivo de la dilución seriada (10² g) y por el factor de dilución establecido para hongos (10.000), dando un resultado de 386'000.000 de UFC por cada gramo de producto. Estos resultados fueron similares a los de Fajardo, Alcívar y Navarrete (2017), quienes tuvieron concentraciones de 3×10⁹ UFC/g para el control biológico de la garrapata en el ganado bovino. Por otro lado, CINCAE (2013) afirma que con una concentración de 1×10⁸ UFC/g de hongos entomopatógenos, se puede controlar insectos plaga en los diferentes cultivos además de ser la concentración más utilizada en los productos comerciales que tienen como ingrediente activo este microorganismo.

4.2 DETERMINACIÓN DE LA AFECTACIÓN DE LA ENTOMOFAUNA BENÉFICA EXISTENTE EN LOS CULTIVOS DE MAÍZ PARA MEDIR LA INCIDENCIA DEL HONGO *Metarhizium anisopliae* EN DIFERENTES CONCENTRACIONES

4.2.1 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE LA ENTOMOFAUNA BENÉFICA ASOCIADA A LOS CULTIVOS DEL MAÍZ POST-APLICACIÓN DEL HONGO *Metarhizium anisopliae*

Se recolectó a un total de 8 especies: avispa cubo (orden *Hymenoptera*), araña saltarina (orden *Araneae*), chinche *Zelus* (orden *Hemiptera*), chalaco o abeja sin aguijón (orden *Hymenoptera*), avispa negra de puntas blancas (orden *Hymenoptera*), avispa común (orden *Hymenoptera*), avispa chaqueta amarilla (orden *Hymenoptera*), y abeja europea (orden *Hymenoptera*). La muerte de los individuos de las especies benéficas registradas tuvo lugar durante las primeras 5 semanas de recolección. Durante la semana 6 y 7, no se evidenció individuos afectados.

Por otra parte, no se evidenció reproducción de las especies antes mencionadas, debido a que la población de los individuos fue baja; de acuerdo a Hernández *et al.* (2018), mientras menor es el número de individuos de una especie, la tasa de reproducción disminuye significativamente debido a que en condiciones experimentales existe mayor probabilidad de que los insectos se confundan ante la presencia de sustancias químicas y/o biológicas a las que no están adaptados (en este caso el *Metarhizium anisopliae*).

Esto guarda correspondencia con las indicaciones de Hopwood *et al.* (2016) quienes afirman que cuando los insectos están condicionados a espacios reducidos, baja diversidad y poca accesibilidad a los alimentos, además de no contar con la posibilidad de seleccionar los contextos climatológicos óptimos para su desarrollo, estos inhiben importantes procesos fisiológicos como la capacidad reproductiva.

En la tabla 4.2, se data el registro de individuos de *Synoeca septentrionalis* muertos, desde la semana 1 hasta la semana 7 de experimentación, en función de los tratamientos. El T₃ (dosis: 1,5 g/l) fue el que tuvo el mayor número de individuos muertos: 4 en T₃M₁; 3 en T₃M₂; y 3 en T₃M₃. El T₀ (tratamiento control) solamente registró 1 deceso de esta especie en el T₀M₂, durante la semana 3. Por otro lado, en el T₁ (dosis 0,5 g/l) se reportó la muerte de 4 individuos de esta especie con: 2 en T₁M₁, 1 en T₁M₂ y 1 en T₁M₃. Mientras que el T₂ (dosis 1 g/l) contó con la misma cantidad de decesos: 1 en T₂M₁, 1 en T₂M₂; y 2 en T₂M₃. Durante las semanas 2 y 4 se registró una mayor frecuencia de muertes en todo el experimento (4 y 5 individuos respectivamente).

Tabla 4.2. Muerte de avispa cubo (*Synoeca septentrionalis*).

Tratamientos	Semana							Total
	1	2	3	4	5	6	7	
T ₀ M ₁	0	0	0	0	0	0	0	0
T ₀ M ₂	0	0	1	0	0	0	0	1
T ₀ M ₃	0	0	0	0	0	0	0	0
T ₁ M ₁	0	1	0	0	1	0	0	2
T ₁ M ₂	0	0	1	0	0	0	0	1
T ₁ M ₃	0	0	0	1	0	0	0	1
T ₂ M ₁	0	1	0	0	0	0	0	1
T ₂ M ₂	0	0	0	1	0	0	0	1
T ₂ M ₃	1	0	0	0	1	0	0	2
T ₃ M ₁	1	2	0	1	0	0	0	4
T ₃ M ₂	0	1	0	1	1	0	0	3
T ₃ M ₃	1	0	1	1	0	0	0	3

Fuente: Los autores

Los organismos que perecieron en los diferentes tratamientos fueron encontrados roídos en la cavidad abdominal. Este hallazgo, comparado con la investigación de Morales (2020), muestra rasgos de depredación natural de otros organismos, como la mantis religiosa, que dentro de su dieta se alimentan de estas especies benéficas. Estos organismos devoran a esta especie desde la parte anterior del cuerpo, debido a que son depredadores generalistas que se alimentan de cualquier insecto que se encuentre a su alcance.

En la tabla 4.3, se detalla el registro de individuos de *Phidippus johnsoni* muertos, desde la semana 1 hasta la semana 7 de experimentación. Hasta la semana 5, se pudo constatar en todos los tratamientos, incluido el testigo, al menos un individuo muerto de esta especie por parcela. En T₁ y T₃ hubo un mayor número de individuos muertos durante el tiempo de ejecución de la experimentación (7 y 22 especímenes respectivamente). La parcela donde se recolectó un mayor

número de ejemplares muertos fue en la T₃M₃, con un total de 9 individuos. En T₀ y T₂ se recolectó un menor número de individuos de *Phidippus johnsoni* muertos afectados por la aplicación de *Metarhizium anisopliae*; 1 por cada submuestra de T₀, y 2 en T₂M₁; 1 en T₂M₂; y 1 en T₂M₃. En todo el tiempo experimental, se recolectó un total de 36 individuos de muertos de esta especie: 6 en la semana 2; 7 durante las semanas 1, 3 y 4; y 9 durante la semana 5. A partir de la semana 6 ya no se encontró mortalidad de la especie.

Tabla 4.3. Muerte de araña saltarina (*Phidippus johnsoni*).

Tratamientos	Semana							Total
	1	2	3	4	5	6	7	
T ₀ M ₁	0	1	0	0	0	0	0	1
T ₀ M ₂	0	0	1	0	0	0	0	1
T ₀ M ₃	0	0	0	0	1	0	0	1
T ₁ M ₁	1	0	0	0	1	0	0	2
T ₁ M ₂	0	1	0	1	1	0	0	3
T ₁ M ₃	0	0	1	0	1	0	0	2
T ₂ M ₁	1	0	0	1	0	0	0	2
T ₂ M ₂	0	0	0	0	1	0	0	1
T ₂ M ₃	0	0	1	0	0	0	0	1
T ₃ M ₁	2	1	1	2	1	0	0	7
T ₃ M ₂	2	1	0	1	2	0	0	6
T ₃ M ₃	1	2	3	2	1	0	0	9

Fuente: Los autores

Varios de los individuos de *Phidippus johnsoni*, muertos en este estudio presentaron micelación blanquecina; lo que se asocia con la acción del hongo *Metarhizium anisopliae*, particularmente en el T₃ cuya dosis de aplicación fue mayor. Estos resultados coinciden con los de Buitrago (2020) quien también reporta micelación en el tegumento de esta especie, luego de aplicar *Metarhizium anisopliae*. Este efecto es característico de este hongo en diferentes especies de insectos benéficos. Por otro lado, Urra (2015) manifiesta que los hongos entomopatógenos atacan a insectos de diferentes grupos, incluidas las arañas. El T₀ que no tuvo aplicación del hongo en el cultivo maíz, reportó 1 muerte de *Phidippus johnsoni* por cada parcela; lo que se contrapone con los criterios descritos previamente.

La tabla 4.4 resume el número de individuos de *Zelus renardii* registrados como muertos por cada parcela experimental, durante las 7 semanas de experimentación. Se recolectó un total de 32 individuos muertos de esta especie: 4 en la semana 3; 6 en las semanas 1, 2 y 4; y 10 en la semana 5. La parcela T₀M₂ fue la única donde no se registró muertes de esta especie; a diferencia de

la T₃M₁, donde se recolectó un total de 8 individuos muertos durante todo el período de estudio. La dosis de T₃ fue la que más afectaciones causó a la especie *Zelus renardii*; más del 60% de todas las muertes reportadas en la investigación corresponden a este tratamiento (19 en total).

Tabla 4.4. Muerte de chinche zelus (*Zelus renardii*).

Tratamientos	Semana							Total
	1	2	3	4	5	6	7	
T ₀ M ₁	1	0	0	0	0	0	0	1
T ₀ M ₂	0	0	0	0	0	0	0	0
T ₀ M ₃	0	0	0	0	1	0	0	1
T ₁ M ₁	0	0	1	0	1	0	0	2
T ₁ M ₂	1	0	0	0	1	0	0	2
T ₁ M ₃	0	1	1	0	1	0	0	3
T ₂ M ₁	0	0	0	1	0	0	0	1
T ₂ M ₂	0	1	0	0	1	0	0	2
T ₂ M ₃	0	0	0	1	0	0	0	1
T ₃ M ₁	1	2	1	2	2	0	0	8
T ₃ M ₂	2	1	1	1	1	0	0	6
T ₃ M ₃	1	1	0	1	2	0	0	5

Fuente: Los autores.

La mayoría de individuos de *Zelus renardii* muertos fueron encontrados en plantas que presentaban putrefacción en los ápices de la hoja y humedad perenne en el tallo. Al comparar los resultados con la investigación de Martínez *et al.* (2013), estas muertes se las puede atribuir a microorganismos saprófitos que se encuentran biológicamente inactivos, sin embargo, se reactivan *in vivo* mediante un proceso de oxidación, en ambientes que mantengan una humedad relativa del 70 al 90 % y un rango de temperatura de 0 hasta 45 °C.

Tabla 4.5. Muerte de chalaco (*Nannotrigona perilampoides*).

Tratamientos	Semana							Total
	1	2	3	4	5	6	7	
T ₀ M ₁	0	0	0	1	0	0	0	1
T ₀ M ₂	1	0	0	0	0	0	0	1
T ₀ M ₃	0	0	0	0	0	0	0	0
T ₁ M ₁	0	0	0	0	1	0	0	1
T ₁ M ₂	0	0	0	1	0	0	0	1
T ₁ M ₃	0	0	0	0	1	0	0	1
T ₂ M ₁	0	0	0	1	0	0	0	1
T ₂ M ₂	0	0	0	0	1	0	0	1
T ₂ M ₃	0	0	0	1	0	0	0	1
T ₃ M ₁	0	0	0	2	1	0	0	3
T ₃ M ₂	0	0	0	1	2	0	0	3
T ₃ M ₃	0	0	1	2	2	0	0	5

Fuente: Los autores.

