

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**Escuela Profesional de Agronomía**



**TESIS**

**PATOGENESIS DE *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) SOBRE  
BABOSAS TERRESTRES EN LABORATORIO**

Para Optar el Título Profesional de:

**INGENIERO AGRÓNOMO**

Presentado por el Bachiller:

**ELVIS EDGARD CAMPOS MENDOZA**

Asesor:

**Ing. Alonso Vela Ahumada**

**CAJAMARCA - PERÚ**

**-2026**

## CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

1. Investigador:  
**Elvis Edgard Campos Mendoza**  
DNI: N° 43952586  
Escuela Profesional/Unidad UNC:  
**ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA**
2. Asesor:  
**Ing. Alonso Vela Ahumada**  
Facultad/Unidad UNC:  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**
3. Grado académico o título profesional  
☐ Bachiller      ☒ Título profesional      ☐ Segunda especialidad  
☐ Maestro      ☐ Doctor
4. Tipo de Investigación:  
☒ Tesis ☐ Trabajo de investigación      ☐ Trabajo de suficiencia profesional  
☐ Trabajo académico
5. Título de Trabajo de Investigación:  
**"PATOGÉNESIS DE *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) SOBRE BABOSAS TERRESTRES EN LABORATORIO"**
6. Fecha de evaluación: 23/02/2026
7. Software antiplagio: ☒ TURNITIN      ☐ URKUND (OURIGINAL) (\*)
8. Porcentaje de Informe de Similitud: 6%
9. Código Documento: oid: 3117:559916369
10. Resultado de la Evaluación de Similitud:  
☒ APROBADO      ☐ PARA LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES O DESAPROBADO

Fecha Emisión: 23/02/2026

Firma y/o Sello  
Emisor Constancia

  
  
**Ing. Alonso Vela Ahumada**  
26604965

\* En caso se realizó la evaluación hasta setiembre de 2023



# UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

"NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA"

Fundada por Ley N° 14015, del 13 de febrero de 1962

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

Secretaría Académica



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Cajamarca, a los dos días del mes de febrero del año dos mil veintiséis, se reunieron en el ambiente 2C - 202 de la Facultad de Ciencias Agrarias, los miembros del Jurado, designados según **Resolución de Consejo de Facultad N° 044-2026-FCA-UNC, de fecha 12 de enero del 2026**, con la finalidad de evaluar la sustentación de la TESIS titulada: **"PATOGÉNESIS DE *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) SOBRE BABOSAS TERRESTRES EN LABORATORIO"**, realizada por el Bachiller **ELVIS EDGARD CAMPOS MENDOZA** para optar el Título Profesional de **INGENIERO AGRÓNOMO**.

A las ocho horas y cuarenta minutos, de acuerdo a lo establecido en el **Reglamento Interno para la Obtención de Título Profesional de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca**, el Presidente del Jurado dio por iniciado el Acto de Sustentación, luego de concluida la exposición, los miembros del Jurado procedieron a la formulación de preguntas y posterior deliberación. Acto seguido, el Presidente del Jurado anunció la aprobación por unanimidad, con el calificativo de dieciséis (16); por tanto, el Bachiller queda expedito para proceder con los trámites que conlleven a la obtención del Título Profesional de **INGENIERO AGRÓNOMO**.

A las nueve horas y treinta minutos del mismo día, el Presidente del Jurado dio por concluido el Acto de Sustentación.

Dr. Isidro Rimarachín Cabrera  
PRESIDENTE

MBA. Ing. Santiago Demetrio Medina Miranda  
SECRETARIO

Ing. José Lizandro Silva Mego  
VOCAL

Ing. Alonso Vela Ahumada  
ASESOR

## DEDICATORIA

*A mi Madre Norma Mendoza, que estuvo siempre a mi lado, guiándome con su apoyo ilimitado e incondicional y dándome la fortaleza de salir adelante sin importar los obstáculos.*

*A mi Padre Wilmer Campos, brindándome su apoyo, enseñanzas, consejos y valores que me has dado el cual me ha ayudado a ser la persona que soy alcanzando cada una de mis metas.*

*A mis hermanos Mario, Wilmer y Brayan, por ser fieles compañeros a lo largo de mi vida y por el esfuerzo con el que contribuyeron en mi formación de ser una gran profesional.*

*A mi hijo Andy Campos Yañez, por ser mi pilar fundamental, mi mayor inspiración y la razón de todo mi esfuerzo, para nunca rendirme en los estudios y poder llegar a ser un ejemplo para él, porque cada paso que doy es por él.*

**El Autor**

## **AGRADECIMIENTOS**

Dar gracias a Dios por darme la salud, la paciencia y el despertar del día a día sin el nada hubiese podido ser posible.

A la Universidad Nacional de Cajamarca por haberme permitido formarme en ella.

Al Ing. Mg Sc. Jhon Vergara Copacondori, por su asesoreamiento y orientación durante la realización del presente trabajo de investigación.

Al Ing. Alonso Vela Ahumada por sus consejos claros, puntuales y su opinión siempre optimista, producto de su experiencia y conocimiento, fue un aporte valioso en la ejecución del presente trabajo de investigación.

Al Ing. Jhonatan Kenyo David Huamán Tucumango, por sus consejos y tiempo durante el cual tuvimos oportunidad de dialogar y discutir aspectos relacionados no solo al trabajo de tesis sino también de lo amplio, interesante e importante que resulta nuestra profesión.

Todos mis familiares y amigos a quienes me apoyaron en las diferentes etapas de ejecución del presente trabajo.

**El Autor**

## RESUMEN

La investigación fue realizada en el Laboratorio de Entomología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, distrito, provincia y región de Cajamarca, con el objetivo de evaluar la patogénesis de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) sobre babosas terrestres en condiciones de laboratorio. El hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) ( $T_4 = 16 \times 10^{10}$  conidias /litro) fue el que ocasionó la mayor mortalidad (100%), luego de 4 días posteriores a su aplicación, superando a *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. (50 %) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) (50 %). Los principales síntomas causados por *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) sobre babosas terrestres en laboratorio fueron la pérdida de movilidad, el hinchamiento y la presencia de micelio de los entomopatógenos.

**Palabras clave:** Babosas terrestres, entomopatógeno, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii* y *Metarhizium anisopliae*

## ABSTRACT

The research was carried out in the Entomology Laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences of the National University of Cajamarca, district, province and region of Cajamarca, with the objective of evaluating the pathogenesis of *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill, *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) and *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) on terrestrial slugs under laboratory conditions. The entomopathogenic fungus *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) ( $T_4 = 16 \times 10^{10}$  conidia / liter) was the one that caused the highest mortality (100%), after 4 days after its application, surpassing *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. (50%) and *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) (50%). The main symptoms caused by *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill, *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) and *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) on terrestrial slugs in the laboratory were loss of mobility, swelling and the presence of mycelium of the entomopathogens.

**Key words:** Land slugs, entomopathogen, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae*.

## ÍNDICE GENERAL

|                                                |              |
|------------------------------------------------|--------------|
| <b>DEDICATORIA</b>                             | <b>ii</b>    |
| <b>AGRADECIMIENTO</b>                          | <b>iii</b>   |
| <b>ÍNDICE GENERAL</b>                          | <b>vi</b>    |
| <b>ÍNDICE DE TABLAS</b>                        | <b>viii</b>  |
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>                       | <b>ix</b>    |
| <b>ÍNDICE DE ANEXOS</b>                        | <b>x</b>     |
| <b>RESUMEN</b>                                 | <b>iv</b>    |
| <b>ABSTRACT</b>                                | <b>v</b>     |
| <b>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN</b>                | <b>1</b>     |
| 1.1. Descripción del problema                  | 1            |
| 1.2. Formulación del problema                  | 3            |
| 1.3. Objetivos                                 | 3            |
| 1.3.1. Objetivos generales                     | 3            |
| 1.3.2. Objetivos específicos                   | 3            |
| 1.4. Hipótesis                                 | 3            |
| <br><b>CAPÍTULO II: REVISIÓN DE LITERATURA</b> | <br><b>4</b> |
| 2.1 Antecedentes                               | 4            |
| 2.2 Bases teóricas                             | 7            |
| 2.2.1 Patogénesis                              | 7            |
| a. Beauveria bassiana (Bals) Vuill.            | 7            |
| b. Lecanicillium lecanii (Zimm.)               | 7            |
| c. Metarhizium anisopliae (Metchnikoff)        | 7            |
| 2.2.2 Babosas terrestres                       | 8            |
| a. Taxonomía                                   | 8            |
| b. Morfología                                  | 8            |
| b.1 Huevo                                      | 8            |
| b.2 Juveniles                                  | 9            |
| b.3 Adulto                                     | 9            |
| c. Biología                                    | 10           |
| d. Ecología                                    | 11           |
| d.1 Temperatura                                | 11           |
| d.2 Humedad                                    | 11           |
| d.3 Luz                                        | 11           |



|                                                                                          |               |
|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| 2.2.3 Hongos entomopatógenos                                                             | 12            |
| a. Producción                                                                            | 12            |
| b. Composición                                                                           | 13            |
| c Ecotoxicología                                                                         | 13            |
| c -1 Impacto ambiental                                                                   | 13            |
| c -2 Riesgos y seguridad                                                                 | 13            |
| d - regulación y normas                                                                  | 14            |
| d -1 registro y aprobación                                                               | 14            |
| a. <i>Beauveria bassiana</i> (Bals) Vuill.                                               | 14            |
| a.1 Taxonomía                                                                            | 15            |
| a.2 Morfología                                                                           | 16            |
| a.3 Modo y mecanismo de acción                                                           | 16            |
| b. <i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.)                                                  | 17            |
| b.1 Taxonomía                                                                            | 17            |
| b.2 Morfología                                                                           | 18            |
| b.3 Modo y mecanismo de acción                                                           | 18            |
| c. <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff)                                           | 18            |
| c.1 Taxonomía                                                                            | 19            |
| c.2 Morfología                                                                           | 19            |
| c.3 Modo y mecanismo de acción                                                           | 20            |
| <br><b>CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS</b>                                            | <br><b>21</b> |
| 3.1 Ubicación                                                                            | 21            |
| 3.2 Materiales                                                                           | 23            |
| 3.2.1 Material biológico                                                                 | 23            |
| 3.2.2 Material y equipo de laboratorio                                                   | 23            |
| 3.3 Metodología                                                                          | 24            |
| 3.3.1 Trabajo de campo                                                                   | 24            |
| a. colecta de babosas terrestres                                                         | 24            |
| 3.3.2 Trabajo de laboratorio                                                             | 24            |
| a. crianza de babosas terrestres                                                         | 24            |
| b. preparación y disposición de tratamientos                                             | 24            |
| 3.3.3 Trabajo de gabinete                                                                | 27            |
| <br><b>CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>                                           | <br><b>22</b> |
| 4.1 Tratamiento 1 (T1): <i>Beauveria bassiana</i> (Bals) ( $8 \times 10^{10}$ conidias)  | 28            |
| 4.2 Tratamiento 2 (T2): <i>Beauveria bassiana</i> (Bals) ( $16 \times 10^{10}$ conidias) | 30            |

|                                                                                                     |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.3 Tratamiento 3 (T3): <i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.) ( $8 \times 10^{10}$ conidias)         | 32        |
| 4.4 Tratamiento 4 (T4): <i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.) ( $16 \times 10^{10}$ conidias)        | 34        |
| 4.5 Tratamiento 5 (T5): <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff) ( $8 \times 10^{10}$ conidias)  | 36        |
| 4.6 Tratamiento 6 (T6): <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff) ( $16 \times 10^{10}$ conidias) | 38        |
| 4.7 Comparación entre tratamientos                                                                  | 39        |
| <b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>                                                   | <b>44</b> |
| 5.1 Conclusiones                                                                                    | 44        |
| 5.2 Recomendaciones                                                                                 | 44        |
| <b>CAPÍTULO VI: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>                                                      | <b>45</b> |
| <b>CAPÍTULO VII: ANEXOS</b>                                                                         | <b>49</b> |

## ÍNDICE DE TABLAS

| <b>Tabla</b> | <b>Título</b>                                                                           | <b>Página</b> |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| 1            | Tratamientos en estudios                                                                | 25            |
| 2            | Número de babosas terrestres enfermas y muertas                                         | 28            |
| 3            | Número de babosas terrestres enfermas y muertas                                         | 30            |
| 4            | Número de babosas terrestres enfermas y muertas                                         | 32            |
| 5            | Número de babosas terrestres enfermas y muertas                                         | 34            |
| 6            | Número de babosas terrestres enfermas y muertas                                         | 36            |
| 7            | Número de babosas terrestres enfermas y muertas                                         | 38            |
| 8            | Análisis de varianza (ANOVA) para el número de babosas terrestres muertas               | 41            |
| 9            | Prueba de Tukey al 5 % de probabilidad para los niveles del factor hongo entomopatógeno | 42            |
| 10           | Porcentaje de mortalidad                                                                | 43            |

## ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | Título                                                                                                                    | Página |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1      | Ubicación del experimento.                                                                                                | 22     |
| 2      | Distribución de los tratamientos en laboratorio.                                                                          | 26     |
| 3      | Número de babosas terrestres enfermas y muertas.                                                                          | 28     |
| 4      | Número de babosas terrestres enfermas y muertas.                                                                          | 30     |
| 5      | Número de babosas terrestres enfermas y muertas.                                                                          | 32     |
| 6      | Número de babosas terrestres enfermas y muertas.                                                                          | 34     |
| 7      | Número de babosas terrestres enfermas y muertas.                                                                          | 36     |
| 8      | Número de babosas terrestres enfermas y muertas.                                                                          | 38     |
| 9      | Comparación del efecto entre Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae y Lecanicillium lecanii. En la primera evaluación | 40     |
| 10     | Comparación del efecto entre Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae y Lecanicillium lecanii. En la segunda evaluación | 43     |
| 11     | <i>Campo de cultivo de alfalfa en el Fundo La Victoria</i>                                                                | 51     |
| 12.    | <i>Campo de cultivo de alfalfa en el Fundo Tartar.</i>                                                                    | 51     |
| 13     | Regulación de ph                                                                                                          | 52     |
| 14     | Aplicación de entomopatogenos                                                                                             | 52     |
| 15     | Efecto Metarhizium anisopliae (Metchnikoff)                                                                               | 53     |
| 16     | Efecto Lecanicillium lecanii (Zimm.)                                                                                      | 53     |
| 17.    | Efecto de Beauveria bassiana (Bals)                                                                                       | 54     |

## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

Las babosas terrestres son moluscos que pertenecen a la Clase Gasterópoda, Orden Stylommatophora, siendo las familias Agriolimacidae, Limacidae, Milacidae y Arionidae, aquellas que se encuentran relacionadas a la agricultura (Hammond et al., 1996; Castillejo, 1997). Son responsables de causar importantes pérdidas económicas en diversos cultivos agrícolas, ocasionando perforaciones en las hojas, devorando las raíces y manchando las plantas con una secreción mucosa; desmejorando su calidad comercial. Así mismo, se constituyen en hospederos intermediarios de nematodos responsables de producir infecciones intestinales en el ser humano.

Dentro de los métodos de control sanitario destacan las prácticas culturales, mediante la labranza del suelo, las cuales permiten exponer a los estados de desarrollo de huevo, juvenil y adulto a los factores abióticos adversos y a sus enemigos naturales, así como, provoca la muerte de individuos por acción directa de los implementos agrícolas, reduciendo su densidad poblacional. Las del tipo químico, a través de la utilización de cebos tóxicos (carbamatos o metaldehídos), interfieren en el control natural ejercido por diversos organismos, pero en mayor grado generan el desequilibrio ecológico de los ecosistemas agrícolas.

Alternativas de control microbiológico de babosas terrestres en nuestro país, son poco conocidas; sin embargo, a nivel mundial, de manera especial en Europa, investigadores han encontrado algunos organismos asociados a las babosas, los cuales se constituyen en una alternativa potencial de manejo sanitario, pues se resalta el parasitismo ocasionado por el nemátodo *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Schneider) en varias especies de babosas, contribuyendo a la regulación de su densidad poblacional en forma natural, sin provocar efectos adversos en la calidad ambiental de los agroecosistemas.

Las medidas sanitarias implementadas para el control de babosas en campos de cultivo, en especial, son del tipo químico, sin el mínimo conocimiento del manejo y uso seguro de plaguicidas, lo que ha conllevado a la generación de resistencia en estos organismos y a la afectación de las características ecológicas inherentes a la biocenosis de los ecosistemas. Cabe destacar, que en las últimas décadas las investigaciones relacionadas al manejo sanitario de babosas hacen énfasis en la búsqueda de alternativas de control del tipo ecológico, dentro de ellas, las epizootias provocadas por entomopatógenos.

### **1.1. Descripción del problema**

Los agricultores dedicados al manejo agronómico del cultivo de alfalfa en Cajamarca, refieren que durante la ocurrencia de precipitaciones (estación lluviosa o época húmeda), las babosas adquieren importancia sanitaria, debido a las comeduras que realizan en las hojas y a la transmisión de microorganismos que afectan la salud de los animales mayores y menores que emplean éste forraje como alimento. La implementación de tácticas culturales, no han permitido el control efectivo de dicha especie plaga, por lo que, y al ser escasa la información relacionada con su manejo sanitario, surge la necesidad de desarrollar e implementar investigaciones relacionadas a la utilización de hongos entomopatógenos para reducir su densidad poblacional y, por consiguiente, evitar los daños ocasionados en las plantas, al tratarse de una alternativa sanitaria del tipo ecológica enmarcada dentro de los parámetros de la producción agrícola sustentable.

## **1.2. Formulación del problema**

¿Cuál es el efecto de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) sobre babosas terrestres en laboratorio?

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 Objetivo general**

- Determinar el efecto de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) sobre babosas terrestres en laboratorio.

### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Evaluar la sintomatología que produce *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) sobre babosas terrestres en laboratorio.
- Evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) sobre babosas terrestres en laboratorio.

## **1.4. Hipótesis**

H0: Ninguno de los productos entomopatogenos utilizados es eficaz en el control de babosas terrestres en laboratorio.

H1: Al menos uno de los productos de entomopatogenos utilizados es eficaz en el control de babosas terrestres en laboratorio.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1 Antecedentes

Zapata (2023), evaluó la capacidad de patogenicidad del hongo *Pochonia chlamydosporia* en conjunto con el ácido bórico y el extracto de ají, como alternativa en el biocontrol de babosas. Para alcanzar los objetivos propuestos, el hongo es activado en medio PDA para posteriormente realizar las pruebas de compatibilidad, luego, se realiza el debido seguimiento a los ensayos para seleccionar las concentraciones adecuadas que pasarán a la prueba de patogenicidad sobre los invertebrados. El bioproducto “POKONIA ® SC” que tiene como principio activo a *Pochonia chlamydosporia* es mezclado con las soluciones establecidas para realizar el control en las plagas, con el fin último de observar el rendimiento y eficacia del nuevo bioformulado.

Saico (2014), empleó tres métodos para el control de babosas: preparación de cebos caseros, control químico (caracolicidas) y, trampa con cerveza, en parcelas experimentales establecidas bajo el diseño de parcelas divididas en bloques completamente al azar. El tiempo de permanencia de las babosas dentro de los cultivos se prolonga desde agosto y septiembre disminuyendo la población en octubre por la falta de alimento, presentándose como mayor número de babosas hasta 16 en solo una planta. Siendo la acelga china el cultivo con mayor incidencia de babosas. Los daños del cultivo de la lechuga crespa se registraron a los 14 días después del trasplante. Y en el cultivo de acelga china el daño comenzó a los 12 días. Se aplicaron tres métodos de control de babosas y se obtuvieron los siguientes porcentajes: Preparación de cebos caseros con un promedio de 75,2 %, de eficiencia en la lechuga crespa, y en el caso de la acelga china el promedio fue de 79,6 %. Control químico (19,2 % en lechuga crespa



y 44,8 % en acelga china). Trampa en cerveza (33,5 % en lechuga crespa y 47,8 % en acelga china).

France et al. (2002) evaluó el efecto del nemátodo *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Schneider) en el control de babosas (*Deroceras reticulatum* Müller) en condiciones de laboratorio y campo. El nemátodo fue introducido desde Inglaterra. Luego de la cuarentena, *P. hermaphrodita* fue inoculado en *D. reticulatum* y evaluado diariamente por síntomas y mortalidad. En laboratorio el nematodo causó la mortalidad de la totalidad de las poblaciones de babosas a los 20 días de post inoculación, produciendo una notoria disminución del apetito desde los primeros días de la inoculación. En terreno, los experimentos se realizaron en campos de cero labranzas, con una población de babosas que superó los 100 ejemplares por m<sup>2</sup>. Las siembras de lupino (*Lupinus albus* L.) tratadas con nemátodos tuvieron una disminución significativa de 51 % menos de daño, comparadas con las siembras sin control. También se observó un efecto significativo en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) como segunda siembra, reflejado en que el maíz sembrado en las parcelas tratadas con nemátodos en el cultivo anterior, mantuvieron una disminución en las plantas dañadas por babosas y el consumo de área foliar decreció entre 61a 89 %, comparado con las parcelas testigos.

Salazar y Granados (2014), evaluaron el efecto de diferentes tácticas para el manejo de babosas terrestres en dos fincas productoras de lechuga (*Lactuca sativa* L. var Fallgreen), en la zona de El Guarco, Cartago, Costa Rica, el mismo se realizó durante el periodo de septiembre a diciembre del año 2014. En cada finca se seleccionó un área de 1000 m<sup>2</sup>, se demarcaron 24 unidades experimentales compuestas cada de cinco camas, con una distancia entre ellas de 2,5 m, las fincas se codificaron como finca bajo sistema de riego por goteo y finca bajo sistema de riego por aspersión, se evaluó el efecto de dos extractos botánicos (mostaza y chile + ajo), dos microorganismos entomopatógenos (*Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*), un metaldehído en dos

concentraciones (5 % y 6 %), así como, dos tipos de trampas (sacos humedecidos y mezcla de levaduras), las aplicaciones se realizaron en diferentes momentos mientras que los muestreos para determinar la densidad poblacional se realizaron cada 8 días durante todo el ciclo del cultivo entre las 6:00 a.m. y 8:00 a.m. Además, durante todo el ciclo del cultivo se realizaron observaciones de los diferentes daños para proponer una escala diagramática.

## **2.2 Bases teóricas**

### **2.2.1 Patogénesis**

Patogenicidad es la capacidad de un organismo en provocar una enfermedad. Es un atributo cualitativo, es decir un microorganismo puede o no ser patogénico. (Carballo, M, 2004).

#### **a. *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill**

La patogénesis se inicia por la adhesión de conidias a la cutícula del insecto (Rosas, 1999). Seguidamente se forma el tubo germinativo y a partir de él, se desarrolla el apresorio, estructura que ejerce presión deformando primeramente la capa cuticular luego rompiendo las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula; al mismo tiempo libera varios tipos de enzimas de actividad hidrolítica como proteasas, lipasas y quitinasas las cuales degradan el tejido facilitando la entrada del hongo (Monzón, 2001).

Otro mecanismo de penetración es a través de la cavidad bucal, espiráculos y otras aberturas externas del insecto (Téllez et al., 2009).

#### **b. *Lecanicillium lecanii* (Zimm.)**

Tiene la particularidad de infectar a los insectos directamente a través de la penetración de la cutícula y tiene mecanismos de acción que le confieren una alta capacidad para evitar que el hospedero desarrolle resistencia. Y se puede mencionar los mecanismos de acción del entomopatógeno en tres fases: (1) Adhesión, germinación de la espora en la cutícula del insecto, (2) penetración en el sistema hemocèle y (3) desarrollo del hongo, lo cual generalmente resulta en la muerte del insecto (Carreño, 2003).

#### **c. *Metarhizium anisopliae* (Metchnikof)**

Los insectos infectados se tornan duros y cubiertos por una capa pulverulenta de conidios. Al final de la conidiogénesis el insecto puede mostrar tonos verdes que varían de claro a oscuro, grisáceos o aún blancuzcos con puntos verdes (Monzón, 2001). La enfermedad es conocida como muscardina verde contrastando con la muscardina blanca provocada con *B. bassiana* (Alves, 1998).

### 2.2.2 Babosas terrestres

Las babosas terrestres son moluscos que pertenecen a la Clase Gastrópoda, Orden Stylommatophora, destacando las familias Agriolimacidae, Limacidae, Milacidae y Arionidae, por estar relacionadas con la producción agrícola. La especie más común en el mundo afectando cultivos agrícolas corresponde a la babosa chica gris (*Deroceras reticulatum* Müller) (Hammond et al., 1996; Castillejo, 1997).

#### a. Taxonomía

Según Castillejo (1998), la taxonomía de la babosa terrestre es la siguiente:

|          |   |                 |
|----------|---|-----------------|
| Reino    | : | Animalia        |
| Filo     | : | Mollusca        |
| Subreino | : | Eumetazoa       |
| Clase    | : | Gastropoda      |
| Subclase | : | Pulmonata       |
| Orden    | : | Stylommatophora |

#### b. Morfología

**b.1 Huevo.** Es de forma ovoide, su coloración está relacionada con el estado de desarrollo, mostrándose al inicio traslúcido y luego amarillo claro (Constantino et al., 2010; Coto y Saunders, 1987).

