

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
INGENIERÍA AGROPECUARIA



PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DESARROLLO PARA
LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERÍA
AGROPECUARIA

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE AISLAMIENTOS
NATIVOS DE *Metarhizium* spp. EN EL CONTROL DE NINFAS
DE *Mahanarva andigena* DE LA CAÑA DE AZÚCAR

AUTOR:

Ibelia Johana Macas Cariajano

DIRECTOR:

Dr. C. Segundo Benedicto Valle Ramírez, Ph.D.

PUYO- PASTAZA - ECUADOR

2018

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, Ibelia Johana Macas Cariajano, bajo juramento declaro que el trabajo aquí descrito es de mi total autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en el presente documento.

A través de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la Universidad Estatal Amazónica de la provincia de Pastaza, según lo establecido en la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y normatividad Institucional vigente.

Ibelia Johana Macas Cariajano

C.I. 1600783920

Autor

CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN.

El proyecto de investigación y desarrollo, titulado: “Evaluación de la eficacia de aislamientos nativos de *Metarhizium* spp. en el control de ninfas de *Mahanarva andigena* de la caña de azúcar”, fue aprobado por los siguientes miembros del tribunal.

Ms.C. Sandra Soria Re

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dra. C. Karina Karrera Sánchez, Ph.D.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

MSc. Bélgica Dolores Yaguache Camacho

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

Agradezco profundamente a Dios, por guiarme en el sendero correcto de la vida, cada día en el transcurso de mi camino.

A mi esposo Juan Valle, a mi hija quien en el transcurso de mis estudios llego a ser la razón más de lucha.

A mis padres Carlos Macas Díaz y Rosalina Cariajano Grefa, por ser mi ejemplo a seguir y por inculcarme valores que me han fortalecido en cada meta que me he planteado.

A mis suegros Segundo Valle y Angélica Ramirez quienes son como mis segundos padres.

A mis hermanos Monica, Hugo, Guido, Manuel, Milton, Wilmer, Rosa y Angel Macas por apoyarme y estar en cada momento de mi vida hoy mañana y siempre.

A mis cuñadas/os y a todas las personas que me incentivaron y motivaron para seguir adelante con los objetivos de este propósito.

A mi director de proyecto de investigación Dr.C. Segundo Benedicto Valle Ramirez, Ph.D. por su paciencia y apoyo sobre todo por guiarme en cada paso de este proyecto.

Agradezco a los miembros del tribunal: Ms.C. Sandra Soria Re, Dra. C. Karina Karrera Sánchez, Ph.D. y MSc. Bélgica Dolores Yaguache Camacho, quienes aportaron con sus conocimientos y experiencia profesional en la implementación de este proyecto.

A los docentes de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria que contribuyeron a mi formación académica durante mis años de estudio.

A mis amigos y compañeros de estudio quienes estuvieron brindándome su total y sincero apoyo para poder culminar este proyecto

A la Universidad Estatal Amazónica por la educación recibida y conocimientos adquiridos a lo largo de mi carrera.

Ibelia Johana Macas Cariajano

DEDICATORIA

Dedico este proyecto de investigación a Dios por haberme dado vida, salud y estar conmigo en cada paso que doy, por la sabiduría y fuerza necesaria para continuar con este anhelo, y no caer en circunstancias y problemas que se me presenten en mi diario caminar, por demostrarme día a día con humildad y sabiduría que todo se puede.

A mi padre Carlos Macas y a mi madre Rosalina Cariajano quienes me dieron fuerza y valor para culminar con esta etapa de estudios.

A mi querido y amado esposo, Juan Valle, quien me brindó su amor, cariño, comprensión y su confianza depositando en cada reto que se me presentaba.

A mi adorada hija Karolina Valle por ser una razón más de lucha.

A mis queridos suegros quienes con sus consejos ha sabido guiarme para culminar mi carrera profesional.

A mis hermanos/as, cuñados/as y de más familiares por recordarme mi objetivo siempre.

A mis amigas y compañeros de estudios quienes formaron parte de mi carrera profesional.

Ibelia Johana Macas Cariajano

RESUMEN EJECUTIVO

El presente proyecto tuvo como objetivo evaluar la eficacia de aislamientos nativos de *Metarhizium* spp. procedentes de muestras de suelo e insectos micosados en el control de ninfas de *Mahanarva andigena* de la caña de azúcar en condiciones de laboratorio e invernadero. El experimento de laboratorio se ejecutó en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Estatal Amazónica, donde se estableció un diseño completamente aleatorizado, con 12 tratamientos (diez aislamientos nativos de *Metarhizium* spp. codificados como: TI6301, TS6302, TS6304, PS5003, PS5002, SJS5101, SJS5102, SJS5103, SJS5104 y DAS5401, el tratamiento control y el control químico) con cinco réplicas. Cada réplica se conformó de una caja de petri con 10 ninfas, con un total de 50 ninfas por tratamiento. El experimento en condiciones de invernadero se ejecutó en un invernadero ubicado en la finca la Julita, en la parroquia Teniente Hugo Ortiz. Se utilizó el mismo diseño con siete tratamientos: cuatro aislamientos nativos que superaron el 70% de mortalidad corregida (TI6301, TS6304, PS5002, PS5003), un control químico, control biológico comercial y un tratamiento control con agua + Agral 90. En condiciones de laboratorio resultaron eficaces los aislamientos nativos de *Metarhizium* spp. TI6301, TS6304, PS5002 y PS5003 que superaron el 70 % de mortalidad corregida y en cuanto a mortalidad confirmada fueron más eficaces los tratamientos TI6301 y TS6304, que provocaron el 80 y 65% de mortalidad confirmada, respectivamente. Los resultados en invernadero sugieren la validación de la efectividad de los aislamientos nativos de *Metarhizium* spp. TI6301 y TS6304 en condiciones de campo por su alta mortalidad provocada en ninfas de *Mahanarva andigena* a los ocho días de la aplicación.

Palabras claves: eficacia, aislamientos nativos, ninfas.

ABSTRACT

The objective of this project was to evaluate the efficacy of native isolates of *Metarhizium* spp. from soil and insects samples in the control of nymphs of *Mahanarva andigena* of sugarcane under laboratory and greenhouse conditions. The laboratory experiment was carried out in the Microbiology laboratory of the Amazon State University, where a completely randomized design was established, with 12 treatments (ten native isolates classified as: TI6301, TS6302, TS6304, PS5003, PS5002, SJS5101, SJS5102, SJS5103, SJS5104 y DAS5401, control chemical control treatments with five replica. Each one was made up of a petri dish with 10 nymphs, with a total of 50 nymphs per treatment. The experiment under greenhouse conditions was carried out in a greenhouse located on the La Julita farm, in the Teniente Hugo Ortiz, Pastaza Province. The same design was used with five treatments: four native treatments that exceeded 70% corrected mortality (T6301, T6304, PS5002, PS5003), a chemical control, commercial biological control and a control treatment with water + Agral 90. In laboratory conditions, the chemical treatment and *Metarhizium* isolates TI6301, TS6304, PS5002 and PS503, which exceeded 70% of corrected mortality were effective, and in terms of confirmed mortality, the TI6301 and TS6304 treatments were more effective, causing 80% and 65% confirmed mortality. The greenhouse results suggest the validation of the effectiveness of the native isolates of *Metarhizium* spp. TI6301 and TS6304 in field conditions due to their high mortality caused in nymphs of *Mahanarva andigena* eight days after application.

Keywords: efficacy, native isolates, nymphs.

TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN Y JUSTIFICACIÓN.....	2
1.1.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	2
1.1.2. JUSTIFICACIÓN	2
1.2. OBJETIVOS.....	3
1.2.1. OBJETIVO GENERAL.....	3
1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
CAPÍTULO II.....	4
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	4
2.1. Origen de la caña de azúcar (<i>Saccharum officinarum</i> L.)	4
2.2. Taxonomía	4
2.3. Características botánicas y fisiológicas de caña de azúcar	4
2.3.1. Raíz.....	5
2.3.2. Tallo.....	5
2.3.3. Nudo	5
2.3.4. Entrenudo	5
2.3.5. Hojas.....	6
2.3.6. Yagua o vaina	6
2.3.7. Flor	6
2.4. Exigencias del cultivo	6
2.5. Principales plagas del cultivo	7
2.6. Taxonomía del salivazo <i>M. andigena</i>	7
2.7. Distribución de <i>M andigena</i> a nivel mundial y nacional.	7
2.8. Daños e importancia económica	8
2.9. Ciclo de vida y Biología	8
2.10. Medidas de control	8
2.10.1. Control químico	8
2.10.2. Control cultural	9