En la tabla 4.5, se detalla el registro de individuos de *Nannotrigona perilampoides* muertos, esta especie, al igual que la *Synoeca septentrionalis*, presentó el menor

número de individuos afectados por el hongo *Metarhizium anisopliae*, con un total de 19 ejemplares recolectados en todo el período de estudio. En este caso, las semanas donde hubo una mayor ocurrencia de muertes fueron las 4 y 5, con un total de 9 y 8 individuos, respectivamente. En las semanas 1 y 3 se registró una sola muerte en las parcelas T₀M₂ y T₃M₃, respectivamente.

El T₀M₃ fue la única parcela en todo el estudio donde no se evidenció muertes de la especie *Nannotrigona perilampoides*. En el T₃ hubo un total de 11 individuos muertos: 3 en la T₃M₁ (2 en la semana 4, y 1 en la semana 5); 3 en la T₃M₂ (1 en la semana 4, y 2 en la semana 5); y 5 en la T₃M₃ (1 en la semana 3, 2 en la semana 4, y 2 en la semana 5). Los individuos recolectados presentaban letargo e inmovilidad; lo que coincide con Roque (2018), quien señala que el hongo entomopatógeno, en ocasiones, no llega a matar a su huésped directamente, sin embargo, puede causar efectos secundarios que repercuten en la alteración del ciclo de vida de los insectos.

En la tabla 4.6, se detalla el registro de individuos de *Parachartergus apicalis* muertos, desde la semana de experimentación 1 hasta la semana 7, en función de los tratamientos aplicados. El T₃ fue el que tuvo el mayor número de individuos muertos: 6 en T₃M₁; 7 en T₃M₂; y 4 en T₃M₃. El T₀ solamente registró 3 decesos de esta especie: 1 en T₀M₁ durante la semana 2; 1 en T₀M₂ durante la semana 4; y 1 en T₀M₃ durante la semana 1. Por otro lado, en T₁ y T₂ se reportó la muerte de 4 y 5 individuos, respectivamente.

Tabla 4.6. Muerte de avispa negra de puntas blancas (*Parachartergus apicalis*).

Tratamientos	Semana							Total
	1	2	3	4	5	6	7	
T ₀ M ₁	0	1	0	0	0	0	0	1
T ₀ M ₂	0	0	0	1	0	0	0	1
T ₀ M ₃	0	1	0	0	0	0	0	1
T ₁ M ₁	0	1	0	0	1	0	0	2
T ₁ M ₂	0	0	1	0	0	0	0	1
T ₁ M ₃	0	1	0	0	1	0	0	2
T ₂ M ₁	0	0	0	1	0	0	0	1
T ₂ M ₂	0	1	0	0	1	0	0	2
T ₂ M ₃	0	0	0	1	0	0	0	1
T ₃ M ₁	1	0	2	1	2	0	0	6
T ₃ M ₂	2	1	0	2	2	0	0	7
T ₃ M ₃	0	2	0	1	1	0	0	4

Fuente: Los autores.

Las muestras de individuos de *Parachartergus apicalis* afectados presentaban esporulación superficial y una coloración oscura en el cuerpo. Urra (2015), sostiene que los hongos entomopatógenos atacan a insectos de diferentes grupos incluidos los Himenópteros, además el autor especifica que de estos organismos depende en gran medida la variabilidad intraespecífica dentro de la misma especie.

En la tabla 4.7, se detalla el registro de individuos de *Polistes cinerascens* muertos, desde la semana 1 hasta la 7. En todas las parcelas experimentales, se pudo recolectar al menos un individuo muerto de esta especie. En T₀ se reportó solamente 3 individuos muertos, 1 por cada parcela experimental. En T₁ y T₂ se recolectó la muerte de entre 7 y 5 individuos respectivamente. En estos dos tratamientos, hubo una ocurrencia de muertes durante las semanas 1, 2, 3, y 5. El T₃ afectó a un mayor número de individuos (14 en total): 3 en T₃M₁; 4 en T₃M₂; y 7 en T₃M₃.

Tabla 4.7. Muerte de *Polistes cinerascens*.

Tratamientos	Semanas							Total
	1	2	3	4	5	6	7	
T ₀ M ₁	0	1	0	0	0	0	0	1
T ₀ M ₂	0	0	1	0	0	0	0	1
T ₀ M ₃	0	0	0	0	1	0	0	1
T ₁ M ₁	1	0	1	0	1	0	0	3
T ₁ M ₂	0	1	0	0	1	0	0	2
T ₁ M ₃	0	1	0	0	1	0	0	2
T ₂ M ₁	1	0	0	0	1	0	0	2
T ₂ M ₂	0	1	1	0	0	0	0	2
T ₂ M ₃	0	0	1	0	0	0	0	1
T ₃ M ₁	1	0	0	2	0	0	0	3
T ₃ M ₂	1	1	0	0	2	0	0	4
T ₃ M ₃	2	2	1	0	2	0	0	7

Fuente: Los autores

La especificidad de los hongos entomopatógenos varía considerablemente según su género y especie, algunos son capaces de afectar un amplio rango de hospederos y otros son selectivos al momento de parasitar a sus hospederos. A lo largo de este estudio se han observado decesos de los Himenópteros, Araneae y Hemípteros, resultados que se asemejan con los de Garcia et al., (2011), quienes afirman que los géneros *B. bassiana* y *M. anisopliae* infectan a cerca de 100 especies de insectos en diferentes órdenes, incluyendo Hemípteros, Himenópteros, Lepidópteros, Coleópteros, este último mostrando mayor susceptibilidad a los entomopatógenos.

Los resultados sobre la mortalidad de la avispa chaqueta amarilla (*Ropalidia marginata*) se muestran en la tabla 4.8. No se presentó muerte de individuos en T₀M₁ y T₀M₃, pereciendo solo 1 individuo en el T₀M₂ en la semana 3; 4 individuos en el T₁ y en el T₂; y 14 individuos en el T₃. La tasa mayor mortalidad se dio en T₃M₃, con un total de 6 individuos; 1 en las semanas 1 y 3, y 2 en las semanas 2 y 5. En la semana 4, solamente T₃M₁ se registró la muerte de un individuo de esta especie.

Tabla 4.8. Muerte de avispa chaqueta amarilla (*Ropalidia marginata*).

Tratamientos	Semanas							Total
	1	2	3	4	5	6	7	
T ₀ M ₁	0	0	0	0	0	0	0	0
T ₀ M ₂	0	0	1	0	0	0	0	1
T ₀ M ₃	0	0	0	0	0	0	0	0
T ₁ M ₁	0	0	1	0	1	0	0	2
T ₁ M ₂	0	1	0	0	0	0	0	1
T ₁ M ₃	0	0	0	0	1	0	0	1
T ₂ M ₁	1	0	0	0	1	0	0	2
T ₂ M ₂	0	1	0	0	0	0	0	1
T ₂ M ₃	0	0	1	0	0	0	0	1
T ₃ M ₁	1	0	2	1	0	0	0	4
T ₃ M ₂	0	1	1	0	2	0	0	4
T ₃ M ₃	1	2	1	0	2	0	0	6

Fuente: Los autores

Los individuos afectados presentaron micelación externa de color marrón oscuro; coincidiendo con el criterio de Urra (2015), quien encontró que en la Estación Experimental Quilamapu de Chile, existen alrededor de 800 cepas de hongos entomopatógenos efectivos en diversas especies de insectos, incluyendo la avispa chaqueta amarilla que es considerada una plaga social en algunos países de Latinoamérica.

Tabla 4.9. Muerte de abeja europea (*Apis mellifera*).

Tratamientos	Semanas							Total
	1	2	3	4	5	6	7	
T ₀ M ₁	0	0	0	0	0	0	0	0
T ₀ M ₂	0	1	0	0	0	0	0	1
T ₀ M ₃	0	0	0	0	0	0	0	0
T ₁ M ₁	1	0	0	0	1	0	0	2
T ₁ M ₂	0	0	0	1	0	0	0	1
T ₁ M ₃	0	0	0	0	1	0	0	1
T ₂ M ₁	0	0	0	1	1	0	0	2
T ₂ M ₂	0	0	0	0	1	0	0	1
T ₂ M ₃	0	0	0	1	0	0	0	1
T ₃ M ₁	2	0	1	2	1	0	0	6
T ₃ M ₂	1	2	3	1	2	0	0	9
T ₃ M ₃	1	0	2	1	1	0	0	5

Fuente: Los autores

En la tabla 4.9, se detalla el registro de individuos de *Apis mellífera* muertos, desde la semana de experimentación 1 hasta la 7, en función de los tratamientos estudiados. Se constató que en T₀M₁ y T₀M₃ no pereció ningún individuo de esta especie, por su parte, el T₃M₂ presentó la mayor cantidad de muertes (9 en total), siendo la semana 3 donde se alcanza el pico de mortalidad con la muerte de 3 insectos de esta especie. En la semana 5 hubo una mayor ocurrencia de muertes en todo el experimento (8 en total).

Téllez *et al.* (2009), afirman que las abejas, al ser organismos de una gran densidad poblacional, son capaces de ser más resistentes a enfermedades, sin embargo, cuando estos organismos se encuentran en condiciones controladas, la patogenicidad de cualquier microorganismo puede ser letal.

4.2.2 ANÁLISIS DEL PARASITISMO DEL HONGO *Metarhizium anisopliae*

Mediante el análisis de los inóculos, se encontró un total de tres especies de hongos asociados a los individuos muertos de las especies de insectos benéficos (tabla 4.10). Se denota que las esporas circulares en cadenas encontradas son características de hongos saprofitos como el *Penicillium* y *Aspergillus*. Por otro lado, se observaron hifas y esporas características de *Cladosporium* en las especies abeja europea, araña saltarina, y chinche *Zelus*.

Tabla 4.10. Especies de hongos encontrados en las especies de insectos benéficos.

Especies de insectos benéficos	Especies de hongos encontrados
Avispa cubo	<i>Aspergillus</i>
Avispa negra de puntas blancas	<i>Aspergillus</i>
Chalaco o abeja sin agujijón	<i>Penicillium</i>
Avispa de alas blancas	<i>Penicillium</i>
Avispa chaqueta amarilla	<i>Penicillium</i>
Abeja europea	<i>Cladosporium</i>
Araña saltarina	<i>Cladosporium</i>
Chinche <i>zelus</i>	<i>Cladosporium</i>

Fuente: Los autores

Comparada con la investigación Almendra, Cañón, Cárdenas, Lemos y Murillas (2019), la morfología de los hongos *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus* identificados en medios acuosos y terrestres, son similares a las características morfológicas encontradas en la entomofauna benéfica del maíz, donde han

actuado como saprofitos luego de que el insecto pereciera. En este estudio, al no tener clara las causas de la muerte de la entomofauna, se procedió a diseccionar el abdomen de los insectos, se retiró el micelio interno, se preparó un medio de cultivo con PDA el cual se esterilizó y plaqueó en cajas de Petri.