Tienen apariencia acuosa o gelatinosa, son ovoides o esféricos, miden entre 3 y 5 mm de diámetro y son depositados en grupos de 20 a 30 (pueden variar entre 2 y 100 unidades) cubiertos con una secreción mucosa, en el suelo, debajo de maderas, piedras, residuos vegetales o terrones (Latorre, 1990).

Metcalf (1998), menciona que la babosa es capaz de producir hasta 100 huevos, pero, en promedio se limita a 50 o hasta 60. Estos huevos son de color blanco a amarillo y puestos en masas, en lugares húmedos, bajo la hojarasca. El período de incubación de los huevos es de 28 a 30 días.

**b.2 Juveniles.** Se caracterizan por la complejidad de las gónadas y la aparición de células formadoras de esperma; finalmente se presenta el estado de pubertad siendo esta la última etapa antes de pasar a la fase adulta y en donde se presenta la diferenciación del esperma (Coto y Saunders, 1987).

Los individuos jóvenes son por lo general idénticos a los adultos, salvo por el menor tamaño corporal y la escasa diferenciación de los órganos del aparato reproductor, siendo el desarrollo de tipo directo (Quick, 1960).

Los estados juveniles aparecen en primavera y alcanzan la madurez después de 1,5 a 5 meses, según la especie y las condiciones ambientales. En localidades con clima templado, las babosas viven algo menos de un año, pero en invierno llegan hasta los 18 meses, aproximadamente (Latorre, 1990).

**b.3 Adulto.** Es hermafrodita, sin embargo, el espermio y el óvulo maduran en distinto período, por lo que se da una fase como macho y una fase como hembra, siendo posible, pero menos común la autofecundación. El apareamiento entre dos individuos es lo más común, en donde el dardo (aparato reproductor masculino) penetra en cada uno de los individuos, por lo que se da una cópula recíproca, con material reproductivo en ambos organismos (Aguilera, 2001).

Las babosas carecen de una concha donde puedan guardarse cuando las condiciones del medio son adversas, por lo tanto, necesitan vivir en zonas húmedas y el mayor grado de actividad, consecuentemente, lo presentan por la noche cuando la humedad ambiental es alta. La actividad nocturna también reduce el riesgo de la depredación (Castillejo 1998).

### **c. Biología**

Las babosas son hermafroditas, colocan sus huevos en zonas húmedas y ricas en materia orgánica, bajo hojarasca, escombros, piedras o terrones, en grupos de 20 a 100 huevos pegados entre sí, cubiertos por una capa mucosa, el período de incubación varía de 24 a 30 días, el ciclo de vida es de aproximadamente 12 meses (Ocampo y López, 2023).

El periodo de incubación es de 15 a 25 días, dependiendo de la temperatura y humedad a la que estén expuestos los huevos, no todos los óvulos son fértiles. Al nacer, son muy pequeños y pesan alrededor de 0,04 gramos. A los 6 meses, alcanzan la vida adulta, y a los 8 inician a reproducirse (Aguerre, 2024).

El ciclo de vida de una babosa terrestre incluye una etapa de huevo, una etapa larval, en esta etapa se encuentra dos fases una infantil y la otra juvenil, y por último una etapa adulta. Sus huevos suelen ser de forma ovoide y presentan diferentes colores según la etapa de desarrollo. Inicialmente parecen transparentes y luego se vuelven de color amarillo pálido. En la etapa larval, la fase juvenil se caracteriza por la presencia de gónadas indiferenciadas, mientras que en la fase juvenil hay un crecimiento más rápido, aparición de células formadoras de espermatozoides y finalmente, se produce la maduración, las cuales son hermafroditas, sin embargo, el espermio y el ovulo maduran en distinto período, por lo que, se da una fase como macho y una fase como hembra, siendo posible, pero menos común la autofecundación. El apareamiento entre dos individuos es lo más común, en donde el dardo (aparato reproductor masculino) penetra en cada uno de los individuos, por lo que, se da una cópula recíproca, con material reproductivo en ambos organismos (Coto y Saunders, 1987).

## **d. Ecología y comportamiento**

**d.1 Temperatura.** Chichester y Getz (1973), reportan que los rangos de temperatura ideales para su desarrollo oscilan entre 15 °C y 23 °C, siendo la temperatura óptima 21 °C para la incubación de los huevos y el desarrollo normal de los adultos.

La cantidad de alimento ingerido y el desarrollo favorable depende de la temperatura, la temperatura óptima fluctúa entre 15 a 25 °C (Latorre, 1990; Serre, 2005).

La temperatura afecta al período de incubación, a 5 °C la incubación dura cerca de tres meses; mientras que, a 20 °C durará de dos a tres semanas (Cañedo et al. 2010, University of Florida, 2011).

**d.2 Humedad.** Chichester y Getz (1973), mencionan que las babosas son susceptibles a la desecación y a la radiación ultravioleta, razón por la cual los requerimientos de humedad son altos (entre los 40 y 80 %). Por su parte Barrientos (2010) menciona que, suelos húmedos y sueltos, con disponibilidad de materia orgánica, favorecen la proliferación de éstas, de igual forma, el pH del suelo juega un papel importante, ya que niveles cercanos a los 7,3 las benefician, mientras que, los suelos arenosos no les son atractivos debido a que éstos tienen buena capacidad de drenaje y poca retención de humedad (Port y Ester, 2002).

Humedades relativas superiores al 80 % favorecen el desarrollo, la humedad del suelo (primeros 5 cm) afecta la densidad poblacional de babosas; por ejemplo, para oviponer las hembras requieren humedades que oscilen entre 40 y 80 % (Cañedo et al. 2010). En ambientes secos se inactivan y penetran en hendiduras del suelo para hibernar (Latorre, 1990, COLPROCAH, 2011).

**d.3 Luz.** Aguilera (2001), refiere que las babosas terrestres son más activas durante períodos nocturnos, son más visibles en las primeras horas de la mañana, durante las últimas horas de la tarde y en las noches.

La actividad de las babosas comienza de cuatro a seis horas después de terminar el día, si las noches son frías y muy tormentosas su actividad se reduce notablemente. Al comenzar el día, para protegerse, buscan lugares frescos y húmedos, debajo de las piedras, escombros, siembras de hortalizas y jardines. Su ciclo de vida dura dos años, en condiciones adecuadas para su desarrollo (Coto y Saunders, 1987).

### **2.2.3 Hongos entomopatógenos**

Los organismos entomopatógenos son agentes biocontroladores ambientalmente más adecuados que los plaguicidas químicos, pues no son nocivos para la salud humana y el medioambiente (Ahamed y Leather, 2008).

Desde hace años, se ha considerado el uso de agentes biocontroladores, entre los cuales se encuentran cuatro grandes grupos de microorganismos entomopatógenos: bacterias, virus, hongos y nemátodos (Huffaker, 1976).

Son microorganismos parásitos obligados o facultativos, con una alta capacidad de esporulación, sobrevivencia y parasitismo. Se les considera importantes por el potencial que tiene su población para poder penetrar en su hospedero en poco tiempo; en condiciones naturales requiere de humedad, pH y temperatura adecuada para su dispersión (INIA, 2016).

Los hongos entomopatógenos son microorganismos que tienen la capacidad de secretar toxinas y enzimas que invaden a las denominadas plagas, organismos fitófagos que afectan a los diferentes cultivos: hortícolas, ornamentales y agrícolas, y que causan la disminución de su producción, además de aumentar considerablemente el costo de mantenimiento de las cosechas. En general, los hongos entomopatógenos, debilitan y causan la muerte de la plaga cuando esta última lo ingiere, el hongo pasa entonces al interior del organismo hasta colonizar sus células e infectar el hemocèle (Speiser y Kistler, 2002).

**a. Producción.** Nava (2012), indicó que los plaguicidas naturales son elaborados a partir de extractos naturales de plantas y microorganismos (hongos y bacterias), estos



últimos segregan toxinas que ocasionan efectos bioplaguicidas sobre larvas e insectos adultos, por lo general, solo actúa sobre la plaga a la cual está dirigida. Urra (2015) refirió que pueden multiplicarse en grandes cantidades y se aplican de manera fácil mediante fumigaciones o a través del agua de riego.

**b. Composición.** Cabe destacar que los productos naturales están formados por fenoles, terpenoides, hidratos de carbono, compuestos azufrados y nitrogenados, cumplen funciones ecológicas específicas como atrayentes o repelentes de insectos, jugando un papel importante al atraer insectos polinizadores, también cumplen una función protectora proporcionando a la planta un mecanismo de defensa frente a patógenos actuando como pesticida natural, los principales compuestos químicos naturales producidos por las plantas son los alcaloides, piretrinas y aceites esenciales, sustancias alelopáticas, pigmentos y fitoalexinas (Ringuelet y Viña, 2013), en el caso de los hongos, estos producen micotoxinas, tales como, aflatoxinas, fumonisinas, ocratoxina A, patulina, tricotecenos, zearalenona, ácido oxálico, entre otros (SENASA, 2014).

### **c. Ecotoxicología**

**c.1 Impacto ambiental.** Los entomopatógenos son microorganismos de valor ecológico, al realizar funciones de regulación en insectos, son una opción viable para la elaboración de bioplaguicidas que permitan el control de los mismos sin contaminación del medio ambiente (Motta y Murcia, 2011), así mismo, Urra (2015) mencionó que los hongos entomopatógenos, no dejan residuos nocivos, no son peligrosos para la salud humana, no genera daños en los animales ni aves y no son peligrosos para insectos polinizadores como las abejas.

**c.2 Riesgos y seguridad.** Los hongos entomopatógenos usados para el control de insectos plaga son muy seguros, pero pueden causar reacciones alérgicas si son inhalados, por tal motivo, se recomienda usar guantes para realizar el lavado del arroz y usar mascarilla durante el proceso de preparación y aplicación, evitar todo contacto

innecesario con el producto, no ingerirlo ni inhalarlo, no fumar o comer durante su manipuleo, lavarse y cambiar de ropa después del trabajo (SENASA, 2014).

#### **d. Regulación y normas**

**d.1 Norma legal.** El Decreto Supremo que aprueba el Reglamento del Sistema Nacional de Plaguicidas de Uso Agrícola DECRETO SUPREMO N° 001-2015-MINAGRI, tiene por objeto crear el Sistema Nacional de Plaguicidas de Uso Agrícola con la finalidad de prevenir y proteger la salud humana y el ambiente, garantizar la eficacia biológica de los productos, así como, orientar su uso y manejo adecuado mediante la adopción de buenas prácticas agrícolas en todas las actividades del ciclo de vida de los plaguicidas (SENASA, 2015).

**d.2 Registro y aprobación.** Para la obtención y aprobación del Registro Nacional de Plaguicidas de Uso Agrícola tanto químicos como biológicos, el interesado presentará al SENASA el formato de solicitud de registro, acompañando la siguiente información: Dictamen toxicológico favorable emitido por la Autoridad de Salud, dictamen ambiental favorable emitido por la Autoridad Ambiental del Sector Agrario, dictamen agronómico emitido por la autoridad en Sanidad Agraria, recibo de pago correspondiente. La evaluación para el registro solo lo realiza SENASA, el plazo para emitir el resultado de la evaluación es de sesenta días hábiles, contados desde el día siguiente de la fecha de presentación de los requisitos. El SENASA publicará mensualmente en su portal institucional la relación de Plaguicidas de Uso Agrícola registrados durante el mes anterior, de igual manera publicará, en el mes de enero de cada año, la relación de productos con registro vigente y la relación anual de los plaguicidas restringidos, prohibidos y cancelados (SENASA, 2015).

#### **2.2.4 *Beauveria bassiana* (Bals) Vuillemin.**

Ha sido registrado infectando a más de 200 especies de insectos de diferentes órdenes, incluyendo plagas de gran importancia agrícola. Entre las plagas más importantes controladas por este hongo están la broca del café, la palomilla del repollo y el picudo del plátano. Los insectos infectados por este hongo presentan una cubierta

blanca algodonosa sobre el cuerpo, la cual está formada por el micelio y esporas del hongo (Monzón, 2001).

Ferron (1978), menciona que los factores que más influyen en el desarrollo y la patogenicidad de los hongos entomopatógenos, así como, en el desarrollo de la enfermedad a nivel epizootico son la temperatura, humedad relativa y luz. González (2003), indicó que el crecimiento micelial de *B. bassiana* es estimulado por la luz.