2.10.3.	Control etológico	9
2.10.4.	Control biológico	9
2.11.	Generalidades de los hongos entomopatógenos.....	9
2.12.	Ecología.....	10
2.12.1.	Taxonomía de <i>M. anisopliae</i>	10
2.12.2.	Modo de acción de <i>M. anisopliae</i>	10
2.12.3.	Síntomas de <i>M. anisopliae</i> sobre <i>M. andigena</i>	11
CAPÍTULO III		12
3.	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	12
3.1.	Localización.....	12
3.2.	Tipo de investigación.....	12
3.3.	Diseño de investigación	12
3.4.	Métodos de Investigación	12
3.4.1.	Experimento en condiciones de laboratorio	12
3.4.1.1.	Obtención de inóculo de los aislamientos de <i>Metarhizium</i> spp.....	12
3.4.1.2.	Colecta de Ninfas.....	13
3.4.1.3.	Montaje y aplicación de tratamientos en laboratorio.....	13
3.4.1.4.	Experimento en condiciones de invernadero	15
CAPÍTULO IV		16
4.	RESULTADOS	16
4.1.	Selección de aislamientos eficaces en el control de ninfas de <i>M. andigena</i> en condiciones de laboratorio.....	16
4.2.	Validación la eficacia de los aislamientos de <i>Metarhizium</i> spp. seleccionados en condiciones de invernadero.	19
CAPITULO V.		23
5.	CONCLUSIONES.....	23
RECOMENDACIONES		23
CAPÍTULO VI.....		29
ANEXOS		29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Efectividad de aislamiento monospóricos de <i>Metarhizium</i> spp.....	16
Figura 2. Mortalidad corregida de los tratamientos a los seis días después de la aplicación sobre ninfas de <i>Mahanarva andigena</i>	17
Figura 3. Mortalidad total de ninfas de <i>M. andigena</i> en condiciones de invernadero.....	19
Figura 4. Mortalidad corregida sobre de <i>M. andigena</i> en condiciones de invernadero.....	20

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad confirmada de ninfas de <i>M. andigena</i> producida por aislamientos nativos de <i>Metarhizium</i> spp. a los 6 días de la aplicación.....	18
Tabla 2. Porcentaje de mortalidad confirmada de ninfas de <i>M. andigena</i> producida por aislamientos nativos de <i>Metarhizium</i> spp. a los 8 días de la aplicación en invernadero.....	22

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Colecta de ninfas de <i>Mahanarva andigena</i> para los respectivos experimentos. ...	29
Anexo 2. Aplicación de ninfas de <i>M. andigena</i> en placas de Petri para el experimento en condiciones laboratorio.....	30
Anexo 3. Inoculación de <i>Metarhizium</i> spp. en <i>M. andigena</i> en condiciones de laboratorio.	31
Anexo 4. Evaluación diaria de mortalidad total, corregida y confirmada bajo condiciones de laboratorio.....	32
Anexo 5. Plantas de caña de azúcar para el experimenta en invernadero.	33
Anexo 6. Plátulas de caña de azúcar para el experimento en condiciones de invernadero.	34
Anexo 7. Colocación de jaulas en las macetas para la inoculación de <i>Metarhizium</i> spp....	35
Anexo 8. Preparación de tratamientos en atomizadores manuales	36
Anexo 9. Aplicación de ninfas en plantas de caña de azúcar.	37
Anexo 10. Aplicación de aislamientos nativos de <i>M. anisopliae</i> y tratamientos químicos, biológico comercial y control.	38
Anexo 11. Evaluación diaria de mortalidad total, corregida y confirmada de <i>M. andigena</i>	39
Anexo 12. Insectos micosados con <i>Metarhizium</i> spp. sobre <i>M. andigena</i>	40
Anexo 13. Esporulación de insectos con <i>Metarhizium</i> spp. sobre <i>M. andigena</i>	41

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar es uno de los rubros más importante en la economía del sector agropecuario en Ecuador, forma parte de los eslabones de las cadenas agroproductiva, generando fuentes de empleos, con una contribución al PIB agrícola nacional del 12% de producción (Herrera, 2015). La provincia de Pastaza es una de las principales productoras de caña de azúcar y derivados como: panela, miel, jugos, alcohol y caña de fruta (Salazar, 2012).

En algunos países las plagas y enfermedades de la caña de azúcar han sido la causa de grandes pérdidas significativas en la producción, rendimiento e incluso de desastres económicos en este sector agroindustrial. A nivel mundial, se reportan alrededor de 1500 especies de insectos perjudiciales y más de 200 enfermedades que atacan a este cultivo, cuya distribución e importancia varían en las diversas regiones geográficas en que se cultiva esta poácea. En el Ecuador se han identificados 33 especies de insectos plagas perjudiciales en la caña de azúcar (Mendoza & Garcés, 2013).

Una de las principales plagas de la caña de azúcar constituye el salivazo (*Mahanarva adigena* Jacobi), el cual posee el tipo de aparato bucal picador-chupador que se alimenta exclusivamente de la savia de la caña que extraen del xilema, provocando alteraciones morfológicas y fisiológicas en las plantas. Las ninfas se alimentan desde la vaina la que se encuentra recubriendo al entrenudo por lo que cuando se presentan infestaciones altas causan estrés hídrico, retrasando el crecimiento de la planta y por lo tanto la producción de biomasa, en cada saliva se encuentra sólo una ninfa, todas tienen en común el hábito de producir una masa espumosa en forma de saliva, lo que le confiere el nombre de “salivazo” (Calle, 2013).

Para tratar esta plaga se han creado productos químicos con los cuales se reduce la población de estas, pero se provoca la contaminación del ambiente y los recursos naturales. Es por ello que hoy en día el control biológico de plagas y enfermedades ha adquirido una gran importancia relevante como una alternativa para el manejo integrado de plagas y enfermedades (Mota, 2018).

Entre los principales microorganismos utilizados en el control biológico de plagas se encuentran los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* (Balsamo-Crivelli) y *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, los cuales controlan una gran variedad de insectos plaga de gran importancia económica (Rodríguez *et al.*, 2014). Es por ello que se han realizado varios estudios que se centran en el aislamiento y evaluación de la eficacia de hongos entomopatógenos que pueden ser efectivos en el control de plagas a nivel local. Por ejemplo, la patogenicidad de los aislamientos de *M. anisopliae*, provenientes de diferentes hospedantes y regiones, los cuales pueden influir en la efectividad en el control de insectos plagas (Galán, 2012).

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN Y JUSTIFICACIÓN

1.1.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

El cultivo de caña de azúcar de la provincia de Pastaza presenta una alta incidencia del salivazo por lo que para su control muchos productores han recurrido al uso de plaguicidas químicos, los cuales han generado problemas en la salud de los productores, contaminación del suelo, agua y aire. Además, ha contribuido a aumentar los problemas de plagas debido al desarrollo de resistencia y destrucción de los enemigos naturales. Para reducir estos efectos se encamina la implementación del control biológico de esta plaga mediante el uso del hongo entomopatógeno *Metarhizium* spp., el cual ha sido ampliamente utilizado en otros países para el control de esta plaga. Sin embargo, para su utilización existe la necesidad de seleccionar los aislamientos nativos del hongo entomopatógeno que superen el 70% de eficacia en el control de ninfas de *M. andigena* en condiciones de laboratorio e invernadero.

1.1.2. JUSTIFICACIÓN

El control biológico constituye una alternativa amigable para el control de plagas en el cultivo de caña de azúcar. Sin embargo, una de las estrategias básicas es la exploración inicial de aislamientos nativos a nivel local antes de introducir cepas exóticas. En este caso, el clima cálido húmedo de Pastaza y su variedad de microclimas, sugiere la existencia de una amplia diversidad de aislamientos del hongo entomopatógeno *Metarhizium* spp, procedentes de muestras de suelo e insectos micosados, que presenten una alta eficacia en el control de ninfas de *M. andigena*.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la eficacia de aislamientos nativos de *Metarhizium* spp. provenientes de muestras de suelo e insectos micosados en el control de ninfas de *Mahanarva andigena* Jacobi en condiciones de laboratorio e invernadero.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Seleccionar los aislamientos eficaces en el control de ninfas de *M. andigena* en condiciones del laboratorio.
- Validar la eficacia de los aislamientos de *Metarhizium* spp. seleccionados en condiciones de invernadero.

CAPÍTULO II

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Origen de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.)

Según Díaz & Portocarrero (2008), la caña de azúcar es nativa de las regiones tropicales y subtropicales del sur-este asiático. Alejandro Magno llevó de la India hacia Persia, mientras los árabes la introdujeron en Siria, Palestina, Arabia y Egipto, de donde se extendió por todo el continente africano y a la Europa meridional. A finales del siglo XV Cristóbal Colón transportó a las islas del Caribe, de allí se expandió a toda América Tropical y Subtropical.

2.2. Taxonomía

De acuerdo a Estévez *et al.* (1995), la clasificación taxonómica de la caña de azúcar es la siguiente:

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Tribu: Andropogoneae

Género: *Saccharum*

Especie: *S. officinarum*

Nombre binomial: *Saccharum officinarum* L.

2.3. Características botánicas y fisiológicas de caña de azúcar

A continuación se describen las características botánicas y fisiológicas de la caña de azúcar según Estévez *et al.* (1995) & Dávila (2014).

La caña de azúcar es una poácea tropical, en cuyo tallo se forma y acumula un jugo rico en sacarosa, compuesto que al ser extraído y cristalizado forma el azúcar. La sacarosa es sintetizada por la caña con la energía tomada del sol durante la fotosíntesis, constituye el cultivo de mayor importancia desde el punto de vista de la producción azucarera, además representa una actividad productiva y posee varios subproductos, entre ellos la producción de

energía eléctrica derivada de la combustión del bagazo, alcohol de diferentes grados como biocombustible o farmacéutico.

2.3.1. Raíz

A partir de una plantación de esquejes de diferentes tamaños nacen dos clases de raíces, las raíces esquejes y las raíces tallo. Las raíces esquejes son de vida momentánea y son delgadas, ramificadas y superficiales. Las raíces de tallo son primero blancas, más carnosas, y menos ramificadas. Con el tiempo la epidermis se arruga se oscurece y parece secarse pero siguen vivas. Se distinguen 3 clases de raíces: a) raíces superficiales, ramificadas y absorbentes, b) raíces de apoyo o de fijación, más profundas y c) raíces de cordón, que pueden alcanzar hasta seis metros. Su proporción e importancia varían por tres factores: la variedad, el suelo y la humedad.