Dentro del medio de cultivo, el hongo sembrado presentó un color amarillento, característico del *Metarhizium anisopliae* en PDA. A los 15 días de inoculado se plaqueó y se observó en el microscopio, donde se pudo constatar un micelio irregularmente ramificado con hasta 3 ramas en cada septa, los conidios ovalados y una coloración verde oscura en todos los aislamientos, resultados comparables con la investigación de Gómez *et al.*, (2014), quienes manifiestan que el *Metarhizium anisopliae* presenta un color oliváceo, amarillento, verdoso, marrón oscuro, dependiendo del aislamiento, además de que el conidióforo nace del micelio con 2 o 3 ramas irregulares en cada septa.

Con este análisis se pudo comprobar que el *Metarhizium anisopliae* incide en la muerte de la entomofauna benéfica en los órdenes Himenóptera, Araneae y Hemiptera, teniendo mayores efectos en el tratamiento 3 y sus diferentes submuestras. Dentro de los resultados de la investigación de Corrales *et al.* (2017), mencionan que los depredadores naturales muchas veces consumen organismos parasitados por el hongo, lo que repercute en una infección digestiva en el individuo.

Gutiérrez *et al.*, (2013), afirman que las enfermedades infecciosas creadas por estos microorganismos generalmente invaden y se multiplican en el insecto causándoles la muerte, mientras que en ocasiones sólo producen efectos crónicos en el insecto, lo que muchas veces es aprovechado por otros organismos saprófitos. Por su parte Téllez *et al.*, (2009), afirman que los insectos poseen diferentes mecanismos de defensa que les permite mantener inmunidad en diversos patógenos, sin embargo, al encontrarse en bajas densidades poblacionales tienden a ser susceptibles.

4.2.3 MORTALIDAD DE LA ENTOMOFAUNA BENÉFICA

Al principio de esta investigación se planteó como hipótesis general del tema que al menos una de las concentraciones de los tratamientos a base de *Metarhizium*

anisopliae afectó en una proporción menor al 20% a la entomofauna benéfica presente en los cultivos de maíz, sin embargo, se manejaron 3 hipótesis alternativas que ayudarían a sostener resultados adversos a la hipótesis planteada, considerando que:

- Ninguna de las concentraciones del hongo *Metarhizium anisopliae* afectaron a la entomofauna benéfica de los cultivos de maíz en una proporción mayor al 20%.
- Todas las concentraciones del hongo *Metarhizium anisopliae* afectaron en una proporción mayor al 20% a la entomofauna benéfica de los cultivos de maíz.
- A mayor concentración del hongo *Metarhizium anisopliae*, mayor fue el porcentaje de mortalidad en la entomofauna benéfica de los cultivos de maíz.

En la tabla 4.11 se reportan los niveles de mortalidad de la entomofauna presente en el experimento por cada una de las parcelas según los tratamientos planteados.

Tabla 4.11. Mortalidad de la Entomofauna.

Tratamiento	Especie							
	Avispa cubo	Avispa negra	Avispa chaqueta amarilla	Avispa	Abeja europea	Chalaco	Chinche zelus	Araña saltarina
T ₀ M ₁	0,00%	3,33%	0,00%	3,33%	0,00%	3,33%	3,33%	3,33%
T ₀ M ₂	3,33%	3,33%	3,33%	3,33%	3,33%	3,33%	0,00%	3,33%
T ₀ M ₃	0,00%	3,33%	0,00%	3,33%	0,00%	0,00%	3,33%	3,33%
T ₁ M ₁	6,66%	6,66%	6,66%	10,00%	6,66%	3,33%	6,66%	6,66%
T ₁ M ₂	3,33%	3,33%	3,33%	6,66%	3,33%	3,33%	6,66%	10,00%
T ₁ M ₃	3,33%	6,66%	3,33%	6,66%	3,33%	3,33%	10,00%	6,66%
T ₂ M ₁	3,33%	3,33%	6,66%	6,66%	6,66%	3,33%	3,33%	6,66%
T ₂ M ₂	3,33%	6,66%	3,33%	6,66%	3,33%	3,33%	6,66%	3,33%
T ₂ M ₃	6,66%	3,33%	3,33%	3,33%	3,33%	3,33%	3,33%	3,33%
T ₃ M ₁	13,33%	20,00%	13,33%	10,00%	20,00%	10,00%	26,66%	23,33%
T ₃ M ₂	10,00%	23,33%	13,33%	13,33%	30,00%	10,00%	20,00%	20,00%
T ₃ M ₃	10,00%	13,33%	20,00%	23,33%	16,66%	16,66%	16,66%	30,00%

Fuente: Los autores.

Las tasas de mortalidad para la avispa cubo estuvieron comprendidas entre 0,00 y 10,00%; siendo T₀M₁ y T₀M₃ las más bajas, y T₃M₂ y T₃M₃ las más altas. La tasa de mortalidad para la Avispa negra fue desde 3,33% (T₀, T₁M₂, T₂M₁ y T₂M₃) hasta 23,33% (T₃M₂). La mortalidad de la Avispa chaqueta amarilla estuvo

comprendida, desde 0% en T₀M₃ y T₀M₃, hasta 20,00% en T₃M₃. La abeja europea y la araña saltarina fueron las especies que alcanzaron la tasa más alta de mortalidad (30,00%) en T₃M₂ y T₃M₃, respectivamente. Con un nivel muy parecido (26,66%) el Chinche zelus en el T₃M₁. La tasa de mortalidad para el chalaco estuvo comprendida desde 0,00% (T₀M₃) hasta 16,66% (T₃M₃).

Tomando en consideración cada una de las concentraciones establecidas en los diferentes tratamientos, y teniendo en cuenta que el T₀ es un tratamiento control, al cual no se le aplicó ningún tipo de concentración, se puede dar como aceptada la hipótesis general del tema y se refutan las hipótesis alternativas debido a que:

- El T₃ tuvo un pico de mortalidad superior al 20% (30%), siendo el tratamiento de una amplia diferencia porcentual en comparación con T₁ y T₂ con 10 y 6,66%, respectivamente
- El T₁ y T₂ muestran valores de mortalidad que oscilan entre 3-10%, siendo el T₃ el único tratamiento con un porcentaje mayor al 20%.
- Los tratamientos muestran picos de mortalidad del 10% en T₁ (0,5 g/l); 6,66% en T₂ (1 g/l); y 30% en T₃ (1,5 g/l); no cumpliendo con el supuesto de a mayor concentración del hongo, mayor mortalidad hacia la entomofauna benéfica.

4.2.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La tabla 4.12 resume los resultados de la prueba de normalidad de los patrones de mortalidad de las especies de la entomofauna benéfica del cultivo de maíz, mediante el Test de Shapiro-Wilk, el mismo que inicialmente mostró que no había normalidad de datos en la experimentación (ver anexo 23). Esto se asocia a que las dosis actuaron de forma muy diferenciada en la afectación a especies de insectos benéficos; lo cual se evidenció en la distribución de muertes (desde 0 a 30% por parcela experimental).

Tabla 4.12. Prueba de normalidad de la distribución de datos, basada en el Test de Shapiro-Wilk.

Tratamientos	Dosis de <i>Metarhizium anisopliae</i> (g/l)	Sig.
T ₀	0,0	0,637
T ₁	0,5	0,463
T ₂	1,0	0,637
T ₃	1,5	0,637

Fuente: Los autores.

Para López y González (2014) la transformación de datos desea alcanzar la homogeneidad de varianza y conseguir una mejor aproximación a la normalidad de los datos al ser transformados. Condo y Pazmiño (2015) mencionan que cuando se cuenta con datos muy pequeños en investigaciones vinculadas a UFC, insectos o huevos de ellos, entre otros, por lo general, los datos siguen la distribución de Poisson, en debido caso es recomendable la transformación mediante la extracción de la raíz cuadrada de cada uno de los datos obtenidos, sumándole al final la unidad (1).

$$Y = \sqrt{x + 1} \quad (3)$$

Donde:

Y= datos transformados

X= datos del estudio

1= constante numérico

Tabla 4.13. ANOVA de la incidencia del *Metarhizium anisopliae* sobre la entomofauna benéfica de cultivos de maíz.

Especie de entomofauna benéfica	Tratamientos	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<i>Synoeca septentrionalis</i>	Entre grupos	2,036	3	0,679	3,701	0,015
	Dentro de grupos	14,667	80	0,183		
	Total	16,702	83			
<i>Phidippus johnsoi</i>	Entre grupos	11,143	3	3,714	10,833	0,000
	Dentro de grupos	27,429	80	0,343		
	Total	38,571	83			
<i>Zelus renardii</i>	Entre grupos	8,286	3	2,762	10,265	0,000
	Dentro de grupos	21,524	80	0,269		
	Total	29,810	83			
<i>Nannotrigona perilampoides</i>	Entre grupos	2,512	3	0,837	3,318	0,024
	Dentro de grupos	20,190	80	0,252		
	Total	22,702	83			
<i>Parachartergus apicalis</i>	Entre grupos	6,131	3	2,044	6,577	0,000
	Dentro de grupos	24,857	80	0,311		
	Total	30,988	83			
<i>Ropalidia marginata</i>	Entre grupos	4,607	3	1,536	6,114	0,001
	Dentro de grupos	20,095	80	0,251		
	Total	24,702	83			
<i>Polistes cinerascens</i>	Entre grupos	3,274	3	1,091	3,395	0,022
	Dentro de grupos	25,714	80	0,321		
	Total	28,988	83			
<i>Apis mellifera</i>	Entre grupos	10,607	3	3,536	11,602	0,000
	Dentro de grupos	24,381	80	0,305		
	Total	34,988	83			

Fuente: Los autores

En la tabla 4.13 se muestran los resultados del análisis estadístico ANOVA, con un intervalo de confianza del 95%, permitiendo encontrar diferencias entre los tratamientos sobre el efecto del *Metarhizium anisopliae* en la mortalidad de 8 especies de entomofauna benéfica asociada a cultivos de maíz. Se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) en la mortalidad de individuos de tres especies: *Synoeca septentrionalis*, *Nannotrigona perilampoides* y *Polistes cinerascens*. Por otra parte, en las especies *Phidippus johnsoi*, *Zelus renardii*, *Apis mellífera* y *Apis mellífera* hubo diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre tratamientos.