*Beauveria bassiana* es un hongo que se ha reportado como patógeno de artrópodos. Anteriormente se había clasificado dentro del género *Beauveria* Vuill., junto con tres especies de importancia agrícola, *B. bassiana*, *B. brongniartii* y *B. alba* (Hoog, 1972)

**a.1 Taxonomía.** Según Kirk et al., (2008); Ruggiero et al., (2015) & Imoulan (2017), la clasificación taxonómica de *B. bassiana* es la siguiente:

|              |                                             |
|--------------|---------------------------------------------|
| Super reino: | Eukaryota                                   |
| Reino:       | Fungi.                                      |
| Sub Reino:   | Dykaria (Neomycota)                         |
| Filo:        | Ascomycota.                                 |
| Sub filo:    | Pezizomycotina.                             |
| Clase:       | Sordariomycetes.                            |
| Subclase:    | Hypocreomycetidae.                          |
| Orden:       | Hypocreales.                                |
| Familia:     | Cordycipitaceae.                            |
| Género:      | <i>Beauveria</i> .                          |
| Especie:     | <i>Beauveria bassiana</i> (Bals) Vuillemin. |

## **a.2 Morfología**

Presenta micelio blanco, conidióforos sencillos, irregularmente agrupados o en grupos verticilados, en algunas especies se hincha en la base y se adelgaza hacia la porción que sostiene la conidia. Las conidias son hialinas, redondeadas a ovoides y unicelulares. *Beauveria bassiana* posee conidias de globosas a subglobosas y las estructuras conidióforas forman densos grupos (Barnett, 1960).

Se caracteriza por presentar células conidiógenas globosas a sub-globosas (2 - 3 x 2,0 - 2,5  $\mu\text{m}$ ) con un cuello muy corto, las estructuras conidiógenas forman grandes grupos, conidióforos apiñados formando sinnemas o grupos de conidióforos muy juntos, las conidias son hialinas y lisas, raquis en zig - zag (Castillo et al., 2011).

## **a.3 Modo y mecanismo de acción**

Se inicia cuando el conidio se adhiere a la cutícula del insecto hospedante susceptible. El conidio germina en la superficie del cuerpo del insecto y de modo mecánico penetra el integumento a través del tubo germinativo. Durante este proceso intervienen enzimas extracelulares relacionadas con la patogénesis tales como: proteasas, lipasas, ureasas y quitinasas entre otras, que hidrolizan los componentes cuticulares. La presencia de enzimas hidrolíticas suele facilitar cada etapa de infección del hongo y adicionalmente puede ser importante en la invasión del hemocele del insecto (Zhanga et al., 2008).

Dentro del hemocele, el hongo coloniza y se dispersa en la hemolinfa, emitiendo al medio metabolitos secundarios del tipo micotóxico (beauvericina) los cuales afectan diferentes actividades fisiológicas y órganos vitales del insecto hasta producirle la parálisis y posteriormente, su muerte en un lapso variable de 4 y 8 días (Castillo et al., 2012). Finalmente las hifas penetran la cutícula desde el interior del insecto y emergen a la superficie, donde en condiciones ambientales apropiadas inician la formación de nuevas conidiosporas (Carrillo, 2009).

La fase de patogénesis ocurre cuando los conidios entran en contacto con el tejido vivo del hospedero emitiendo el tubo germinativo. En la penetración hay una acción mecánica y enzimática; enzimas como la quitinasa, proteasa y lipasa actúan de manera sinérgica para digerir y penetrar la epicutícula esto ocurre entre las 24 y 48 horas siguientes (Ratault, 1977).

#### **2.2.5. *Lecanicillium lecanii* (Zimm.)**

*Lecanicillium lecanii* posee una amplia distribución mundial, este hongo ha sido aislado de sustratos como suelo y de insectos en todas sus etapas de desarrollo. Puede crecer a una temperatura entre 4 °C y 30 °C y la humedad relativa óptima para la germinación de los conidios se encuentra entre 90 y 95 %. Se han desarrollado cepas altamente virulentas y epizooticas como agentes biocontroladores de ciertos insectos, también es un micoparásito de royas (Montalva, 2008).

*Lecanicillium lecanii* está distribuido por todo el mundo y en América del Sur existen más de 50 especies, de las cuales muy pocas son producidas en laboratorios masivamente con fines comercializables para un Control Biológico (Carreño, 2003).

#### **b.1 Taxonomía**

|             |   |                                                             |
|-------------|---|-------------------------------------------------------------|
| Reino       | : | Myceteae                                                    |
| División    | : | Amastigomycota                                              |
| Subdivisión | : | Deuteromycotina                                             |
| Clase       | : | Hyphomycetidae                                              |
| Orden       | : | Moniliales                                                  |
| Familia     | : | Moniliaceae                                                 |
| Género      | : | <i>Lecanicillium</i> (=Verticillium)                        |
| Especie     | : | <i>Lecanicillium</i> (=Verticillium) <i>lecanii</i> (Zimm.) |

(Alexopoulos y Mims, 1979).

## **b.2 Morfología**

Sus conidióforos son solitarios o verticilados y postrados, que llevan apicalmente masas de conidias hialinas, subglobosas, ovales, falcadas, fusiformes, subcilíndricas unicelulares, no adhesivos y no presentan estructuras de latencia (Herrero, 2011).

Gómez et al. (2011), refieren que presenta micelio tabicado, conidióforos simples o verticilados, más anchos en la base y adelgazándose hacia los extremos, en donde se encuentran los conidios agrupados en cabezuelas, rodeados de una sustancia mucilaginosa, unicelulares, hialinos, de forma cilíndrica a ovoide.

## **b.3 Modo y mecanismo de acción**

El micelio produce una toxina llamada ciclodepsipéptido bassianolide, que se ha demostrado que mata a las larvas de *Bombyx mori* L., además produce otras toxinas como el ácido dipicolínico y el ácido oxálico; la actividad depende de la calidad de cepa del hongo, los insectos se infectan cuando entran en contacto con las esporas del hongo que crece y luego invade el cuerpo. Los individuos infectados aparecen de color blanco a amarillento semejando partículas de algodón, los insectos enfermos suelen aparecer a los 7 días; sin embargo, debido a las condiciones ambientales, puede haber un retraso en el tiempo de muerte del insecto, una función adecuada es a una temperatura de 15 a 25 °C y una humedad relativa de 85 a 90 %, el hongo necesita humedad alta, por lo menos 10 a 12 horas para tener un buen desarrollo sobre el huésped (Monzón, 1992).

### **2.2.6 *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff)**

Este patógeno infecta a más de 300 especies de insectos de diversos órdenes. 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 (Monzón, 2001).

Este género se caracteriza por presentar conidióforos que forman una capa de esporas, las fiálides pueden estar solas, en pares o en manojos; los conidios se

producen en cadenas de basipétalos compactados en columnas, son ovoides o cilíndricos, unicelulares. Los conidios pueden ser hialinos o ligeramente pigmentados de verde oliva con un tamaño de 7 - 9 µm de largo y 4,5 - 5 µm de ancho (Domsch y Gams, 1980).

*Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, es el agente causal de la muscardina verde y es un patógeno de más de 300 especies de siete órdenes de insectos. Los coleópteros son los hospederos más comunes. Es el segundo hongo entomopatógeno más usado en el control microbial y es el hongo más utilizado en Latinoamérica (Carballo, 2004).

### **c.1 Taxonomía**

Según Monzón (2001) la clasificación taxonómica de *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) es la siguiente:

|             |   |                                             |
|-------------|---|---------------------------------------------|
| Reino       | : | Myceteae                                    |
| División    | : | Amastigomycota                              |
| Subdivisión | : | Deuteromycotina                             |
| Orden       | : | Moniliales                                  |
| Familia     | : | Moniliaceae                                 |
| Género      | : | <i>Metarhizium</i>                          |
| Especie     | : | <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff) |

### **c.2 Morfología**

*Metarhizium anisopliae* se caracteriza por presentar micelio de color verde oliva e hifas lisas y septadas ( Guerrero et al. 1999 ) conidióforos en montículos bajos, cubiertos por conidios, erectos, ramificados, agrupados estrecha o ligeramente, formando una capa esporulante; célula esporógena (phialides) nacida individualmente, en pares o en verticilos; conidios apicales, producidos en una cadena basípeta, compactados en columnas, de largos, ovoides a cilíndricos, con extremos redondeados, unicelulares, de color verde oliva en masa (Barnett 1960). Según

Domsch y Gams, citado por Acosta (2016) los conidios presentan un tamaño de 7- 9  $\mu\text{m}$  de largo y 4,5- 5  $\mu\text{m}$  de ancho.

Presenta una colonia pegada al medio (PDA), completamente redonda, de colores oliváceo, amarillento, verdoso, marrón oscuro, dependiendo del aislamiento, con un revés incoloro a marrón, a veces verdoso citrino. Los conidióforos nacen del micelio y son irregularmente ramificados con dos o tres ramas en cada septo, mide de 4 a 14  $\mu$  de longitud x 1,5 a 2,5 de diámetro. Las fiálides son cilíndricas en forma de clava, adelgazadas en el ápice, miden de 6 a 13  $\mu$  y de 2 a 4  $\mu$  de diámetro, las conidias son unicelulares, cilíndricas y truncadas formadas en cadenas muy largas, hialinas a verde oliváceo, miden de 3,5  $\mu$  de longitud x 1,5 a 3,5  $\mu$  de diámetro (Cañedo y Ames, 2004).

### **c.3 Modo y mecanismo de acción**

El mecanismo de acción químico de *M. anisopliae* consiste en efectos enzimáticos 48 horas post infección, principalmente por proteasas, aminopeptidasas, lipasas, esterases y Nacetil-glucosamidasa (quitinasas). Estas enzimas causan la degradación de la cutícula del insecto, lo que facilita la penetración física del tubo germinativo y la digestión del integumento sigue con una secuencia lipasa-proteasa-quitinasa que debilita la cutícula (Tanada y Kaaya, 1993). 96 h post infección, las hifas colonizan el huésped y el hongo se disemina vía hemolinfa y produce blastosporas y cuerpos filamentosos de hifas que invaden el sistema inmune del hospedero y se multiplican rápidamente en los tejidos. Además, producen dos familias de toxinas; las destruxinas y las citocalasinas, las cuales inhiben el sistema inmunológico del artrópodo, causan su muerte y generan efectos sobre la fecundidad y viabilidad de los huevos ovipositados (Schränk y Henning, 2010). Después de la muerte del insecto y cuando las condiciones de humedad relativa son adecuadas, ocurre la emergencia del micelio a través del tegumento, éste crece en la superficie y esporula después de 48 a 60 h de la muerte del hospedero (Gillespie y Claydon, 1989).



## **CAPÍTULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Ubicación**

La investigación fue realizada en el Laboratorio de Entomología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, geográficamente localizado a 7° 10' 03" de latitud sur, 78° 29' 35" de longitud oeste y a una altitud de 2536 m s.n.m.

*Ubicación del experimento.*



## **3.2 Materiales**

### **3.2.1 Material biológico**

Babosas terrestres en sus diferentes estados de desarrollo.

Conidias de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.

Conidias de *Lecanicillium* (=Verticillium) *lecanii* (Zimm.).

Conidias de *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff).

### **3.2.2 Material y equipo de laboratorio**

Aceite agrícola.

Alcohol metílico al 70 %.

Cámara digital.

Computadora.

Equipo de protección personal.

Estereoscopio.

Microscopio

Etiqueta.

Frasco de plástico.

Lapicero.

Lupa entomológica 20X.

Marcador permanente resistente al agua.

pHmetro.

Placa petri de vidrio.

Regulador de pH.

Vial de vidrio.

### **3.3 Metodología**

#### **3.3.1 Trabajo de campo**

##### **a. Colecta de babosas terrestres.**

Se realizaron colectas interdiarias de juveniles y adultos de babosas terrestres, presentes en los diferentes estados fenológicos de los cultivos de pastos, forrajes y hortalizas, en los Fundos La Victoria y Tartar pertenecientes a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, ubicados en los centros poblados La Victoria y Tartar, distritos de Llacanora y Baños del Inca, provincia y departamento de Cajamarca, geográficamente localizados entre las coordenadas UTM 780909 Este y 92044202 Norte y 780015 E y 9208772 N, a una altitud de 2636 y 2680 msnm respectivamente. Para luego ser desplazados al Laboratorio de Entomología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca.

#### **3.3.2 Trabajo de laboratorio**

**a. Crianza de babosas terrestres.** Las babosas terrestres fueron colocadas, juveniles y adultos en placas Petri cada una de los tratamientos establecidos (T1, T2, T3, T4, T5 y T6), a razón de cinco (5) individuos, fueron colocadas en tierra, piedras y hojas frescas de hortalizas, simulando las condiciones naturales en las que suelen encontrarse en los campos de cultivo, con la finalidad de brindarles las condiciones adecuadas de temperatura y humedad que favorezcan su desarrollo.