2.3.2. Tallo

Este es el órgano de importancia en la planta de la caña de azúcar, por la cantidad de azúcares que se acumulan, el grosor, color y el modo de desarrollo o crecimiento dependen de la variedad. El tamaño de un tallo de caña varía entre el 1,50 hasta los 4,00 metros de longitud, el grosor del tallo varía entre 1,5 a 3,5 cm de diámetro depende ampliamente de las características ambientales del lugar y la variedad que se utilice y el manejo se realice. Los tallos se pueden clasificar de la siguiente manera: primarios, secundarios o terciarios.

2.3.3. Nudo

Es la parte más dura y fibrosa que cumple la tarea de separar dos entrenudos en el tallo. El nudo, esta también conformado por el anillo de crecimiento, la banda o franja de raíces, la cicatriz de la hoja, el nudo propiamente dicho la yema y el anillo ceroso. La forma de la yema y su pubescencia son diferentes en cada variedad y por tanto muy usadas para su reconocimiento.

2.3.4. Entrenudo

Es la parte del tallo que se encuentra entre dos nudos. El grosor, el color, el aspecto y la extensión varían según la variedad. El color es ordenado por causas de carácter genético, esta expresión se puede dar por condiciones fundamentalmente del ambiente. Su apariencia más común puede ser de forma cilíndrica, abarrilada, constreñida, coneiforme y curvada.

2.3.5. Hojas

Las hojas son la parte más importante para el proceso de la fotosíntesis, se originan en los nudos y se distribuyen en posiciones alternas a lo largo del tallo a medida que éste crece. Cada hoja está formada por la lámina foliar y por la vaina o yagua. La unión entre estas dos partes se denomina lígula y en cada extremo de ésta existe una aurícula con pubescencia variable. La forma y el color de la lígula, así como la forma de la aurícula, son características importantes en la diferenciación de las variedades. La lámina foliar tiene una nervadura central que la recorre en toda su longitud, y paralela a ella se encuentran las nervaduras secundarias. Los bordes presentan prominencias continuas en forma aserrada, cuyo número y longitud cambian con las variedades.

2.3.6. Yagua o vaina

La yagua o vaina es la parte de la planta que se encuentra envolviendo el tallo y es de forma tubular, en la base de la panta esta es más ancha. Con las diferentes variedades se puede dar presencia de pelos urticantes, la extensión de estos también puede variar.

2.3.7. Flor

La caña de azúcar presenta dos fases de desarrollo: La vegetativa, originada por la división celular en los puntos de crecimiento y la reproductiva o de floración, que es una continuación de la anterior, y ocurre cuando las condiciones ambientales de fotoperíodo, temperatura, disponibilidad de agua y nivel de nutrimentos en el suelo son favorables.

2.3.8. Inflorescencia

La fase de la inflorescencia de la caña de azúcar es una panícula sedosa en forma de espiga. Está constituida por un eje principal con articulaciones en las cuales se insertan las espiguillas, una frente de la otra; éstas contienen una flor hermafrodita con tres anteras y un ovario con dos estigmas. Cada flor está rodeada de pubescencias largas que le dan a la inflorescencia un aspecto sedoso. En cada ovario hay un óvulo el cual, una vez fertilizado, da origen al fruto o cariósido. Por lo tanto, lo que comúnmente se conoce como semilla es un cariósido.

2.4. Exigencias del cultivo

El cultivo requiere de una temperatura media de 24 °C y de una precipitación anual de 1 500 mm bien distribuidos durante su ciclo de crecimiento. La luz es otro de los factores básicos

para la producción de azúcares, requiere entre 6 y 9 horas diarias de brillo solar. Los tipos de suelo para este cultivo son los de textura franca o franco arcillosa, bien drenados, profundos, aireados ricos en materia orgánica y con pH entre 5,5 y 7,5. Los vientos fuertes producen en las plantas de caña un volcamiento en el cual se afecta la plantación. La profundidad de siembra fluctúa entre los 20 a 25 cm, con una distancia entre canal o zanja de 1,30 a 1,50 m, cubriendo la semilla con 5 cm de suelo (Lopez, 2015).

2.5. Principales plagas del cultivo

Los diversos insectos plagas como el piojo algodonoso (*Orthezia praelonga* Douglas), el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith), el falso medidor (*Mocis latipes* Guenée), el barrenador gigante (*Castnia licus* Drury) y el picudo rayado (*Metamasius hemipterus* L.) que son consideradas como plagas secundarias. Sin embargo, entre los insectos plaga de mayor importancia económica se encuentran el barrenador del tallo (*Diatraea saccharalis* Fabricius), el saltahojas (*Perkinsiella saccharicida* Kirkaldy), el áfido amarillo (*Sipha flava* Forbes) y el salivazo (*Mahanarva andigena* Jacobi) (Valle, 2015).

2.6. Taxonomía del salivazo *M. andigena*

Según Peck (2001), la clasificación taxonómica del salivazo es la siguiente:

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Hemiptera

Familia: Cercopidae

Géneros: *Aeneolamia*, *Prosapia*, *Zulia*, *Deois*, *Mahanarva*

Género en la Amazonía: *Mahanarva*

Especie: *M. andigena*

Nombre binomial de la amazonía: Salivazo

2.7. Distribución de *M andigena* a nivel mundial y nacional.

Según CINCAE (2013), ha reportado a nivel mundial la presencia de *M. andigena* en los países como México, BÉlice, 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).

2.8. Daños e importancia económica

Mendoza, Mejía & Gualle (2004), mencionan que las ninfas y los adultos succionan la savia de la planta, lo hacen inicialmente en las hojas que forman el cogollo y posteriormente en los tejidos de la parte interna de la vaina foliar y del tallo, aparentemente sin causar intoxicación en la planta. Sin embargo, la succión de la savia y la presencia de la espuma pueden causar un amarillamiento temporal de las hojas del cogollo. Una característica de la presencia de las ninfas es que, al secarse la espuma sobre la superficie de la hoja y del tallo, adquieren una coloración blanquecina que puede afectar el proceso industrial.

Los mismo autores reportan que los daños más importantes realizan los adultos, pues a más de succionar la savia inyectan sustancias tóxicas que provocan un desorden fisiológico en las hojas. Estos síntomas se manifiestan por la presencia de lesiones amarillentas alrededor de la picadura, que gradualmente se alargan y más tarde adquieren un color castaño-pardo y necrótico, dando un aspecto de “quemazón” del follaje y son perjuicios que aparecen en el campo, pero 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 fructosa.

2.9. Ciclo de vida y Biología

De acuerdo a Gómez (2007), el ciclo de vida de este insecto plaga presenta una metamorfosis incompleta que comprende tres fases de desarrollo: huevo, ninfa y adulto. Los huevos eclosionan luego de 17,2 días, las ninfas crecen durante los 30,8 días y los adultos viven los 7,2 días, el ciclo fue estimado de 55,2 días aproximadamente. La hembra deposita de 40 a 100 huevecillos por postura. El macho posee una coloración bien oscuro con manchas amarillas y la hembra tienen un color castaño con manchas amarillas poco difusas. Los principales hospederos reportados para *M. andigena* son: caña de azúcar (*S. officinarum* L.), maíz (*Zea mays* L.), arroz (*Oryza sativa* L.) y pastos.

2.10. Medidas de control

2.10.1. Control químico

Según Vásquez *et al.* (2014), la principal estrategia de control involucra la aplicación de insecticidas, el control se realiza cuando se presentan densidades de adultos que podrían ser dañinas. Por tanto es necesario mantener la población y sus daños por debajo de un umbral

económico. Se han utilizado productos granulados como endosulfán y carbofurán; además en forma foliar monocrotofós, diazinón, azinfós metílico, carbofuran, endosulfán y paratión metílico.

2.10.2. Control cultural

El CINCAE (2013) informa que las labores de cultivo ayudan a disminuir las poblaciones de la plaga y propician condiciones necesarias para que la planta soporte con vigor el ataque del insecto, la quema agrícola controlada en la cosecha hacen que disminuya la cantidad de huevos viables y el número de ninfas del salivazo en los lotes infestados. Donde la caña se cosecha en verde, la cobertura vegetal crea un ambiente favorable de humedad que protege los huevos y garantiza la supervivencia de las ninfas.

2.10.3. Control etológico

Este control consiste en aplicar trampas pegajosas verdes o amarillas en el cultivo, para que los insectos adultos queden atrapados en ella, y se disminuya el grado de daño económico (Vásquez *et al.*, 2014).

2.10.4. Control biológico

Se establece que el uso de hongos entomopatógenos para el control del salivazo es una alternativa viable, debido a que su uso mediante la aplicación del patógeno afectaría las primeras ninfas o adultos, en donde los insectos infectados y muertos por el hongo serían el inóculo primario de diseminación de las esporas del hongo, lo cual permite que las ninfas en su trayecto de búsqueda o cambio de sitio de alimentación se expongan al hongo, en donde la espuma crea un ambiente favorable para el desarrollo del insecto (Mendoza, Mejía, & Gualle, 2004).

