



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES
CARRERA DE AGRONOMÍA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE (*Metarhizium spp*) DE TRES
ZONAS DEL SUBTRÓPICO DEL ECUADOR (COTOPAXI Y PICHINCHA)
DEL CULTIVO DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum L.*)**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de
Ingeniero Agrónomo

Autor:
Negrete Sillo Franklin Estalyn

Tutora:
Toapanta Gallegos Diana Elizabeth

LATACUNGA – ECUADOR

Febrero 2023

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Franklin Estalyn Negrete Sillo, con cédula de ciudadanía No. 0504632142, declaro ser autor del presente proyecto de investigación: “Aislamiento e identificación de (*Metarhizium* spp) de tres zonas del subtrópico del Ecuador (Cotopaxi y Pichincha) del cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L)”, siendo la Ingeniera Diana Elizabeth Toapanta Gallegos, Mg. Tutora del presente trabajo; y, eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 15 de febrero del 2023

Franklin Estalyn Negrete Sillo
Estudiante
C.C. 0504632142

Ing. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos, Mg.
Docente Tutora
C.C. 1002749800

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **NEGRETE SILLO FRANKLIN ESTALYN**, identificado con cédula de ciudadanía **050463214-2** de estado civil soltero, a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Doctor Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **EL CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Agronomía, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de “Aislamiento e identificación de (*Metarhizium* spp) de tres zonas del subtrópico del Ecuador (Cotopaxi y Pichincha) del cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L)”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Inicio de la carrera: marzo 2019 – agosto 2019

Finalización de la carrera: octubre 2022 – febrero 2023

Aprobación en Consejo Directivo: 30 de noviembre del 2022

Tutora: Ing. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos, Mg.

Tema: Aislamiento e identificación de (*Metarhizium* spp) de tres zonas del subtrópico del Ecuador (Cotopaxi y Pichincha) del cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L).

CLÁUSULA SEGUNDA. - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - **OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.

e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **EL CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **EL CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 15 días del mes de febrero del 2023.

Franklin Estalyn Negrete Sillo
EL CEDENTE

Dr. Cristian Tinajero Jiménez, Ph.D.
LA CESIONARIA

AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de la Tutora del Proyecto de Investigación con el título:

“AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE (*Metarhizium spp*) DE TRES ZONAS DEL SUBTRÓPICO DEL ECUADOR (COTOPAXI Y PICHINCHA) DEL CULTIVO DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum* L)”, de Negrete Sillo Franklin Estalyn, de la carrera de Agronomía, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 15 de febrero del 2023

Ing. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos, Mg.

DOCENTE TUTORA

CC: 1002749800

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, el postulante: Negrete Sillo Franklin Estalyn, con el título del AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE (*Metarhizium* spp) DE TRES ZONAS DEL SUBTRÓPICO DEL ECUADOR (COTOPAXI Y PICHINCHA) DEL CULTIVO DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum* L), ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 15 de febrero del 2023

Lector 1 (Presidente)
Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuite, Mg.
CC: 0502409725

Lector 2
Ing. Marco Antonio Rivera Moreno, MSc.
CC: 0501518955

Lector 3
Ing. Edwin Marcelo Chancusig Espín, Ph.D.
CC: 0501148837

AGRADECIMIENTO

A mi Dios por guiarme en mi camino ante todo por mi meta y logro que he soñado durante toda mi vida, a mis padres Lic. José N., Rosa S. y hermanos Mayra y Alfredo que han sido un apoyo emocional durante la formación personal y profesional por sus consejos durante toda mi vida.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi que me abrió sus puertas para mi formación profesional.

También quiero expresar mi fraterno agradecimiento a la Ing. Mg. Diana Toapanta (tutora de mi proyecto de investigación) por su paciencia y colaboración también como no agradecer al Ing. M.Sc. Marco Rivera por sus apoyos incondicionales y la confianza me brindó y sus palabras motivadoras que han hecho hincapié para no desmayar y llegar a cumplir las metas también como no agradecer a Maquita Cushunchic al Ing. Ángel Criollo y Fredy Pita por haber financiado mi proyecto de investigación.

A mis grandes amigos que llegué a formar durante toda la formación profesional como: Oscar, Santiago, Fabian, Esteban, Elvia y Jessica mil gracias por su ayuda durante mi trabajo de investigación.

Franklin Estalyn Negrete Sillo

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación se lo dedico a mis padres queridos Lic. José María Negrete Chicaiza y María Rosa Sillo Perdomo por su amor que tuvieron a mi humilde persona, por ser mi apoyo, sus palabras de aliento que me dieron fuerza.

A mis hermanos Alfredo Negrete y Mayra Negrete por apoyarme y darme fuerza, con su cariño y amor que mi tuvieron gracias a cada uno de ellos que estuvieron a mi lado.

Franklin Estalyn Negrete Sillo

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE (*Metarhizium* spp) DE TRES ZONAS DEL SUBTRÓPICO DEL ECUADOR (COTOPAXI Y PICHINCHA) DEL CULTIVO DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum* L).

AUTOR: Negrete Sillo Franklin Estalyn

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo identificar el hongo (*Metarhizium* spp.) de tres zonas del subtrópico del Ecuador (Cotopaxi y Pichincha) del cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L), la metodología de la investigación fue descriptiva. Se realizó colectas de insectos y material vegetal con la técnica de la colecta directa cada 9 metros en forma del zig-zag. Para la obtención de cepas nativas de hongos, se colectaron un total 41 muestras de las cuales 17 muestras pertenecen a la localidad de Palo Quemado, 12 muestras del sector El Corazón y 12 muestras de la localidad de Pacto. El aislamiento de hongos se realizó en las instalaciones de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con la técnica del rayado. Se obtuvieron 40 aislamientos de la localidad de Palo Quemado de los cuales 10 aislamientos fueron identificados como *Metarhizium* spp., 8 aislamientos fueron obtenidos de adultos de salivazo (*Mahanarva andigena*) y 2 aislamientos de material vegetal. De la localidad de El Corazón se obtuvieron 20 aislamientos, de los cuales 9 aislados fueron identificados como *Metarhizium* spp, 7 aislamientos obtenidos de adultos de salivazo, 2 aislamientos de material vegetal. Del sector de Pacto se obtuvieron 20 aislamientos de los cuales 10 se identificaron como *Metarhizium* spp, 7 aislamientos obtenidos de salivazo y 3 aislamientos de material vegetal. Un total de 29 aislamientos fueron identificados como *Metarhizium* spp., 22 de los aislamientos fueron obtenidos de insectos salivazo, mientras que 7 aislamientos fueron obtenidos de muestras de material vegetal.

Palabras clave: *Metarhizium* spp, salivazo, caña de azúcar, hongos entomopatógenos.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES

THEME: ISOLATION AND IDENTIFICATION OF (*Metarhizium* spp) FROM THREE ECUADOR SUBTROPICS AREAS (COTOPAXI AND PICHINCHA) OF CROP SUGAR CANE (*Saccharum officinarum* L).

AUTHOR: Negrete Sillo Franklin Estalyn

ABSTRACT

The objective of this research was to identify the fungus (*Metarhizium* spp.) at three subtropical Ecuador zones (Cotopaxi and Pichincha) from sugarcane crop (*Saccharum officinarum* L), the research methodology was descriptive. Insects and vegetable material were collected using direct collection technique every 9 meters in a zigzag pattern. To obtain native fungi strains, a total of 41 samples were collected, which 17 samples belonged to Palo Quemado locality, 12 samples from El Corazón sector and 12 samples from Pacto locality. The fungi isolation was carried out at Technical University of Cotopaxi, using streaking technique. Forty isolates were obtained from Palo Quemado, locality which 10 isolates were identified as *Metarhizium* spp., 8 isolates were obtained from adult spittlebug (*Mahanarva andigena*) and 2 isolates from vegetal material. From El Corazón, locality 20 isolates were obtained, which 9 isolates were identified as *Metarhizium* spp., 7 isolates were obtained from adult spittlebug (*Mahanarva andigena*), 2 isolates from vegetal material. From the Pacto sector, 20 isolates were obtained which 10 were identified as *Metarhizium* spp, 7 isolates obtained from spittlebug (*Mahanarva andigena*) and 3 isolates from vegetal material. A total of 29 isolates were identified as *Metarhizium* spp. 22 of the isolates were obtained from spittlebug insects, while 7 isolates were obtained from vegetal material samples.

Keywords: *Metarhizium* spp, spittlebug, sugarcane, entomopathogenic fungi.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | |
|--|------|
| DECLARACIÓN DE AUTORÍA | ii |
| AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN | v |
| AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN | vi |
| AGRADECIMIENTO | vii |
| DEDICATORIA | viii |
| RESUMEN | ix |
| ABSTRACT | x |
| 1. INFORMACIÓN GENERAL | 1 |
| 2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO | 3 |
| 3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO | 3 |
| 3.1. Beneficiarios Directos | 3 |
| 3.2. Beneficiarios Indirectos | 3 |
| 4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN | 3 |
| 5. OBJETIVOS: | 4 |
| 5.1. General | 4 |
| 5.2. Específicos | 4 |
| 6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS | 4 |
| 7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA | 6 |
| 7.1 Clasificación taxonómica <i>Metarhizium</i> spp | 6 |
| 7.2 Donde se encuentra el hongo <i>Metarhizium</i> spp | 7 |
| 7.3 Plagas que ataca el hongo <i>Metarhizium</i> spp | 7 |
| 7.3 Características del hongo <i>Metarhizium</i> spp | 7 |
| 7.4 Mecanismos de acción del hongo <i>Metarhizium</i> spp | 8 |
| 7.4.1 En la penetración participan dos mecanismos: | 8 |
| 7.5 Clasificación taxonómica del salivazo (<i>Mahanarva andigena</i>) | 8 |

| | |
|---|----|
| 7.6 Ciclo de vida salivazo (<i>Mahanarva andigena</i>) | 9 |
| 7.6.1 Huevos | 9 |
| 7.6.2 Ninfas | 9 |
| 7.6.3 Adultos | 10 |
| 7.7 Ingreso de plaga salivazo (<i>Mahanarva andigena</i>) | 10 |
| 7.7.1 Hábitos y daños. | 10 |
| 7.7.2 Distribución | 11 |
| 7.7.3 Temperatura y humedad | 11 |
| 7.7.4 Daños causados por el salivazo (<i>Mahanarva andigena</i>) | 11 |
| 7.8 Clasificación taxonómica de la caña de azúcar (<i>Saccharum officinarum</i> L) | 12 |
| 7.8.1 Etapas fenológicas del cultivo de caña de azúcar | 12 |
| 7.8.2 Germinación | 13 |
| 7.8.3 Amacollamiento | 13 |
| 7.8.4 Rápido crecimiento | 13 |
| 7.8.5 Maduración | 13 |
| 7.8.6 Cosecha | 13 |
| 8. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS | 14 |
| 8.1 Pregunta Científica | 14 |
| 9. METODOLOGÍA | 14 |
| 9.1.1 Método de investigación | 14 |
| 9.1.2 Descriptiva | 14 |
| 9.2 Modalidad de investigación | 14 |
| 9.2.1 Colecta | 14 |
| 9.3 Ubicación del área de colecta | 15 |
| 9.4 Ubicación del área de colecta | 16 |
| 9.5 Ubicación del área de colecta | 17 |
| 9.6 Aislamiento de hongos entomopatógenos | 18 |

| | |
|---|----|
| 9.7 Re-aislamiento y purificación | 19 |
| 10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 19 |
| 10.1 Colecta de material vegetal e insectos infectados con hongos | 19 |
| 10.2 Colecta de material vegetal e insectos infectados con hongos | 20 |
| 10.3 Colecta de material vegetal e insectos infectados con hongos | 21 |
| 10.4 Aislamiento de los hongos entomopatógenos | 22 |
| 10.5.2 Observación microscópica | 24 |
| 10.6 Identificación del hongo sector (El Corazón) | 29 |
| 10.6.1 Observación macroscópica. | 29 |
| 10.6.2 Observación microscópica | 30 |
| 10.7 Identificación del hongo sector (Pacto) | 34 |
| 10.7.1 Observación macroscópica | 34 |
| 10.7.2 Observación microscópica | 35 |
| 11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS) | 38 |
| 11.1 Impacto social | 38 |
| 11.2 Impacto ambiental | 38 |
| 11.3 Impacto económico | 39 |
| 12. PRESUPUESTO DEL PROYECTO | 39 |
| 13. CONCLUSIONES | 41 |
| 14. RECOMENDACIONES | 42 |
| 15. BIBLIOGRAFIA | 43 |
| 16. ANEXOS | 49 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1: <i>Actividades a realizar en la investigación</i> | 4 |
| Tabla 2: <i>Clasificación taxonómica del <i>Metarhizium</i> spp</i> | 6 |
| Tabla 3: <i>Plagas de importancia económica controladas con el hongo <i>Metarhizium</i> spp</i> | 7 |
| Tabla 4: <i>Clasificación taxonómica del salivazo</i> | 8 |
| Tabla 5: <i>Clasificación taxonómica de caña de azúcar (<i>Saccharum officinarum</i> L)</i> | 12 |
| Tabla 6: <i>Coordenadas Georreferenciales del área de colecta Palo Quemado.</i> | 15 |
| Tabla 7: <i>Coordenadas Georreferenciales del área de colecta El Corazón.</i> | 16 |
| Tabla 8: <i>Coordenadas Georreferenciales del área de colecta Pacto.</i> | 17 |
| Tabla 9: <i>Muestras aisladas por cada sector</i> | 23 |
| Tabla 10: <i>Datos con muestras aisladas Palo Quemado</i> | 26 |
| Tabla 11: <i>Datos con muestras aisladas El Corazón</i> | 32 |
| Tabla 12: <i>Datos con muestras aisladas Pacto</i> | 36 |
| Tabla 13: <i>Costo del proyecto de investigación</i> | 39 |

ÍNDICE DE IMÁGENES

| | |
|--|----|
| Imagen 1: <i>Mapa de la colecta Palo Quemado</i> | 20 |
| Imagen 2: <i>Mapa de la colecta El Corazón</i> | 21 |
| Imagen 3: <i>Mapa de la colecta Pacto</i> | 22 |
| Imagen 4: <i>Crecimiento radial de (Metarhizium spp), en medio de cultivo PDA durante los 7 días de desarrollo de la colonia Palo Quemado</i> | 23 |
| Imagen 5: <i>Crecimiento radial de (Metarhizium spp), en medio de cultivo PDA durante los 7 días de desarrollo de la colonia El Corazón</i> | 29 |
| Imagen 6: <i>Crecimiento radial de (Metarhizium spp), en medio de cultivo PDA durante los 7 días de desarrollo de la colonia Pacto</i> | 34 |

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

| | |
|--|----|
| Fotografía 1. <i>Identificado al día 7 del crecimiento la M.N.15. (PDA). 31/10/22 Palo Quemado</i> | 25 |
| Fotografía 2. <i>Identificado al día 7 del crecimiento (PDA). 16/11/22. M.N.12 El Corazón ...</i> | 31 |
| Fotografía 3. <i>Identificado al día 7 del crecimiento la M.N.4. (PDA). 30/11/22 Pacto.....</i> | 35 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|---|----|
| Anexo.-1 <i>Aval del Traductor</i> | 49 |
| Anexo.- 2 <i>Análisis micológica de Metarhizium spp, de tres muestras del subtropico provincia de Cotopaxi (Palo Quemado, El corazón) y Provincia de Pichincha (Pacto)</i> | 50 |
| Anexo.-3 <i>Recolección de campo de las muestras de hongos entomopatógenos (Palo Quemado, El Corazón y Pacto)</i> | 52 |
| Anexo.-4 <i>Toma de fotos en el laboratorio con estereoscopio (Palo Quemado, El Corazón y Pacto)</i> | 54 |
| Anexo.-5 <i>Toma de fotos de proceso de aislamiento (Palo Quemado, El Corazón y Pacto)</i> ... | 56 |
| Anexo.-6 <i>Toma de fotos de proceso de identificación macroscópica (Palo Quemado, El Corazón y Pacto)</i> | 58 |
| Anexo.-7 <i>Lente usado para identificar es 20x/0.40Ph1</i> | 60 |
| Anexo.-8 <i>Toma de fotos de proceso de identificación microscópica (Palo Quemado, El Corazón y Pacto)</i> | 60 |

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

Aislamiento e identificación de (*Metarhizium* spp) de tres zonas del subtrópico del Ecuador (Cotopaxi y Pichincha) del cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L).

Fecha de inicio:

Octubre 2022

Fecha de finalización:

Febrero 2023

Lugar de ejecución:

Universidad Técnica de Cotopaxi, en las instalaciones de laboratorio de la carrera de Agronomía.

Facultad que auspicia

Universidad Técnica de Cotopaxi, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia:

Carrera de Agronomía

Equipo de Trabajo:

Tutora: Ing. Diana Elizabeth Toapanta Gallegos, Mg.