En la tabla 4.14 se muestra la prueba de Tukey aplicada a las variables en estudio. Se demuestra que el T₃ (1,5 g/l de *Metarhizium anisopliae*) en comparación con T₀ (testigo) es la dosis más significativa ($p < 0,05$) en las 8 especies de entomofauna benéfica asociadas al cultivo de maíz.

Tabla 4.14. Prueba post hoc (HDS Tukey)

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Significancia							
		<i>Synoeca septentrionalis</i>	<i>Phidippus johnsoi</i>	<i>Zelus renardii</i>	<i>Nannotrigona perilampoides</i>	<i>Parachartergus apicalis</i>	<i>Ropalidia marginata</i>	<i>Polistes cinerascens</i>	<i>Apis mellífera</i>
T ₀	T ₁	0,702	0,718	0,450	0,990	0,945	0,792	0,697	0,836
	T ₂	0,702	0,994	0,933	0,990	0,993	0,792	0,948	0,836
	T ₃	0,009	0,000	0,000	0,035	0,001	0,001	0,019	0,000
T ₁	T ₀	0,702	0,718	0,450	0,990	0,945	0,792	0,697	0,836
	T ₂	1,000	0,859	0,809	1,000	0,993	1,000	0,948	1,000
	T ₃	0,143	0,001	0,003	0,075	0,007	0,015	0,234	0,000
T ₂	T ₀	0,702	0,994	0,933	0,990	0,993	0,792	0,948	0,836
	T ₁	1,000	0,859	0,809	1,000	0,993	1,000	0,948	1,000
	T ₃	0,143	0,000	0,000	0,075	0,003	0,015	0,076	0,000
T ₃	T ₀	0,009	0,000	0,000	0,035	0,001	0,001	0,019	0,000
	T ₁	0,143	0,001	0,003	0,075	0,007	0,015	0,234	0,000
	T ₂	0,143	0,000	0,000	0,075	0,003	0,015	0,076	0,000

Fuente: Los autores.

Esto indica que las muertes de los individuos de las especies analizadas están vinculadas directamente con la dosis alta del *Metarhizium anisopliae*. Por otro lado, T₃ en comparación con T₁ (0,5 g/l de *Metarhizium anisopliae*) tuvo significancia ($p < 0,05$) en la muerte de individuos de la mayoría de especies de entomofauna benéfica; a excepción de *Synoeca septentrionalis* y *Polistes cinerascens*.

La comparación entre T₃ y T₂ (1,0 g/l de *Metarhizium anisopliae*) fue muy similar a la descrita previamente. En este caso, hubo significancia en la muerte de tres especies: *Synoeca septentrionalis*, *Polistes cinerascens* y *Nannotrigona perilampoides*. Finalmente, se encontró que en T₂ comparada con T₀ y T₁ no hubo significancia ($p > 0,05$). Se registró una mayor tasa de mortalidad en T₃ (127 individuos), seguido del T₁ con un total de 41 individuos; lo que dio lugar a que el tratamiento más óptimo fuese el T₂; ya que presenta la mortalidad más baja (32 individuos).

Tabla 4.15. Mortalidad de entomofauna benéfica por tratamiento.

Tratamientos	Dosis de <i>Metarhizium anisopliae</i> (g/l)	Individuos muertos (Nº)
T ₀	0,0	16
T ₁	0,5	41
T ₂	1,0	32
T ₃	1,5	127

Fuente: Los autores

El testigo evidenció que la tasa natural de mortalidad fue de 16 individuos durante todo el proceso de investigación (tabla 4.15); lo que permite evidenciar que las muertes ocurridas en los diferentes tratamientos, no están dominadas por la dosis de *Metarhizium anisopliae*, sino que hay influencia de factores naturales como la temperatura o ciclo de vida del organismo benéfico, depredación de otros organismos, entre otros. Estos datos a su vez, reafirman al T₂ como el tratamiento de menor incidencia en la muerte de la entomofauna benéfica, además de mostrar mayor efectividad en el control biológico de plagas.

4.3 ELABORACIÓN UNA GUÍA DE CAMPO PARA EL USO ADECUADO DEL HONGO *Metarhizium anisopliae* COMO ALTERNATIVA PARA LA PRESERVACIÓN DE LA ENTOMOFAUNA BENÉFICA DE LOS CULTIVOS DE MAÍZ

4.3.1 REALIZACIÓN DE UNA GUÍA DE CAMPO

La guía de campo elaborada describe la aplicación del hongo *Metarhizium anisopliae* para la preservación de la entomofauna benéfica de cultivos de maíz, puesto a que esto permitirá a los productores de esta gramínea el uso de tecnologías amigables con el ambiente y el conocimiento de los beneficios que

la aplicación de ellos trae. Se tomaron en cuenta los resultados del T₂ de esta investigación, pues fue el que presento mejores resultados tanto en el control de plagas como en el menor porcentaje de insectos muertos dentro del ciclo vegetativo del maíz, en la guía se detalla:

- Eficacia de los hongos entomopatógenos como controladores biológicos, a una dosis de 1 g/l.
- Importancia de la entomofauna benéfica como controladores biológicos y polinizadores.
- Complementariedad entre hongos entomopatógenos y controladores biológicos.
- Aplicación del hongo *Metarhizium anisopliae* en el maíz, con una dosis de 1 g/l para el control de plagas.

INTRODUCCIÓN

Desde la revolución verde, los productos sintéticos se han aplicado para el control químico de plagas ocasionando desequilibrios ambientales y riesgos de contaminación, tanto para los alimentos como para el entorno y la salud humana (Acosta, 2019). El uso indiscriminado de estos productos ha causado resistencia en diferentes organismos plaga, esto ha llevado al productor a la aplicación con dosificaciones cada vez más tóxicas que lejos de acabar con la plaga ha derivado en el surgimiento de plagas secundarias, resurgencia de plagas y disminución de las poblaciones de enemigos naturales (Pacheco, Reséndiz y Arriola, 2019).

El control biológico de plagas se muestra como una alternativa ecológica y eficaz a largo plazo (Acosta, 2019). Al mismo tiempo ofrece beneficios dentro de la economía de los agricultores, protección del medio ambiente y sobre todo a la salud de los consumidores (Pacheco, Reséndiz y Arriola, 2019). Los hongos entomopatógenos como controladores de plaga han sido muy estudiados, dando resultados exitosos en el biocontrol, además de ser inocuos para la salud humana y tener un bajo impacto para la entomofauna benéfica.

El hongo *Metarhizium anisopliae* ha sido de los más estudiados y se ha empleado para el control de gusanos cortadores y otros insectos que se alimentan en la superficie del suelo (Driesche, Hoddle y Center, 2007); además de tener efectos patógenos en alrededor de 400 taxones de lepidópteros, coleópteros, dípteros y homópteros (Pacheco, Reséndiz y Arriola, 2019). Sin embargo, existen investigaciones que descartan la patogenicidad en organismos polinizadores y enemigos naturales de plagas, haciéndolos más efectivos a la hora de actuar en conjunto.

Esta guía fue orientada en la investigación realizada en la ESPAM MFL, con el objetivo de disminuir los niveles de contaminación y muerte de los enemigos naturales de las plagas provocada por la aplicación de plaguicidas, además de fomentar el uso de bioinsecticidas que trae como beneficios la proliferación de la entomofauna benéfica y la inexistencia de impactos negativos al ambiente.

Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos constituyen el grupo más importante para el control biológico de insectos plaga de diferentes órdenes los cuales afectan a la producción de los cultivos y por ende a la economía de los agricultores (SENASA [Servicio Nacional de Sanidad Agraria], 2017). Por su parte (Pacheco, Reséndiz y Arriola, 2019) mencionan que los hongos más estudiados y distribuidos comercialmente son los detallados en la tabla 1.1.

Tabla 11. Hongos y acción frente a plagas en cultivo

HONGO	CULTIVO	PLAGA DE IMPORTANCIA ECONÓMICA
<i>Beauveria bassiana</i>	Café	Broca del café
	Frijol	Conchuela del frijol, chapulines
	Hortalizas	Mosca blanca
<i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i>	Caña de azúcar, areas verdes	Gusano barrenador
	Maíz	Gallina ciega
	Mango	Insectos escama, mosca de fruta
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Caña de azúcar y maíz	Gusano barrenador
	Maíz y frijol	Chapulines
	Maíz, frijol, caña de azucar, ajonjolí, platano, maní	Langosta centroamericana
<i>M. anisopliae</i> , Sorokin y <i>Nematodos entomopatógenos</i>	Larvas de gallina ciega	Maíz
<i>B. bassiana</i> , <i>M. anisopliae</i> , Sorokin y <i>P. fumosoroseus</i>	Cereza	Picudo
	Hortalizas	Mariposa blanca de col, gusano dorso de diamante, gusano falso medidor, pulgon de la col
<i>B. bassiana</i> , <i>Lecanicillium lecanii</i> y <i>P. fumosoroseus</i>	Cítricos	Virus de la tristaza y piulgon café de los cítricos
<i>B. bassiana</i> , <i>M. anisopliae</i> , Sorokin, <i>P. Fumosoroseus</i>	Maíz	Gusano cogollero del maíz
<i>N. rileyi</i> y <i>P. fumosoroseus</i>	Maíz	Larvas del gusano cogollero del maíz
<i>Trichoderma spp.</i>	Cebolla	Pudrición radical en cebolla
<i>Verticillium</i> y <i>P. fumosoroseus</i>	Algodón	Mosca blanca

Metarhizium anisopliae

Es un hongo imperfecto de color verde oliva que pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, clase Hyphomycetes (Barrera y Echenique, 2019). Tiene reproducción asexual, en conidióforos y nacen a partir de hifas ramificadas. Este hongo puede adherirse a la cutícula de los insectos por intermedio de sus partes blandas o por vía oral (Fernández, 2020).

Una vez dentro del hospedero, las esporas germinan y el micelio produce toxinas que producen la muerte del huésped en un tiempo promedio de 3 a 4 días. Los síntomas del parasitismo del insecto son la pérdida de sensibilidad, movimientos

descoordinados y parálisis (Barrera y Echenique, 2019). Una vez que muere el insecto, queda momificado debido a la secreción de sustancias antibacteriales. Además, si las condiciones de humedad son óptimas, se inicia de nuevo el ciclo, el micelio cubre el insecto, se producen esporas que son arrastradas por el viento y las lluvias, pudiendo atacar nuevamente a otro insecto (Fernández, 2020).

Modo de acción

Los hongos entomopatógenos infectan a su hospedero a través de la cutícula (regiones intersegmentales o zonas blandas). En este proceso participan algunas glicoproteínas que sirven como receptor de la conidia. Al estar la conidia sobre el tegumento, este crea un tubo germinativo que se fija en la cutícula del insecto (12-20 horas). Como resultado de la degradación enzimática y la presión ejercida por el tubo germinativo en la cutícula, se rompe el área esclerotizada y membranosa de la misma; lo que facilita la penetración física del hongo al interior del insecto (8-12 horas) (SENASA [Servicio Nacional de Sanidad Agraria], 2017).