2.11. Generalidades de los hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos son microorganismos que provocan enfermedades en los insectos. Constituyen un grupo heterogéneo desde el punto de vista sistemático y presentan diferencias en cuanto a su biología, frente a los insectos o artrópodos actúan por la vía tegumentaria y son virulentos, convirtiéndolos en un importante factor de regulación natural de sus poblaciones al coexistir con los insectos fitófagos en el mismo nicho ecológico, con un proceso patogénico caracterizado por la secreción de distintos metabolitos insecticidas (Mota, 2018).

Según Agro (2014), en el campo la eficacia de los hongos entomopatógenos es mayormente dependiente de la existencia de condiciones climáticas favorables temperaturas menores a 30 °C y alta humedad superiores a 70%. La germinación de los conidios empiezan a decrecer cuando la temperatura límite llega a 35 °C.

2.12. Ecología

Para su desarrollo los hongos entomopatógenos, requieren una adecuada humedad, pH y temperatura para su natural dispersión e infección, dependiendo de cada especie de hongo. Actúan por contacto en los diferentes estadios de los insectos plaga. Los conidios, son las unidades infectivas, que penetran al cuerpo del insecto, produciéndole alteraciones en todos los sistemas, desórdenes que enferman al insecto, y como resultado del desorden metabólico dejan de alimentarse y posteriormente muere, de tres a cinco días, dependiendo de la virulencia del hongo y estadio del insecto (Mejia, 2017).

2.12.1. Taxonomía de *M. anisopliae*.

Según Suárez (2010), la clasificación taxonómica de *M. anisopliae* es la siguiente:

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Clavicipitaceae

Género: *Metarhizium*

Especie: *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin

2.12.2. Modo de acción de *M. anisopliae*

Machado (2013), señala que en general los hongos entomopatógenos desarrollan las siguientes fases sobre su hospedante: germinación, formación de apresorios, formación de estructuras de penetración, colonización y reproducción. Gomez & Mendoza (2013), describen que el proceso inicia cuando los insectos muertos son infectados y se observan completamente cubiertos con micelio del hongo de color blanco, cuando el hongo esporula sobre el insecto muerto adquiere una coloración verde. El ciclo de vida de *M. anisopliae* comprende una parte patogénica que se inicia con la unión de los conidios del hongo a las partes frágiles de la cutícula del insecto.

2.12.3. Síntomas de *M. anisopliae* sobre *M. andigena*

Las ninfas disminuyen sus movimientos, reducen la producción de espuma y pueden abandonar los lugares de ataque. Los adultos infectados presentan movimientos lentos, no se alimentan, reducen su radio de vuelo y las hembras no ovipositan. Pueden morir en lugares distantes de donde fueron contaminados. El ciclo total de la enfermedad es de 8 a 10 días. Después de la muerte, los individuos presentan un crecimiento micelial blanco seguido por la típica esporulación verde. En algunas ocasiones no se presenta la esporulación sobre el tegumento, solamente se ve la presencia de micelio y se debe a condiciones inadecuadas de humedad durante el proceso de esporulación (Castillo, 2006).

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización

El área de estudio para la evaluación de los aislamientos nativos de *Metarhizium* spp. fue el laboratorio de Microbiología en planta central de la Universidad Estatal Amazónica ubicada en el Km. 2. ^{1/2} vía Puyo - Tena (Paso Lateral).

El control de ninfas bajo invernadero se realizó en la finca “La Julita”, ubicada en el Km. 18 vía Puyo a Tena parroquia Teniente Hugo Ortíz perteneciente al cantón Pastaza, Provincia de Pastaza.

3.2. Tipo de investigación

Esta es una investigación explicativa porque se evaluó la eficacia de los aislamientos nativos de *Metarhizium* spp. en condiciones de laboratorio e invernadero para determinar la eficacia en el control de ninfas.

3.3. Diseño de investigación

Se estableció un diseño completamente aleatorizado, con 12 tratamientos (diez aislamientos nativo, un tratamiento control y el control químico) y cinco réplicas. Cada réplica se conformó con 10 ninfas, con un total de 50 ninfas por tratamiento. Se empleó el mismo diseño en condiciones de invernadero pero únicamente con los aislamientos eficaces que superaron el 70% de eficacia.

3.4. Métodos de Investigación

El método de investigación fue experimental en condiciones de laboratorio e invernadero, ya que se midió la causa y efecto a través de las variables independiente y dependiente respectivamente.

3.4.1. Experimento en condiciones de laboratorio

3.4.1.1. Obtención de inóculo de los aislamientos de *Metarhizium* spp.

Este proyecto de investigación desarrolla dos actividades del proyecto PIC-16-BENS-004 “Selección de hongos entomopatógenos nativos, financiado por SENESCYT, en ejecución desde abril de 2017, bajo la dirección del Dr. Segundo Valle, que corresponde a la selección de aislamientos nativos procedentes de muestras de suelo e insectos micosados con mayor eficacia en el control de ninfas de *M. andigena* en condiciones de laboratorio e invernadero.

Los aislamientos nativos de *Metarhizium* spp. se obtuvo del laboratorio de Microbiología de la Universidad Estatal Amazónica que previamente fueron aislados, caracterizados y conservados.

Para los ensayos de laboratorio e invernadero se utilizó inóculo de cada aislamiento producido sobre sustrato sólido (arroz) de acuerdo a la metodología utilizada por Valle *et al.* (2018). A partir del inóculo producido sobre granos de arroz se procedió a preparar una suspensión de conidios, para lo cual, se tomó 1 muestra de 1 g del sustrato colonizado por el hongo de cada bolsa y se colocó individualmente en tubos de vidrio con 9 mL de agua destilada estéril con Tween 80 al 0,1% . A partir de esta suspensión se realizó diluciones seriadas en base 10, hasta 10^{-2} para cuantificar su concentración en cámara Neubauer con ayuda de un microscopio óptico con aumento de 40X.

Una vez determinada la concentración de conidios por gramo de sustrato colonizado por el hongo, se procedió a realizar los ajustes respectivos mediante la fórmula volumétrica $V_1C_1=V_2C_2$ para obtener una concentración 1×10^8 conidios mL^{-1} para la inoculación a las ninfas.

3.4.1.2. Colecta de Ninfas

Las ninfas se colectaron siguiendo la metodología de Valle (2015), en un cultivo de caña de azúcar cultivar POJ 93, en la finca “La Julita”, parroquia Teniente Hugo Ortiz, del cantón Pastaza, provincia de Pastaza, sin aplicación de productos químicos. Se colectó ninfas con tamaño entre 8 y 10 mm, con ayuda de un pincel, en envases plásticos transparentes, conteniendo hojas de caña de azúcar. Posteriormente fueron trasladadas hacia el laboratorio.

3.4.1.3. Montaje y aplicación de tratamientos en laboratorio

Una vez en el laboratorio, se colocaron 10 ninfas del mismo tamaño en el interior de cada placa de Petri (100 x 15 mm) que contenía una hoja de caña de 8 cm de longitud, lavada con agua destilada estéril y envuelta por los extremos en un pedazo de algodón humedecido con agua. Luego, fueron inoculadas con 1 mL de suspensión de cada aislamiento nativo a una concentración de 1×10^8 conidios mL^{-1} , con ayuda de una micropipeta. Posteriormente se mantuvo a temperatura ambiente de 23 ± 1 °C y humedad relativa de $80,20 \pm 5,3\%$.

Los tratamientos quedaron conformados por 10 aislamientos nativos, un tratamiento químico [Engeo: Lambdahalotrina (concentración: 106 g.L^{-1}) + Tiametoxam (concentración: 141 g.L^{-1})

¹)] en dosis de 1mL.L⁻¹ de agua y un control (agua +agral 90); con cinco réplicas por cada tratamiento.

En cada tratamiento se registró la mortalidad acumulada total hasta el sexto día después de la inoculación. Se determinó la mortalidad de los insectos por cada tratamiento a través de la fórmula de Tiertó (1994).

$$\% M = \frac{NIMT}{NTIT} * 100$$

donde,

%M: porcentaje de mortalidad

NIMT: número de insectos muertos en el tratamiento

NTIT: número total de insectos en el tratamiento

Para la mortalidad corregida de los tratamientos en estudio se aplicó la fórmula de Abbott (1925).

$$MC = \frac{MTr - MTe}{100 - MTe}$$

donde,

MC: Mortalidad corregida

MTr: Mortalidad del tratamiento

MTe: Mortalidad del control

Para determinar la mortalidad confirmada (porcentaje de individuos muertos que presentan crecimiento del hongo sobre sus cuerpos), cada insecto muerto fue desinfectado superficialmente en alcohol al 70%, durante 3 minutos y lavado 3 veces con agua destilada estéril y colocado en placas de Petri conteniendo un tapón de algodón humedecido y papel filtro en el fondo; se sellaron con parafilm y se colocó en la incubadora a temperatura de 27 ± 1 °C. Por medio de este procedimiento se obtuvo la confirmación de la mortalidad causada por el hongo *Metarhizium* spp, se observó el crecimiento micelial y conidiogénesis sobre el insecto muerto.

Para comparar los tratamientos en cuanto a mortalidad acumulada y corregida se realizó un análisis de varianza de clasificación simple y prueba de rango múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$). Para el análisis se empleó el programa INFOSTAT Versión 2017.

3.4.1.4. Experimento en condiciones de invernadero

La obtención de plántulas de caña de azúcar del cultivar POJ 93 y el diseño de las jaulas empleó la metodología utilizada por Valle *et al.* (2018). Cada plántula fue infestada con 10 ninfas, previamente colectadas en campo; posteriormente, fueron asperjadas con 15 mL de la suspensión de conidios de cada aislamiento nativo, ajustada a una concentración de 1×10^8 conidios.mL⁻¹. La aplicación de las suspensiones se realizó con atomizadores manuales previamente calibrados, de acuerdo a la metodología de aplicación de Obando *et al.* (2013). El tratamiento control fue asperjado con agua destilada estéril +Agral 90 en proporción de 0,5 mL. L⁻¹.