Lector 1: Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuite, Mg.

Lector 2: Ing. Marco Antonio Rivera Moreno, MSc.

Lector 3: Ing. Edwin Marcelo Chancusig Espín, PhD.

Coordinador del Proyecto:

Franklin Estalyn Negrete Sillo

Teléfonos: 0995488482

Correo electrónico: franklin.negrete2142@utc.edu.ec

Área de Conocimiento:

Agricultura- Agricultura, silvicultura y pesca- Agronomía

Línea de investigación:

Desarrollo y Seguridad alimentaria

Sub líneas de investigación de la Carrera:

Producción Agrícola Sostenible.

Línea de vinculación de la carrera:

Gestión de recursos naturales, biodiversidad, biotecnología y gestión para el desarrollo humano y social.

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El uso de insecticidas químicos causa daños al medio ambiente, a la salud humana y la economía del agricultor; razón por la cual se busca alternativas al control químico para el control de plagas. Una alternativa al control químico del homóptero (*Mahanarva andigena*) en el cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), es el uso de hongos entomopatógenos, el cual presenta diversas ventajas desde el punto de vista económico, ambiental, así como baja toxicidad para el agricultor, lo cual hace posible combinar con otros métodos de control como el cultural o con el manejo integrado de plagas a diferencia del control químico en el cual se emplean productos a base de Carbaril y Acefato usados comúnmente por los cañicultores para controlar poblaciones de salivazo; sin embargo, estos métodos resultan costosos, afectan al medio ambiente y a la salud de los agricultores.

Este proyecto de investigación busca nuevas alternativas de biocontroladores nativos tales como *Metarhizium* spp, que permitan un manejo agroecológico de las plantaciones de caña de azúcar en el Ecuador.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

3.1. Beneficiarios Directos

La Universidad Técnica de Cotopaxi, carrera de Ingeniería Agronómica junto a Maquita Cushunchic, trabajan en conjunto para realizar esta investigación y beneficiar a los socios de la caña de azúcar, de la zona de Palo Quemado, El Corazón y Pacto.

3.2. Beneficiarios Indirectos

A todos los 400 agricultores de caña de azúcar de cantón Sigchos, 300 agricultores de cantón Pangua, 654 agricultores de cantón Quito.

4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

En el Ecuador desde el año 1968, este insecto provoca reducciones en el rendimiento agrícola de entre 40% y 60%, su control se realiza con insecticidas químicos, tales como Carbaril y Acefato, lo cual da como resultado un control costoso y difícil de implementar, debido al denso crecimiento aéreo del cultivo. Además, el uso de estos insecticidas tiene efectos nocivos en la salud humana, animales y el ambiente, así como la generación de resistencia de los insectos (Valle-Ramírez et al., 2021).

La presencia de plagas y enfermedades en el cultivo de la caña de azúcar genera muchos gastos para la industria azucarera, debido a que el control químico no ha resultado muy eficaz pues los organismos generan resistencia. En agricultura, el término plaga hace referencia a los organismos que tienen efectos negativos en la producción agrícola. Los insectos u otros organismos ocasionan daños a los cultivos, pero cuando ese daño afecta económicamente la plantación y por lo tanto al hombre, son considerados plagas. La importancia de las mismas depende del nivel de daño ocasionado y su relación directa con la producción, en la industria azucarera, este tema es de gran importancia, debido a los daños que pueden ser ocasionados en la producción de caña de azúcar. En algunos países, las plagas y las enfermedades de la caña de azúcar han sido la causa de pérdidas significativas en la producción e incluso de desastres económicos en este sector agro-industrial (Cruz & Carrillo, 2015).

5. OBJETIVOS:

5.1. General

Identificar el hongo (*Metarhizium* spp) de tres zonas del subtrópico del Ecuador (Cotopaxi y Pichincha) del cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L).

5.2. Específicos

- Colectar insectos infectados con hongos entomopatógenos en el cultivo de caña de azúcar.
- Aislar hongos entomopatógenos de insectos infectados y material vegetal obtenido del cultivo de caña de azúcar.
- Obtener una cepa de (*Metarhizium* spp) de tres zonas del subtrópico.

6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

Tabla 1: Actividades a realizar en la investigación

| OBJETIVO 1 | ACTIVIDAD | METODOLOGÍA | RESULTADOS |
|---|--|--|--|
| Colectar insectos infectados con hongos entomopatógenos | 1.1 Reconocimiento del área de colecta de hongos entomopatógenos. | Observación de la finca. Identificación de sitios de colecta. | En total de las tres zonas del subtrópico se colectaron 41 muestras de insectos infectados y |

| | | | |
|---|---|---|---|
| en el cultivo de caña de azúcar. | 1.2 Colecta de insectos infectados y material vegetal con el hongo. | Toma de datos de la recolección tanto insectos infectados y material vegetal con el hongo. Se lo realizo una colecta directa cada 9 metros en zigzag. | material vegetal con hongos 17 muestras son de Palo Quemando, 12 muestras de El Corazón y 12 muestras de Pacto. |
| | 1.3 Toma de fotografías muestras de los insectos infectados y material vegetal. | Cámara fotográfica. | |
| | 1.4 Traslado de muestras colectadas a las instalaciones de la Universidad Técnica de Cotopaxi. | Desinfección del lugar Colocar las muestras en un lugar seguro y libre de contaminantes para su traslado al laboratorio. | |
| OBJETIVO 2 | ACTIVIDAD | METODOLOGÍA | RESULTADOS |
| Aislar hongos entomopatógenos de insectos infectados y material vegetal obtenido del cultivo de caña de azúcar. | 2.1 Observación de las muestras en el estereoscopio. | Identificación de los hongos para el aislado. | Obtener aislamientos puros. |
| | 2.2 Preparación de medio de cultivo (PDA). | Protocolos a seguir para el aislamiento de los hongos. | |
| | 2.3 Aislamiento de los hongos entomopatógenos en cajas Petri. | | |
| OBJETIVO 3 | ACTIVIDAD | METODOLOGÍA | RESULTADOS |

| | | | |
|---|---|--|--|
| Obtener una cepa de (<i>Metarhizium</i> spp) de tres zonas del subtrópico. | 3.1 Identificación macroscópica del hongo <i>Metarhizium</i> spp. | Observación de características tales como: crecimiento, color y características | Manual de colecta de hongos entomopatógenos y propagación de hongos. |
| | 3.2 Identificación microscópica del hongo <i>Metarhizium</i> spp. | Se observaron la formación de conidios e hifas en forma de cadenas | |
| | 3.3 Purificación y Re-aislado de las cajas Petri mediante puntas de crecimiento. | Se realizó mediante puntas de crecimiento con la técnica de siembra del raspado. | |

Elaborado por: (Negrete 2023).

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

7.1 Clasificación taxonómica *Metarhizium* spp

El hongo *Metarhizium* spp es un hongo entomopatógeno imperfecto de la división Ascomycota, clase Sordariomycetes, orden Hypocreales, familia Clavicipitaceae, que se caracteriza por tener una reproducción asexual por atacar a un gran número de especies de insectos de entre ellos el salivazo *Mahanarva andigena*.

Tabla 2: Clasificación taxonómica del *Metarhizium* spp

- Reino.....Fungi
- División.....Ascomycota
- Clase.....Sordariomycetes
- Orden.....Hypocreales
- Familia.....Clavicipitaceae
- Subfamilia.....Tillandsioideae
- Género.....*Metarhizium*.

Nota. Recuperado de (Saputri, 2016).

7.2 Donde se encuentra el hongo *Metarhizium spp*

El hongo *Metarhizium spp*, se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y puede ser encontrado fácilmente en los suelos, donde sobrevive por largos períodos, en rastrojos de cultivos, estiércol, en las plantas e insectos. Este hongo fue uno de los 5 primeros microorganismos en ser usado para el control biológico, también es uno de los más comunes con una distribución a nivel mundial (Monzón, 2016).

7.3 Plagas que ataca el hongo *Metarhizium spp*

Metarhizium spp, ataca a más de 300 especies de insectos de diversos órdenes dentro de las plagas que son afectadas por este hongo está la salivita de la caña de azúcar (*Aeneolamia*). Los insectos muertos por este hongo son cubiertos completamente por micelio, el cual inicialmente es de color blanco, pero se torna verde cuando el hongo esporula (Gonzales et al., 2012).

Tabla 3: *Plagas de importancia economía controladas con el hongo Metarhizium spp*

| Cultivo | Plaga | Hongos entomopatógenos |
|-------------------|-----------------|-------------------------|
| Café | Broca y Minador | <i>Metarhizium spp.</i> |
| Caña de azúcar | Salivazo | <i>Metarhizium spp.</i> |
| Diversos cultivos | Artrópodos | <i>Metarhizium spp.</i> |

Nota. Recuperado de (Pacheco et al., 2019).

7.3 Características del hongo *Metarhizium spp*

Las colonias son adheridas completamente al medio, son de forma redonda totalmente de color verde esto se presenta dependiendo del color que sea el aislamiento.

Los Conidióforo son ramificadas irregularmente, presentan de 2 -3 ramas en cada una de sus septos su longitud 4-14 μm y diámetro 1.5-2.5 μm (Gaitán, 2018).

Fiálides son de forma cilíndricas en forma de clava, adelgazadas en el ápice. Estas pueden medir longitud 6-13 μm y diámetro 2-4 μm .

Conidios son de forma generalmente uninucleadas estas pueden medir longitud de 3-9 μm y diámetro 1.5-3.5 μm de ancho.

La temperatura y humedad son importantes para la infección y esporulación del hongo ante la presencia de una agente extraño. En condiciones de laboratorio, la germinación puede ocurrir a

partir de las 12 horas, a una temperatura de 23 a 30°C y humedad relativa mayor al 90% (Valencia et al., 2011).

7.4 Mecanismos de acción del hongo *Metarhizium spp*

Para que el hongo entomopatógenos se desarrolle sobre su hospedador realiza las siguientes fases germinación, formación de apresorios, formación de estructuras de penetración, colonización y reproducción. El inóculo o unidad infectiva está constituido por las estructuras de reproducción sexual y asexual, es decir las esporas y conidios (Islas, 2015). El proceso inicia cuando la espora se adhiere a la cutícula del insecto, el cual produce un tubo germinativo y un apresorio en el cual se fija la cutícula para la penetración en el insecto.

7.4.1 En la penetración participan dos mecanismos:

El primero el físico, que consiste en romper las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula. El segundo mecanismo químico consiste en la acción enzimática (proteasas, lipasas y quitinasas), las cuales causan descomposición del tejido en la zona de penetración (Mejía, 2016).

Después la hifa se ensancha y ramifica dentro del tejido del insecto, colonizando totalmente el cuerpo del insecto (Bustillo & Castro, 2011).

7.5 Clasificación taxonómica del salivazo (*Mahanarva andigena*)

El salivazo (familia Cercopidae) también conocido como chinche salivosa comprende 11 géneros y aproximadamente 360 especies de cercópidos registrados en el neotrópico, de los cuales entre 20-30 son plagas de gramíneas entre ellas tenemos el salivazo (*Mahanarva andigena*), que es el principal plaga que afecta al cultivo de caña de azúcar (Pereira, 2013).

Tabla 4: Clasificación taxonómica del salivazo

- Clase..... Insecta
- Orden.....Homoptera
- Sub orden.....Auchenorrhyncha
- Super familia.....Cicadoidea
- Familia.....Cercopidae
- Géneros.....Mahanarva

Nota. Recuperado de (Pereira, 2013).

7.6 Ciclo de vida salivazo (*Mahanarva andigena*)

La presencia de salivazo está relacionada con la época lluviosa, mientras que durante la época seca el insecto permanece en diapausa en estado de huevo. Las ninfas y adultos succionan la savia de la planta, el daño que causan las ninfas es de menor importancia en comparación a la que hacen los adultos, pudiendo en estado de ninfa debilitar la planta o causar un amarillamiento temporal. El daño más importante lo hacen los adultos al succionar la savia e inyectar toxinas que interfieren con el proceso fotosintético de la planta (Básica, 2012).

Los cercópodos muestran metamorfosis gradual o sencilla denominada paurometábola que se caracteriza por los estados de huevo, ninfa y adulto en el ciclo biológico de los insectos y porque los individuos jóvenes o ninfas tienen una forma similar al insecto adulto (Cetino, 2008).

Según (CINCAE, 2004) el ciclo de vida de este insecto comprende tres fases o estados de desarrollo: huevo, ninfa y adulto. En su estado adulto, el salivazo es un insecto de tamaño mediano, existiendo una marcada diferencia entre el macho y la hembra.

- El macho mide aproximadamente 11 mm de largo y 5 mm de ancho, de coloración castaño oscuro o negro con manchas amarillas bien acentuadas sobre las alas anteriores a manera de dos bandas transversales, el abdomen y las patas son rojizos.
- La hembra es ligeramente mayor que el macho (13 mm de largo y 6,5 mm de ancho), de color castaño, con las manchas amarillas un poco difusas.

7.6.1 Huevos

De acuerdo (Barroso-tagua, 2017) los huevos recién ovipositados son de color blanco, posteriormente adquieren una coloración amarillo pálido, siendo visible una línea de eclosión de coloración oscura o negra. Son de forma oval o fusiforme y miden aproximadamente 1.3 mm de largo. El periodo de incubación dura alrededor de 19 días, con una variación de 16 a 23 días.

7.6.2 Ninfas

Según (ERCROS, 2014) el periodo ninfal comprende cinco instares con una duración promedio de 8 a 14 días cada instar. El periodo ninfal total tiene una duración de 51 días en promedio con una variación de 38 a 65 días, las ninfas recién eclosionadas se dirigen hacia el cogollo donde se localizan alimentándose de la savia y permaneciendo cubiertas de una masa espumosa que ellas elaboran que las protege de la desecación y de algunos enemigos naturales. Durante los

últimos instares las ninfas se trasladan hacia las vainas más viejas del tallo donde permanecen hasta transformarse en adultos. De esta manera el ciclo de vida de (*Mahanarva andigena*), desde que es puesto el huevo hasta que se transforma en adulto tarda alrededor de 70 días con una variación de 57 a 84 días, esto indica que habiendo las condiciones ambientales adecuadas pueden ocurrir varias generaciones durante el año.

7.6.3 Adultos

Los adultos permanecen durante el día en el follaje de las plantas, particularmente en las hojas más cercanas al cogollo o dentro de él. De acuerdo (CINCAE, 2022) Esto último es más común en las horas de mayor luminosidad, en ocasiones se encuentran debajo de las vainas viejas o cerca del suelo, tratándose en este caso de adultos que recién han emergidos o hembras que se encuentran cerca de los lugares de oviposición. Las hembras efectúan las posturas en la base de las vainas viejas que están a lo largo del tallo, especialmente en aquellas que están más cerca del suelo, llegando a ovipositar hasta 153 huevos durante su periodo reproductivo, que va de 12 a 37 días.

7.7 Ingreso de plaga salivazo (*Mahanarva andigena*)

Los primeros registros de esta plaga en el cultivo de caña de azúcar datan desde 1968 (Archivos del Ingenio San Carlos). Actualmente se encuentra distribuida irregularmente en el país, habiendo sido reportada su presencia en varios sectores de la cuenca baja del Guayas (Naranjito, Bucay, Milagro y La Troncal), El Oro (Zaruma y Piñas), Sucumbíos y Pastaza (Puyo). Hasta ahora se han identificado dos especies asociadas a la caña de azúcar: *Mahanarva andigena* y *Mahanarva trifissa* (Balaram Naik, P Karunakar, 1 M Jayadev, 2013)

7.7.1 Hábitos y daños.

Las ninfas y adultos succionan la savia de la planta. Según (Mundial, 2013) El daño que causan las ninfas es de menor importancia al que hacen los adultos, pudiendo debilitar la planta o causar un amarillamiento temporal. En el caso de las ninfas que se ubican en la parte aérea de la planta, los tallos infestados presentan masas espumosas, con una apariencia húmeda permanente y cuando esta saliva se seca los tallos se tornan blanquecinos. Las ninfas de las raíces, perforan y contaminan las raíces, afectando la asimilación de agua y nutrientes de la planta. El daño más importante lo hacen los adultos al succionar la savia e inyectar toxinas que interfieren con el proceso fotosintético de la planta. Los síntomas iniciales se manifiestan por lesiones cloróticas

o amarillentas alrededor de la picadura, que posteriormente se alargan y se secan, dando un aspecto de quemazón del follaje. El daño en general va a depender mucho de la especie de salivazo, de la situación física de la caña y el clima. A más de la serie de perjuicios que aparecen en el campo, hay que considerar las pérdidas que se manifiestan a nivel de fábrica; lo cual implica: reducción del contenido de sacarosa, aumento en el contenido de fibra e, inversión de sacarosa en glucosa y levulosa (Balaram Naik, P Karunakar,1 M Jayadev, 2013)

7.7.2 Distribución

Según (Mundial, 2013), ha reportado a nivel mundial la presencia de *Mahanarva andigena* en los países como México, Bélize, Guatemala, Honduras y Brasil, así como en el Ecuador particularmente en la Cuenca Baja del Guayas (Naranjito, Milagro, Bucay), Zaruma, Piñas (El Oro), Puyo (Pastaza) y Nanegalito (Pichincha).