Una vez en el hemocele (cavidad interior del insecto), las hifas se ensanchan y ramifican, produciendo formas miceliales libres y unicelulares llamadas blastosporas. La muerte del insecto se da por producción de toxinas del hongo o por el consumo de los nutrientes que este necesita para su desarrollo, provocando deshidratación, letargo y muerte. Con la muerte del insecto finaliza la etapa parasítica e inicia la saprofita. De esta manera, el hongo coloniza todos los órganos y tejidos del insecto, además de producir sustancias antibacteriales que impiden la descomposición del mismo (3-8 días).

Entomofauna benéfica

La mayoría de las plantas floríferas sólo producen semillas solamente si los animales polinizadores han transportado previamente el polen de las anteras a los estigmas de sus flores (FAO [Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura], 2009). La polinización biótica está muy difundida entre las plantas terrestres, además de constituir un servicio ecológico de importancia crucial para la humanidad (Medan, 2008).

Polinizadores

Existen varios grupos de animales que visitan flores con regularidad, estos actúan como polinizadores cuando su actividad provoca la transferencia de polen desde las anteras a los estigmas. La mayoría de los casos de polinización biótica está protagonizada por vertebrados o artrópodos (Medan, 2008). La mayoría de especies de abejas son polinizadores eficaces, junto con las polillas, moscas, avispas, escarabajos y mariposas, constituyen la mayor parte de las especies polinizadoras. Entre los polinizadores vertebrados se incluyen murciélagos, monos, roedores, ardillas, entre otros, también aves como el caso de colibríes, pájaros sol, loros y otros (FAO, 2009).

Importancia

FAO (2009) afirma que la importancia de los polinizadores en los diferentes medios de cultivo toma vital importancia para la vida en la tierra, de la misma manera afirman que:

- En los ecosistemas agrícolas, los polinizadores son vitales para la producción hortícola y forrajera, así como para la producción de semillas.
- En la seguridad alimentaria, la diversidad de alimentos, la nutrición humana y el precio de los alimentos dependen en gran medida de los polinizadores.
- Los servicios de polinización saludable se aseguran mejor con la abundancia y diversidad de polinizadores.
- La interacción entre plantas, polinizadores y dispersores de semilla, forman interdependencia que constituyen la arquitectura de la biodiversidad.

Tabla 2.2. Polinizadores según su importancia

Fuente: (Medan, 2008)

ORDEN	IMPORTANCIA RELATIVA	INSECTOS
Hymenoptera	Extremadamente importantes	Abejas, hormigas, avispas y avispones
Lepidoptera	Muy importantes	Mariposas y polillas
Diptera		Moscas
Coleoptera	Importantes para algunos grupos de plantas	Escarabajos
Thysanoptera	Importantes para un pequeño grupo de plantas	Trips
Collembola	Poco importantes	
Blattaria		
Dermaptera		
Hemiptera		
Mecoptera		
Neuroptera		
Plecoptera		
Trichoptera		

Enemigos naturales

Los insectos como controladores biológicos son organismos que se alimentan de otro insecto plaga, dentro de este grupo de controladores encontramos arañas, mariquitas, moscas, avispas, algunos ácaros entre otros (Smith y Capinera, 2019). Los agentes de control provienen de muchos grupos y difieren ampliamente en su biología y ecología, sin duda, un conocimiento claro de la taxonomía, biología y ecología, tanto del enemigo natural como de la plaga, es una gran ventaja a la hora de aplicar el control biológico (Driesche, Hoddle y Center, 2007).

Existen dos principales tipos de insectos benéficos, los depredadores y los parasitoides. Los depredadores, atacan a diversos tipos de insectos en el transcurso de su ciclo biológico, mientras que, los parasitoides depositan sus huevecillos sobre o dentro de los insectos plaga, al eclosionar, el parasitoide inmaduro se alimenta de su hospedero y lo mata (Smith y Capinera, 2019). Driesche *et al.* (2007) menciona que, los parasitoides son considerados el grupo más eficiente para el control integrado de plagas, cuenta con alrededor de 26 familias de himenópteros, entre los géneros más usados se encuentran Braconidae, Ichneumonidae, Eulophidae, Pteromalidae, Encyrtidae y Aphelinidae, además de 13 familias de dípteros, Cecidomyiidae, Acroceridae, Nemestrinidae, Bombyliidae, Phoridae, Pipunculidae, Conopidae, Pyrgotidae, Sciomyzidae, Cryptochetidae, Calliphoridae, Sarcophagidae y Tachinidae.

Complementariedad entre hongos entomopatógenos y enemigos naturales de plagas

A medida que se amplía la superficie de cultivo, ha ido aumentando el uso de productos químicos agrícolas, a su vez, han disminuido las poblaciones de polinizadores en el ámbito del desarrollo agrícola (FAO, 2009), ya que, al aplicar pesticidas destinados al control de plagas, afectan de manera indirecta a la población de agentes polinizadores y de control biológico (Acosta, 2019).

El control con hongos entomopatógenos, disminuye las poblaciones de plagas en los cultivos y los mantiene por debajo del umbral del daño económico, es decir, la planta puede estar afectada por insectos plaga, sin embargo, el rendimiento de la cosecha no disminuirá puesto a la proliferación de otros

enemigos naturales de dichas plagas (MAG [Ministerio de Agricultura y Ganadería], 2017).

Los hongos entomopatógenos atacan a un número determinado de insectos, sin embargo, son inocuos para los polinizadores y depredadores naturales, lo que trae beneficios tanto en el incremento de la producción como en control biológico de los insectos en los que no tubo efectividad el entomopatógeno. Además de presentar inocuidad al medio ambiente y a quienes realizan las aplicaciones, a diferencia de los productos químicos (Suquilanda, 2020).

Pasos para la aplicación de *Metarhizium anisopliae* en cultivos de maíz

Consideraciones: Dentro de las consideraciones propuestas por SENASA (2017) se mencionan:

- Utilizar agua de río, potable o pozo transparente, caso contrario dejar en reposo por al menos 30 minutos.
- La aplicación de los hongos entomopatógenos debe hacerse, preferentemente, por la tarde, cuando la radiación solar no es muy fuerte.
- Tener en cuenta la velocidad del viento, trátese de aplicar el producto con vientos suaves o en ausencia de ellos.
- El equipo para la aspersion debe estar nuevo o limpio de productos químicos, además, la boquilla de aspersion no debe tener desgaste o fugas.

Aplicación del producto: Mota (2018) afirma que se debe aplicar el producto 15 días después de la siembra y se debe rociar con la bomba de aspersion el suelo, follaje y tallo de la planta. Por otra parte, Fajardo (2020) afirma que a los 45 días del sembrío de la planta se debe repetir la dosis ya que son los tiempos críticos del maíz para ser atacado por las plagas.

Concentración: La concentración que se empleará es de 1 g/l, que en productos comerciales corresponde a 1×10^8 (100'000.000) conidios por cada gramo de producto.

Descripción gráfica de la aplicación del hongo *Metarhizium anisopliae* a los cultivos del maíz: Dentro de las principales actividades para la aplicación del

Metarhizium anisopliae a los cultivos del maíz, se detallan las propuestas por Bustillos (2015) las cuales siguen el siguiente proceso:

Tabla 2.3. Descripción gráfica de la aplicación del hongo *Metarhizium anisopliae* a los cultivos del maíz

	<p>Se puede realizar la aplicación del hongo con cualquier equipo de aspersión, sin embargo, se recomiendan bombas de mochila, con boquilla cónica de gotas finas y una descarga aproximada de 900 ml/minuto.</p> <p>Antes de las labores de aplicación se debe revisar que la boquilla de aspersión, filtros y demás se encuentren en buen estado, además de calcular la regularidad con el que se debe ejercer presión en la manivela para obtener la descarga requerida.</p>
	<p>En este ejemplo se va a utilizar 60 g del hongo (dosis recomendada para 60 litros de agua) en un balde, agregar 2 litros de agua, mezclar tratando de separar las conidias y arroz hasta que se cree una emulsión.</p> <p>Nota: para la manipulación de este producto se debe utilizar el EPP (Equipo de Protección Personal) requerido para fumigaciones (guantes, overol, mascarilla, botas, gafas, entre otros).</p>

	<p>Utilice una tela fina o un tamiz, vierta la mezcla y recoja el contenido en un balde, esto le ayudara a separar los residuos de arroz y la mezcla del hongo.</p> <p>El residuo de arroz que queda en el colador, debe ser lavado con agua en repetidas ocasiones hasta que salga la mayor parte de las conidias que se reprodujeron en este medio de cultivo.</p>
	<p>Verter la mezcla en un recipiente de 60 litros, enjuagar el balde en el que se hizo la mezcla y enrazar con agua limpia hasta alcanzar el volumen propuesto para esta aplicación (60 litros). Una vez listo el hongo para su aplicación, se debe dejar en reposo por una hora para permitir una completa hidratación de las esporas del hongo.</p>
	<p>El operario debe calibrar su marcha, asiendo recorridos que le permitan depositar la cantidad recomendada del preparado a las plantas (80-100 gotas/cm).</p> <p>Debe dirigir la aspersión a los lugares donde se encuentran los insectos y tener en cuenta la dirección del viento para que pueda ubicarse de tal forma que la aspersión llegue al sembrío y no sea arrastrada a otros lugares por la acción del viento.</p>

Ventajas y desventajas del uso de microorganismos para el control de plagas

Según SENASA (2017) entre las principales ventajas y desventajas de la aplicación de microorganismos para el control biológico de plagas están:

Ventajas:

- Control de plagas efectivo.
- Aplicación más segura.
- No se biomagnifican.
- No crean plagas resistentes, siendo sostenibles.
- Los productos no presentan residuos tóxicos, siendo útiles en la agricultura orgánica.
- No causan daño a las personas, animales o ambiente.
- Son inofensivos para los insectos benéficos.
- Se pueden aislar y reproducir fácilmente.

Desventajas:

- Mutabilidad genética.
- Requiere tiempo de experimentación (laboratorio, invernadero, campo).
- Los resultados pueden variar por: el clima, tipo de suelo u otros microorganismos

CONCLUSIONES

La eficacia de los hongos entomopatógenos para el control biológico de plagas trae beneficios muy importantes en el ámbito social, económico y ambiental, debido a que son inocuos para la salud humana, incrementa la productividad de la cosecha y no tiene efectos residuales en aguas, suelo ni aire.

La importancia de la entomofauna benéfica dentro de los sistemas de producción, radica en la efectividad de una amplia gama de enemigos naturales de diferentes insectos plaga, además cabe recalcar que, sin la acción de los polinizadores en las tierras de cultivo, las cosechas serían muy bajas y por ende los productos tendrían un precio muy alto.