Los tratamientos quedaron conformados por los aislamientos nativos que superaron el 70% de mortalidad corregida, un tratamiento químico [Engeo: Lambdacihalotrina (concentración: 106 g.L⁻¹) + Tiametoxam (concentración: 141 g.L⁻¹)] en dosis de 1 mL.L⁻¹ de agua, un biológico comercial (Micosplag) en dosis de 0.5 g.L⁻¹ de agua y un control (agua + agral 90). Se organizó según un diseño completamente aleatorizado, con cinco réplicas por tratamiento. Cada réplica estuvo constituida por una maceta, con una plántula infestada con 10 ninfas, para un total de 50 ninfas por tratamiento.

La evaluación de la mortalidad se realizó diariamente, durante ocho días, con estos datos se determinó la mortalidad total y la corregida mediante las fórmulas de Tiertó (1994) y Abbott (1925), respectivamente.

Para comparar los tratamientos en cuanto a los valores de mortalidad acumulada y corregida en ninfas de *M. andigena*, se realizó un análisis de varianza de clasificación simple y las medias se compararon mediante la prueba de rango múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$). Para el análisis se empleó el programa INFOSTAT Versión 2017.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS

4.1. Selección de aislamientos eficaces en el control de ninfas de *M. andigena* en condiciones de laboratorio.

En la figura 1, se destaca que siete de los diez aislados produjeron el 70% de mortalidad acumulada a los seis días de la inoculación. Entre estos aislamientos nativos se encuentran TI6301, con el 98% de mortalidad, TS6304 (90%), PS5003 (88%), PS5002 (86%), SJS5104 (82%), DAS5401 (80%) y SJS5102 que provocó el 76% de mortalidad.

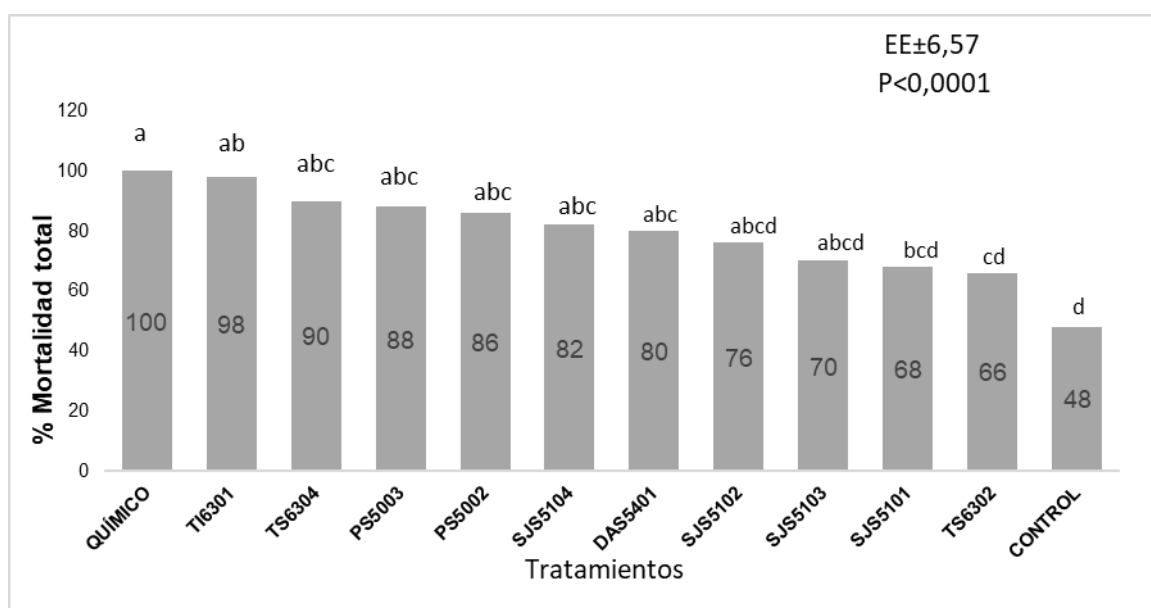


Figura 1. Efectividad de aislamientos monospóricos nativos de *Metarhizium* spp., un tratamiento químico y un control sobre ninfas de *M. andigena* a los seis días después de la aplicación. Medias con letras distintas indican diferencias significativas para el test de Tukey ($p \leq 0,05$) ($n=5$).

El tratamiento químico con Engeo al primer día de la inoculación alcanzó el 100% de mortalidad de ninfas, esta alta eficacia pudo estar relacionada por ser un insecticida sistémico y de contacto que contiene como ingredientes activos: Tiametoxam y Lambdacialotrina. Según Syngenta (2018), estos al ser aplicados a las ninfas mediante aspersion provoca el bloqueo de la conducción de los estímulos nerviosos, hiperexcitación, convulsiones, parálisis y finalmente la muerte de los insectos. Sin embargo, Romero & Huevo (2011), señalan que el control

químico es la última alternativa para el control de plagas debido al impacto ambiental que este ocasiona.

En el tratamiento control se registró un 48% de mortalidad, el alto porcentaje pudo estar relacionado con la mayor necesidad de humedad así como por el estrés provocado por la manipulación en campo y laboratorio. En un estudio realizado por Loureiro *et al.* (2005), al evaluar la eficacia de trece aislamientos de *Metarhizium anisopliae* sobre ninfas de *Mahanarva fimbriolata* (Stal) registraron una mortalidad de 66% en el tratamiento control a los seis días de la inoculación, superior al registrado en el estudio. Según Castillo (2006), la producción de espuma se lleva a cabo una vez que inician su alimentación, en el transcurso de 5 a 15 minutos, ya que en un tiempo mayor y a condiciones adversas de temperatura y humedad, les causaría la muerte por desecación, condiciones que pudieron haber influido en la mortalidad de ninfas en condiciones de laboratorio.

En la figura 2, se muestra los datos de la mortalidad corregida, donde el rango de eficacia va de 35 al 96% en las cepas de *Metarhizium* spp., los aislamientos que superaron el 70% de mortalidad fueron los aislamientos nativos TI6301 que provocó el 96%, TS6304 con el 81%, PS5003 con el 77% y PS5003 con el 73%, razón por lo que se seleccionó para el experimento de invernadero.

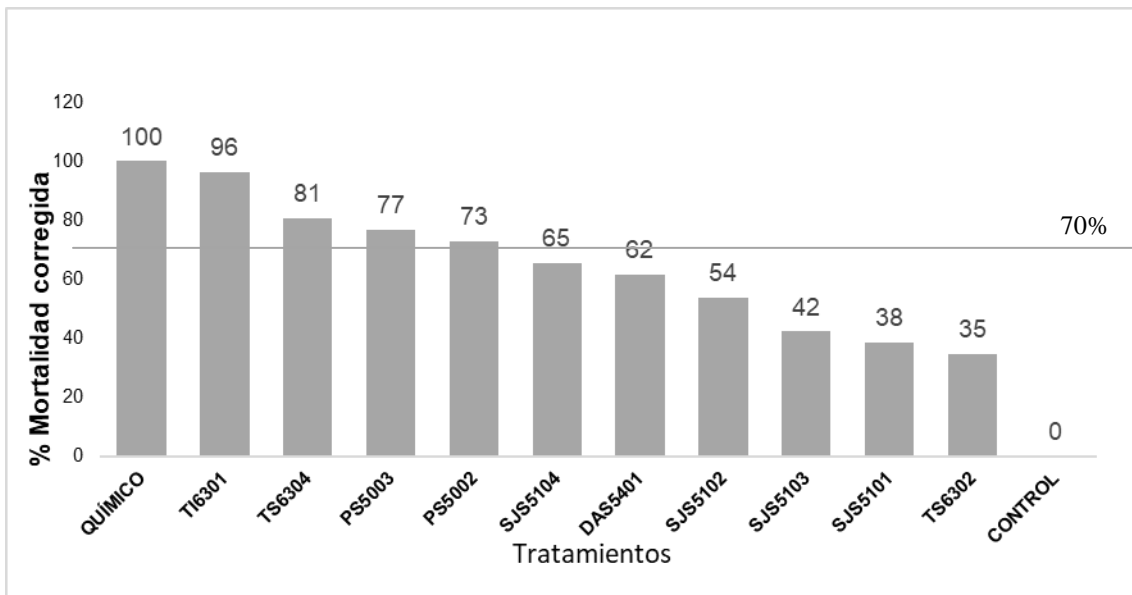


Figura 2. Porcentaje de mortalidad corregida de los tratamientos a los seis días después de la aplicación sobre ninfas de *M. andigena*.

En estudios realizados por Loureiro *et al.* (2005), al evaluar la eficacia de aislamientos de *Metarhizium anisopliae* sobre ninfas de *M. fimbriolata*, en condiciones de laboratorio registraron valores de mortalidad corregida de 50 a 100% a los seis días de la inoculación, resultados que se encuentran dentro del rango obtenido en el presente estudio, con los siete primeros aislamientos representados en la figura 2.