7.7.3 Temperatura y humedad

De acuerdo a (Cuaran et al., 2012), la temperatura y la humedad es un factor muy influyente para la vida del salivazo (*Mahanarva andigena*) las condiciones de vida tanto de huevos ninfas y adultos la temperaturas pueden estar desde los (20 a 35 °C) la humedad desde los (50 a 80%), las condiciones climáticas influyen mucho para su ciclo de vida ya que ellos no toleran climas templados.

El estudio se llevó a cabo en la provincia Pastaza superficie cultivada con caña de azúcar. El clima es cálido y húmedo, variable según los pisos climáticos, con precipitaciones promedio de 4 576,14 mm anuales, humedad relativa promedio de 88,30%, insolación promedio anual de 1 076 horas, temperatura mínima promedio de 15,20o C, temperatura media de 25 °C (Valle Ramírez et al., 2015).

7.7.4 Daños causados por el salivazo (*Mahanarva andigena*)

El salivazo es una de las plagas más importante en el cultivo de la caña de azúcar en varios países de América y El Caribe. Los primeros registros del salivazo en caña de azúcar en el Ingenio San Carlos datan desde 1968. En los últimos años esta plaga se ha incrementado notablemente, afectando alrededor de 2000 ha en varios sectores de la provincia del Guayas (Naranjito, Milagro) y Cañar (La Troncal) Pichincha (Nanegalito) (Mora, 2000).

La falta de conocimientos técnicos y las malas prácticas fitosanitarias son evidentes en los cultivos de caña de azúcar, siendo el control de plagas un problema al que los pequeños

cañicultores no le dan importancia, subestimando el efecto que pueden tener en la producción de caña y en el rendimiento de sus derivados, especialmente panela y azúcar (Rafael et al., 2016).

La incidencia es alta llegando (40% a 60%) del salivazo que afecta a los cañicultores de la dicha zona esto ha llevado a la búsqueda de nuevas alternativas para el manejo de la plaga sin contaminar el medio ambiente y la salud del hombre (Coeto, 2015)

7.8 Clasificación taxonómica de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L)

Saccharum officinarum L, habitualmente conocida como caña de azúcar, cañaduz o simplemente caña, es una especie de planta perteneciente a la familia de las poáceas. Son plantas cespitosas con tallos de hasta 5-6 m × 2-5 cm, con numerosos entrenudos alargados vegetativamente; dulces, jugosos y duros, desnudos abajo; vainas glabras o pelosas; lígula de 2-4 mm; láminas 1-2 m × 2-6 cm, glabras o la costilla media pelosa.

Tabla 5: *Clasificación taxonómica de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L)*

- Reino.....Vegetal
- División.....Magnoliophyta
- Clase.....Angiospermae
- Sub-clase.....Monocotyledoneae
- Súper Orden.....Commelinidae
- Orden.....Commelinales
- Familia.....Poaceae
- Género.....*Saccharum*
- Especie.....*Saccharum officinarum*

Nota. Recuperado de (CONADESUCA, 2015).

7.8.1 Etapas fenológicas del cultivo de caña de azúcar

El cultivo de caña de azúcar en su ciclo de plantilla tiene un desarrollo vegetativo de duración variable, dado a que depende de la variedad y el clima. De la siembra a la cosecha el cultivo puede durar desde 14 y hasta 17 meses tiene 4 etapas de desarrollo: germinación, amacollamiento, rápido crecimiento y maduración. Las primeras cosechas se lo realizado dentro de 11 a 13 meses (Fern, 2016).

7.8.2 Germinación

La germinación es el proceso que da paso de los órganos primordios latentes en la yema al estado activo de crecimiento y desarrollo. El crecimiento inicial se prolonga hasta los 35 días, las temperaturas óptimas para la brotación oscilan entre los 24 a 37°C con disponibilidad de buena humedad en el suelo (Aguilar-Rivera et al., 2010).

7.8.3 Amacollamiento

Esta etapa comienza alrededor de los 35 a 40 días después de la plantación y se caracteriza por el brote de varios tallos a partir de las articulaciones nodales que se encuentran en la base de los tallos primarios con una temperatura cercana a los 30°C es la óptima, buenas condiciones de humedad en el suelo y buen nivel de nitrógeno (Marasca et al., 2015).

7.8.4 Rápido crecimiento

En esta etapa se da la formación y elongación de la caña con rapidez, en esta fase también se presenta una gran acumulación de materia seca y la planta alcanza su máxima área foliar (hojas). Esta etapa puede prolongarse de acuerdo a la variedad, la temperatura y la humedad. Sin embargo, como referencia puede citarse que comienza alrededor de los 120 días después de la plantación y es a los 180 días aproximadamente queda definido la población de tallos (sólo sobreviven entre el 40 y el 50% de los hijuelos o retoños). En esta fase el cultivo requiere temperaturas sobre los 30°C, disponibilidad de nutrientes y buena condición de humedad (Hernández-Cázares, 2019).

7.8.5 Maduración

En esta etapa de desarrollo de la planta de caña se da el proceso de síntesis y acumulación de sacarosa en los tallos de la caña, la maduración de la caña es de la base al ápice (extremo superior) de la planta, esta parte del desarrollo tiene una duración de unos 2 a 3 meses. Los factores que favorecen el almacenamiento de sacarosa son aquellos que inhiben el crecimiento de la planta, entre ellos la presencia de noches frescas (temperaturas de 18°C), días calurosos y secos (Romero et al., 2012).

7.8.6 Cosecha

La cosecha se lleva a cabo desde los 11 a 13 meses la plantación es alta, es decir, cuando los tallos dejan de desarrollarse, las hojas se marchitan y caen y la corteza de la capa se vuelve

quebradiza. Actualmente existe maquinaria para realizar el corte de la caña, sin embargo, la mayor parte de la zafra o recolección sigue haciéndose manualmente el instrumento usado para cortarla suele ser un machete grande de acero con hoja de unos 50 cm de longitud y 13 cm de anchura. La caña se corta cerca del suelo al igual que por el extremo superior, cerca del último nudo maduro, ya cortadas se apilan a lo largo del campo, de donde se recogen a mano o a máquina para su transporte (Castro-Armijos et al., 2017).

8. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS

8.1 Pregunta Científica

¿Es posible identificar cepas con el hongo *Metarhizium* spp, en tres zonas del subtrópico Cotopaxi (Palo Quemado, El Corazón) y Pichincha (Pacto) para el posible uso como controlador biológico de la plaga de salivazo (*Mahanarva andigena*) en el cultivo de caña de azúcar?

9. METODOLOGÍA

9.1.1 Método de investigación

9.1.2 Descriptiva

Con este método de investigación se pudo precisar los temas que abarcan la problemática de la plaga de salivazo en el cultivo de caña de azúcar, tomando en cuenta las alternativas del control de la plaga con el hongo entomopatógeno (*Metarhizium* spp).

9.2 Modalidad de investigación

9.2.1 Colecta

La investigación de campo se llevó a cabo en las tres zonas del subtrópico provincia Cotopaxi (Palo Quemado, El Corazón) y la provincia Pichincha (Pacto), mediante la técnica de la colecta es (colecta directa) cada nueve metros en forma de zig-zag (Berlanga et al., 2016).

Se colectaron muestras de insectos y material vegetal de caña de azúcar con presencia de hongos, se tomó con una pinza a los insectos que fueron colocados en frascos de plástico en cuyo interior se colocaron discos de algodón humedecidos con agua destilada, cuyas hojas fueron recortadas y depositadas en recipientes de plásticos con algodón humedecido.

Materiales

- Frasco recolector de insectos
- Tijeras
- Pinzas
- Agua embotellada
- Rociador de agua
- Cooler
- Etiquetas
- Marcador

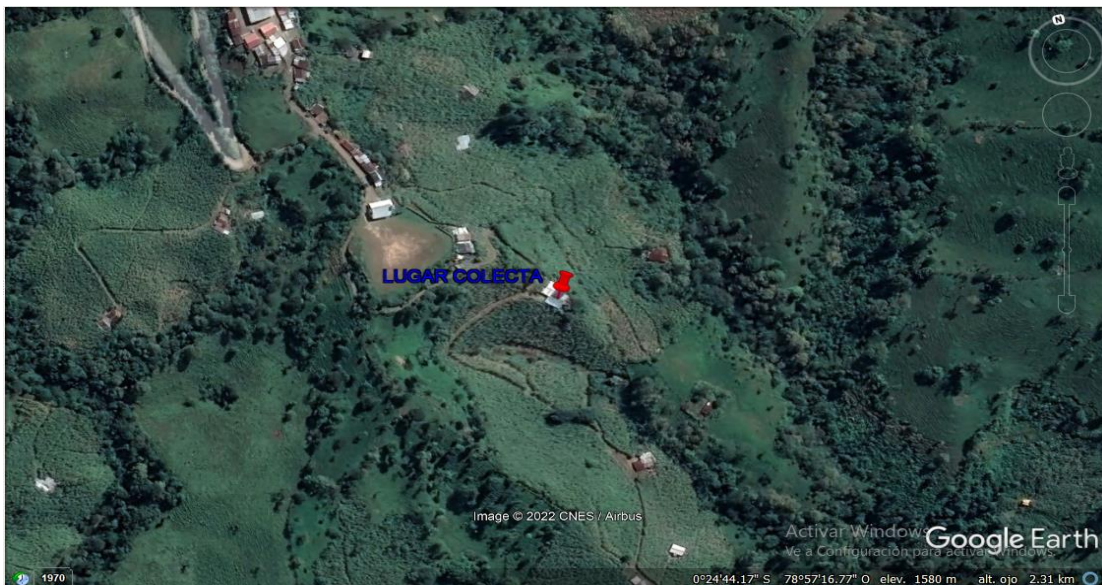
9.3 Ubicación del área de colecta

La colecta de campo se llevó a cabo en provincia Cotopaxi, cantón Sigchos, parroquia Palo Quemado todo del sector cañera.

Tabla 6: *Coordenadas Georreferenciales del área de colecta Palo Quemado*

| | |
|--------------------------------|--------------------------------|
| Provincia: Cotopaxi | Altitud: 1580 m.s.n.m |
| Cantón: Sigchos | Humedad relativa: 80% |
| Parroquia: Palo Quemado | T. Media: 23 – 25 °C |
| Localidad: Galápagos | Precipitación: 2.000 mm |
| Latitud: 0°24'44.17"S | Clima: Cálido |
| Longitud: 78°57'16.72"O | |

Elaborado por: (Negrete 2023).



Fuente: Fotografía tomada de Google Earth.

| | |
|-------------------------------------|---|
| Fecha | 22 - 23 de Octubre del 2022 |
| Motivo | Colecta de los hongos entomopatógenos |
| Superficie | 4000 m ² |
| Técnica de la colecta | Colecta directa cada 9 metros en forma del zig-zag. |
| Nombre del dueño de la finca | Luis Uribe |
| Nombre del colector | Franklin Negrete Sillo, Sergio Moreno Faconda |

Elaborado por: (Negrete 2023).

9.4 Ubicación del área de colecta

La colecta de campo se llevó a cabo en provincia Cotopaxi, cantón Pangua, parroquia El Corazón todo del sector cañera.

Tabla 7: *Coordenadas Georreferenciales del área de colecta El Corazón*

| | |
|--------------------------------|---------------------------------------|
| Provincia: Cotopaxi | Altitud: 1225 m.s.n.m. |
| Cantón: Pangua | Humedad relativa: 80% |
| Parroquia: El Corazón | T. Media: 20 °C |
| Localidad: Pucara | Precipitación: 600 a 2 000 mm. |
| Latitud: 1° 8'20.10"S | Clima: Cálido |
| Longitud: 79° 6'21.52"O | |

Elaborado por: (Negrete 2023).



Fuente: Fotografía tomada de Google Earth.

| | |
|-------------------------------------|---|
| Fecha | 7 de noviembre del 2022 |
| Motivo | Colecta de los hongos entomopatógenos |
| Superficie | 20000 m ² |
| Técnica de la colecta | Colecta directa cada 9 metros en forma del zig-zag. |
| Nombre del dueño de la finca | Finca Margarita Pucara |
| Nombre del colector | Franklin Negrete Sillo, Sergio Moreno Faconda |

Elaborado por: (Negrete 2023).

9.5 Ubicación del área de colecta

La colecta de campo se llevó a cabo en provincia Pichincha, cantón Quito, parroquia Pacto todo del sector cañera.

Tabla 8: *Coordenadas Georreferenciales del área de colecta Pacto*

| | |
|--------------------------------|---|
| Provincia: Pichincha | Altitud: 1376 m.s.n.m. |
| Cantón: Quito | Humedad relativa: 80% |
| Parroquia: Pacto | T. Media: 25 °C |
| Localidad: Paraíso | Precipitación: 2000 mm y 4000 mm |
| Latitud: 0°10'15.86"N | Clima: Cálido |
| Longitud: 78°46'59.69"O | |

Elaborado por: (Negrete 2023).



Fuente: Fotografía tomada de Google Earth.

| | |
|-------------------------------------|---|
| Fecha | 21 de noviembre del 2022 |
| Motivo | Colecta de los hongos entomopatógenos |
| Superficie | 60000 m ² |
| Técnica de la colecta | Colecta directa cada 9 metros en forma del zig-zag. |
| Nombre del dueño de la finca | Darwin Chuquimarca |
| Nombre del colector | Franklin Negrete Sillo, Sergio Moreno Faconda |

Elaborado por: (Negrete 2023).

9.6 Aislamiento de hongos entomopatógenos

Se realizó en las instalaciones del Laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi con todas las medidas de bioseguridad y con los equipos con los que cuenta el laboratorio, para el aislamiento de los hongos se realizó con la técnica del rayado (Sarabia & Roo, 2014).

Para el aislamiento se preparó en 400 ml de agua destilada 15,6 g de (PDA) para 40 cajas Petri, asas de siembra, pinzas deben ser coloca en el autoclave con un tiempo de 40 minutos a una temperatura 120 °C y 140 °F para la esterilización y preparación del medio, se lo saca para que se enfríe hasta eso debemos desinfectar la cámara de flujo laminar donde se debe trabajar con las muestras y todos los materiales necesarios como: mechero con alcohol 96%, cajas Petri de 60×15 mm, alcohol al 96% en un vaso de precipitación para la desinfección de asas de siembra y pinzas, para el aislamiento.

Fórmula para la preparación del medio de cultivo (PDA)

$$\frac{1000 \text{ ml} - - - - 39 \text{ g}}{400 - - - - X} = X = \frac{400 * 39}{1000} = 15,6 \text{ g}$$

Se colocaron en cada caja Petri 10 ml de (PDA), se debe esperar dos minutos para que el medio se enfríe, se comienza con el raspado de la muestra del insecto con la ayuda de la asa de siembra, por cada muestra del insecto si eso tres copias la primera y segunda copia es sembrado con la técnica del rayado y en la tercera copia se lo puso al insecto. El material vegetal se realizó dos copias por cada muestra de igual manera empezamos raspado las muestras para su respectiva siembra se sembró con la técnica del rayado el medio de cultivo (PDA) y serán rotulados con fecha, numero de muestra y el medio de cultivo que se utiliza lo sellamos con papel film y lo llevamos a la incubadora con 26 °C estarán durante los 7 días.

Materiales

- Cajas Petri plásticas
- Medio cultivo (PDA)
- Mechero de alcohol
- Estuche de decisión
- Papel absorbente
- Guantes quirúrgicos
- Parafilm
- Alcohol 70%
- Alcohol 96%
- Agua destilada
- Papel aluminio

| Equipos del laboratorio | Marca | Modelo | Cantidad |
|-------------------------|-----------|-----------------------|----------|
| Autoclave | TUTTNAVER | 2540M | 1 |
| Incubadora | REBELK | RI-50 | 1 |
| Cámara de flujo laminar | BIOBASE | BBS-DDS. CN BBS-H1300 | 1 |
| Balanza | HOCHOICE | HC500 | 1 |

Elaborado por: (Negrete 2023).

Se tomó fotos de las muestras colectados del campo en el estereoscopio para visualizar de la mejor manera.

9.7 Re-aislamiento y purificación

El re-aislado o purificación, consiste tomar los bordes de crecimiento del hongo que fue identificado esto se lo llama purificación mediante las puntas de crecimiento, se purifico con la técnica del rayado (Domínguez Romero et al., 2013).