Los enemigos naturales de las plagas complementan la acción fitopatógena del hongo, debido a la selectividad de estos al atacar a una plaga, puesto a que, al no causar daño a los insectos controladores, estos suplen las falencias del hongo y mantienen las poblaciones de la plaga por debajo del umbral del daño económico del productor.

La aplicación del hongo *Metarhizium anisopliae* en el maíz debe ser muy técnica y se deben seguir las recomendaciones planteadas en esta guía, pues la alteración de estas, puede traer resultados desfavorables a los productores, puesto a que, a elevadas concentraciones el umbral de daño a la entomofauna benéfica sería mayor, por ende, el control simbiótico (hongo-insectos controladores) se vería afectado.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- El establecimiento de las concentraciones de *Metarhizium anisopliae* correspondió a T₁: 0,5; T₂: 1; y T₃: 1,5 g/l, que aplicadas al cultivo de maíz después de 15 días provocaron afectaciones a 8 especies de entomofauna benéfica: *Synoeca septentrionalis*, *Phidippus johnsoi*, *Zelus renardii*, *Nannotrigona perilampoides*, *Parachartergus apicalis*, *Ropalidia marginata*, *Polistes cinerascens*, y *Apis mellífera*; no se observó reproducción de los individuos antes mencionados debido a que la población fue baja y a la adaptación de los mismos a *Metarhizium anisopliae*.
- Se determinó que el *Metarhizium anisopliae* bajo la dosis de T₃ afectó significativamente ($p < 0,05$) a la entomofauna benéfica y también reportó la tasa más alta de individuos muertos (127 durante el tiempo de experimentación). T₂ y T₁ presentaron los niveles de mortalidad más bajos (3,33-6,66% y 3,33-10%, respectivamente). Por lo tanto, a mayor dosis de *Metarhizium anisopliae*, mayor afectación (mortalidad) a la entomofauna benéfica del cultivo de maíz.
- La guía de campo fue diseñada para la obtención, multiplicación y aplicación al 1,0 g/l del *Metarhizium anisopliae*; como una alternativa viable para la preservación de la entomofauna benéfica y eliminación de plagas.
- Se da el cumplimiento de la hipótesis planteada, ya que las concentraciones del T₁ (0,5 g/l) y T₂ (1 g/l) demostraron una afectación menor al 20% en la mortalidad de las especies de entomofauna benéfica presente en el cultivo de maíz.

5.2 RECOMENDACIONES

- Considerar las condiciones ambientales y de laboratorio para la obtención, reactivación e inoculación del *Metarhizium anisopliae*, debido a que puede ser sensible ante alteraciones físicas, químicas, biológicas y ambientales; lo que limitaría su efectividad.
- Replicar en campo la aplicación de la dosis 1,0 g/l de *Metarhizium anisopliae* en cultivos de maíz para validar los hallazgos reportados en esta investigación.
- Emplear la guía de campo como herramienta técnica para el control de plagas, sin afectar a la entomofauna mediante el correcto uso y aplicación del *Metarhizium anisopliae* sobre en cultivos de maíz o de otro tipo.

BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, A., Linares, C., & Cachay, O. (2013). *Investigación en la acción. Un ejemplo de estudio experimental en el mercadeo de servicios*. Obtenido de www.redalyc.org
- Acosta, M. (2019). *Control biológico de plagas: qué es, ventajas, desventajas y ejemplos*. Obtenido de www.ecologiaverde.com
- AGRIPAC. (29 de Abril de 2016). *AGRIPAC*. Obtenido de <http://www.agripac.com.ec/es/preparar-suelo-la-siembra/>
- Agropinos. (12 de Agosto de 2020). *Sistemas de riego por aspersión*. Obtenido de <https://www.agropinos.com>
- AgroSíntesis. (28 de Noviembre de 2016). *Riego por goteo en el cultivo de maíz*. Obtenido de <https://www.agrosintesis.com>
- Aguirre, J., & Jaramillo, L. (2015). *The role of description in qualitative research*. Obtenido de scielo.conicyt.cl:
- Arboleda, F. (2019). *Incidencia de la Beauveria bassiana en el control de insectos. UTB. El Ángel-Carchi. EC*. Obtenido de dspace.utb.edu.ec: <http://dspace.utb.edu.ec>
- Barrera, J., y Echenique, D. (2019). *Efecto de crecimiento de hongos antagonistas (trichoderma sp y gliocladium sp) frente a hongos entomopatógenos (metarhizium sp, paecilomyces sp y beauveria sp) en medio nutritivo de pda*. Obtenido de repositorio.unillanos.edu.co
- Berger. (2020). *¿Por qué cultivar en invernadero? Ventajas y desventajas*. Obtenido de <https://www.berger.ca/es>
- Blanco, C. (4 de Mayo de 2016). *Para la buena preparación de suelo y siembras en maíz*. Obtenido de <https://www.campocyl.es>
- Bonilla, A., & Sigaña, D. (2019). *La productividad agrícola más allá del rendimiento por hectárea: análisis de los cultivos de arroz y maíz duro en Ecuador*. Obtenido de dspace.ups.edu.ec: <https://dspace.ups.edu.ec>
- Bustamante, B., & Gomez, Y. (Marzo de 2010). *Identificación, crianza y tabla de vida del depredador*. Obtenido de <http://riul.unanleon.edu.ni>

- Bustamante, M., & Valbuena, S. (2015). *Modelo experimental con bloques aleatorios simples y análisis multivariado para el mejoramiento de procesos orgánicos en la agroindustria*. Obtenido de www.scielo.org.co: <http://www.scielo.org.co>
- Bustillos, A. (2015). *Pasos para preparar una formulación de hongos entomopatógenos para su aplicación en campo*. Obtenido de www.researchgate.net
- Cabeza, M. (Noviembre de 2018). *Principales plagas y enfermedades del maíz*. Obtenido de <https://mayasl.com/principales-plagas-enfermedades-del-maiz/>
- Cabrera, R., Morán, J., Mora, B., Molina, H., Moncayo, O., Díaz, E., . . . Cabrera, C. (2016). *Evaluation of two natural insecticides and a chemical on pest control in the crop of beans in the litoral Ecuador*. Obtenido de scielo.conicyt.cl: <https://scielo.conicyt.cl>
- Cadena, P., Rendón, R., Aguilar, J., Salinas, E., De la Cruz, F., & Sangerman, D. (2017). *Métodos cuantitativos, métodos cualitativos o su combinación en la investigación: un acercamiento en las ciencias sociales*. Obtenido de www.scielo.org.mx: <http://www.scielo.org.mx/scielo>.
- Campoverde, R. (2018). *El sector maicero de Guayas, Los Ríos, Santa Elena y tres cantones de Manabí está en emergencia*. Obtenido de lahora.com.ec: <https://lahora.com.ec/>
- Chérrez, V. (2015). *Evaluación de dos distancias de siembra y tres niveles de fertilización con n, p, k, en el cultivo de maíz (zea mays l.)*. Obtenido de [dSPACE.esPOCH.edu.ec](http://dspace.esPOCH.edu.ec): <http://dSPACE.esPOCH.edu.ec>
- Cimmit. (2013). *Maíz en invernadero*. Obtenido de <https://www.agrosintesis.com/>
- Condo, L. y Pazmiño, J. 2015. *Diseño Experimental en el desarrollo del conocimiento científico de las ciencias agropecuarias*. Tomo 1 y Tomo 2. Riobamba – EC.
- Cortez, C. (Septiembre de 2014). *Entomopatógeno Metarhizium*. Obtenido de <http://www.fhia.org.hn>

- Cortez, M. (2019). *Microorganismos para uso agrícola*. Obtenido de <http://microbiolabecuador.com>
- Del Puerto, A., Tamayo, S., & Palacio, D. (2014). *Effects of pesticides on health and the environment*. Obtenido de scielo.sld.cu
- Deras, H. (2014). *Guía técnica. El cultivo del maíz*. Obtenido de repiica.iica.int: <http://repiica.iica.int>
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2014). *InfoStat versión 2014*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Obtenido de www.infostat.com.ar: <http://www.infostat.com.ar>
- Driesche, R., Hoddle, M., y Center, T. (2007). *Control de plagas y malezas por enemigos naturales*. Obtenido de www.fs.fed.us
- El Diario. (2019). Producción. *El MAG entregó \$ 2,9 millones en seguros agrícolas durante el 2018*. El Diario, Manabí, EC, ene, 2019. Obtenido de [eldiario.ec](https://www.eldiario.ec): [https://www.eldiario.ec/](https://www.eldiario.ec)
- Elorza, M. (2015). *Control natural de plagas en el huerto orgánico*. Obtenido de <http://www.munistgo.info>
- Escobar, P. (2015). *Entomofauna como controlador de plagas*. Obtenido de <https://cibnor.repositorioinstitucional.mx>
- Estrada, N., & Clara, I. (2016). *Control biológico de insectos*. Obtenido de <https://foodfirst.org/wp-content/uploads/2016/01/Control-biologico-de-insectos-un-enfoque-agroecologico.pdf>
- Eteza, J., García, O., & Gordillo, F. (2018). *Evaluation of the biological control of Spodoptera frugiperda in corn crop*. Obtenido de revistas.utb.edu.ec: <https://revistas.utb.edu.ec/index.php/sr/article/view/343/417>
- Fajardo, P., Alcívar, F., & Navarrete, J. (2017). *Determinación de la dosis óptima de (Beauveria bassiana y Lecanicillium lecanii) para el control biológico de garrapata, en ganado vacuno*. Obtenido De Sigloxxi.Espam.Edu.Ec:
- Fallas, J. (2012). *Análisis de varianza. Comparando tres o más medias*. Obtenido de www.ucipfg.com: <http://www.ucipfg.com>

- FAO [Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura]. (2009). *Los polinizadores: su biodiversidad poco apreciada, pero importante para la alimentación y la agricultura*. Obtenido de www.fao.org
- FAO. (2012). *Reglamento general de plaguicidas y productos afines de uso agrícola*. Obtenido de extwprlegs1.fao.org: <http://extwprlegs1.fao.org>
- FAO. (2016). *Ley Orgánica del Régimen de la Soberanía Alimentaria*. Obtenido de [fao.org](http://www.fao.org): <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu88076.pdf>
- FAO. (2017). *El estadamundial de la agricultura y la alimentacion: aprovechar los sistemas alimentarios para lograr una transformación rural inclusiva*. Obtenido de www.fao.org
- FAO. (2017). *Gusano cogollero del maiz*. Roma. Obtenido de <http://www.fao.org/3/a-i7471s.pdf>
- FAO. (2020). *Nota informativa de la FAO sobre la oferta y la demanda de cereales*. Obtenido de <https://www.google.com>
- Fernandez, C., Pérez, K., & Bedoya, A. (2017). *Diversidad de la entomofauna asociada a vegetación aledaña a cultivos de arroz, maíz y algodón*. Obtenido de www.researchgate.net:
- Fernandez, M. (2013). *Efecto del cambio climatico*. Obtenido de <http://www.ideam.gov.co>
- Fernandez, M. (2015). *Control biológico en cultivos hortícolas*. Obtenido de <https://core.ac>
- Fernández, T. (2020). *Evaluación de la aplicación de Beauveria bassiana y Metarhizium anisopliae para el control de trips (Frankliniella occidentalis) en rosas*. Obtenido de dspace.uce.edu.ec
- Flores, P., Muñoz, L., & Sánchez, T. (2019). *Study of the power of test for normality using unknown distributions with different levels of non normality*. Obtenido de www.researchgate.net
- Franquesa, M. (2016). *El cultivo de maíz. Agrotipma*. Obtenido de <https://www.agroptima.com/es/blog/cultivo-del-maiz/>