En otro estudio realizado por Valencia *et al.* (2011) al evaluar la eficacia de diferentes aislamientos de *Metarhizium spp.* sobre larvas de tercer instar de *Strategus aloeus* (L.), registraron una mortalidad corregida del 99% después de 16 días de la inoculación. Por otro lado Ruiz *et al.* (2010) al evaluar la eficacia de cepas de *Metarhizium spp.* en el control de ninfas de *Bemisia tabaci* (Gennadius) en condiciones de laboratorio encontraron valores de mortalidad corregida de 67,7 a 88,2%.

La mortalidad corregida en el tratamiento químico fue del 100% en ninfas de *M. andigena*, asociado con el modo de acción del insecticida.

En la tabla 1, se muestra que cuatro de los diez aislamientos nativos de *Metarhizium spp.* presentaron una mayor esporulación sobre las ninfas muertas de *M. andigena*. Estos aislamientos fueron TI6301 (80%), TS6304 (64%), PS5002 (54%) y PS5003 (52%).

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad confirmada de ninfas de *M. andigena* producida por aislamientos nativos de *Metarhizium spp.* a los 6 días de la aplicación.

TRATAMIENTO	% Mortalidad confirmada
TI6301	80 a
TS6304	64 ab
PS5002	54 ab
PS5003	52 b
SJS5104	16 c
SJS5102	10 c
SJS5101	8 c
TS6302	4 c
DAS5401	4 c
SJS5103	2 c
E.E.	5,63

* Porcentaje sobre 10 ninfas de *Mahanarva andigena* tratados a una concentración de 1×10^8 conidios.mL⁻¹.

Los altos valores de mortalidad confirmada obtenidos en los aislamientos TS6301, TI6304, PS5002, PS5003 y SJS5104 con el 80, 64, 54, 52 y 16% respectivamente, se encuentran dentro del rango reportado por Loureiro *et al.* (2005), quienes registraron mortalidades confirmadas entre 16 y 88%, sobre ninfas de *M. fimbriolata* a los seis días de la inoculación. Las variaciones de mortalidad confirmada observadas en el estudio pueden estar relacionadas con la variabilidad genética de cada aislamiento, así como, la localidad de origen de cada aislamiento, de acuerdo con Vestergaard *et al.* (1995).

En el experimento del laboratorio, se verificó la esporulación sobre los insectos muertos a los 6 días de la inoculación. Sin embargo, Castillo (2006) a nivel de campo se ha detectado mortalidad y aparición de micelio y/o cuerpos fructíferos entre ocho y diez días después de la aplicación.

4.2. Validación de la eficacia de los aislamientos de *Metarhizium* spp. seleccionados en condiciones de invernadero.

En la figura 3, se evidencia el porcentaje de mortalidad total en condiciones de invernadero, de los aislamientos nativos que varía del 50% en el tratamiento PS5003 hasta el 98% en el tratamiento TI6301. Los aislados TI6301 y TS6304, provocaron el 98 y 94% de mortalidad acumulada total respectivamente a los ocho días de la inoculación.

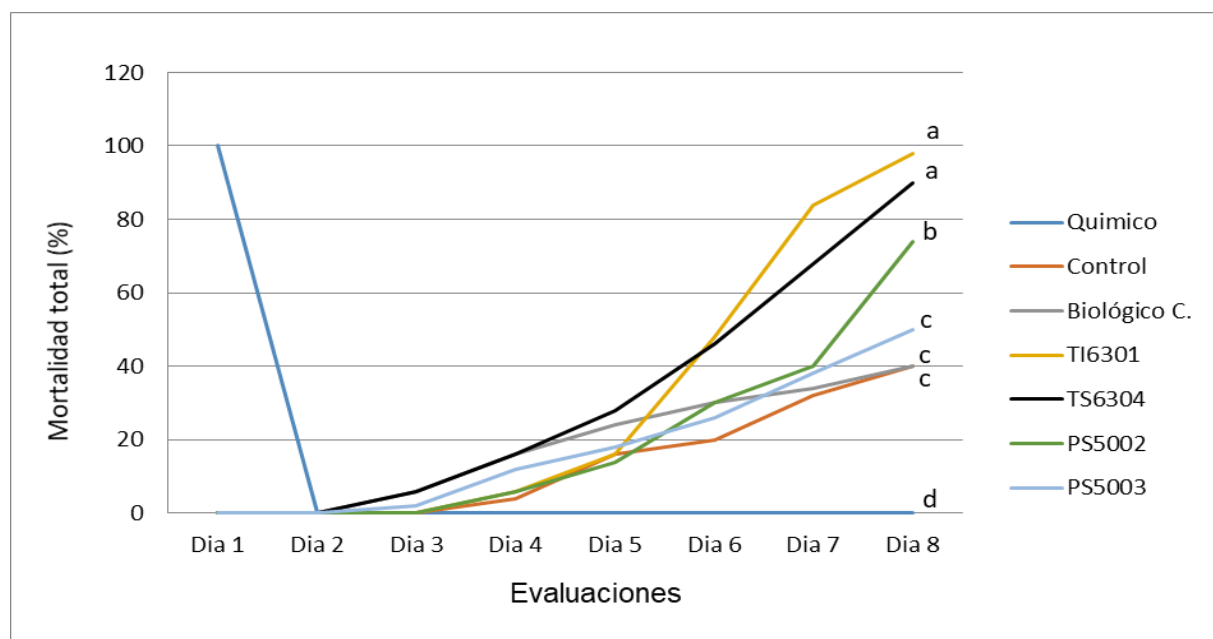


Figura 3. Mortalidad total de ninfas de *M. andigena* en condiciones de invernadero./ Medias con letras distintas en el día ocho indican diferencias significativas para el test de Tukey ($p \leq 0,05$) ($n=5$).

El tratamiento químico al primer día de la aplicación provocó el 100% de mortalidad, que pudo estar relacionado por los ingredientes activos que lo conforman. El tiametoxam, es un neonicotinoide sistémico de alta residualidad, que controla insectos succionadores, mientras que lambdacialotrina es un piretroide que actúa sobre insectos succionadores y masticadores, otorgando poder de volteo. Según Kassab *et al.* (2014), el insecticida Tiametoxam y el hongo *M. anisopliae* son amenudo utilizados para el control de *M. frimbriolata* en cultivos de caña de azúcar en Brasil.

Los valores de mortalidad obtenidos en los aislamientos TI6301 y TS6304 con 98 y 94% respectivamente, son similares a los reportados por Bautista y Gonzales (2005), quienes obtuvieron una mortalidad mayor al 96 % en el control de la mosca pinta (*Aeneolamia varia* F.) en caña de azúcar.

En otro estudio Obando *et al.* (2013) al evaluar la eficacia de cepas de *M. anisopliae* para el control de *A. varia* resgistraron mortalidades hasta del 70 %, y señalaron que la saliva de las ninfas de *M. andigena* puede ser una barrera para estos organismos por lo que para un buen cubrimiento, el hongo se debe aplicar con un coadyuvante que permita romper la tensión superficial de la saliva del insecto.

Por otro lado Matabanchoy *et al.* (2012), al evaluar la eficacia de cuatro cepas de *M. anisopliae*, obtuvieron el 29,9 y 48,9% de mortalidad total sobre ninfas de *A. varia*, en el cultivo de caña de azúcar.

En la figura 4, se muestra la mortalidad corregida de los tratamientos sobre ninfas de *M. andigena* en condiciones de invernadero, donde los aislamientos nativos TI6301 y TS6304 provocarán el 97 y 83% de mortalidad corregida, superiores a los demás tramientos con excepción del químico. Los demás tratamientos presentaron mortalidades corregidas por debajo del 70%.

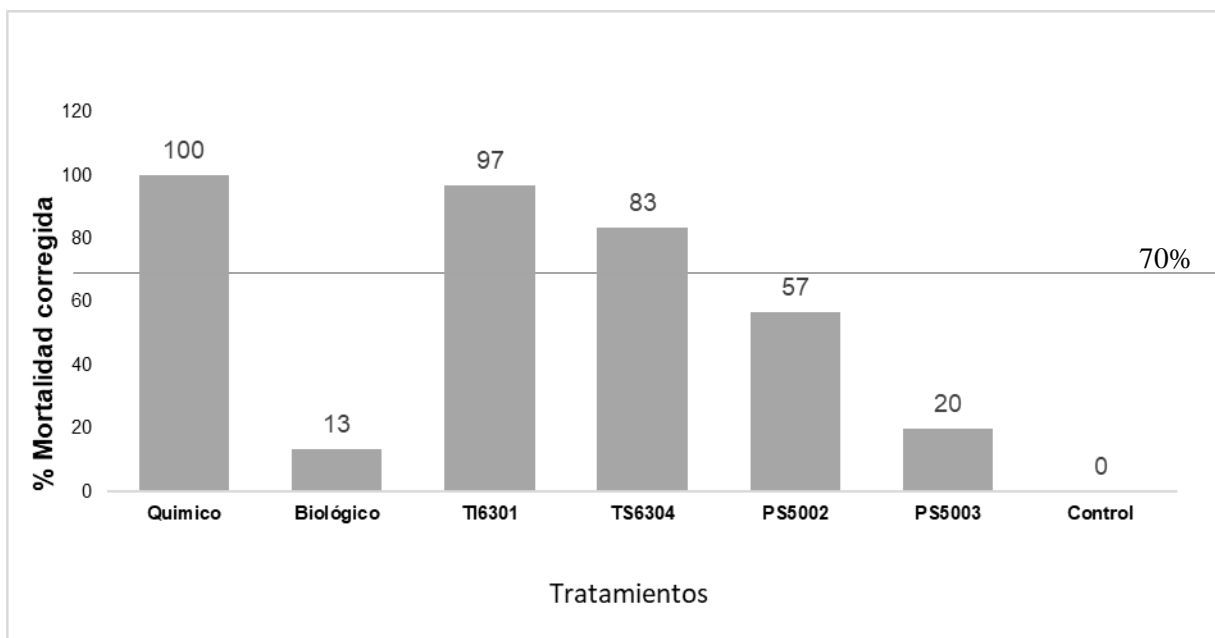


Figura 4. Porcentaje de mortalidad corregida sobre ninfas de *M. andigena* en condiciones de invernadero.