10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

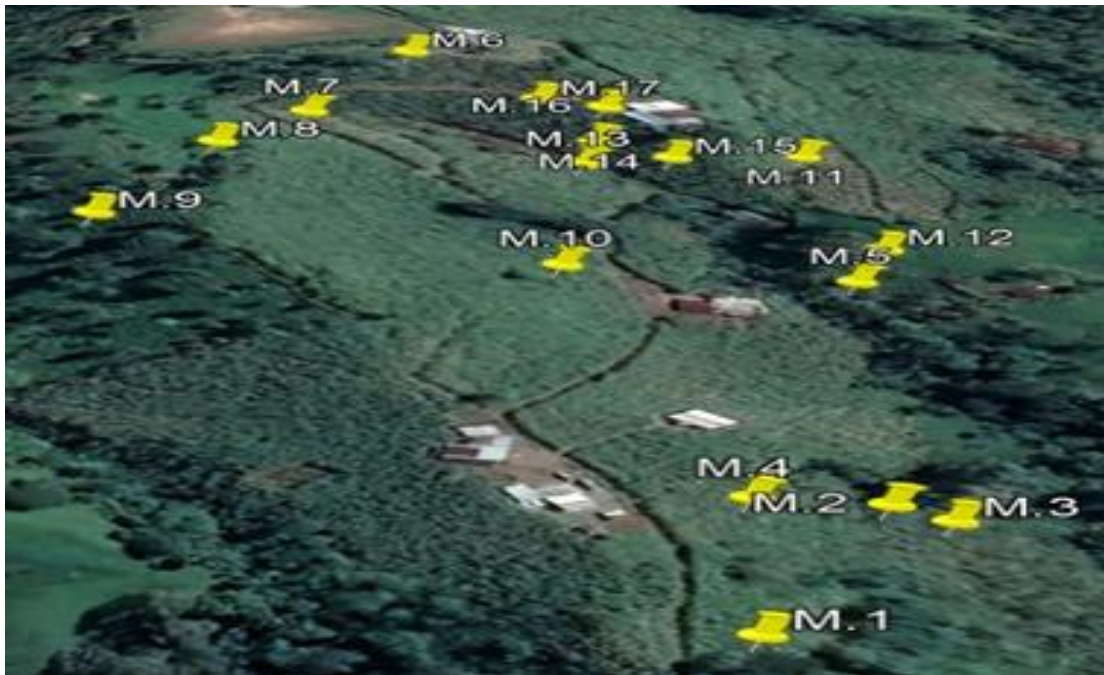
10.1 Colecta de material vegetal e insectos infectados con hongos

Parroquia Palo Quemado, sector Galápagos.

Se colectaron un total de 17 muestras con hongos entomopatógenos, 5 del género *Mahanarva andigena* (salivazo), de igual forma se colectaron 12 muestras de material vegetal de caña de

azúcar con presencia de hongos. La toma de muestras se realizó en 17 sitios de la finca con una técnica de la Colecta directa cada 9 metros en forma del zig-zag; 2 muestras tomadas del envés de la hoja de caña de azúcar de la zona bajo, 2 muestras tomadas de axilar de la zona medio de la caña de azúcar, 8 muestras tomadas de axilar de la zona bajo de la caña de azúcar y 5 muestras de insecto salivazo adulto de la zona alta.

Imagen 1: Mapa de la colecta Palo Quemado



Los hongos entomopatógenos vienen a ser el grupo de mayor importancia en el control biológico de insectos y también de las plaga que son afectados, encontrándose presentes naturalmente en el ambiente, en el suelo, en restos de cultivos, sobre los cadáveres de insectos, obteniendo su nutrición de otros organismos o de materia orgánica (Gómez et al., 2014).

10.2 Colecta de material vegetal e insectos infectados con hongos

Parroquia El Corazón, sector Pucara.

Se colectaron un total de 12 muestras con hongos entomopatógenos, 8 del género *Mahanarva andigena* (salivazo), de igual forma se colectaron 4 muestras de material vegetal de caña de azúcar con presencia de hongos. La toma de muestras se realizó en 12 sitios de la finca con una técnica de la Colecta directa cada 9 metros en forma del zig-zag; 1 muestra tomada del envés de la hoja de caña de azúcar de la zona bajo, 3 muestras tomadas de axilar de la zona bajo de la caña de azúcar y 8 muestras de insecto salivazo adulto de la zona alta.

Imagen 2: Mapa de la colecta El Corazón.



Los hongos pueden causar enfermedades en los insectos, son llamados entomopatógenos, viven naturalmente en el ambiente, suelos, también alojados en los mismos cuerpos de los insectos, causando su muerte en un plazo aproximado de cinco a siete días con la posibilidad de propagar al hongo a otros insectos bajo condiciones favorables como la temperatura y la humedad. Los entomopatógenos se multiplican y dispersan dentro del mismo cultivo favoreciendo la acción reguladora de la población de insectos (Chiriboga et al., 2015).

10.3 Colecta de material vegetal e insectos infectados con hongos

Parroquia Pacto, sector Paraíso, al noroccidente de la provincia de Pichincha.

Se colectaron un total de 12 muestras con hongos entomopatógenos, 6 del género *Mahanarva andigena* (salivazo), de igual forma se colectaron 6 muestras de material vegetal de caña de azúcar con presencia de hongos. La toma de muestras se realizó en 12 sitios de la finca con una técnica de la Colecta directa cada 9 metros en forma del zig-zag; 4 muestras tomadas del envés de la hoja de caña de azúcar de la zona bajo, 1 muestra tomada de axilar de la zona alta de la caña de azúcar, 1 muestra tomada de axilar de la zona bajo de la caña de azúcar y 6 muestras de Insecto salivazo adulto de la zona alta.

Imagen 3: *Mapa de la colecta Pacto.*



El ciclo vital de estos hongos entomopatógenos se divide en una fase parasítica, que va desde la infección hasta la muerte del hospedero, que transcurre después de la muerte del insecto. Este aspecto de su biología permite a los hongos entomopatógenos 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 (Sepulveda, 2012).

10.4 Aislamiento de los hongos entomopatógenos

Palo quemado

Se aislaron un total de 40 cajas Petri de las cuales 15 cajas Petri fueron aisladas de insectos, 25 cajas Petri fueron de material vegetal con presencia de hongos

El Corazón

Se aislaron un total de 20 cajas Petri, 16 cajas Petri fueron aisladas de insectos, 4 cajas Petri de material vegetal con presencia de hongos.

Pacto

Se aislaron un total de 20 cajas Petri, 12 cajas Petri fueron aisladas de insecto, 8 cajas Petri de material vegetal con presencia de hongos.

Tabla 9: *Muestras aisladas por cada sector*

| Fechas de aislamiento de los hongos entomopatógenos | | | | | |
|---|---------|--------------|-----------|------------|----------------------------------|
| Provincia | Cantón | Parroquia | Sector | Fecha | Cantidad de cajas Petri aisladas |
| Cotopaxi | Sigchos | Palo Quemado | Galápagos | 24/10/2022 | 40 |
| Cotopaxi | Pangua | El Corazón | Pucara | 09/11/2022 | 20 |
| Pichincha | Quito | Pacto | Paraíso | 23/11/2022 | 20 |

Elaborado por: (Negrete 2023).

Según (Gómez-Pereira & Mendoza-Mora, 2014) afirma que los aislamientos se toman las muestras de insectos o también pueden ser de material vegetal que presenten una esporulación y estén libres de contaminantes. Este aislamiento se puede efectuar de dos maneras: En el primer caso se prepara una suspensión retirando las conidias del cuerpo del insecto y colocándolas. A partir de esta suspensión se hacen siembras en el medio de cultivo con la ayuda de un asa de siembra de platino. En el otro caso se retiran las conidias del insecto con el asa de siembra y se siembran directamente utilizando la técnica del rayado sobre el medio de cultivo. El aislamiento se efectúa en cajas Petri conteniendo PDA (papa, dextrosa y agar). Las cajas Petri se sellan con parafilm y la rotulación, posteriormente se colocan en una incubadora a 26 °C con luz permanente.

De acuerdo a (Granda, 2018), para el aislamiento de las muestras de hongos entomopatógenos, los materiales tienen que estar desinfectado, raspándolo a las muestras de insectos para la siembra mediante la técnica de rayado en el medio de cultivo.

10.5 Identificación del hongo sector (Palo Quemado)

10.5.1 Observación macroscópica

Observación macroscópica durante los 7 días de crecimiento del hongo *Metarhizium* spp con una temperatura de 26 °C en la incubadora.

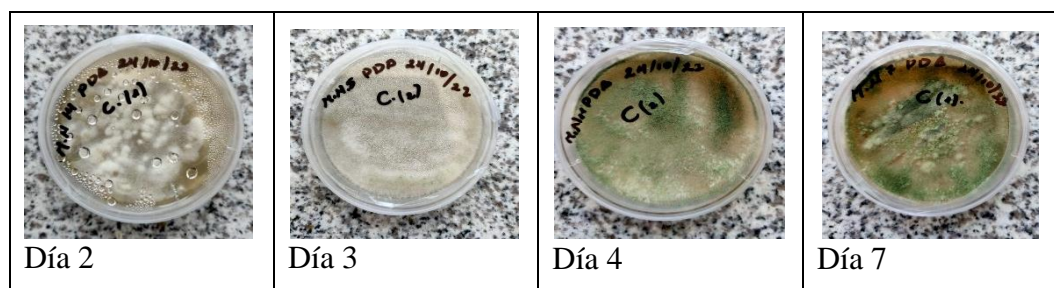


Imagen 4: *Crecimiento radial de (Metarhizium spp), en medio de cultivo PDA durante los 7 días de desarrollo de la colonia Palo Quemado.*

Crecimiento del hongo a 2 días

A los dos días de la siembra del hongo se formaron las colonias al 50% de un color blanco algodonoso siendo el hongo más joven durante su crecimiento inicial en la caja Petri.

Crecimiento del hongo 3 días

Las colonias se expandieron al 100% en toda la caja Petri de color blanco tornándose a verde claro en el centro de la caja Petri, de acuerdo a los mencionados por (García-Gutiérrez et al., 2020) quien menciona que la textura que presentaron las colonias al inicio de su desarrollo es algodonosa de color blanco, cambiando a verdosa pulverulentas durante el crecimiento micelial.

Crecimiento del hongo 4 días

Durante esta etapa, todas las colonias se tornaron de un color verde claro, es decir cambia de color gradualmente debido que se acerca la etapa de esporulación.

Crecimiento del hongo 7 días

A los siete días del crecimiento todas las colonias tornaron de color verde, de acuerdo a lo mencionado por (Raymundo-Jiménez et al., 2019) quien menciona que la morfología se mantiene con una textura algodonosa formando halos de color verde cerca a la etapa de maduración de la cepa y al inicio de la etapa esporulación, presentando hifas cenocíticas, lisas, con conidias de diferentes matices de colores desde el verde oliva hasta verde claro.

De igual manera de acuerdo a lo mencionado por (Torres de la C. et al., 2013) los aislamientos mostraron colonias inicialmente blancas que al madurar se tornan de color verde olivo, conidióforos simples o agregados con fiálides en forma de botella. Conidios alargados, ovoides a cilíndricos de 5-9 μm dispuestos en cadenas compactas paralelas, que en masa presentaron color verde olivo, confirmando de esta manera que el hongo aislado de las muestras colectadas es *Metarhizium* spp.

10.5.2 Observación microscópica

Para la identificación del hongo que fue cultivado y aislado en el laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi el (24/10/2022), se mantuvo en incubación durante un periodo de 7 días a una temperatura de 26 °C.

Equipos de laboratorio

| | Marca | Modelo | Cantidad |
|---------------|---------|-----------|----------|
| • Microscopio | OLYMPUS | CX31RBSFA | 1 |

Elaborado por: (Negrete 2023).

Posteriormente se tomaron muestras de los aislados de los hongos con un asa, se coloca en portaobjetos y se coloca sobre la muestra un cubre objetos; se coloca en el microscopio con el lente (20x/0.40Ph1.) para observar las estructuras que forman durante su crecimiento en medio de cultivo.



Fotografía 1. Identificado al día 7 del crecimiento la *M.N.15.* (PDA). 31/10/22

Las colonias en medio de cultivo PDA son circulares, con borde regular, aspecto aterciopelado polvoriento, de color verde oscuro. Las estructuras microscópicas (**Fotografías 1**) Todas las hifas están entrelazadas entre ellas y ramificadas, separadas o libres también están formando cadenas ya que el hongo *Metarhizium* spp, llega a su fase final del crecimiento ya está listo para ser propagado. Como lo describe (Un et al., 2018) *Metarhizium* spp, forma al inicio colonias blancas y algodonosas, posteriormente se tornaron amarillo-verdoso y finalmente verde-olivo el conidióforo presentó verticilos de 2-3 ramas cada uno, conidios subhialinos a verdes, cilíndricos a elipsoidales.

Según (Alcantara-vargas, 2020) las características morfológicas para el género (*Metarhizium* spp) son: conidióforos densamente entrelazados, conidios ovoides de color verde, formados en cadenas paralelas largas o cortas, los conidióforos son ramificados, con forma de candelabro y entrelazados. De acuerdo (ADRIANA GARCÍA TAPIA, 2013) las hifas son cenocíticas, lisas, con conidias de diferentes matices de colores desde el verde claro hasta verde oscuro, las

conidias poseen extremos redondeados, lisas y agrupadas en cadenas regulares debido a la agregación por elongación de las mismas conidias.

De los 40 aislamientos, 10 cajas Petri fueron identificadas con el hongo *Metarhizium* spp, de las cuales ocho aislamientos fueron aislados de salivazos adultos (*Mahanarva andigena*) de la zona alta de la plantación y dos aislamientos fueron obtenidos de muestras de material vegetal y un aislamiento del envés de la hoja de caña de azúcar colectada de la zona bajo de la plantación y una muestra de la zona axilar de la planta de zona, colectada de la zona baja de la plantación.

Además, se logró aislar dos hongos *Beauveria* spp., y *Trichoderma* spp., obtenidos de material vegetal, de acuerdo a lo mencionado por (Manuel et al., 2011) quien indica que de un total de 25 muestras de suelo de áreas cultivadas de cítricos en el estado de Nuevo León, el 60% de las muestras resultaron positivas con presencia de hongos entomopatógenos y entre los aislamientos se encontraron los hongos de género *Beauveria* spp, detectado en el 24% (6 aislados) de las muestras, *Metarhizium* spp, en el 8% (2 aislados) y *Isaria* spp, en el 25% (7 aislados).

Tabla 10: Datos con muestras aisladas Palo Quemado

Muestras de los insectos

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salivazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>) de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.15. (PDA). 24/10/22. C (1). | (<i>Metarhizium</i>) spp. |
| M.N.15. (PDA). 24/10/22. C (2). | Contaminado |
| M.N.15. (PDA). 24/10/22. C (3). | (<i>Metarhizium</i>) spp. |

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salivazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>) de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.3. (PDA). 24/10/22. C (1). | (<i>Metarhizium</i>) spp. |
| M.N.3. (PDA). 24/10/22. C (2). | (<i>Metarhizium</i>) spp. |
| M.N.3. (PDA). 24/10/22. C (3). | Contaminado |

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salivazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>) de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.10. (PDA). 24/10/22. C (1). | Contaminado |
| M.N.10. (PDA). 24/10/22. C (2). | Contaminado |
| M.N.10. (PDA). 24/10/22. C (3). | (<i>Metarhizium</i>) spp. |

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salivazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>) de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.17. (PDA). 24/10/22. C (1). | (<i>Metarhizium</i>) spp. |
| M.N.17. (PDA). 24/10/22. C (2). | Contaminado |
| M.N.17. (PDA). 24/10/22. C (3). | Contaminado |

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salivazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>) de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.18. (PDA). 24/10/22. C (1). | Contaminado |
| M.N.18. (PDA). 24/10/22. C (2). | (<i>Metarhizium</i>) spp. |
| M.N.18. (PDA). 24/10/22. C (3). | (<i>Metarhizium</i>) spp. |

Muestras de material vegetal

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Axilar de la zona bajo de la caña de azúcar |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.1. (PDA). 24/10/22. C (1). | Contaminado |
| M.N.1. (PDA). 24/10/22. C (2). | (<i>Beauveria bassiana</i>) |

| | |
|--------------------------------------|--|
| Tipo de muestra del campo | Envés de la hoja de caña de la zona bajo |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.2. (PDA). 24/10/22. C (1). | Contaminado |
| M.N.2. (PDA). 24/10/22. C (2). | (<i>Metarhizium</i>) spp. |

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Axilar de la zona bajo de la caña de azúcar |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.4. (PDA). 24/10/22. C (1). | (<i>Beauveria bassiana</i>) |
| M.N.4. (PDA). 24/10/22. C (2). | Contaminado |

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Axilar de la zona bajo de la caña de azúcar |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.5. (PDA). 24/10/22. C (1). | (<i>Trichoderma</i>) |
| M.N.5. (PDA). 24/10/22. C (2). | Contaminado |

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Axilar de la zona bajo de la caña de azúcar |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.6. (PDA). 24/10/22. C (1). | Contaminado |
| M.N.6. (PDA). 24/10/22. C (2). | Contaminado |

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Axilar de la zona bajo de la caña de azúcar |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.7. (PDA). 24/10/22. C (1). | Contaminado |
| M.N.7. (PDA). 24/10/22. C (2). | Contaminado |

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Axilar de la zona bajo de la caña de azúcar |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.8. (PDA). 24/10/22. C (1). | Contaminado |
| M.N.8. (PDA). 24/10/22. C (2). | Contaminado |

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Axilar de la zona bajo de la caña de azúcar |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.9. (PDA). 24/10/22. C (1). | Contaminado |
| M.N.9. (PDA). 24/10/22. C (2). | Contaminado |

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Axilar de la zona bajo de la caña de azúcar |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.11. (PDA). 24/10/22. C (1). | Contaminado |
| M.N.11. (PDA). 24/10/22. C (2). | (<i>Metarhizium</i>) spp. |

| | |
|--------------------------------------|--|
| Tipo de muestra del campo | Envés de la hoja de caña de la zona bajo |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.12. (PDA). 24/10/22. C (1). | Contaminado |
| M.N.12. (PDA). 24/10/22. C (2). | Contaminado |

| | |
|--------------------------------------|--|
| Tipo de muestra del campo | Axilar de la zona medio de la caña de azúcar |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.13. (PDA). 24/10/22. C (1). | Contaminado |
| M.N.13. (PDA). 24/10/22. C (2). | Contaminado |

| | |
|--------------------------------------|--|
| Tipo de muestra del campo | Axilar de la zona medio de la caña de azúcar |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.14. (PDA). 24/10/22. C (1). | Contaminado |
| M.N.14. (PDA). 24/10/22. C (2). | Contaminado |

Elaborado por: (Negrete 2023).