**b. Preparación y disposición de los tratamientos.** Se realizó tomando en consideración los siguientes tratamientos:

Tabla 1

*Tratamientos en estudio*

| Tratamiento    | Entomopatógeno                              | Dosis      | Concentración de conidias en solución | Dosis/Litro |
|----------------|---------------------------------------------|------------|---------------------------------------|-------------|
| T <sub>0</sub> | Ninguno                                     | -          | -                                     | -           |
| T <sub>1</sub> | <i>Beauveria bassiana</i> (Bals)            | 1,6 Kg/Cil | 8 x 10 <sup>10</sup>                  | 8,0 g       |
| T <sub>2</sub> | <i>Beauveria bassiana</i> (Bals)            | 3,2 Kg/Cil | 16 x 10 <sup>10</sup>                 | 16,0 g      |
| T <sub>3</sub> | <i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.)        | 1,6 Kg/Cil | 8 x 10 <sup>10</sup>                  | 8,0 g       |
| T <sub>4</sub> | <i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.)        | 3,2 Kg/Cil | 16 x 10 <sup>10</sup>                 | 16,0 g      |
| T <sub>5</sub> | <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff) | 1,6 Kg/Cil | 8 x 10 <sup>10</sup>                  | 8,0 g       |
| T <sub>6</sub> | <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff) | 3,2 Kg/Cil | 16 x 10 <sup>10</sup>                 | 16,0 g      |

Se prepararon dos concentraciones a dosis baja y alta ( $8 \times 10^{10}$  y  $16 \times 10^{10}$ ) por cada hongo entomopatógeno empleado, las cuales fueron identificadas como T1, T2, T3, T4, T5 y T6 respectivamente, tal como, se distingue a continuación:

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, empleándose 5 tratamientos y 1 testigo, 5 babosas terrestres por tratamiento, con 3 repeticiones. La mortalidad total de los juveniles y adultos fue expresada como porcentaje.

**Figura 2**

Distribución de los tratamientos en Laboratorio.

| BLOQUE I                                                                        | BLOQUE II                                                                       | BLOQUE III                                                                      |
|---------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| T <sub>0</sub><br>Testigo                                                       | T <sub>1</sub><br><i>Metarhizium anisopliae</i><br>8x10 <sup>10</sup> conidias  | T <sub>6</sub><br><i>Beauveria bassiana</i><br>8x10 <sup>10</sup> conidias      |
| T <sub>3</sub><br><i>Metarhizium anisopliae</i><br>16x10 <sup>10</sup> conidias | T <sub>2</sub><br><i>Beauveria bassiana</i><br>16x10 <sup>10</sup> conidias     | T <sub>5</sub><br><i>Lecanicillium, lecani</i><br>8x10 <sup>10</sup> conidias   |
| T <sub>5</sub><br><i>Lecanicillium, lecani</i><br>8x10 <sup>10</sup> conidias   | T <sub>0</sub><br>Testigo                                                       | T <sub>3</sub><br><i>Metarhizium anisopliae</i><br>16x10 <sup>10</sup> conidias |
| T <sub>2</sub><br><i>Beauveria bassiana</i><br>16x10 <sup>10</sup> conidias     | T <sub>5</sub><br><i>Lecanicillium lecani</i><br>8x10 <sup>10</sup> conidias    | T <sub>2</sub><br><i>Beauveria bassiana</i><br>16x10 <sup>10</sup> conidias     |
| T <sub>4</sub><br><i>Lecanicillium, lecani</i><br>16x10 <sup>10</sup> conidias  | T <sub>6</sub><br><i>Beauveria bassiana</i><br>8x10 <sup>10</sup> conidias      | T <sub>1</sub><br><i>Metarhizium anisopliae</i><br>8x10 <sup>10</sup> conidias  |
| T <sub>6</sub><br><i>Beauveria bassiana</i><br>8x10 <sup>10</sup> conidias      | T <sub>3</sub><br><i>Metarhizium anisopliae</i><br>16x10 <sup>10</sup> conidias | T <sub>4</sub><br><i>Lecanicillium, lecani</i><br>16x10 <sup>10</sup> conidias  |
| T <sub>1</sub><br><i>Metarhizium anisopliae</i><br>8x10 <sup>10</sup> conidias  | T <sub>4</sub><br><i>Lecanicillium, lecani</i><br>16x10 <sup>10</sup> conidias  | T <sub>0</sub><br>Testigo                                                       |

### **3.3.3 Trabajo de gabinete**

La información obtenida en las evaluaciones fue sistematizada, para luego realizar la redacción del trabajo de investigación, haciendo uso de la estadística descriptiva e inferencial.

Se utilizaron los programas estadísticos Infostat y EXCEL para el análisis de varianza (ANOVA) y el procesamiento de datos. Se utilizó la prueba múltiple de Tukey para determinar diferencias estadísticas entre tratamientos con una probabilidad del 5%.

## CAPITULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSION

#### 4.1 Tratamiento 1 (T<sub>1</sub>): *Beauveria bassiana* (Bals) ( $8 \times 10^{10}$ conidias)

En la Tabla 2, se observa que luego de dos y cuatro días posteriores a las aplicaciones del tratamiento establecido, fueron registradas en promedio 2 babosas terrestres enfermas y 1 babosas terrestres muertas de un total de 5 babosas terrestres evaluadas.

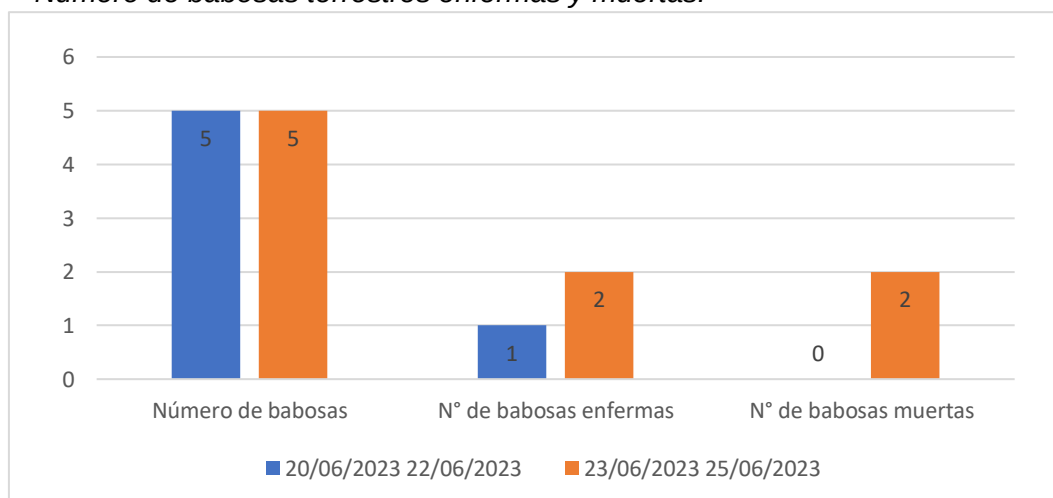
**Tabla 2**

*Numero de Babosas terrestres enfermas y muertas*

| Fecha de aplicación | Evaluación inicial<br>N° de babosas terrestres | Fecha      | Evaluación posterior                   |                                       |                                      |
|---------------------|------------------------------------------------|------------|----------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
|                     |                                                |            | 2 días                                 | 4 días                                |                                      |
|                     |                                                |            | Numero de babosas terrestres evaluadas | Numero de babosas terrestres enfermas | Numero de babosas terrestres muertas |
| 20/06/2023          | 5                                              | 22/06/2023 | 5                                      | 1                                     | 0                                    |
| 23/06/2023          | 5                                              | 25/06/2023 | 5                                      | 2                                     | 2                                    |
| Promedio            | 5                                              |            | 5                                      | 2                                     | 1                                    |

**Figura 3**

*Número de babosas terrestres enfermas y muertas.*





En la Figura 3, se observa que, al realizar la primera evaluación de babosas terrestres después de 2 días, (22 de Junio) se registró el menor número (1) de babosas terrestres enfermas, así como, al realizar la segunda (25 de junio) se registro el mayor número (2) de babosas terrestres enfermas, asi mismo se encontro (2) babosas terrestres muertas. La alta mortalidad en las fechas de evaluación 22 y 25 de Junio están relacionadas con las condiciones ambientales que influyeron en la adhesión e infección del agente microbiológico.

Carvallo y Guharay (2004) refieren que *Beauveria bassiana* requiere de una humedad relativa mayor a 70 % y una temperatura de 20 a 25 °C, siendo un factor importante para favorecer la germinación de las esporas del hongo. El laboratorio de entomología presenta una temperatura que oscila entre 18 y 20 °C, lo que favorece el desarrollo de *Beauveria bassiana*. Fue posible observar que la infección de *Beauveria bassiana* se produce a través de las partes frágiles del dorso y la suela de la babosa terrestre ocasionando falta de coordinación y letargo, momento en el cual el cuerpo del molusco se deshidrata y momifica, y el hongo emerge en la superficie formando una cubierta blanca y algodonosa visible de micelio y esporas, seguido de una parálisis que conduce a la muerte del molusco o gasterópodo.

#### 4.2 Tratamiento 2 (T<sub>2</sub>): *Beauveria bassiana* (Bals) (16x10<sup>10</sup> conidias)

En la Tabla 3, se observa que luego de dos y cuatro días posteriores a las aplicaciones del tratamiento establecido, fueron registradas en promedio 3 babosas terrestres enfermas y 2 babosas terrestres muertas de un total de 5 babosas terrestres evaluadas.

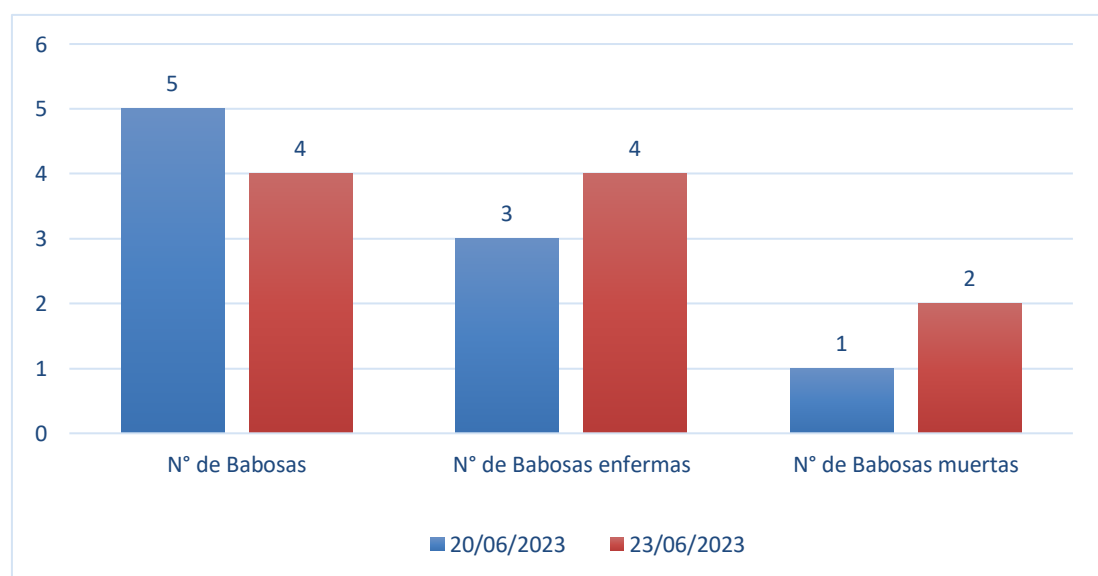
**Tabla 3**

*Numero de Babosas terrestres enfermas y muertas*

| Fecha de aplicación | Evaluación inicial       | Evaluación posterior |                                        |                                       |                                      |
|---------------------|--------------------------|----------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
|                     |                          | Fecha                | 2 días                                 | 4 días                                |                                      |
|                     | Nº de babosas terrestres |                      | Numero de babosas terrestres evaluadas | Numero de babosas terrestres enfermas | Numero de babosas terrestres muertas |
| 20/06/2023          | 5                        | 22/06/2023           | 5                                      | 3                                     | 1                                    |
| 23/06/2023          | 4                        | 25/06/2023           | 4                                      | 4                                     | 2                                    |
| Promedio            | 5                        |                      | 5                                      | 3                                     | 2                                    |

**Figura 4**

*Número de babosas terrestres enfermas y muertas.*



En la Figura 4, se observa que, al realizar la primera evaluación de babosas terrestres después de 2 días, (22 de Junio) se registró el menor número (3) de babosas terrestres enfermas y también encontramos (1) babosa terrestres muerta, así como, al realizar la segunda evaluación, (25 de junio) se registro el mayor número (4) de babosas terrestres enfermas, así mismo se encontro (2) babosas terrestres muertas. La alta mortalidad en las fechas de evaluación 22 y 25 de Junio están relacionadas con las condiciones ambientales que influyeron en la adhesión e infección del agente microbiológico. El laboratorio de entomología presenta una temperatura que oscila entre 18 y 20 °C, lo que favorece el desarrollo de *Beauveria bassiana*.