Los valores de mortalidad corregida obtenidos en el tratamiento TI6301 (97%) y TS6304 (83%) en el presente estudio sobre ninfas de *M. andigena* son superiores a los reportados por Matabanchoy *et al.* (2012), quienes al evaluar la eficacia de cuatro cepas de *M. anisopliae* en el control de ninfas de *A. varia* obtuvieron mortalidades corregidas entre 4,8% y 38,5%. La alta efectividad de los dos aislamientos nativos demuestra su alto potencial para la validación en condiciones de campo.

En la tabla 2, se muestra el porcentaje de mortalidad confirmada sobre ninfas de *M. andigena* en condiciones de invernadero donde se verificó un comportamiento similar que en laboratorio, con ligeros incrementos, con las mayores mortalidades en los aislamientos TI6301 (80%) y TS6304 (72%), los cuales constituyen los más promisorios para su validación en condiciones de campo.

Tabla 2. Porcentaje de mortalidad confirmada de ninfas de *M. andigena* producida por aislamientos nativos de *Metarhizium* spp. a los 8 días de la aplicación en invernadero.

TRATAMIENTO	MORTALIDAD CONFIRMADA (%)
TI6301	80 a
TS6304	72 a
PS5002	56 b
PS5003	54 b
BIOLÓGICO COMERCIAL	0 c
E.E.	1,93

Los valores de mortalidad confirmada obtenido en los aislamientos TI6301 (80%) y TS6304 (72%), se encuentran dentro del rango obtenido por Freitas *et al.* (2012), quienes al seleccionar aislamientos de *M. anisopliae* en el control de ninfas de *M. firmbriolata* registraron mortalidades entre 70 y 84% en siete aislamientos de los veinte y cuatro evaluados.

Según Almeida *et al.* (1997), una alta producción conidial en insectos muertos es una característica deseable, especialmente en hongos utilizados en introducciones inoculativas para controlar insectos. Esta característica puede proporcionar mejores condiciones para la iniciación de epizootias sobre los insectos objeto de control. Por otro lado Freitas *et al.* (2012) señalan que, para que un aislamiento sea más eficiente debe ser aplicado en la misma localidad donde fue aislado, por las facilidades de adaptación. Probablemente, esta sea un causa de que el biológico comercial no haya presentado resultados satisfactorios en las condiciones específicas de Pastaza.

La mayor capacidad de esporulación de los aislamientos nativos de *Metarhizium* spp., es un parámetro deseable en los bioplaguicidas a base de hongos entomopatógenos, de manera tal que, si las condiciones ambientales son apropiadas, podría incrementar la fuente de inóculo en el campo (Luna & Lecuona, 2002), y puede causar la diseminación horizontal de conidios en el suelo por largos períodos, aumentando así la concentración del patógeno en el ambiente y promoviendo un mayor control pronunciado de las plagas en el transcurso del tiempo, especialmente en la temporada de mayor radiación solar, cuando los insectos se refugian en el suelo o en la paja (Groth *et al.*, 2017). Es por ello, que el uso de *Metarhizium* spp. puede ser una alternativa prometedora para el manejo de estos insectos en el cultivo de caña de azúcar. Por ello, se seleccionó los cuatro aislamientos que presentaron una mayor esporulación sobre los insectos muertos.

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES

- En condiciones de laboratorio resultaron eficaces los aislamientos nativos de *Metarhizium* spp. TI6301, TS6304, PS5002 y PS503 que superaron el 70 % de mortalidad corregida y en cuanto a mortalidad confirmada fueron más eficaces los tratamientos TI6301 con el 80% y el aislamiento TS6304 con el 65% de mortalidad confirmada.
- Los resultados en invernadero permitió la selección de los aislamientos nativos de *Metarhizium* spp. TI6301 y TS6304 por su alta mortalidad provocada en ninfas de *M. andigena* como candidatos para su validación en condiciones de campo en condiciones de la Amazonía.

RECOMENDACIONES

- Validar la eficacia de los aislamientos seleccionados en condiciones de campo en el control de ninfas de salivazo.
- En las validaciones de campo incluir el control químico formulado a base de Tiametoxam y Lamdacialotrina por su alta efectividad.

CAPÍTULO VI

6. BIBLIOGRAFIA

- Abbott, W. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18 (2): 265-267, 1925. ISSN: 1938-291X
- Agro. (2014). Control del salivazo mediante el hongo *Metarhizium anisopliae* en caña de azúcar. Recuperado de: <http://agro-controlbiologico.blogspot.com/2014/11/control-biologico-en-cana-de-azucar.html>
- Almeida, J.E.M.; Alves, S.B.; Pereira, R.M. (1997). Selection of *Beauveria* spp. isolates for control of the termite *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858). *Journal of Applied Entomology*, Berlin. 121(9/10):539-543.
- Bautista, A. & Gonzáles, N. (2005). Tres dosis de *Metarhizium anisopliae* sobre la mosca pinta (*Aeneolamia* spp.) en caña de azúcar en la Región de los Ríos, Estado de Tabasco.
- Calle, G. (2013). Prospección de insectos plaga y sus controladores biológicos en el cultivo de caña panelera (*saccharum officinarum*). Universidad Central del Ecuador. Quito. Disponible en : <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1004/1/T-UCE-0004-6.pdf>
- Castillo, S. (2006). Uso de *Metarhizium anisopliae* para el control biológico del salivazo en el Petén, Guatemala. Tesis Magister Scientiae en Agricultura Ecológica. Recuperado de: <http://orton.catie.ac.cr/REPDOCA/A0748E/A0748E.PDF>
- CINCAE. (2013). Salivazo. Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador. Recuperado de: <http://cincae.org/areas-de-investigacion/manejo-de-plagas/salivazo/>
- Dávila, D. (2014). Evaluación de dos sistemas de siembra en caña de azúcar en la provincia del Cañar –cantón La Troncal. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Cuenca. Recuperado de: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/21062/1/tesis.pdf>
- Díaz, L., & Portocarrero, E. (2008). Manual de producción de caña de azúcar. Recuperado de: http://teca.fao.org/sites/default/files/technology_files/T1639.pdf

- Estévez, A.; Cock, J.H.; Hernández, A.; Irvine, J. Biología. (1995). En: CENICAÑA. El cultivo de la caña en la zona azucarera de Colombia, Cali, CENICAÑA. p.31-62.
- Freitas, A. F., Loureiro, E. S., Almeida, M. E., & Pessoa, L. G. (2012). Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. (Deuteromycotina: Hyphomycetes) para o controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera:Cercopidae) em cana-de-açúcar. Arq. Inst. Biol. 79(2): 247-254.
- Galán, L. (2012). *Aislamiento e identificación de hongos entomopatógenos de las diferentes zonas citrícolas*. Universidad Autónoma de Nuevo León. Recuperado de: <https://cd.dgb.uanl.mx/bitstream/handle/201504211/16318/20093.pdf?sequence=1>
- Gómez, L. (2007). *Manejo del salivazo en cultivos de caña de azúcar*. Recuperado de: http://www.cenicana.org/publicaciones/carta_trimestral/ct2007/ct2y3_07/ct2y3_07_p10-17.php
- Gómez, P. , & Mendoza, J. (2013). *Guía para la producción de Metarhizium anisopliae*. Guayaquil, Ecuador: Centro de Investigación de la caña de azúcar de Ecuador. Publicación técnica no. 5.
- Groth, M.; Filho, R.; Soares, V.; Bernardi, D. (2017). Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* isolates on *Nezara viridula* and *Dichelops melacanthus* in wheat crop. Inst. Biol. 84:1-8.
- Herrera, M. (2015). Factores limitantes para el incremento de la producción de caña de azúcar. Gobierno Provincial de Manabí. Recuperado de: <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/4954/2/ANEXO%20%20CA%20C3%91A%20DE%20AZUCAR.pdf>
- Kassab, S. O.; Loureiro, E. S.; Rossoni, C.; Pereira, F. F.; Barbosa, R. H., Costa, D. P.; & Zanuncio, J. C. (2014). Combinations of *Metarhizium anisopliae* with chemical insecticides and their effectiveness in *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae) control on sugarcane. *Florida Entomologist*. 97(1), 146-154.