10.6 Identificación del hongo sector (El Corazón)

10.6.1 Observación macroscópica.

Observación macroscópica durante los 7 días de crecimiento del hongo *Metarhizium* spp con una temperatura de 26 °C en la incubadora.

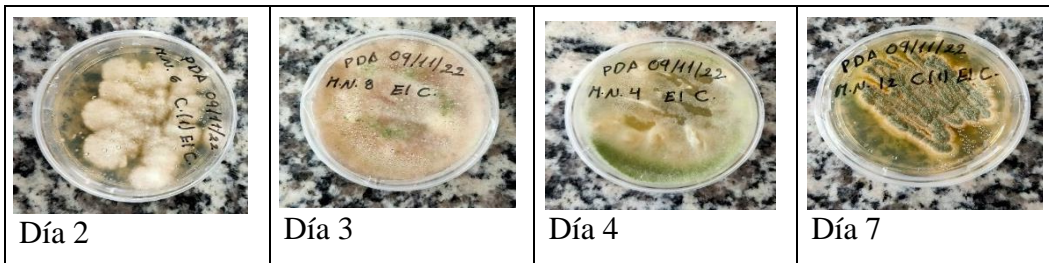


Imagen 5: Crecimiento radial de (*Metarhizium* spp), en medio de cultivo PDA durante los 7 días de desarrollo de la colonia El Corazón.

Crecimiento del hongo a 2 días

A los dos días, posteriores a la siembra del hongo se formaron las colonias en un 50% de un color blanco algodonoso siendo el hongo más joven durante su crecimiento inicial en la caja Petri.

Crecimiento del hongo 3 días

Las colonias se expandieron al 100% en toda la caja Petri de color blanco tornándose a verde claro en el centro de la caja Petri.

Crecimiento del hongo 4 días

Todas las colonias se están tornando de un color verde claro ya que el hongo está llegando al punto final de crecimiento para la esporulación.

Crecimiento del hongo 7 días

A los siete días del crecimiento todas las colonias tornaron de color verde, llegando a su punto de maduración de la cepa para su esporulación.

Cada muestra se incubó 7 días a temperatura 26 °C hasta observar conidiación de las colonias. Los aislados de *Metarhizium* spp fueron identificados por las características morfológicas de la colonia (color verde). De acuerdo (Piña, 2017) Posteriormente los aislados se incubaron hasta observar sus colonias para obtener monoclonias, de esta manera se identificó si en el aislado que no existen contaminantes de otros hongos y de esta manera tener un cultivo puro de (*Metarhizium* spp).

(Valverde-Sánchez et al., 2015) afirma que las colonias de *Metarhizium* spp, en PDA presentan un crecimiento de micelio completamente redondo, con borde blanco y con grupos de conidióforos que se tornan, al multiplicarse las conidias, de colores oliváceo, amarillento, verdoso, marrón oscuro, dependiendo del aislamiento. El conidióforo nace del micelio y es irregularmente ramificado con dos a tres ramas en cada septa, los conidios son unicelulares, cilíndricos y truncados, formados en cadenas muy largas, hialinas a verde oliváceo.

10.6.2 Observación microscópica

Para la identificación del hongo que fue cultivado y aislado en el laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi el (09/11/2022), se mantuvo en incubación durante un periodo de 7 días a una temperatura de 26 °C.

Equipos de laboratorio

| | Marca | Modelo | Cantidad |
|---------------|--------------|---------------|-----------------|
| • Microscopio | OLYMPUS | CX31RBSFA | 1 |

Elaborado por: (Negrete 2023).

Posteriormente se tomaron muestras de los aislados de los hongos con un asa, se coloca en portaobjetos y se coloca sobre la muestra un cubre objetos; se coloca en el microscopio con el lente (20x/0.40Ph1.) para observar las estructuras que forman durante su crecimiento en medio de cultivo.



Fotografía 2. Identificado al día 7 del crecimiento (PDA). 16/11/22. M.N.12

El proceso de aislamiento produjo 20 aislados nativos de *Metarhizium* spp., de los cuales, cinco se aislaron de ninfas de *Mahanarva andigena* y quince de muestras de suelo. De los insectos infectados se logró obtener aislamientos viables, lo cual es evidencia de que en el lugar de estudio se presentan epizootias naturales que suprimen las poblaciones de insectos por este hongo entomopatógeno (Valle-Ramírez et al., 2021).

De los 20 aislamientos obtenidos, 9 fueron identificados con el hongo *Metarhizium* spp y 7 fueron aisladas del insecto adulto de salivazo *Mahanarva andigena* de la zona alta de la plantación y dos aislamientos fueron obtenidos de material vegetal de zona axilar de la planta de caña de azúcar. Un aislamiento fue identificado con el hongo *Trichoderma* proveniente de una muestra material vegetal.

Bajo el microscopio se observan características tales como hifas entrelazadas entre ellas y ramificadas, forman una bolsa y están separadas o libres características de *Metarhizium* spp en concordancia a lo indicado por (Yohana, 2016) quien menciona que las colonias presentan una estructura algodonosa, blanca, que se torna verde grisáceo con la esporulación en halos o anillos concéntricos, de color verde grisáceo, más concentrados en el centro, en estructuras conocidas como esporodocios. Colonia con borde regular, algodonoso con abundante micelio aéreo. Difunde pigmento al medio de color carmelita.

De acuerdo (Johanna et al., 2020) las colonias en PDA de 7,8 cm diámetro, algodonosa, blanca y se torna verde olivo intenso con la esporulación, de apariencia costrosa, pegada al medio.

Esporulación en anillos concéntricos. Colonia con borde regular, algodonoso con abundante micelio aéreo.

Tabla 11: Datos con muestras aisladas El Corazón

Muestras de los insectos

| | |
|--------------------------------------|--|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salivazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>)de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| (PDA). 09/11/22. M.N.1. C (1). EL C. | Contaminado |
| (PDA). 09/11/22. M.N.1. C (2). EL C. | Contaminado |

| | |
|--------------------------------------|--|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salivazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>)de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| (PDA). 09/11/22. M.N.2. C (1). EL C. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |
| (PDA). 09/11/22. M.N.2. C (2). EL C. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |

| | |
|--------------------------------------|--|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salivazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>)de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| (PDA). 09/11/22. M.N.3. C (1). EL C. | Contaminado |
| (PDA). 09/11/22. M.N.3. C (2). EL C. | Contaminado |

| | |
|--------------------------------------|--|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salivazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>)de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| (PDA). 09/11/22. M.N.6. C (1). EL C. | Contaminado |
| (PDA). 09/11/22. M.N.6. C (2). EL C. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |

| | |
|--------------------------------------|--|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salivazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>)de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| (PDA). 09/11/22. M.N.9. C (1). EL C. | Contaminado |
| (PDA). 09/11/22. M.N.9. C (2). EL C. | Contaminado |

| | |
|---------------------------------------|--|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salivazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>)de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| (PDA). 09/11/22. M.N.10. C (1). EL C. | Contaminado |
| (PDA). 09/11/22. M.N.10. C (2). EL C. | Contaminado |

| | |
|---------------------------------------|--|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salivazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>)de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| (PDA). 09/11/22. M.N.11. C (1). EL C. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |
| (PDA). 09/11/22. M.N.11. C (2). EL C. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |

| | |
|---------------------------------------|--|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salivazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>)de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| (PDA). 09/11/22. M.N.12. C (1). EL C. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |
| (PDA). 09/11/22. M.N.12. C (2). EL C. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |

Muestras de material vegetal

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Axilar de la zona bajo de la caña de azúcar |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| (PDA). 09/11/22. M.N.4. EL C. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Axilar de la zona bajo de la caña de azúcar |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| (PDA). 09/11/22. M.N.5. EL C. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |

| | |
|--------------------------------------|--|
| Tipo de muestra del campo | Envés de la hoja de caña de la zona baja |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| (PDA). 09/11/22. M.N.7. EL C. | (<i>Trichoderma</i>) |

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Axilar de la zona bajo de la caña de azúcar |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| (PDA). 09/11/22. M.N.8. EL C. | Contaminado |

Elaborado por: (Negrete 2023).

10.7 Identificación del hongo sector (Pacto)

10.7.1 Observación macroscópica

Observación macroscópica durante los 7 días de crecimiento del hongo *Metarhizium* spp con una temperatura de 26 °C en la incubadora.

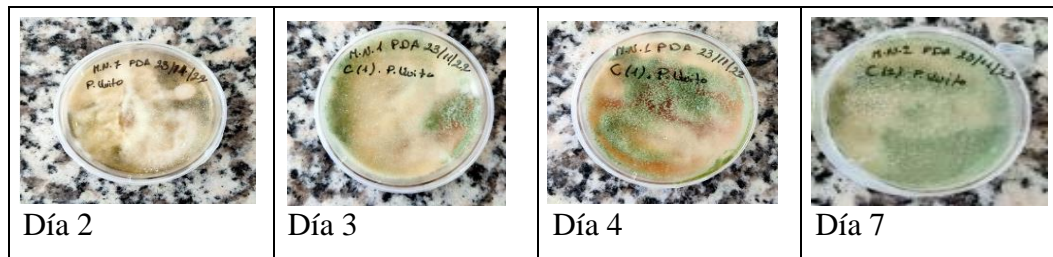


Imagen 6: Crecimiento radial de (*Metarhizium* spp), en medio de cultivo PDA durante los 7 días de desarrollo de la colonia Pacto.

La cepa de aislamiento mostró características típicas del género (*Metarhizium* spp) crecimiento inicial micelar de color blanco, posteriormente una producción de conidios de coloración verde claro. Además, se observó una abundante producción de conidios (B et al., 2013).

Crecimiento del hongo a 2 días

A los dos días de la siembra del hongo se formaron al 50% las colonias de un color blanco algodonoso siendo el hongo más joven durante su crecimiento inicial en la caja Petri.

Crecimiento del hongo 3 días

Las colonias se expandieron al 100% en toda la caja Petri de color blanco tornándose a verde claro en el centro de la caja Petri.

Crecimiento del hongo 4 días

Todas las colonias se están tornando de un color verde claro ya que el hongo está llegando al punto final de crecimiento para la esporulación.

Crecimiento del hongo 7 días

A los siete días del crecimiento todas las colonias tornaron de color verde, llegando a su punto de maduración de la cepa para su esporulación. De acuerdo (Aguilera-cogley et al., 2020) Los aislados nativos de *Metarhizium* spp, provenientes de hongos entomopatógenos mostraron colonias inicialmente de color blanco, que posteriormente se tornaron de color verde claro.

(Castro, 2019) afirma que su crecimiento es blanco algodonoso cuando es joven pero conforme madura toma una coloración verde oscura se caracteriza por hifas hialinas y septadas, conidioforos cortos, las fialides pueden encontrarse solas, en pares o en manojos, y de ellas se forman los conidios en cadena. Los conidios son cilíndricos unicelulares de 3,5 a 8 μ m de longitud y 1.5-2.5 μ m de ancho, hialios o ligeramente pigmentados y con estomas carnosos. (Gutierrez et al., n.d.) (2018) se caracteriza por presentar micelio de color verde oliva e hifas lisas y septadas conidióforos en montículos bajos, cubiertos por conidios, erectos, ramificados, agrupados estrecha o ligeramente, formando una capa esporulante.

10.7.2 Observación microscópica

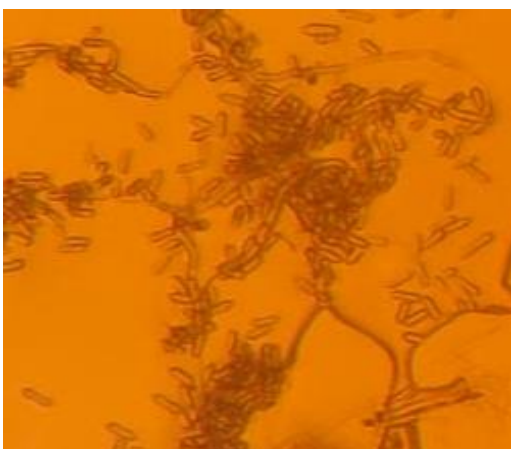
Para la identificación del hongo que fue cultivado y aislado en el laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi el (23/11/2022), se mantuvo en incubación durante un periodo de 7 días a una temperatura de 26 °C.

Equipos de laboratorio

| | Marca | Modelo | Cantidad |
|---------------|---------|-----------|----------|
| • Microscopio | OLYMPUS | CX31RBSFA | 1 |

Elaborado por: (Negrete 2023).

Posteriormente se tomaron muestras de los aislados de los hongos con un asa, se coloca en portaobjetos y se coloca sobre la muestra un cubre objetos; se coloca en el microscopio con el lente (20x/0.40Ph1.) para observar las estructuras que forman durante su crecimiento en medio de cultivo.



Fotografía 3. Identificado al día 7 del crecimiento la M.N.4. (PDA). 30/11/22

El (*Metarhizium* spp), las colonias en medio de cultivo PDA son circulares, con borde regular, aspecto aterciopelado polvoriento, de color verde grisáceo. Las estructuras microscópicas

(**Fotografías 3**) presentan hifas septadas, ramificadas, fiálides individuales o en pares, alargadas, cilíndricas individuales y formando cadenas largas.

Según los estudios hecho por (Navarro-barranco et al., 2019) el tamaño conidial. El examen microscópico reveló hifas hialinas, conidios lisos, septados, predominantemente cilíndricos, uninucleares con extremos redondeados que formaban cadenas basípeta características de (*Metarhizium* spp). Presenta ramificaciones, conidias cilíndricas a ovals que se forman en cadenas. Las conidias son producidos en sucesión basipétala, estando la conidia más joven en la base de la cadena (Development et al., 2018).

Según (Elizabeth & Gallegos, 2015) se realizó con secuencias de 15 aislamientos de hongos entomopatógenos, 3 aislamientos de *Beauveria* y 12 aislamientos de *Metarhizium* spp para su comparación.

De las 20 cajas Petri que fueron aisladas 10 cajas Petri fueron identificados con el hongo *Metarhizium* spp, de las cuales siete cajas son de Insecto salivazo adulto (*Mahanarva andigena*) de la zona alta y tres cajas Petri fueron identificados con el hongo *Mtarhizium* spp de muestra vegetal provenientes de Envés de la hoja de caña de la zona bajo, dos muestras de cajas fueron identificados con *Beauveria bassiana*, de las cuales son de la muestra vegetal. El resto de cajas está en proceso de crecimiento mientras que otros están contaminadas por bacterias.