Carballo y Falguni (2004) mencionan que *Beauveria bassiana* se multiplica en el interior del hospedero, produciendo hifas y toxinas provocando su muerte. Fue posible observar una mayor infección de *Beauveria bassiana*, (*dosis alta*), el cual se produce a través de las partes frágiles del dorso y la suela de la babosa terrestre ocasionando falta de coordinación y letargo, ocasiona el hinchamiento del cuerpo se deshidrata y momifica, y el hongo emerge en la superficie formando una cubierta blanca y algodonosa visible de micelio y esporas, seguido de una parálisis que conduce a una rápida muerte del molusco o gasterópodo.

#### 4.3 Tratamiento 3 (T<sub>3</sub>): *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) (8x10<sup>10</sup> conidias)

En la Tabla 4, se observa que luego de dos y cuatro días posteriores a las aplicaciones del tratamiento establecido, fueron registradas en promedio 4 babosas terrestres enfermas y 2 babosas terrestres muertas de un total de 5 babosas terrestres evaluadas.

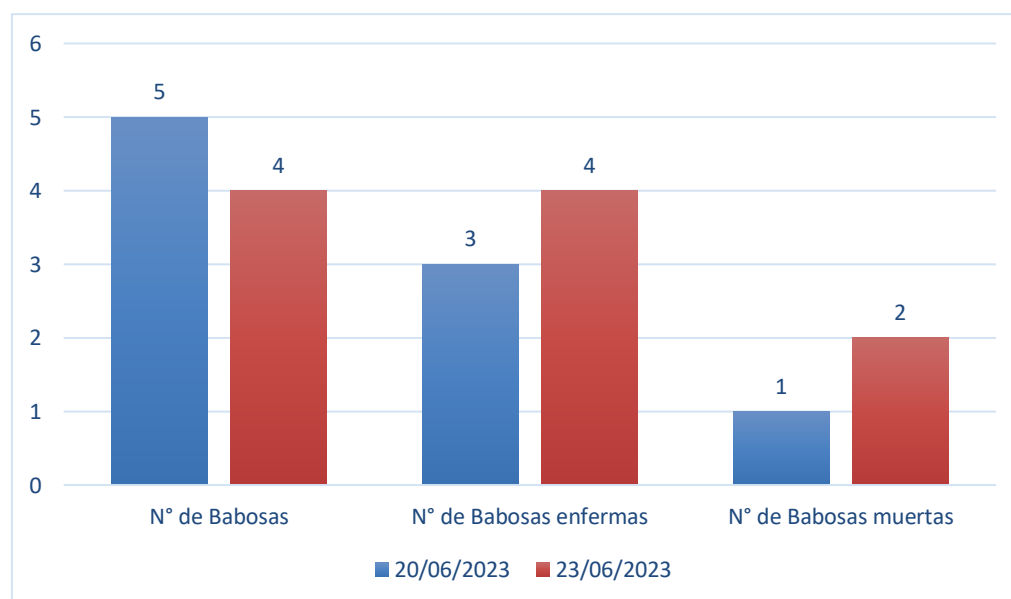
**Tabla 4**

*Numero de Babosas terrestres enfermas y muertas*

| Fecha de aplicación | Evaluación inicial<br>N° de babosas terrestres | Fecha      | Evaluación posterior                   |                                       |                                      |
|---------------------|------------------------------------------------|------------|----------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
|                     |                                                |            | 2 días                                 | 4 días                                |                                      |
|                     |                                                |            | Numero de babosas terrestres evaluadas | Numero de babosas terrestres enfermas | Numero de babosas terrestres muertas |
| 20/06/2023          | 5                                              | 22/06/2023 | 5                                      | 3                                     | 1                                    |
| 23/06/2023          | 4                                              | 25/06/2023 | 4                                      | 4                                     | 2                                    |
| Promedio            | 5                                              |            | 5                                      | 4                                     | 2                                    |

**Figura 5**

*Número de babosas terrestres enfermas y muertas.*



En la Figura 5, se observa que, al realizar la primera evaluación de babosas terrestres después de 2 días, (22 de Junio) se registró el menor número (3) de babosas terrestres enfermas y también encontramos (1) babosa terrestre muerta, así como, al realizar la segunda evaluación (25 de junio) se registró el mayor número (4) de babosas terrestres enfermas, así mismo se encontró (2) babosas terrestres muertas. La alta mortalidad en las fechas de evaluación 22 y 25 de Junio están relacionadas con las condiciones ambientales que influyeron en la adhesión e infección del agente microbiológico. El laboratorio de entomología presenta una temperatura que oscila entre 18 y 20 °C, lo que favorece el desarrollo *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) .

Al respecto Alatorre (2002), expresó que la humedad relativa es a menudo considerada el factor abiótico más importante en la epizootiología del entomopatógeno, la germinación y la esporulación del hongo depende de que la humedad relativa supere el 85 % durante los 3 primeros días luego de la aplicación. En el caso de la presente investigación la humedad relativa del laboratorio de entomología fue de 46 %.

Al respecto, Monzón (1992) indica que las condiciones ambientales favorables para la infección de *Lecanicillium lecanii*, son 15 a 25 °C de temperatura y una humedad relativa de 85 a 90 %; las que facilitan el mecanismo de acción enzimática principalmente proteasas, lipasas y quinasas, las cuales causan degradación del tejido en la zona de penetración. Fue posible observar que la infección de *Lecanicillium lecanii*, produce pérdida del apetito, escasa movilidad, oscurecimiento del cuerpo (melanización), y eventualmente la muerte con la posterior aparición de micelio (crecimiento de hilos fúngicos) sobre el cuerpo del molusco.

#### 4.4 Tratamiento 4 (T<sub>4</sub>): *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) (16x10<sup>10</sup> conidias)

En la Tabla 5, se observa que luego de dos días y cuatro días posteriores a las aplicaciones del tratamiento establecido, fueron registradas en promedio 4 babosas terrestres enfermas y 2 babosas terrestres muertas de un total de 5 babosas terrestres evaluadas.

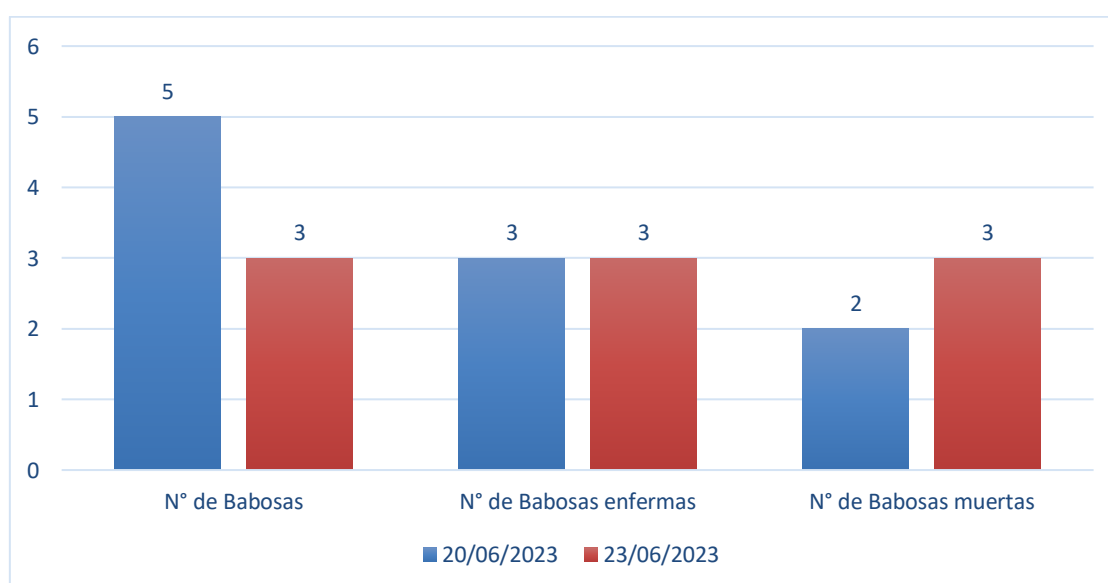
**Tabla 5**

*Numero de Babosas terrestres enfermas y muertas*

| Fecha de aplicación | Evaluación inicial<br>N° de babosas terrestres | Fecha      | Evaluación posterior                   |                                       |                                      |
|---------------------|------------------------------------------------|------------|----------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
|                     |                                                |            | 2 días                                 | 4 días                                |                                      |
|                     |                                                |            | Numero de babosas terrestres evaluadas | Numero de babosas terrestres enfermas | Numero de babosas terrestres muertas |
| 20/06/2023          | 5                                              | 22/06/2023 | 5                                      | 3                                     | 2                                    |
| 23/06/2023          | 3                                              | 25/06/2023 | 3                                      | 3                                     | 3                                    |
| Promedio            | 4                                              |            | 4                                      | 4                                     | 3                                    |

**Figura 6**

*Número de babosas terrestres enfermas y muertas.*



En la Figura 6, se observa que, al realizar la primera evaluación de babosas terrestres después de 2 días, (22 de Junio) se registró (3) de babosas terrestres enfermas y también encontramos (2) babosas terrestres muerta, así como, al realizar la segunda evaluación,(25 de junio) se registro el mayor número (3) de babosas terrestres enfermas, así mismo se encontro (3) babosas terrestres muertas. La alta mortalidad en las fechas de evaluación 22 y 25 de Junio están relacionadas con las condiciones ambientales que influyeron en la adhesión e infección del agente microbiológico.

El control de babosas terrestres en laboratorio con entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* requiere de una temperatura que oscila entre 15 y 28 °C y una humedad relativa no menor al 80 %, para ocasionar la epizootia (Ayala *et al.* 2005). Así mismo, Avalos y Wilson (2015) refieren que durante la penetración del hongo al hospedero, la hifa queda inmersa en proteínas, quitina, lípidos, melanina, difenoles y carbohidratos; donde algunos de ellos son nutrimentos, pero otros pueden inhibir su crecimiento, sin embargo, *L. lecanii* desarrolla una serie de actividades que les permite evitar este tipo de defensa, tales como cambios en la pared celular y la producción de sustancias inmunomodulatorias o toxinas fúngicas, donde el hospedero no podrá defenderse.

Fue posible observar una mayor infección de *Lecanicillium lecanii*, (dosis alta), ocasionó pérdida de apetito, escasa movilidad y la aparición del micelio (un crecimiento algodonoso de hongo) sobre el cuerpo y oscurecimiento de la piel (melanización), que llevó a la momificación o muerte del molusco.

#### 4.5 Tratamiento 5 (T<sub>5</sub>): *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) ( $8 \times 10^{10}$ conidias)

En la Tabla 6, se observa que luego de dos y cuatro días posteriores a las aplicaciones del tratamiento establecido, fueron registradas en promedio 2 babosas terrestres enfermas y 1 babosa terrestre muerta de un total de 5 babosas terrestres evaluadas.