- García, C., & Rodríguez, G. (2012). *Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa*. Obtenido de redalyc.org
- García, M., Cappello, S., Leshner, J., & Molina, R. (2011). Aislamiento y caracterización morfológica de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *metarhizium anisopliae*. *Horizonte Sanitario*, vol. 10, núm. 2, mayo-agosto, 2011, pp. 21-28. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/4578/457845138002.pdf>
- Gavilánez, F., Suárez, C., Andrade, P., Martillo, J., & Morán, C. (2017). Size of plot in agricultural experiments. Obtenido de www.uagraria.edu.ec
- Gomez, H., Zapata, A., Torres, E., & Tenorio, M. (2014). *Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos*. Obtenido de <https://www.senasa.gob.pe>
- Gómez, P., & Mendoza, J. (2004). *Guía para la producción de Metarhizium anisopliae*. Obtenido de cincae.org:
- Guzman, R., Calzontzi, J., Salas, M., & Martínez, R. (2016). *Insects biological richness: analysis of their multidimensional importance*. Obtenido de www.researchgate.net
- Hernández, A., Osorio, E., López, J., Ríos, C., Varela, S., & Rodríguez, Y. (2018). Insectos benéficos asociados al control del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en el cultivo de maíz (*Zea mays L.*). *Agroproductividad*, 11(1), 9-14.
- Hidalgo, J. (2017). *La situación actual de la sustitución de insumos agroquímicos por productos biológicos como estrategia en la producción agrícola. Maestría. Estudios Sociales y Globales*. UASB. Pichincha-Quito. Ec. Obtenido de repositorio.uasb.edu.ec: <http://repositorio.uasb.edu.ec>
- Hopwood, J., Lee, E., Morandin, L., Vaughan, M., Kremen, C., Cruz, J., & Morris, S. (2016). Habitat planning for beneficial insects. Guidelines for conservation biological control. *Xerces Society for Invertebrate Conservation*, 1-74.
- Hurtado, M. (2013). *La legislación ecuatoriana en relación al uso de plaguicidas* [Tesis de pregrado]. UNL. Loja. EC. Obtenido de dspace.unl.edu.ec: <http://dspace.unl.edu.ec>

- Jiménez, E. (2009). *Métodos de Control de Plagas*. Obtenido de cenida.una.edu.ni:
<https://cenida.una.edu.ni/relectronicos/RENH10J61me.pdf>
- Jimenez, E. (2016). *Plagas de cultivos*. Obtenido de core.ac.uk:
<https://core.ac.uk/download/pdf/45358991.pdf>
- Kuxulkab. (Diciembre de 2018). *Hongos entomopatógenos como una alternativa en el control biológico*. Obtenido de <https://revistas.ujat.mx/index.php/kuxulkab/article/download/846/709>
- Lezama, R., Molina, J., López, M., Pescador, A., Galindo, E., C, Á., & A, M. (2005). *Efecto del hongo entomopatógeno Metarhizium anisopliae sobre el control del gusano cogollero del maíz en campo*. Obtenido de www.redalyc.org:
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?idp=1&id=83709103&cid=60309>
- Lezaun, J. (15 de Agosto de 2015). *Gusano cogollero*. Obtenido de <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/gusano-cogollero>
- López, E. y González, B. 2014. *Diseño y análisis de experimentos*. 2da ed. Ciudad de Guatemala – GT. p. 10 – 175.
- Lopez, M., Acuña, M., Garcia, C., Garcia, N., & Sainz, J. (Agosto de 2015). *Formulación de Metarhizium anisopliae (Metschnikoff) Sorokin con polímeros biodegradables y su virulencia contra Heliothis virescens (Fabricius)*. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx>
- MAE [Ministerio de Ambiente del Ecuador]. (2015). *Guía de inventario de la fauna*. Obtenido de <http://www.minam.gob.pe>
- MAG [Ministerio de Agricultura y Ganadería]. (2017). *Insectos y bacterias controlan plagas en el maíz*. Obtenido de www.agricultura.gob.ec
- MAGAP [Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca]. (2014). *Protocolo para la reproducción de cepas nativas de Trichoderma spp. en laboratorios artesanales*. Obtenido de www.agricultura.gob.ec:
<https://www.agricultura.gob.ec>

- Marino, P., Villamizar, L., Espinel, C., & Cortes, A. (2004). *Characterization of granular biopesticide prototypes based on Metarhizium anisopliae for the control of Ancognatha scarabaeoides (Coleóptera: Melolonthidae)*. Obtenido de www.scielo.org.co
- Martinez, E. (15 de febrero de 2016). *Plagas de Cultivos* Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/45358991.pdf>
- Martinez, N. (Junio de 2010). Manejo integrado de plagas: una solución a la contaminación ambiental. *Comunidad y salud*, 8(1). Obtenido de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-32932010000100010
- Medan, d. (2008). *Pollinating insects: global diversity and local importance of entomophilous pollination*. Obtenido de www.researchgate.net
- MHHN [Servicio Nacional del Patrimonio Cultural]. (Julio de 2015). *Hongos entomopatógenos como control de plagas de insectos*. Obtenido de https://www.mnhn.gob.cl/613/w3-article-52193.html?_noredirect=1
- Mota, J. (2018). *Control de metarhizium anisopliae sobre phyllophaga spp bajo condiciones controladas; Jutiapa*. Obtenido de [biblio3.url.edu.gt:](http://biblio3.url.edu.gt/) <http://biblio3.url.edu.gt/>
- Nájera, M., & Souza, B. (2010). *Insectos Benéficos. Guía para su Identificación*. Obtenido de simientedisidente.com: <https://simientedisidente.com>
- Naranjo, A. (2017). *La otra guerra: la situación de los plaguicidas en el Ecuador*. Obtenido de www.swissaid.org.ec
- Nello, J. (2020). *Agricultura sin plaguicidas*. Obtenido de <https://inta.gob.ar>
- Núñez, B. (2015). *Biodiversidad, materia orgánica*. Obtenido de <http://riubu.ubu.es/>
- Obando, A., Bustillo, A., & Mesa, N. (2013). *Selección de cepas de Metarhizium anisopliae*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v39n1/v39n1a05.pdf>
- Obregon. (2018). *Metarhizium*. Obtenido de <https://www.doctor-obregon.com/meta>

- Ochoa, I. (Octubre de 2016). *Producción Metarhizium anisopliae*. Obtenido de https://issuu.com/inesyolianaaochoaromero/docs/producci__n-metarhizium-anisopliae
- Ojeda, M., Rodríguez, R., Galindo, E., Lezama, R., & Cruz, C. (2011). *Control of Rhipicephalus microplus (Acari: Ixodidae) using the entomopathogenic fungi Metarhizium anisopliae (Hypocreales: Clavicipitaceae)*. Review. Obtenido de www.scielo.org.mx: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242011000200005
- ONU. (2019). *La desaparición de los insectos es una dura advertencia para la humanidad*. Obtenido de <https://www.unenvironment.org/es/noticias-y-reportajes/reportajes/la-desaparicion-de-los-insectos-es-una-dura-advertencia-para-la>
- Oporta, J. (2017). *Control microbiano de la garrapata Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae) del ganado bovino, con hongos entomopatógenos en condiciones de laboratorio*. Obtenido de core.ac.uk: <https://core.ac.uk/download/pdf/95694532.pdf>
- Organización Internacional de Energía Atómica. (2018). *Control biológico*. Obtenido de www.iaea.org: <https://www.iaea.org/es/temas/control-biologico>
- Pacheco, M., Resendiz, F., & Victor, A. (30 de Abril de 2019). *Organismos entomopatógenos como control biológico*. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx>
- Pacheco, M., Reséndiz, F., y rriola, v. (2019). Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México: una revisión. *Revista mexicana de ciencias forestal de México: una revisión. Revista mexicana de ciencias forestales*, 10(56), 4-32
- Paredes, A. (2019). *Proyecto para un sistema de riego para rotación de cultivos*. Obtenido de <https://www.studocu.com/ec>
- Penelo, L. (6 de Septiembre de 2018). *Maíz: propiedades, beneficios y valor nutricional*. Obtenido de <https://www.lavanguardia.com>

- Pliego, E. (8 de Junio de 2020). *El maíz: su origen, historia y expansión*. Obtenido de <https://panoramacultural.com.co>
- Plitt, L. (1 de Junio de 2017). *¿Por qué sería una catástrofe que desaparecieran las abejas y qué puedes hacer tú para evitarlo?* Obtenido de <https://www.bbc.com/mundo/noticias-40093433>
- Prieto, B. (2017). *Use of Deductive and Inductive Methods to Increase the Efficiency in the Acquisition and Processing of Digital Evidence*. Obtenido de [revistas.javeriana.edu.co: https://revistas.javeriana.edu.co/files-articulos/CC/18-46%20\(2017\)/151556547004/](https://revistas.javeriana.edu.co/files-articulos/CC/18-46%20(2017)/151556547004/)
- Proenza, D. (2016). *¿Por qué la Agricultura en Ambiente Controlado es una Buena Opción?* Agroware. Obtenido de <http://sistemaagricola.com.mx/>
- Rekalde, I., Vizcarra, M., & Macazaga, A. (2014). *La observación como estrategia de investigación para construir contextos de aprendizaje y fomentar procesos participativos*. Obtenido de [www.redalyc.org:](https://www.redalyc.org/) <https://www.redalyc.org/pdf/706/70629509009.pdf>
- Reyes, S., & Paucar, E. (2017). *82 281 hectáreas de maíz están afectadas por las plagas*. *Diario El Comercio*, págs. Obtenido de <https://www.elcomercio.com/actualidad/hectareas-maiz-gusano-plagas-lluvias.html>.
- Roorevelt, f. (2017). *Nivel de conocimiento sobre la manipulación de productos*. Obtenido de <http://repositorio.uoosevelt.edu.pe>
- Rufina, M. (2018). *Como elaborar una guía didáctica [Empresariales]*. Obtenido de [es.slideshare.net: https://es.slideshare.net/Aenoa/como-elaborar-una-gua-didctica](https://es.slideshare.net/Aenoa/como-elaborar-una-gua-didctica)
- Ruiz, M. (8 de Septiembre de 2018). *Principales enfermedades del cultivo de maíz*. Obtenido de <https://semillastodoterreno.com/2018/09/principales-enfermedades-del-cultivo-de-maiz>
- Ruiz, R., Gutierrez, F., & Cazares, B. (15 de mayo de 2015). *Estado actual de los cultivos genéticamente modificados*. Obtenido de <https://www.conacyt.gob.mx/cibiogem/images/cibiogem/comunicacion/publicaciones/Estado-actual-de-los-cultivos.pdf>