Tabla 12: Datos con muestras aisladas Pacto

Muestras de los insectos

| | |
|--|---|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salivazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>) de la zona alta |
| Identificación cajas Petri | Observaciones |
| M.N.3. (PDA). 23/11/22. C (1). P. Quito. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |
| M.N.3. (PDA). 23/11/22. C (2). P. Quito. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |

| | |
|--|---|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salivazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>) de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.4. (PDA). 23/11/22. C (1). P. Quito. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |
| M.N.4. (PDA). 23/11/22. C (2). P. Quito. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |

| | |
|--|--|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salvazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>) de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.5. (PDA). 23/11/22. C (1). P. Quito. | En proceso de crecimiento |
| M.N.5. (PDA). 23/11/22. C (2). P. Quito. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |

| | |
|--|--|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salvazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>) de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.7. (PDA). 23/11/22. C (1). P. Quito. | Contaminado |
| M.N.7. (PDA). 23/11/22. C (2). P. Quito. | Contaminado |

| | |
|---|--|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salvazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>) de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.10. (PDA). 23/11/22. C (1). P. Quito. | Contaminado |
| M.N.10. (PDA). 23/11/22. C (1). P. Quito. | Contaminado |

| | |
|---|--|
| Tipo de muestra del campo | Insecto salvazo adulto (<i>Mahanarva andigena</i>) de la zona alta |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.12. (PDA). 23/11/22. C (1). P. Quito. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |
| M.N.12. (PDA). 23/11/22. C (2). P. Quito. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |

Muestras de material vegetal

| | |
|--|--|
| Tipo de muestra del campo | Envés de la hoja de caña de la zona bajo |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.1. (PDA). 23/11/22. C (1). P. Quito. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |
| M.N.1. (PDA). 23/11/22. C (2). P. Quito. | Contaminado |

| | |
|--|--|
| Tipo de muestra del campo | Envés de la hoja de caña de la zona bajo |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.2. (PDA). 23/11/22. C (1). P. Quito. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |
| M.N.2. (PDA). 23/11/22. C (2). P. Quito. | (<i>Metarhizium</i>) spp. |

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Axilar de la zona alta de la caña de azúcar |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.6. (PDA). 23/11/22. P. Quito. | Contaminado |

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Envés de la hoja de caña de la zona bajo. |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.8. (PDA). 23/11/22. P. Quito. | (<i>Beauveria bassiana</i>) |

| | |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de muestra del campo | Envés de la hoja de caña de la zona bajo. |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.9. (PDA). 23/11/22. P. Quito. | Contaminado |

| | |
|--------------------------------------|--|
| Tipo de muestra del campo | Axilar de la zona bajo de la caña de azúcar. |
| Rotulación en las cajas Petri | Observaciones |
| M.N.11. (PDA). 23/11/22. P. Quito. | (<i>Beauveria bassiana</i>) |

Elaborado por: (Negrete 2023).

11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)

11.1 Impacto social

El presente proyecto de investigación busca una alternativa viable y económica para el control de la plaga, sin causar daños al medio ambiente y la salud humana, la identificación de *Metarhizium* spp ayudara a buscar alternativas de control del salivazo en el cultivo de la caña de azúcar.

11.2 Impacto ambiental

El monocultivo de la caña de azúcar causa grandes daños como la degradación de suelo por la quema de los residuos durante su cosecha, debido a plagas y enfermedades que presenta, entre ellas, el salivazo (*Mahanarva andigena*). La aplicación de productos químicos para el control de la plaga, causa problemas medioambientales, por ello si busca una alternativa de control biológico como el hongo *Metarhizium* spp que no causa ningún daño y puede controlar dicha plaga sin ningún problema.

11.3 Impacto económico

El uso *Metarhizium* spp, como posible controlador dará una gran ventaja a los cañicultores, el manejo del cultivo de caña de azúcar será completamente orgánico, el agricultor tendrá más oportunidad de comercio de productos orgánicos para la industria.

12. PRESUPUESTO DEL PROYECTO

Tabla 13: Costo del proyecto de investigación

| Materiales de colecta | Cantidad | Precio | Total |
|------------------------------|-----------------|---------------|-----------------|
| Frasco recolector de insecto | 41 | \$ 0,50 | \$ 20,50 |
| Tijeras | 1 | \$ 0,50 | \$ 0,50 |
| Pinzas | 1 | \$ 0,50 | \$ 0,50 |
| Agua embotellada | 1 | \$ 0,50 | \$ 0,50 |
| Rociador de agua | 1 | \$ 0,50 | \$ 0,50 |
| Cooler | 1 | \$ 30,00 | \$ 30,00 |
| Etiqueta | 41 | \$ 0,10 | \$ 4,10 |
| Marcador | 1 | \$ 1,00 | \$ 1,00 |
| | | Total | \$ 57,60 |

| Materiales | Cantidad | Precio | Total |
|-------------------------------|-----------------|---------------|--------------|
| Cajas Petri plástico pequeños | 120 | \$ 0,40 | \$ 48,00 |
| Medio de cultivo (PDA). | 3 | \$ 90,00 | \$ 270,00 |
| Mechero de alcohol. | 1 | \$ 5,00 | \$ 5,00 |
| Papel absorbente. | un rollo | \$ 2,75 | \$ 2,75 |
| Guantes quirúrgicos. | una caja | \$ 3,00 | \$ 3,00 |
| Para film. | una caja | \$ 70,00 | \$ 70,00 |
| Alcohol 70% | 1 | \$ 10,00 | \$ 10,00 |
| Alcohol 96% | 1 | \$ 10,00 | \$ 10,00 |
| Agua destilada | 2 galones | \$ 5,00 | \$ 10,00 |
| Papel aluminio | un rollo | \$ 2,75 | \$ 2,75 |
| Cajas Petri cristal grande | 30 | \$ 2,50 | \$ 75,00 |
| Refrigerador | 1 | \$ 300,00 | \$ 300,00 |
| Estuche de decisión | 2 | \$ 16,00 | \$ 32,00 |

| | | | |
|----------------|----------|--------------|------------------|
| Plástico film. | un rollo | \$ 5,00 | \$ 5,00 |
| | | Total | \$ 843,50 |

| PRESUPUESTO COMIDA Y TRASPORTE PALO QUEMADO | | | | | |
|--|------|------|----------|--------------|-----------|
| Actividades | Días | Ida | Vuelta | Cantidad. P | Total |
| Recolección | 1 | 5 | 5 | 2 | 20 |
| | Días | Café | Almuerzo | Cantidad. P | |
| Comida | 1 | 5 | 5 | 2 | 20 |
| | | | | Total | 40 |

| PRESUPUESTO COMIDA Y TRASPORTE EL CORAZON | | | | | |
|--|------|------|----------|--------------|-----------|
| Actividades | Días | Ida | Vuelta | Cantidad. P | Total |
| Recolección | 1 | 5 | 5 | 2 | 20 |
| | Días | Café | Almuerzo | Cantidad. P | |
| Comida | 1 | 5 | 5 | 2 | 20 |
| | | | | Total | 40 |

| PRESUPUESTO COMIDA Y TRASPORTE PACTO | | | | | |
|---|------|------|----------|--------------|-----------|
| Actividades | Días | Ida | Vuelta | Cantidad. P | Total |
| Recolección | 1 | 5 | 5 | 2 | 20 |
| | Días | Café | Almuerzo | Cantidad. P | |
| Comida | 1 | 5 | 5 | 2 | 20 |
| | | | | Total | 40 |

| ANALESIS DE LOS HONGOS | | | |
|-------------------------------|--------|--------------|------------------|
| SITIOS | UNIDAD | PRECIO | TOTAL |
| PALO QUEMADO | 1 | \$ 36,00 | \$ 36,00 |
| EL CORAZON | 1 | \$ 36,00 | \$ 36,00 |
| PACTO | 1 | \$ 36,00 | \$ 36,00 |
| | | Total | \$ 108,00 |

| | |
|---------------------------------------|--------------------|
| Presupuesto total de la investigación | \$ 1.129,10 |
|---------------------------------------|--------------------|

13. CONCLUSIONES

- Se obtuvo un total de 41 muestras de insectos infectados con hongos entomopatógenos y material vegetal, 17 muestras pertenecen a Palo Quemado, 12 muestras del sector de El Corazón y un total de 12 muestras de la localidad de Pacto.
- Se obtuvieron un total de 29 aislamientos de hongos entomopatógenos, de las tres zonas donde se realizaron los muestreos, 10 aislamientos de “Palo Quemado”, 9 aislamientos del “El Corazón” y 10 aislamientos de “Pacto”.
- Se logró identificar morfológicamente al hongo (*Metarhizium* spp), basándose en sus características tales como: colonias con borde regular, de aspecto polvoriento, de color verde grisáceo, hifas septadas, ramificadas, hialinas; conidias elipsoidales a cilíndricas, también fueron identificados 4 cajas con el hongo (*Beauveria bassiana*) una caja fue identificado con el hongo (*Trichoderma*).

14. RECOMENDACIONES

- Realizar nuevas investigaciones acerca del hongo (*Metarhizium* spp), de cómo nos ayudaría en el control de plagas tanto al nivel económico, ambiental.
- Estudiar nuevos hongos entomopatógenos como una alternativa para el control biológico.
- Dar charlas de los resultados obtenidos de cómo se realiza la colecta y aislamiento de los hongos entomopatógenos.

15. BIBLIOGRAFIA

- Aguilar-Rivera, N., Galindo-Mendoza, G., Fortanelli-Martínez, J., & Contreras-Servin, C. (2010). Índice normalizado de vegetación en caña de azúcar en la Huasteca Potosina. *Avances En Investigación Agropecuaria*, 14(2), 49–65.
- Aguilera-cogley, V. A., Jaén-torrijos, M., Ávila-rodríguez, L. Y., Herrera-vásquez, J. Á., Jaén-sanjur, J. N., & Barba-alvarado, A. A. (2020). (*Hypocreales : Clavicipitaceae*) como agente de control biológico de *Rhipicephalus microplus* (*Acari : Ixodidae*) en Panamá *Identification and virulence of Metarhizium anisopliae*. 59–66.
- Alcantara-vargas, E. (2020). *Revista Mexicana de Biodiversidad Producción y calidad de conidios de cepas de*. 91.
- B, J. A. O., P, A. E. B., Castro, U., Nora, V., & Mesa, C. (2013). (*Hemiptera : Cercopidae*). 39(1), 26–33.
- Balaram Naik, P Karunakar,1 M Jayadev, 1 and V Rahul Marshal2. (2013). PLAGAS POTENCIALES: UNA AMENAZA PARA EL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR EN ECUADOR. *J Conserv Dent*. 2013, 16(4), 2013. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23956527/>
- Barroso-tagua, R. J. (2017). *Libro de Memorias : Simposio internacional sobre Manejo sostenible de tierras y seguridad alimentaria – Ecuador 2017 Reinaldo Alemán Pérez , Héctor Reyes Morán y Carlos Bravo Medina (Eds .)* (Issue November 2018).
- Básica, E. E. (2012). *Universidad técnica de babahoyo*.
- Berlanga, A., Ayala, M., Montesinos, R., & Rodríguez, J. (2016). *Manual de exploración para la colecta de Hongos Entomopatógenos*. 45.
- Bustillo, A., & Castro, U. (2011). El salivazo de la caña de azúcar (*Aeneolamia varia*) (*Hemiptera:Cercopidae*). *Serie Divulgativa Cenicaña*, 11, 16.
- Castro-Armijos, C. J., Prado-Carpio, E., Paladines-Romero, J. R., & Cervantes-Álava, A. (2017). Factores Que Afectan Al Cultivo De Caña De Azúcar Para Producción De Bioetanol En Ecuador. *European Scientific Journal*, *ESJ*, 13(24), 58. <https://doi.org/10.19044/esj.2017.v13n24p58>
- Castro, J. (2019). *Caracterización Molecular del hongo Metarhizium spp*. 1–76. <https://dspace.pucesi.edu.ec/handle/11010/297>

“ *c hape del cerezo* ” *Caliroa cerasi* L . (*Hymenoptera : Tenthredinidae*).

ERCROS. (2014). Informe anual 2014. *Ercros*, 67. file:///C:/Users/Usuario/Desktop/WB Annual Report 2014_SP (1).pdf

Fern, Y. (2016). *Régimen de riego de explotación con la técnica por enrolladores , en el cultivo de la caña de azúcar (Saccharum officinarum L .)*.

Gaitán, A. G. P. M. N. G. Á. (2018). *Diversidad genética de* (Vol. 69, Issue 1). <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/1092/1/arc069%2801%2955-67.pdf>

García-Gutiérrez, C., García-Guajardo, M. I., Vejar-Cota, G., Meza-García, L., & Chávez-Medina, J. A. (2020). Macromorphology and radial growth of entomopathogenic fungi strains suplement with lepidoteran powder. *Revista Colombiana de Entomología*, 46(1), 1–6. <https://doi.org/10.25100/SOCOLEN.V46I1.10164>

Gómez-Pereira, P., & Mendoza-Mora, J. (2014). GUIA PARA LA PRODUCCIÓN DE *Metarhizium anisopliae*. *Centro de Investigacion de La Caña de Azucar Del Ecuador*, 5(1), 13. <http://cincae.org/wp-content/uploads/2013/05/Producción-Metarhizium-anisopliae-Publicación-Técnica-Nº5.pdf>

Gómez, H., Zapata, A., Torres, E., & Tenorio, M. (2014). Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos. *Servicio Nacional de Sanidad Agrícola (SENASA)*, 37. <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2017/09/Manual-de-Producción-y-Uso-de-Hongos-Entomopatógenos.pdf>

Gonzales, M., Noé Aguilar, C., & Rodríguez Herrera, R. (2012). Control de insectos plaga en la agricultura utilizando hongos entomopatógenos: retos y perspectivas. *Revista Científica de La Universidad Autónoma de Coahuila*, 4(8). <http://www.postgrad.postgradoeinvestigacion.uadec.mx/divulgacionAQM.html%0Ahttps://bit.ly/3CZrDjO>

Granda, D. (2018). Producción y uso de hongos entomopatógenos. *Fundación Para El Desarrollo Tecnológico Agropecuario y Forestal de Nicaragua*, 1–63. <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A0949e/A0949e.pdf>

Gutierrez, H., Janeth, L., Guerrero, P., & Enrique, I. (n.d.). *Sorghum vulgare*. 1, 489–492.

Hernández-Cázares, A. (2019). La agroindustria de la caña de azúcar en México. *Agro-Productividad*, 53(9), 35–41.

- I, Y. G. C., Márquez, M. E., Ii, G., I, Y. B. R., I, Á. P. G., I, Y. U. M., & I, Y. Q. M. (2016). *Caracterización de aislados cubanos del complejo de especies Metarhizium anisopliae con actividad patogénica frente a Cylas formicarius Fabricius (Coleoptera : Brentidae)*. 31(1), 50–56.
- Islas, L.-E. D. J. F.-R. A. G. M. N.-A. (2015). *EFFECTO DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO Metarhizium anisopliae EN LA DINÁMICA POBLACIONAL DE MOSCA PINTA Aeneolamia postica (Walker) Sorokin EN TRES VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR EN EL INGENIO PUJILTIC, CHIAPAS. López-Espinosa. 300(1)*.
- Johanna, L., Arias, C., Pardey, A. B., Investigación, A. De, Plagas, P. De, Plagas, P. De, & Correo, C. (2020). *Caracterización morfológica de cepas de hongos entomopatógenos de Beauveria bassiana , Cordyceps spp ., Metarhizium spp . y Purpureocillium lilacinum. May 2021*.
- Manuel, V. H., Zito, C. E., Francisco, J., G, L. L., & Guadalupe, P. C. (2011). *AISLAMIENTO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN SUELO Y SOBRE GALLINAS CIEGAS (COLEOPTERA : MELOLONTHIDAE) EN AGROECOSISTEMAS DE MAÍZ. 591–599*.
- Marasca, I., Barbosa, R., Silva, D., Márcia, M., & Sartori, P. (2015). *Morfología de la caña de azúcar en la preparación profunda del suelo en canteros Morphology of sugar cane in preparation and deep bed soil. 14, 23–30*.
- Mejía, S. (2016). *Optimización del medio de cultivo para Metarhizium anisopliae. 1–43*.
[https://tesis.ipn.mx/jspui/bitstream/123456789/17924/1/INFORME TECNICO-SANDRAMR.pdf](https://tesis.ipn.mx/jspui/bitstream/123456789/17924/1/INFORME%20TECNICO-SANDRAMR.pdf)
- Monzón, R. V. R. (2016). *Formulaciones de Beauveria bassiana (Bals y Vuils) para el manejo de plagas en el cultivo del repollo (Brassica oleracea L. var capitata) en el Tisey, Estelí. 71*.
- Mora, J. M. (2000). *EL SALIVAZO : Una plaga potencial de la caña de azúcar en el Ecuador*.
- Mundial, B. (2013). *Informe anual 2013 Pobreza. 1–63*.
- ADRIANA GARCÍA TAPIA_01.(2013). *Método para aumentar la producción masiva de conidias del entomopatógeno Metarhizium anisopliae.pdf*
- Navarro-barranco, H., Brunner-mendoza, C., Reyes-montes, M. R., Duarte-escalante, E., & Toriello, C. (2019). *Revista Mexicana de Biodiversidad Phenotypic and molecular*

analysis of Mexican Metarhizium anisopliae strains. 90.