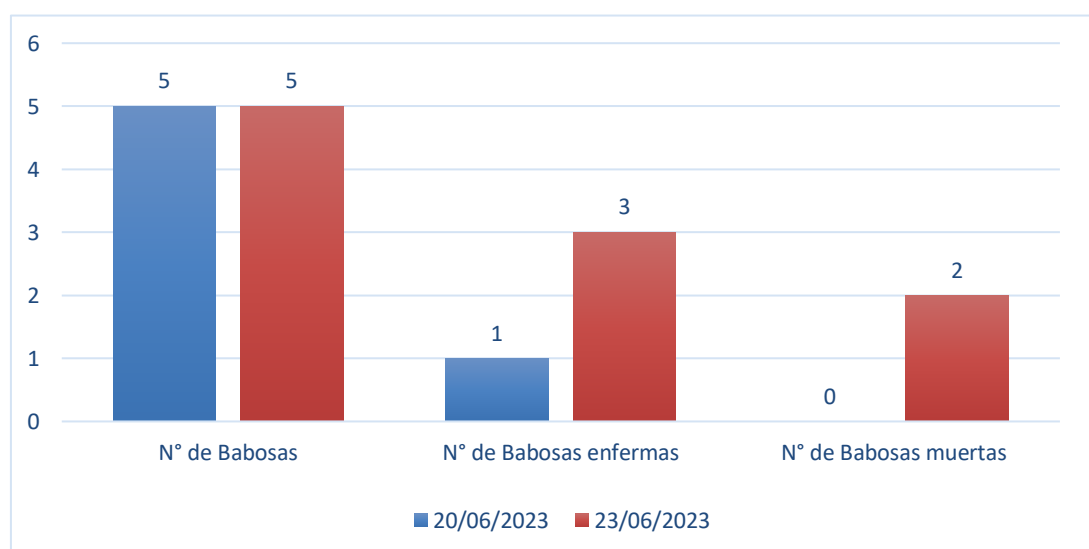
**Tabla 6**

*Numero de Babosas terrestres enfermas y muertas*

| Fecha de aplicación | Evaluación inicial       |            | Evaluación posterior                   |                                       |                                      |
|---------------------|--------------------------|------------|----------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
|                     | N° de babosas terrestres | Fecha      | 2 días                                 | 4 días                                |                                      |
|                     |                          |            | Numero de babosas terrestres evaluadas | Numero de babosas terrestres enfermas | Numero de babosas terrestres muertas |
| 20/06/2023          | 5                        | 22/06/2023 | 5                                      | 1                                     | 0                                    |
| 23/06/2023          | 5                        | 25/06/2023 | 5                                      | 3                                     | 2                                    |
| Promedio            | 5                        |            | 5                                      | 2                                     | 1                                    |

**Figura 7**

*Número de babosas terrestres enfermas y muertas.*





En la Figura 7, se observa que, al realizar la primera evaluación de babosas terrestres después de 2 días, (22 de Junio) se registró el menor número (1) de babosas terrestres enfermas, así como, al realizar la segunda evaluación, (25 de junio) se registro el mayor número (3) de babosas terrestres enfermas, así mismo se encontro (2) babosas terrestres muertas. La alta mortalidad en las fechas de evaluación 22 y 25 de Junio están relacionadas con las condiciones ambientales que influyeron en la adhesión e infección del agente microbiológico. El laboratorio de entomología presenta una temperatura que oscila entre 18 y 20 °C, lo que favorece el desarrollo de *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff).

Al respecto Ayala *et al.* (2005) Mencionan que *Metarhizium anisopliae* ocasiona infección en su hospedante a una temperatura de 25 °C y a una humedad relativa de 90 a 95 %, contribuyendo a la síntesis de proteasas que degradan el exoesqueleto de sus hospedantes y a la secreción de depsipéptidos cíclicos tales como las destruxinas que causan parálisis, así como, toxinas que afectan la excreción y capacidad de alimentarse y moverse en las babosas terrestres (Pal *et al.* 2007).

Fue posible observar que la infección de *Metarhizium anisopliae*, provocó letargo, pérdida de coordinación y, la aparición de un moho verdoso sobre la superficie de la babosa, que representa el crecimiento del hongo, ocasionando la muerte del molusco.

#### 4.6 Tratamiento 6 (T6): *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) ( $16 \times 10^{10}$ conidias)

En la Tabla 7, se observa que luego de dos y cuatro días posteriores a las aplicaciones del tratamiento establecido, fueron registradas en promedio 4 babosas terrestres enfermas y 2 babosas terrestres muertas de un total de 5 babosas terrestres evaluadas.

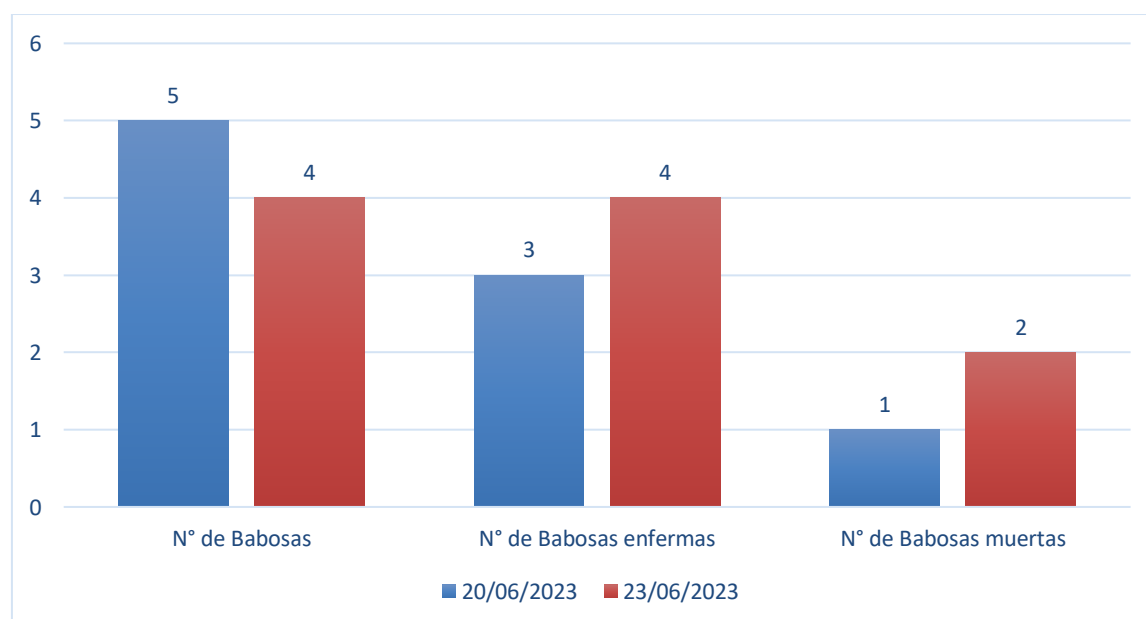
**Tabla 7**

*Numero de Babosas terrestres enfermas y muertas*

| Fecha de aplicación | Evaluación inicial<br>N° de babosas terrestres | Fecha      | Evaluación posterior<br>2 días         |                                       |                                      |
|---------------------|------------------------------------------------|------------|----------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
|                     |                                                |            | Numero de babosas terrestres evaluadas | Numero de babosas terrestres enfermas | Numero de babosas terrestres muertas |
| 20/06/2023          | 5                                              | 22/06/2023 | 5                                      | 3                                     | 1                                    |
| 23/06/2023          | 4                                              | 25/06/2023 | 4                                      | 4                                     | 2                                    |
| Promedio            | 5                                              |            | 5                                      | 4                                     | 2                                    |

**Figura 8**

*Número de babosas terrestres enfermas y muertas.*



En la Figura 8, se observa que, al realizar la primera evaluación de babosas terrestres después de 2 días, (22 de Junio) se registró el menor número (3) de babosas terrestres enfermas y también encontramos (1) babosa terrestres muerta , así como, al realizar la segunda evaluación,(25 de junio) se registro el mayor número (4) de babosas terrestres enfermas, así mismo se encontro (2) babosas terrestres muertas. La alta mortalidad en las fechas de evaluación 22 y 25 de Junio están relacionadas con las condiciones ambientales que influyeron en la adhesión e infección del agente microbiológico. El laboratorio de entomología presenta una temperatura que oscila entre 18 y 20 °C, lo que favorece el desarrollo de *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff).

Fue posible observar una mayor infección de *Metarhizium anisopliae* (dosis alta), que incluyó la pérdida de movilidad, el hinchamiento y la aparición de micelio en el cuerpo del molusco, que condujo a una rápida muerte del molusco o gasterópodo.

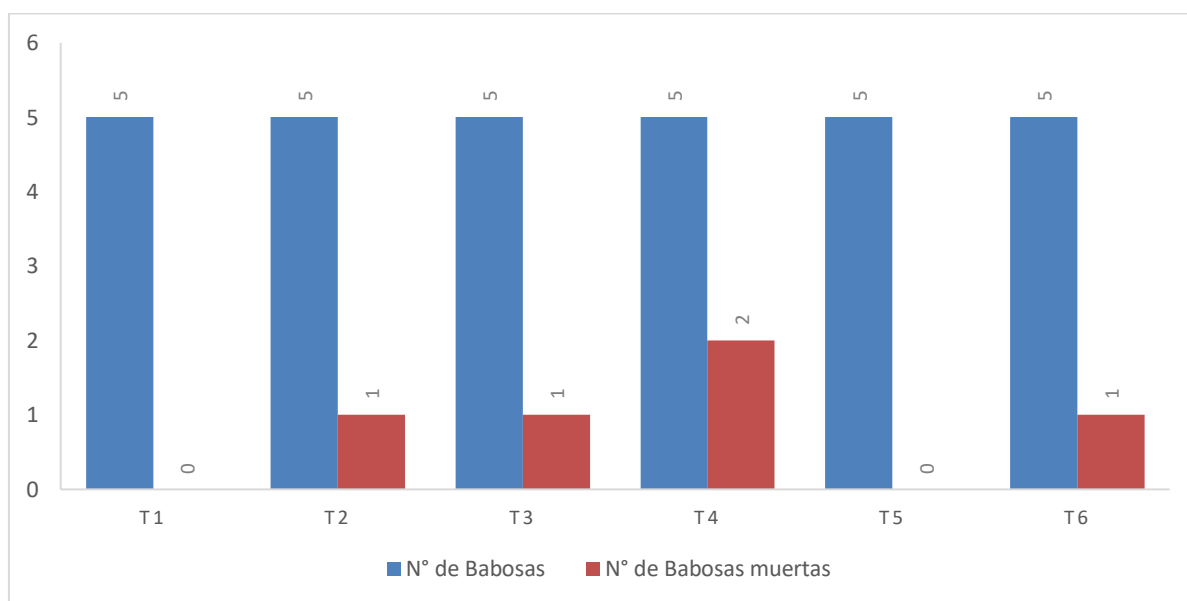
#### **4.7 Comparación entre tratamientos**

En la Figura 9, se observa que, al realizar la evaluación de babosas terrestres después de dos días de la aplicación del entomopatógeno el Tratamiento 4 (T4): *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) ( $16 \times 10^{10}$  conidias), ocasionó los mayores números (2) de babosas terrestres muertas. Booze y Oehm (1986), indican que, mediante el contacto dérmico, las afectaciones se dan en las células epiteliales, inhibiendo la función de la colinesterasa, reflejándose esto en un proceso de deshidratación, ya que la producción de mucus aumenta. Estos provocan convulsiones y parálisis en las babosas, lo que es propiciado por la liberación de noradrenalina y serotonina.

**Figura 9**

Comparación del efecto entre *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Lecanicillium lecanii*.

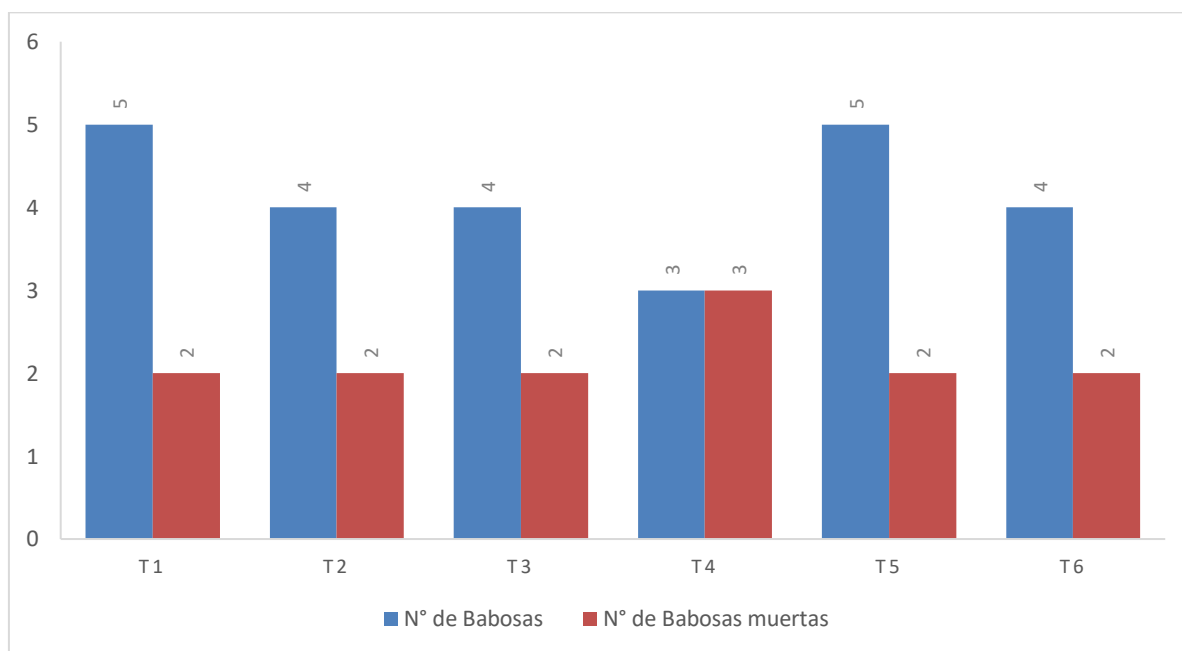
Primera evaluación



Para la fecha del 22 de junio se realizó la primera evaluación de acuerdo a los tratamientos ya establecidos se refiere a la reducción poblacional de las babosas terrestres a excepción del T1 *Beauveria bassiana* (Bals) ( $8 \times 10^{10}$  conidias) y el T5 *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) ( $8 \times 10^{10}$  conidias), quien no mostro una reducción en la muerte de éstas.