- Russo, M. (2016). HONGOS ENTOMOPATÓGENOS: COLONIZACIÓN. Obtenido de http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/60311/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=3&isAllowed=y
- Sanchez, I. (2014). *Aspectos botánicos, taxonomía del maíz*. Obtenido de <https://eprints.ucm.es/27974/1/MAIZ%20l.pdf>
- Secretaria de Relaciones Exteriores. (2004). *Guía técnica para la elaboración de manuales de procedimientos*. Obtenido de www.uv.mx
- Sela, G. (Mayo de 2018). Obtenido de <https://cropaia.com/es/blog/los-insectos-beneficos/>
- Senasa [Servicio Nacional de Sanidad Agraria]. (2017). *Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos*. Obtenido de www.senasa.gob.pe
- Sepulveda, E. (2017). *Hongos Endopatógenos*. Obtenido de <https://www.inia.cl/bioinia/hongos-entomopatogenos/>
- Smith, H. & Capinera, J. (2019). *Enemigos naturales y control biológico*. Obtenido de edis.ifas.ufl.edu
- Suquilanda, M. (2020). *Como actúan los agentes microbiológicos entomopatógenos y antagónicos*. Obtenido de cidecuador.org
- UNAB [Universidad Andrés Bello]. (2017). *Día Internacional del Control Biológico*, Obtenido de [unab.edu.co: https://www.unab.edu.co/sites/default/files/archivos/publicacion_noticias/Di%CC%81a%20internacional%20del%20control%20biolo%CC%81gico%20%281%29.pdf](https://www.unab.edu.co/sites/default/files/archivos/publicacion_noticias/Di%CC%81a%20internacional%20del%20control%20biolo%CC%81gico%20%281%29.pdf)
- Vargas, J., & Navarro, J. (2017). *Determinación del tamaño y la forma de unidad experimental, con el método de curvatura máxima, para ensayos de rendimiento de maíz (Zea mays), Guanacaste, Costa Rica*. Obtenido de www.scielo.sa.cr:
- Zambrano, P. (14 de Mayo de 2019). *Control Biológico*. Obtenido de <https://agrotendencia.tv/agropedia/control-biologico/>

Zamudio, M., De la cruz, M., Corona, I., Gonzalez, J., & Rojas, R. (2015). *Importancia y estudios de las comunidades microbianas*. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282015000100008

ANEXOS

Anexo 1. Preparación del suelo.



Anexo 2. Riego del suelo.



Anexo 3. Inundación de Parcelas.



Anexo 4. Aplicación de abono orgánico



Anexo 5. Siembra del cultivo del maíz.



Anexo 6. Raleo del maíz.



Anexo 7. Implementación de riego por goteo.



Anexo 8. Implementación de un ambiente semicontrolado



Anexo 9. Obtención del *Metarhizium anisopliae*



Anexo 10. PDA



Anexo 11. Reactivación del hongo *Metarhizium anisopliae*



Anexo 12. Esterilización del PDA.



Anexo 13. Remoción del hongo con Tween al 0.1%.



Anexo 14. Aplicación de 5ml de dilución del hongo reactivado.



Anexo 15. Multiplicación del hongo *Metarhizium anisopliae*.



Anexo 16. Peso hongo-arroz para la inoculación en campo.



Anexo 17. Aplicación del hongo *Metarhizium anisopliae*.



Anexo 18. Tratamientos al azar.



Anexo 19. Recolección de entomofauna benéfica.



Anexo 20. Muestras Aisladas en cámara de humedad.



Anexo 21. Caracterización de entomofauna presente en los cultivos de maíz.

Nombre comun	Nombre científico	Representación
Abeja europea	<i>Apis melifera</i>	
Chalacas	<i>Nannotrigona perilampoides</i>	
Avispa	<i>Polistes cinerascens</i>	
Avispa chaqueta amarilla	<i>Vespula squamosa</i>	
Avispa guerrera	<i>Synoeca septentrionalis</i>	
Avispa papelera amarilla	<i>Vespula maculifrons</i>	

Araña saltarina	<i>Phidippus clarus</i>	
Mariquita	<i>Cheilomenes sexmaculata</i>	
Polilla de franela	<i>Norape ovina</i>	
Mantis	<i>Mantis religiosa</i>	
Avispa negra de puntas blancas	<i>Parachartergus apicalis</i>	
Chinche Zelus	<i>Zelus renardii</i>	

Chinche	<i>Podisus maculiventris</i>	
<i>Pulgon verde del maíz</i>	<i>Rhopalosiphum maidis</i>	
Mosca blanca	<i>Bemisia tabaci</i>	
Gusano cogollero del maíz	<i>Spodoptera frugiperda</i>	

Anexo 22. Base de datos del estudio procesada en SPSS.

Repeticion	Tratamiento	Submuestra	Synoecca_septentrionalis	Phidippus_johnsoni	Zelus_renardi	Nannotrigona_perrilampoides	Parachartergus_picalis	Ropalidia_marginata	Polistes_cinerascens	Apis_melifera
1	1	T0	M1	0	0	1	0	0	0	0
2	1	T0	M2	0	0	0	1	0	0	0
3	1	T0	M3	0	0	0	0	0	0	0
4	1	T1	M1	0	1	0	0	0	1	1
5	1	T1	M2	0	0	1	0	0	0	0
6	1	T1	M3	0	0	0	0	0	0	0
7	1	T2	M1	0	1	0	0	0	1	1
8	1	T2	M2	0	0	0	0	0	0	0
9	1	T2	M3	1	0	0	0	0	0	0
10	1	T3	M1	1	2	1	0	1	1	2
11	1	T3	M2	0	2	2	0	2	0	1
12	1	T3	M3	1	1	1	0	0	1	2
13	2	T0	M1	0	1	0	0	1	0	1
14	2	T0	M2	0	0	0	0	0	0	1
15	2	T0	M3	0	0	0	0	1	0	0
16	2	T1	M1	1	0	0	0	1	0	0
17	2	T1	M2	0	1	0	0	0	1	1
18	2	T1	M3	0	0	1	0	1	0	1
19	2	T2	M1	1	0	0	0	0	0	0
20	2	T2	M2	0	0	1	0	1	1	1
21	2	T2	M3	0	0	0	0	0	0	0
22	2	T3	M1	2	1	2	0	0	0	0
23	2	T3	M2	1	1	1	0	1	1	2
24	2	T3	M3	0	2	1	0	2	2	2
25	3	T0	M1	0	0	0	0	0	0	0
26	3	T0	M2	1	1	0	0	0	1	1
27	3	T0	M3	0	0	0	0	0	0	0
28	3	T1	M1	0	0	1	0	0	1	1
29	3	T1	M2	1	0	0	0	1	0	0
30	3	T1	M3	0	1	1	0	0	0	0
31	3	T2	M1	0	0	0	0	0	0	0
32	3	T2	M2	0	0	0	0	0	1	0
33	3	T2	M3	0	1	0	0	0	1	1
34	3	T3	M1	0	1	1	0	2	2	0
35	3	T3	M2	0	0	1	0	0	1	0
36	3	T3	M3	1	3	0	1	0	1	2
37	4	T0	M1	0	0	0	1	0	0	0
38	4	T0	M2	0	0	0	0	1	0	0
39	4	T0	M3	0	0	0	0	0	0	0
40	4	T1	M1	0	0	0	0	0	0	0
41	4	T1	M2	0	1	0	1	0	0	1
42	4	T1	M3	1	0	0	0	0	0	0
43	4	T2	M1	0	1	1	1	1	0	1
44	4	T2	M2	1	0	0	0	0	0	0
45	4	T2	M3	0	0	1	1	1	0	1
46	4	T3	M1	1	2	2	2	1	1	2
47	4	T3	M2	1	1	1	1	2	0	1
48	4	T3	M3	1	2	1	2	1	0	1
49	5	T0	M1	0	0	0	0	0	0	0
50	5	T0	M2	0	0	0	0	0	0	0
51	5	T0	M3	0	1	1	0	0	0	1
52	5	T1	M1	1	1	1	1	1	1	1
53	5	T1	M2	0	1	1	0	0	0	1
54	5	T1	M3	0	1	1	1	1	1	1
55	5	T2	M1	0	0	0	0	0	1	1
56	5	T2	M2	0	1	1	1	1	0	1
57	5	T2	M3	1	0	0	0	0	0	0
58	5	T3	M1	0	1	2	1	2	0	1
59	5	T3	M2	1	2	1	2	2	2	2
60	5	T3	M3	0	1	2	2	1	2	1
61	6	T0	M1	0	0	0	0	0	0	0
62	6	T0	M2	0	0	0	0	0	0	0
63	6	T0	M3	0	0	0	0	0	0	0
64	6	T1	M1	0	0	0	0	0	0	0
65	6	T1	M2	0	0	0	0	0	0	0
66	6	T1	M3	0	0	0	0	0	0	0
67	6	T2	M1	0	0	0	0	0	0	0
68	6	T2	M2	0	0	0	0	0	0	0
69	6	T2	M3	0	0	0	0	0	0	0
70	6	T3	M1	0	0	0	0	0	0	0
71	6	T3	M2	0	0	0	0	0	0	0
72	6	T3	M3	0	0	0	0	0	0	0
73	7	T0	M1	0	0	0	0	0	0	0
74	7	T0	M2	0	0	0	0	0	0	0
75	7	T0	M3	0	0	0	0	0	0	0
76	7	T1	M1	0	0	0	0	0	0	0
77	7	T1	M2	0	0	0	0	0	0	0
78	7	T1	M3	0	0	0	0	0	0	0
79	7	T2	M1	0	0	0	0	0	0	0
80	7	T2	M2	0	0	0	0	0	0	0
81	7	T2	M3	0	0	0	0	0	0	0
82	7	T3	M1	0	0	0	0	0	0	0
83	7	T3	M2	0	0	0	0	0	0	0
84	7	T3	M3	0	0	0	0	0	0	0

Anexo 23. Representación de la homogeneidad de datos, sin sacar medias de los resultados.