- Pacheco, M. de L., Reséndiz, J. F., & Arriola, V. J. (2019). Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México: una revisión Entomopathogenic organisms for pest control in the mexican agriculture , livestock and forest sectors: a review Introducción El uso indiscrim. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 10(56), 1–32. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.496>
- Pereira, J. M. M. D. G. A. P. G. (2013). *GUÍA PARA EL RECONOCIMIENTO Y MANEJO DE INSECTOS PLAGAS Y ROEDORES DE LA CAÑA DE AZÚCAR EN ECUADOR.* 2.
- Piña, I. H. (2017). *Caracterización de aislados del hongo Metarhizium provenientes del norte del estado de guanajuato con potencial de promover el crecimiento vegetal.* 91.
- Rafael, J., Mora, M., Agr, I., & Sc, M. (2016). *Título del Proyecto de Investigación: “Determinación de la incidencia de las principales plagas de la caña de azúcar Autora: Mayra Carolina Ulloa Briones Director del Proyecto de Investigación :*
- Raymundo-Jiménez, R., García-Ibarra, E., López-Arroyo, J. I., Ramírez-Cabral, N. Y. Z., & Rodríguez-Guerra, R. (2019). Producción y germinación de conidios del hongo entomopatógeno *Hirsutella citriformis* (Ascomycota: Ophiocordycipitaceae). *Scientia Fungorum*, 49(June), e1221. <https://doi.org/10.33885/sf.2019.49.1221>
- Romero, E. R., Cárdenas, G. J., Ruiz, M., Casen, S., Gusils, C., Tonatto, J., Medina, M., & Caro, R. (2012). *Integración del sorgo azucarado a la cadena de aprovechamiento bioenergético de la caña de azúcar en Tucumán , R. Argentina.* 33(2008), 13–17.
- Saputri, I. A. (2016). *Actividad Biológica de Dos Cepas de Metarhizium Anisopliae (Deuteromycota: Hyphomycetes) Sobre Rhynchophorus Palmarum L. (Coleoptera: Curculionidae) En Condiciones Del Laboratorio,* 152(3), 28. file:///Users/andreataquez/Downloads/guia-plan-de-mejora-institucional.pdf%0Ahttp://salud.tabasco.gob.mx/content/revista%0Ahttp://www.revistaalad.com/pdfs/Guias_ALAD_11_Nov_2013.pdf%0Ahttp://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v66n3.60060.%0Ahttp://www.cenetec.
- Sarabia, J., & Roo, Q. (2014). *“PRODUCCIÓN Y APLICACIÓN DEL HONGO Beauveria bassiana EN EL LABORATORIO DE CONTROL BIOLÓGICO DEL ITZM”.* 1–31.
- Sepulveda, M. (2012). *Tecnología limpia para el control de plagas agrícolas.* 3.

- Torres de la C., M., Cortez M., H., Ortiz G., C. F., Cappello G., S., & de la Cruz P., A. (2013). Caracterización de aislamientos nativos de *Metarhizium anisopliae* y su patogenicidad hacia *Aeneolamia postica*, en Tabasco, México. *Revista Colombiana de Entomología*, 39(1), 40–46.
- Un, P. D. E., Para, M., Infectar, A. E., & *Metarhizium*, C. O. N. (2018). *Instituto politécnico nacional*.
- Valencia, C., Pérez, S. M., Aldana de la Torre, R. C., Mesa, E., & Gomes de Olivera, H. (2011). Patogenicidad de hongos entomopatógenos del género *Metarhizium* sobre larvas de *Stategus aloeus* L. (Coleoptera: Scarabaeidae) , en condiciones de laboratorio. *Revista Palmas*, 32(4), 30–40.
<http://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/10780>
- Valle-Ramírez, S. B., Torres-Gutiérrez, R., Caicedo-Quinche, W. O., Abril-Saltos, R. V., & Sucoshañay-Villalba, D. J. (2021). Isolation and characterization of *Metarhizium* spp. of sugar cane crops and their pathogenicity against *Mahanarva andigena* (Hemiptera: Cercopidae) Valle-Ramírez, S. B., Torres-Gutiérrez, R., Caicedo-Quinche, W. O., Abril-Saltos, R. V., & Sucoshañay-Villalba. *Ciencia Tecnología Agropecuaria*, 23(1).
https://doi.org/10.21930/rcta.vol23_num1_art:2361
- Valle Ramírez, S., Iparraguirre Cruz, M., Puertas Arias, A., Rodríguez Rodríguez, S., Fiallos Robalino, A., Hidalgo Díaz, L., & Cabrera, I. M. (2015). Evaluación de dos métodos de monitoreo de *Mahanarva andigena* Jacobi en el cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum* spp., híbrido) en la provincia de Pastaza, Ecuador. *Protección Vegetal*, 30(3), 185–192.
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=113136298&lang=es&site=ehost-live>
- Valverde-Sánchez, A. L., Mata-Granados, X., Lezama-Gutiérrez, R., & Camacho-Calvo, M. (2015). *Metarhizium anisopliae* como mico-acaricida para el control de la garrapata *Rhipicephalus microplus*. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 2(6), 18.
<http://www.reibci.org/publicados/2015/nov/1200109.pdf>

16. ANEXOS

Anexo.-1 Aval del Traductor

Anexo.- 2 Análisis micológica de Metarhizium spp, de tres muestras del subtropico provincia de Cotopaxi (Palo Quemado, El corazón) y Provincia de Pichincha (Pacto).



Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA CATALINA
DEPARTAMENTO NACIONAL DE PROTECCIÓN VEGETAL

| CATEGORIA | N° |
|-----------|-------------|
| M | 001-002-003 |

| DATOS DE INGRESO DE LA MUESTRA | | | | |
|---|--|------------------------------|-------------------|-------|
| N° Muestras | Tipo de análisis | Fecha de ingreso de muestra | N° Proforma | |
| 3 | (M) Micológico-sustrato en placa Petri | 12/01/2023 | PV-552 | |
| | (B) Bacteriológico | | | |
| | (V) Virológico | Fecha pago de Factura | N° Factura | |
| | (NS) Nematológico (suelos) | 19/01/2023 | 11909 | |
| | (NR) Nematológico (raíces) | Recibido por: Cristina Tello | | |
| | (C) Calidad de P. Biológicos | | | |
| DATOS DEL REMITENTE | | | | |
| Nombre de remitentes | Alison Valeria Freire Guamán | | | |
| | Franklin Estalyn Negrete Silló | | | |
| RUC/CI | 1729308518 0504632142 | | | |
| Dirección | Latacunga - Cotopaxi | | | |
| Teléfonos | 0990136242 0992521591 | | | |
| E-mail | alison.freire8518@utc.edu.ec franklin.negrete2142@utc.edu.ec maco.rivera@utc.edu.ec | | | |
| CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO | | | | |
| Cultivo: | Variedad: | Edad: | | |
| Estado de desarrollo | | | | |
| Sistema del cultivo | Monocultivo: | Asociado: | | |
| Rotación | | | | |
| Localización | | | Cultivo anterior: | |
| DESCRIPCIÓN DE LA ENFERMEDAD | | | | |
| Partes de la planta afectadas | | | | |
| Intensidad del ataque | | | | |
| Distribución de la enfermedad | | | | |
| Posible causa de la enfermedad | | | | |
| Síntomas: | | | | |
| PRODUCTOS COMERCIALES APLICADOS EN LOS 15 ÚLTIMOS DÍAS | | | | |
| Plaguicidas | Herbicidas | Fertilizantes | Biofertilizantes | Otros |
| | | | | |
| Observaciones: Análisis de tres muestras de sustrato en placa Petri para identificación de hongos. M1 = Puerto Quito M2 = El Corazón M3 = Palo Quemado | | | | |



Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

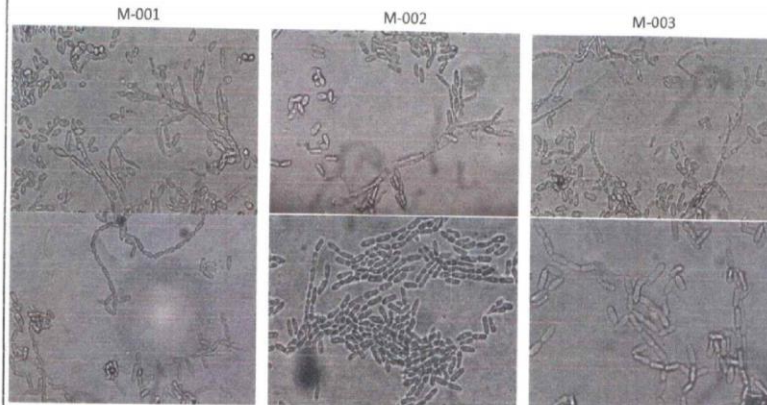
RESULTADOS M-001-002-003

| Muestras analizadas | Metodología y/o medio de cultivo | Tipo análisis | Resultados del análisis | |
|--|----------------------------------|---------------|---|---------------------|
| | | | Microorganismo identificado | Otro microorganismo |
| M-001 (Puerto Quito) M-002 (El Corazón) M-003 (Palo Quemado) | PDA+T+A * | Micológico | <i>Metarhizium</i> spp. <i>Metarhizium</i> spp. <i>Metarhizium</i> spp. | Ninguno |

* Medio de cultivo utilizado para hongos: PDA+T+A = Papa dextrosa agar + Tritón + Ácido Láctico

Observaciones:

Las muestras analizadas, M-001, M-002 y M-003, se identificaron como *Metarhizium* spp.; las colonias en medio de cultivo PDA son circulares, con borde regular, aspecto aterciopelado polvoriento, de color verde grisáceo. Las estructuras microscópicas (Fotografías 1) presentan hifas septadas, ramificadas, hialinas; fiáldes individuales o en pares, alaradas, cilíndricas; conidios aseptados, elipsoidales a cilíndricos, individuales y formando cadenas largas.



Fotografía 1. Estructuras *Metarhizium* spp., M-001 (Puerto Quito), M-002 (El Corazón), M-003 (Palo Quemado), microscopía 40X.



DRA. MARIA LUISA INSUASTI A.
RESP. DPTO. PROTECCION VEGETAL



ING. CRISTINA TELLO
TÉCNICO INVESTIGADOR

Anexo.-3 Recolección de campo de las muestras de hongos entomopatógenos (Palo Quemado, El Corazón y Pacto)



Figura.-1 Presencia del hongo en el axilar zona bajo de la caña de azúcar (Palo Quemado).



Figura.-2 Presencia del hongo en el envés de la hoja de caña de la zona bajo (Palo Quemado).



Figura.-3 Presencia del hongo en el axilar zona bajo de la caña de azúcar (El Corazón).



Figura.-4 Presencia del hongo en el envés de la hoja de caña de la zona bajo (El Corazón).

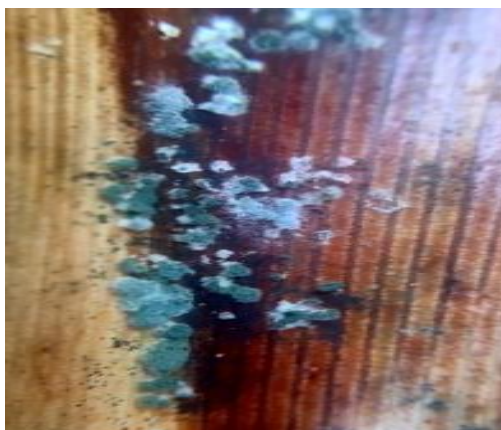


Figura.-5 Presencia del hongo en el axilar zona alta de la caña de azúcar (Pacto).

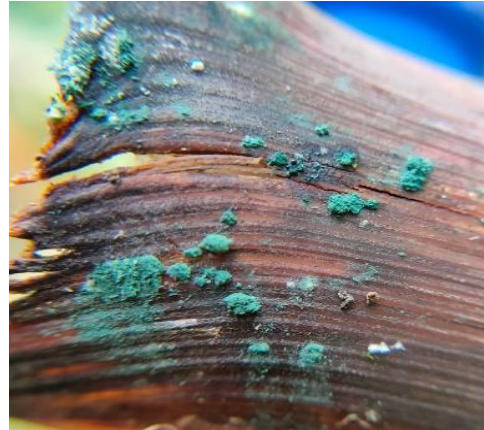


Figura.-6 Presencia del hongo en el envés de la hoja de caña de la zona bajo (Pacto).

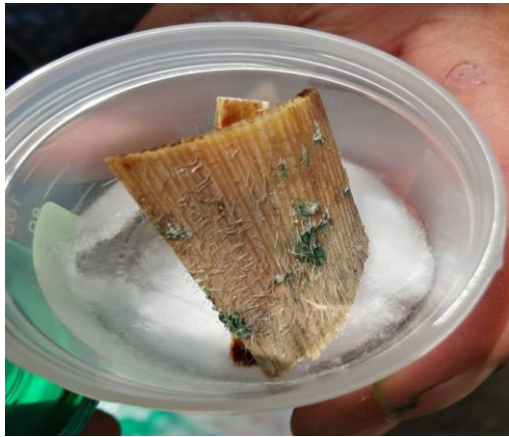


Figura.-7 Colocar la muestra del hongo en frasco.



Figura.-8 Buscando el insecto infectado del hongo entomopatogeno. (Palo Quemado).



Figura.-9 Buscando el insecto infectado del hongo entomopatogeno (El Corazon).



Figura.-10 Buscando el insecto infectado del hongo entomopatogeno (Pacto).



Figura.-10 Presencia del hongo entomopatogeno insecto salivazo adulto (*Mahanarva andigena*) de la zona alta (Palo Quemado).



Figura.-10 Presencia del hongo entomopatogeno insecto salivazo adulto (*Mahanarva andigena*) de la zona alta (Palo Quemado).



Figura.-11 Presencia del hongo entomopatogeno insecto salivazo adulto (*Mahanarva andigena*) de la zona alta (El Corazón).



Figura.-12 Presencia del hongo entomopatogeno insecto salivazo adulto (*Mahanarva andigena*) de la zona alta (El Corazón).



Figura.-13 Presencia del hongo entomopatogeno insecto salivazo adulto (*Mahanarva andigena*) de la zona alta (Pacto).



Figura.-14 Presencia del hongo entomopatogeno insecto salivazo adulto (*Mahanarva andigena*) de la zona alta (Pacto).

Anexo.-4 Toma de fotos en el laboratorio con estereoscopio (Palo Quemado, El Corazón y Pacto)

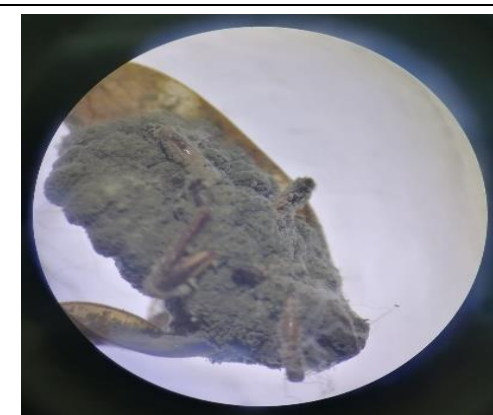


Figura.-1 Presencia del hongo entomopatogeno en el insecto salivazo (*Mahanarva andigena*) Palo Quemado.

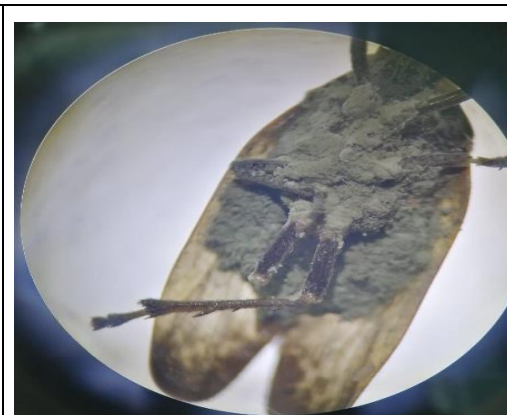


Figura.-2 Presencia del hongo entomopatogeno en el insecto salivazo (*Mahanarva andigena*) Palo Quemado.



Figura.3 Presencia del hongo entomopatogeno en el insecto salivazo (*Mahanarva andigena*) El Corazón.



Figura.-4 Presencia del hongo entomopatogeno en el insecto salivazo (*Mahanarva andigena*) El Corazón.



Figura.-5 Presencia del hongo entomopatogeno en el insecto salivazo (*Mahanarva andigena*) Pacto.

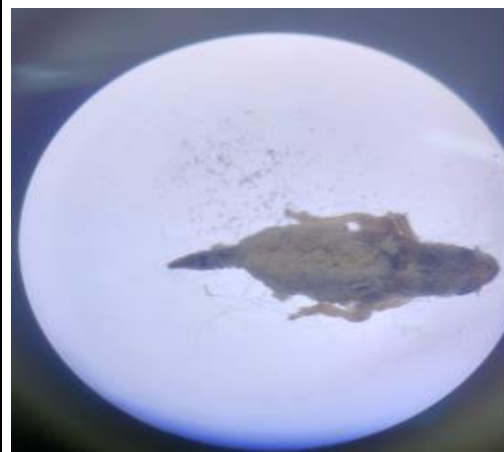


Figura.-6 Presencia del hongo entomopatogeno en el insecto salivazo (*Mahanarva andigena*) Pacto.