- Lopez, J. (2015). La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) para la producción de panela. Escuela de Ciencias agrícolas. Recuperado de: [http://www.panelamonitor.org/media/docrepo/document/files/lacanadeazucar\(saccharum-officinarum\)-para-la-produccion-depanela.casonordestedeldepartamentodeantioquia.pdf](http://www.panelamonitor.org/media/docrepo/document/files/lacanadeazucar(saccharum-officinarum)-para-la-produccion-depanela.casonordestedeldepartamentodeantioquia.pdf)
- Loureiro, E. S.; Filho, A. B.; Almeida, J. E.; & Pessoa, L. G. (2005). Seleção de Isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Contra a Cigarrinha da Raiz da Cana-de-Açúcar *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) em Laboratório. *Neotropical Entomology*.34(5): 791-798.
- Luna J. A.; Lecuona, R. E. (2002). Selección de cepas de hongos entomopatógenos nativos para el control de la tucura. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*. 31(1): 67-83.
- Matabanchoy, J., Bustillo, A., Castro, U., Mesa, N. & Moreno, C. (2012). Eficacia de *Metarhizium anisopliae* para controlar *Aeneolamia varia* (Hemiptera: Cercopidae), en caña de azúcar.
- Machado, A. (2013). Caracterización morfológica, biológica y molecular de 20 cepas de *Metarhizium anisopliae*. Tesis de Grado, Ingeniera Agrícola y Biológica. Guayaquil. Ecuador. Recuperado de: <https://www.dspace.espol.edu.ec/retrieve/89739/D-79827.pdf>
- Mejía, M. (2017). Evaluación de tres dosis de *Metarhizium anisopliae* , en la colonización de larvas de gallina ciega (*Phyllophaga* spp) en tres estadíos larvarios. Tesis de Grado. Recuperado de: <http://recursosbiblio./tesisjce/2017/06/03/MejiaMaria%20Del%20Rosario>
- Mendoza, J. & Garcés, F. (2013). Principales plagas y enfermedades exóticas de caña de azúcar en Ecuador: Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Ecuador.
- Mendoza, J., Mejía, K., & Gualle, D. (2004). El salivazo de la caña de azúcar, *Mahanarva andigena*. Guayaquil, Ecuador: Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Ecuador. Publicación técnica no. 4.
- Mota, J. (2018). Control de *Metarhizium anisopliae* sobre *Phyllophaga* spp. bajo condiciones controladas (tesis de Grado). Universidad Rafael Landívar, Jutiapa.

- Obando, J. A., Bustillo, A. E., Castro, U., & Mesa, N. C. (2013). Selección de cepas de *Metarhizium anisopliae* para el control de *Aeneolamia varia* (Hemiptera: Cercopidae). *Revista Colombiana de Entomología* 39 (1): 26-33.
- Peck, D.C. (2001). Diversidad y distribución geográfica del salivazo (Homoptera: Cercopidae) asociado con gramíneas en Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología* 27(3- 4):129-136.
- Rodríguez, D. (2016). Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades de caña de azúcar. Recuperado de: [https://www. Intagri.com/articulos/fitosanidad/manejo-integrado-de-plagas-y-enfermedades-de-la-caña-de-azúcar](https://www.Intagri.com/articulos/fitosanidad/manejo-integrado-de-plagas-y-enfermedades-de-la-caña-de-azúcar).
- Rodríguez, M., Gerding, M., & France,A. (2014). Selección de Aislamientos de Hongos Entomopatógenos para el Control de Huevos de la Polilla del Tomate *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: gelechiidae). *Agricultura Técnica Chile* 66 (2): 151-158.
- Romero, A., & Huezó, L. (2011). Evaluación de seis productos químicos y dos microbiológicos para el manejo de Coralillo (Lepidoptera: Pyralidae: *Elasmopalpus lignosellus*, Zeller), en el cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*, L).
- Ruiz, E., *et al.*, (2010). Crecimiento, esporulación y germinación *in vitro* de cinco cepas de *Metarhizium* spp. y su virulencia en huevos y ninfas de Bemisia tabaco. *Revista mexicana de micología* 33(0187-3180): 10-15.
- Salazar, G. (2012). Elaboración de una Planificación Estratégica para la Asociación de Cañicultores de Pastaza “ASOCAP” en la ciudad de Puyo. Tesis de Grado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Suárez, D. (2010). Descripción ecológica de *Metarhizium anisopliae*. Recuperado de: [//hongometarrhizium.blogspot.com/.pdf](http://hongometarrhizium.blogspot.com/.pdf)
- Tierto, N. (1994). The ability of powders and slurries from ten plant-species to protect. Stored grain from attack by *Prostephanus truncatus* Horn (Coleoptera: Bostrichidae) y *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research* 30(4): 297–301.

- Valencia, C., Pérez, S., Mesa, E., Gomez, H. (2011). Patogenicidad de hongos entomopatógenos del género *Metarhizium* sobre larvas de *Strategus aloeus* L. (Coleoptera: Scarabaeidae), en condiciones de laboratorio. *Palmas* 32(4): 30-39.
- Valle, S. (2015). Particularidades Bioecológicas de *Mahanarva andigena* (Jacobi) como base para el manejo con *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin en la caña de azúcar *Saccharum* spp. híbrido en Pastaza, Ecuador. Tesis Doctoral en Ciencias Agrícolas. Universidad de Granma, Cuba.
- Valle, S.; Arias, A.; Iparraguirre, M.; Caicedo, W.; Uvidia, H.; Carrera, K. (2018). Control de ninfas de *Mahanarva andigena* con *Metarhizium anisopliae* en condiciones de invernadero y campo en Pastaza, Ecuador. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 21(2018): 25-29.
- Vásquez, F.; Mata, H.; Rodríguez, V.; Vásquez, E. (2014). *Manejo Integral de la Caña de Azúcar*. México: Ediciones SAGARPA, INIFAP & Universidad de Nueva León. p175.
- Vestergaard, S.; Gillespie, A. T.; Butt, T. M.; Schreiter, G.; Eilenberg, J. (1995). Pathogenicity of the Hyphomycete fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western thrips, *Fankliniella occidentalis*. *Bioc.Sci. and Tech.* 5: 185-192.

CAPÍTULO VI

ANEXOS

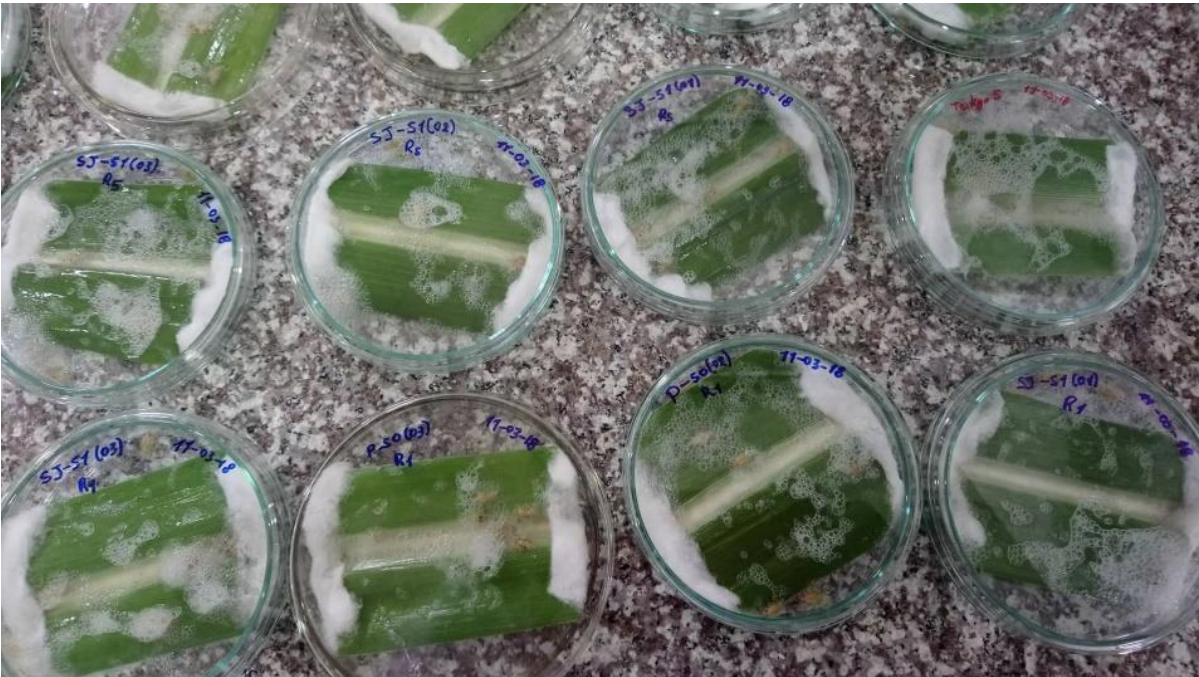
Anexo 1. Colecta de ninfas de *Mahanarva andigena* para los respectivos experimentos.



Anexo 2. Aplicación de ninfas de *M. andigena* en placas de Petri para el experimento en condiciones laboratorio.



Anexo 3. Inoculación de *Metarhizium* spp. en *M andigena* en condiciones de laboratorio.



Anexo 4. Evaluación diaria de mortalidad total, corregida y confirmada bajo condiciones de laboratorio.



Anexo 5. Plantas de caña de azúcar para el experimenta en invernadero.



Anexo 6. Plátulas de caña de azúcar para el experimento en condiciones de invernadero



Anexo 7. Colocación de jaulas en las macetas para la inoculación de *Metarhizium* spp.



Anexo 8. Preparación de tratamientos en atomizadores manuales



Anexo 9. Aplicación de ninfas en plantas de caña de azúcar.



Anexo 10. Aplicación de aislamientos nativos de *M. anisopliae* y tratamientos químicos, biológico comercial y control.



Anexo 11. Evaluación diaria de mortalidad total, corregida y confirmada de *M. andigena*.



Anexo 12. Insectos micosados con *Metarhizium* spp. sobre *M. andigena*



Anexo 13. Esporulaci3n de insectos con *Metarhizium* spp. sobre *M. andigena*