**Figura 10**

Comparación del efecto entre *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Lecanicillium lecanii*.



Para la fecha del 25 de junio, la evaluación de acuerdo a los tratamientos ya establecidos muestra una reducción significativa y muestra un 100% de efectividad en el T4 *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) ( $16 \times 10^{10}$  conidias), refiriendo así el valor de importancia en dicha aplicación para un control masivo y en las condiciones ya establecidas.

**Tabla 8**

*Análisis de varianza (ANOVA) para el número de babosas terrestres muertas*

| Fuente variación | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrados medio | F       | P-Valor | F Valor crítico |
|------------------|-------------------|--------------------|-----------------|---------|---------|-----------------|
| Tratamientos     | 12                | 1                  | 12              | 32,7272 | 0,00019 | 4.96460         |
| Error            | 3,6667            | 10                 | 0.3667          |         |         |                 |
| Total            | 15,66666667       | 11                 |                 |         |         |                 |

|            |         |
|------------|---------|
| Promedio   | 3,16667 |
| Varianza   | 1,30555 |
| D.Estandar | 1,14260 |
| C.V        | 36,1    |

Como se puede observar que el coeficiente de varianza es de 36.1 % lo que hace referencia que los resultados obtenidos no son homogéneos para la variable evaluada (Babosa terrestre, pero llega acercándose a un margen del 30 % a la cual se refiere a un resultado homogéneo. La prueba de Tukey al 5 % de probabilidad para el factor hongo (Tabla 9 y Figura 10) muestra que el mayor efecto se obtuvo al emplear *Lecanicillium lecanii*, siendo estadísticamente superior en comparación a *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*.

**Tabla 9.** Prueba de Tukey al 5 % de probabilidad, para los niveles del factor hongo entomopatógeno.

| Tratamientos | Medidas | Significación |
|--------------|---------|---------------|
| T4           | 100     | A             |
| T2           | 50      | B             |
| T3           | 50      | B             |
| T5           | 50      | B             |
| T1           | 40      | C             |
| T6           | 40      | C             |

La prueba de Tukey al 5 % de probabilidad para el factor hongo antagonista (Tabla 10 y Figura 10), indica que el mejor resultado se obtuvo al T4 *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) ( $16 \times 10^{10}$  conidias) (Con un promedio 100% babosas muertas). Este resultado es estadísticamente superior al encontrado con *Beauveria bassiana* (Bals) ( $16 \times 10^{10}$  conidias), *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) ( $8 \times 10^{10}$  conidias) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) ( $16 \times 10^{10}$  conidias) (con un promedio 50% babosa muerta muerta).

**Tabla10.** Porcentaje de mortalidad.

| <b>Entomopatogenos</b> | Numero de<br>babosas<br>terrestres<br>evaluadas | Numero de<br>babosas<br>terrestres<br>muertas | % de<br>babosas<br>muertas |
|------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------|
| <b>T1</b>              | <b>5</b>                                        | <b>2</b>                                      | <b>40</b>                  |
| <b>T2</b>              | <b>5</b>                                        | <b>3</b>                                      | <b>50</b>                  |
| <b>T3</b>              | <b>5</b>                                        | <b>3</b>                                      | <b>50</b>                  |
| <b>T4</b>              | <b>5</b>                                        | <b>5</b>                                      | <b>100</b>                 |
| <b>T5</b>              | <b>5</b>                                        | <b>2</b>                                      | <b>40</b>                  |
| <b>T6</b>              | <b>5</b>                                        | <b>3</b>                                      | <b>50</b>                  |

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

El hongo entomopatógeno *Lecanicilium lecanii* (Zimm.) ( $T_4 = 16 \times 10^8$  conidias /litro) después de cuatro días, posteriores a su aplicación, fue la que ocasiono la mayor mortalidad (100 %) sobre las babosas terrestres,

Los hongos entomopatogenos, *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. ( $T_2 = 16 \times 10^8$  conidias /litro) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) ( $T_6 = 16 \times 10^8$  conidias /litro) luego de cuatro días de aplicación, la cual ocasiono una mortalidad (50%).

Se determinó que una mayor infección lo produce *Lecanicillium lecanii*, ocasionando pérdida de apetito, escasa movilidad y la aparición del micelio (un crecimiento algodonoso de hongo) sobre el cuerpo y oscurecimiento de la piel (melanización), que llevó a la momificación o muerte del molusco.

Los síntomas de la *Beauveria bassiana* son cambios de comportamiento (falta de coordinación, letargo, inapetencia), parálisis y, finalmente, la momificación del cadáver cubierto por un micelio denso y algodonoso de color blanco (muscardina blanca) o amarillento.

Los principales síntomas del hongo *Metarhizium anizopliae* letargo, cese de alimentación, parálisis y endurecimiento del cadáver del insecto, el cual se cubre con un moho verde-oliva característico tras la esporulación.

#### 5.2 Recomendaciones

Se recomienda q el uso de hongos entomopatógenos en el control de babosas terrestres se realice a nivel de campo, bajo condiciones naturales al fin de evaluar su efectividad y utilizarlo dentro de un programa de manejo integrado.



## CAPÍTULO VI

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acosta, J. (2006). *Evaluación de hongos entomopatógenos como controladores biológicos de Scutigerella immaculata*. (Tesis de pregrado, Pontifica Universidad Javeriana). Archivo digital. <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/8259>.

Aguilera, A. (2001). *Babosas de importancia económica en Chile*. *Tierra adentro*, 40,1-4. <https://biblioteca.inia.cl/handle/20.500.14001/5865?show=full>.

Ainsworth, G; Sparrow, F; Sussman, A. (Eds.). *The Fungi: An Advanced Treatise*, IV. Academic Press, New Cork (pp.1-7). 1973.

Alexopoulos, C; Mims, W. (1979). *Introductory Myology*. Ed. John Wiley and Sons. New York, Usa. 288 p.

Barnett, L. (1960). *Géneros ilustrados de hongos imperfectos*. *Chapingo*, 2; 341-355

Cañedo, V; Ames, T. (2004). *Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos*. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú, 62 p.

Chichester, L; Getz, L. (1973). *The terrestrial slugs in Northeastern North America*. *Sterkiana*. 51; 11-42.

Constantino, L; Gomes, S; Benavides, P. (2010). Descripción de daños por las babosas *Colosius pulcher* y *Sarasinula plebeia* en el cultivo del café en Colombia. Centro Nacional de Investigación de Café (CENICAFE). Caldas, Colombia. 8 p.

Castillejo, J. (1997). Las babosas de la familia Arionidae Gray, 1840 en la Península Ibérica e Islas Baleares. Morfología y distribución (Gastropoda, Pulmonata, Terrestria nuda). Revista Real Academia Galega de Ciencias, XVI: 51-118.

Castillejo, J. (1997). Babosas del Noreste Ibérico. Universidad de Santiago de Compostela, Imprenta Universitaria, Santiago de Compostela, España. 190 p.

Castillejo, J. (1998). Guía de las Babosas Ibéricas. Real Academia Galega de Ciencias. Santiago, Chile. 151 p.

Coto, D; Saunders, J. (1987). Biología y comportamiento de las babosas en el laboratorio y su medio ambiente. Ceiba. 28(2) 179-192.

France, A; Gerding, M; Céspedes, C; Cortez, M. (2002). Control de babosas (*Deroceras reticulatum* Müller) con *Phasmarhabditis hermaphrodita* Schneider (Nematoda; Rhabditidae) en suelos con sistema de cero labranza. Scielo Chile. DOI: 10.4067/S0365-28072002000200001.

Fernández, J. (1982). Contribución al conocimiento de las babosas y siete cueros (Mollusca Gastropoda) que causan daño en la agricultura en Venezuela. Rev.

Gandarilla, F. (2012). Evaluación de aislados nativos de hongos entomopatógenos de zonas citrícolas sobre *Diaphoria citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). (Tesis de post

grado, Universidad Autónoma de Nuevo León). Archivo digital:

<http://eprints.uanl.mx/2802/1/1080237547.pdf>

Hammond, R., Smith, J. and T. Beck. (1996). Timing of molluscicide applications for reliable control in non-tillage field crops. *Entomological Society of America* 89(4) 1028-1032.

Herrero, N. (2011). Micovirus asociados a los hongos endofíticos y entomopatógenos *Tolypocladium cylindrosporum* y *Beauveria bassiana*. (Tesis de post grado, Universidad de Salamanca).188 p. <http://hdl.handle.net/10261/35061>.

Hunter, P. y Runham, N. (1971). "Slugs: A world problem". *Tropical science*. 13(3) 191-197.

Morera, P. (1987). Los Veronicéllidos como problema para la salud humana. *Ceiba*. Vol. 28 (2) 173 –174.

Noboa, G; Quelal, A. (Mayo de 2015). Diseño e implementación de un protocolo para mejorar la producción y conservación de *Beauveria bassiana* y *Trichoderma harzianum* como aporte a los productores de café orgánico de la asociación "Río INTAG", cantón Cotacachi. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9400/1/UPS-QT07115.pdf>.

Núñez, F. F.A. (2006). Aspectos parasitológicos de la infección por *Angiostrongylus cantonensis*, capítulo 2. En: *Aportes cubanos al estudio del Angiostrongylus cantonensis*. Editorial Academia, La Habana; 15-24.

Saico, E. (2014). *Control de la Babosa en cultivo de carpa solar en la comunidad de Quentavi del Municipio de Iaja (Tesis de pregrado, Universidad Mayor de San Andres)* Archivo digital. <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/5267>.

Port, G; Ester, A. (2002). *Gastropoda as pests in vegetable and ornamental crops in western Europe. In Barker, G. In: Molluscs as Crop Pests. Publishing CABI. Wallingford, Reino Unido. 337-351.*

Zapata, J. (2023). *Determinación de la actividad biológica de Pochonia chlamydosporia en conjunto con ácido bórico / extracto de ají (Capsicum annuum), sobre las babosas terrestres (Tesis de pregrado, Universidad de Antioquia)* Archivo digital. <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>.

Zhanga, Y; Fengb, M; Fana, Y; Luoa, Z; Yanga, X. y Wua, De. (2008). *A cuticle-degrading protease (CDEP-1) of Beauveria bassiana enhances virulence. Biocontrol Science and Technology. 18(6) 543-55.*

## ANEXO

**Figura 11.** *Campo de cultivo de alfalfa en el Fundo La Victoria.*



**Figura 12.** *Campo de cultivo de pastos y forrajes en el Fundo Tartar.*



**Figura 13.Regulación de ph**



**Figura 14. Aplicación de entomopatogenos**



**Figura 15. Efecto *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff)**



**Figura 16. Efecto *Lecanicillium lecanii* (Zimm.)**



Figura 17. Efecto de *Beauveria bassiana* (Bals)





## **Glosario**

**Apresorio:** Estructura adhesiva, achatada, a partir de la cual se origina una hifa afilada que rompe la cutícula epidémica del huésped.

**Conidias:** Son esporas asexuales o móviles que se forman (exógenamente) en el ápice o en el lado de una célula esporógena.

**Conidióforo:** Es una estructura microscópica especializada en la producción asexual de miles de esporas llamadas conidios.

**Entomopatógeno:** se refiere al microorganismo que es capaz de causar una enfermedad al insecto plaga.

**Espora:** Es una célula reproductiva producida por hongos que a menudo se desarrolla completamente después de un estado de latencia o hibernación.

**Gastropoda:** Es un tipo de molusco (caracoles y babosas) que se caracteriza por tener un pie musculoso (estructura ventral, carnosa y musculosa que les permite desplazarse), una cabeza con tentáculos y, generalmente, una concha univalva o ninguna.

**Hemocele:** Cavidad general secundaria de los artrópodos, que constituye un sistema lagunar lleno de líquido hemático y forma parte del aparato circulatorio abierto.

**Hifa:** Son una red de filamentos cilíndricos que conforman la estructura del cuerpo de los hongos multicelulares.

**Micelio:** Apartado vegetativo de los hongos que le sirve para nutrirse y está constituido por hifas.

**Patogénesis:** Término relacionado con la evolución de la Fito enfermedad. Se inicia con la infección, y concluye con la muerte del hospedero.

**Tubo germinativo:** extensión filamentosa, que transporta esporas de un hongo.