Figura.-7 Muestras de los hongos.



Figura.-8 Ver los hongos en el estereoscopio.

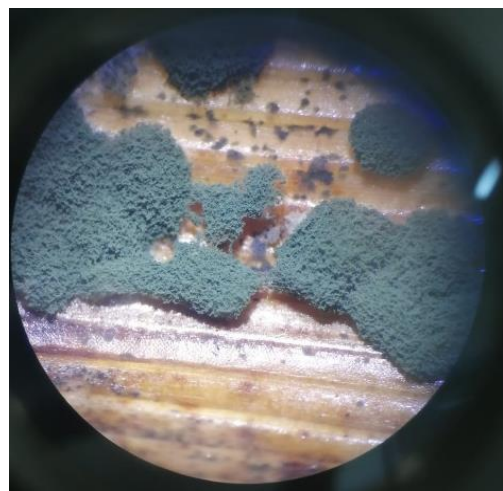


Figura.-9 Muestras de los hongos en material vegetal (Palo Quemado).

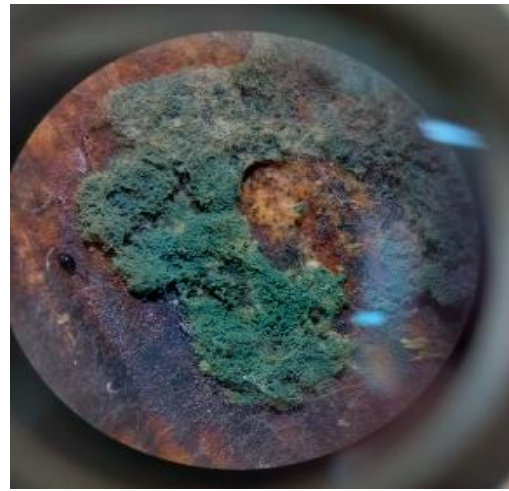


Figura.-10 Presencia del hongo en material vegetal (El Corazón).

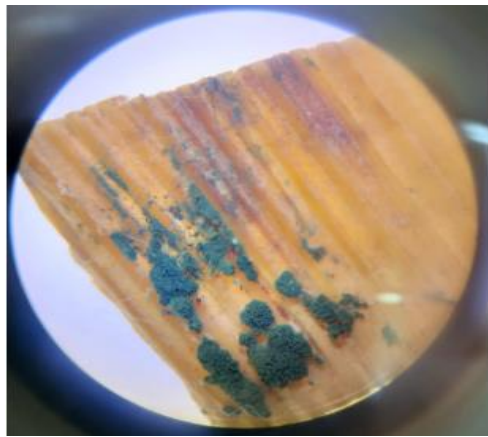


Figura.-11 Presencia del hongo en material vegetal (Pacto).



Figura.-12 Presencia del hongo en material vegetal (El Corazón).

Anexo.-5 Toma de fotos de proceso de aislamiento (Palo Quemado, El Corazón y Pacto)



Figura.-1 Agua destilada.



Figura.-2 Medio de cultivo a utilizar (PDA) para 20 cajas Petri pequeñas.



Figura.-3 Colocar medio de cultivo y materiales en el autoclave.



Figura.-4 Desinfección de la cámara laminar.



Figura.-5 Preparar los materiales.



Figura.-6 Poner el medio de cultivo (PDA) en cajas Petri



Figura.-7 Raspado de las muestras.



Figura.-8 Proceso de siembra en medio de cultivo (PDA).



Figura.-9 Sellar con el papel film.

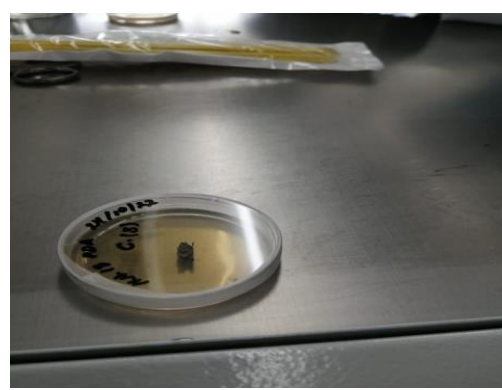


Figura.-10 Rotulación en la caja Petri.

Anexo.-6 Toma de fotos de proceso de identificación macroscópica (Palo Quemado, El Corazón y Pacto)

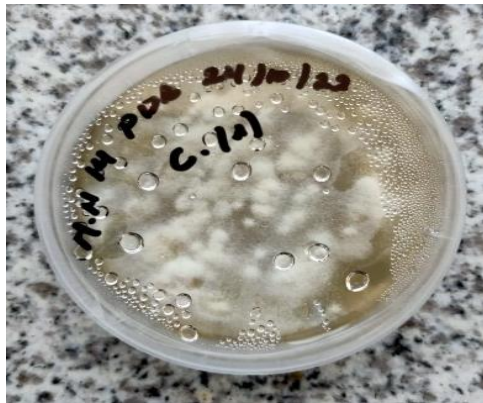


Figura.-1 Macro. Identificación a dos días de crecimiento del hongo (*Metarhizium spp*) Palo Quemado.



Figura.-2 Macro. Identificación a tres días de crecimiento del hongo (*Metarhizium spp*) Palo Quemado.



Figura.-3 Macro. Identificación a cuatro días de crecimiento del hongo (*Metarhizium spp*) Palo Quemado.



Figura.4 Macro. Identificación a siete días de crecimiento del hongo (*Metarhizium spp*) Palo Quemado.



Figura.-5 Macro. Identificación a dos días de crecimiento del hongo (*Metarhizium spp*) El Corazón.



Figura.-6 Macro. Identificación a tres días de crecimiento del hongo (*Metarhizium spp*) El Corazón.

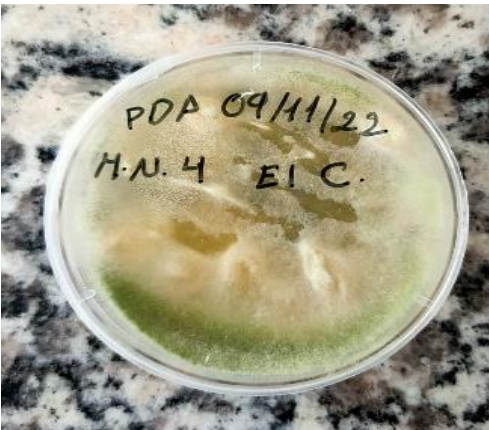


Figura.-7 Macro. Identificación a cuatro días de crecimiento del hongo (*Metarhizium spp*) Palo Quemado.



Figura.-8 Macro. Identificación a siete días de crecimiento del hongo (*Metarhizium spp*) Palo Quemado.

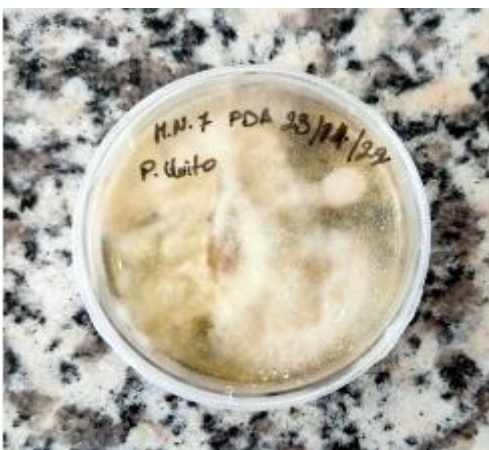
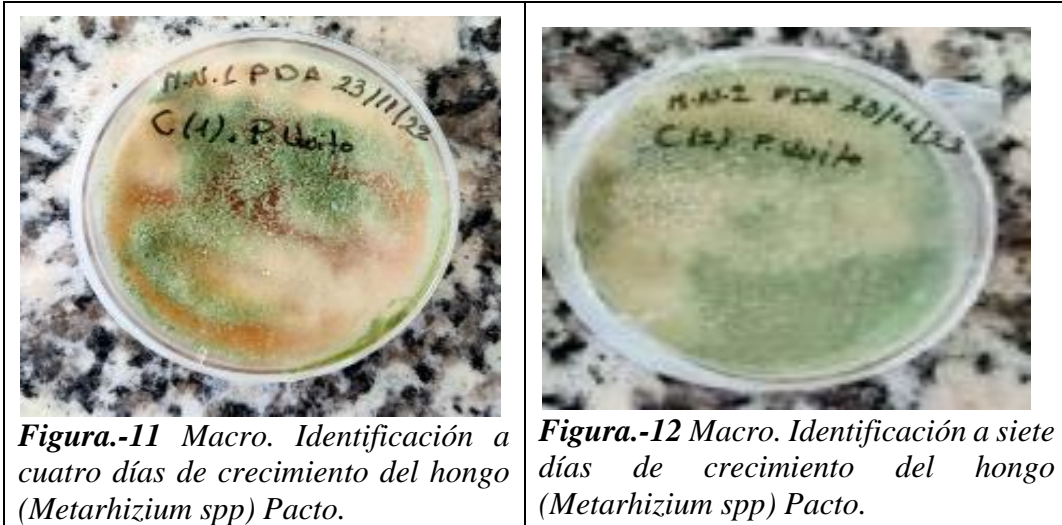


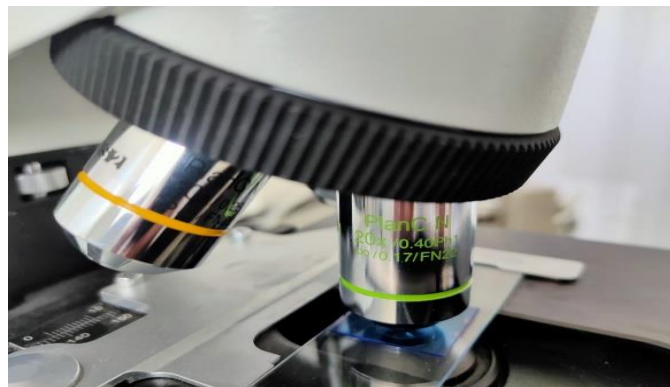
Figura.-9 Macro. Identificación a dos días de crecimiento del hongo (*Metarhizium spp*) Pacto.



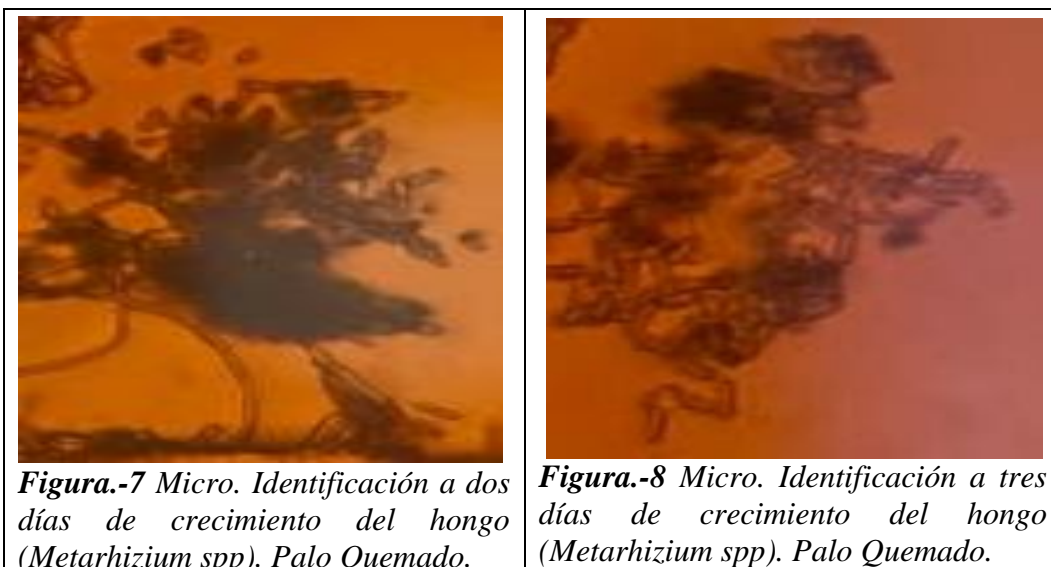
Figura.-10 Macro. Identificación a tres días de crecimiento del hongo (*Metarhizium spp*) Pacto.

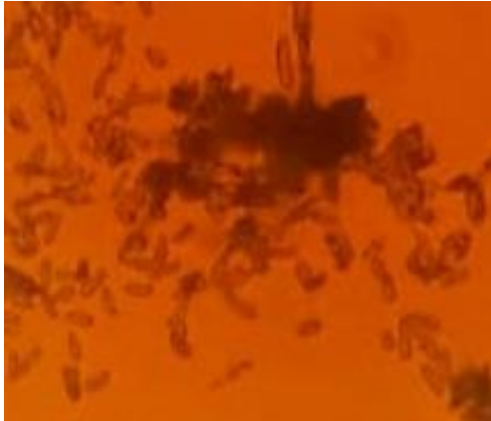



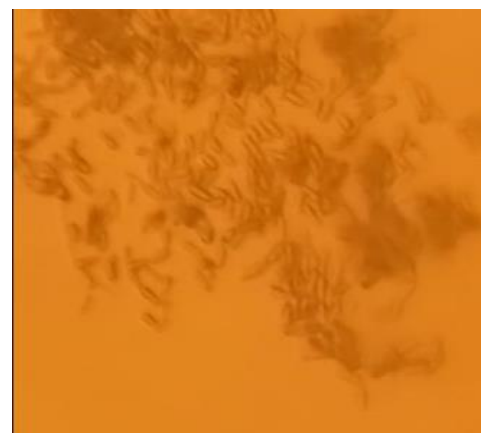



Anexo.-7 Lente usado para identificar es 20x/0.40Ph1



Anexo.-8 Toma de fotos de proceso de identificación microscópica (Palo Quemado, El Corazón y Pacto)



| | |
|--|--|
|  |  |
| <p>Figura.-9 Micro. Identificación a cuatro días de crecimiento del hongo (<i>Metarhizium spp</i>). Palo Quemado.</p> | <p>Figura.-10 Micro. Identificación a siete días de crecimiento del hongo (<i>Metarhizium spp</i>). Palo Quemado.</p> |
|  |  |
| <p>Figura.-11 Micro. Identificación a dos días de crecimiento del hongo (<i>Metarhizium spp</i>) El Corazón.</p> | <p>Figura.-12 Micro. Identificación a tres días de crecimiento del hongo (<i>Metarhizium spp</i>) El Corazón.</p> |
|  |  |
| <p>Figura.-13 Micro. Identificación a cuatro días de crecimiento del hongo (<i>Metarhizium spp</i>) El Corazón.</p> | <p>Figura.-14 Micro. Identificación a dos siete de crecimiento del hongo (<i>Metarhizium spp</i>) El Corazón.</p> |

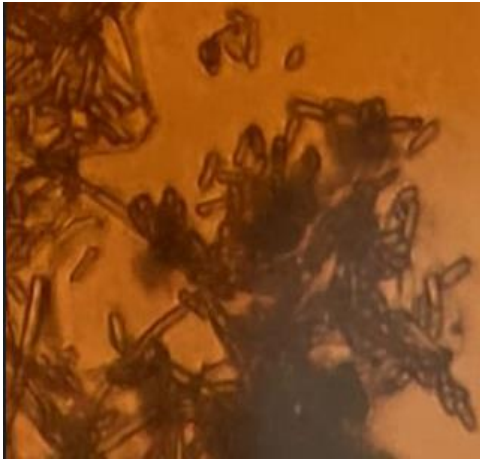


Figura.-15 Micro. Identificación a dos días de crecimiento del hongo (*Metarhizium spp*) Pacto.



Figura.-16 Micro. Identificación a tres días de crecimiento del hongo (*Metarhizium spp*) Pacto.

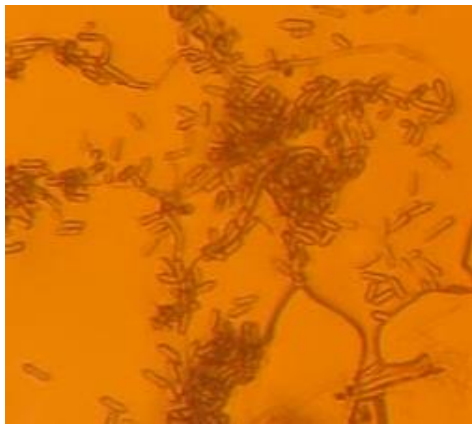


Figura.-17 Micro. Identificación a cuatro días de crecimiento del hongo (*Metarhizium spp*) Pacto.



Figura.-18 Micro. Identificación a siete días de crecimiento del hongo (*Metarhizium spp*) Pacto.