

UNIVERSIDAD NACIONAL
“SANTIAGO ANTUNEZ DE MAYOLO”
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGRONÓMICA



TESIS

**“IDENTIFICACIÓN DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN
ÁREAS PERTURBADAS Y NO PERTURBADAS DE YUNGAY Y
CARHUAZ EN EL CALLEJÓN DE HUAYLAS, ANCASH, 2022”**

**PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGRÓNOMO**

Presentado por:

BACH. MARCO ANTONIO SALVADOR MENDEZ

ASESORA: Dr. Sc. KARINA SOLEDAD VILCA MALLQUI

Huaraz – Ancash – Perú

2023





UNIVERSIDAD NACIONAL
SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO

"Una Nueva Universidad para el Desarrollo"

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

UNIVERSITARIA DE SHANCAVÁN TELEFAX 043 426 588 - HUARAZ - ANCASH - PERÚ



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los miembros del Jurado de Tesis que suscriben, se reunieron para escuchar y evaluar la sustentación de la Tesis presentada por el Bachiller en Ciencias Agronomía MARCO ANTONIO SALVADOR MÉNDEZ, denominada: "IDENTIFICACIÓN DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN ÁREAS PERTURBADAS Y NO PERTURBADAS DE YUNGAY Y CARHUAZ EN EL CALLEJÓN DE HUAYLAS, ANCASH, 2022", asesorada por la Dra. KARINA SOLEDAD VILCA MALLQUI. Escuchada la sustentación y las respuestas a las preguntas y observaciones formuladas, la declaramos:

APROBADA CON DISTINCIÓN

CON EL CALIFICATIVO (*)

Dieciocho (18)

En consecuencia, queda en condición de ser calificado APTO por el Consejo de Facultad de Ciencias Agrarias y por el Consejo Universitario de la Universidad Nacional "Santiago Antúnez de Mayolo" y recibir el Título de **INGENIERO AGRÓNOMO**, de conformidad con la Ley Universitaria y el Estatuto de la Universidad.

Huaraz, 29 de diciembre de 2023.

Ph. D. JUAN FRANCISCO BARRETO RODRÍGUEZ

PRESIDENTE

Dra. XANDRA AMADA SAAVERDRA CONTRERAS

SECRETARIA

Mag. EUSEBIO REYES HUAMÁN

VOCAL

Dra. KARINA SOLEDAD VILCA MALLQUI

ASESORA

(*) De acuerdo con el Reglamento de Tesis, éstas deben ser calificadas con términos de: APROBADO CON EXCELENCIA (19 - 20), APROBADO CON DISTINCIÓN (17 - 18), APROBADO (14 - 16), DESAPROBADO (00 - 13).





UNIVERSIDAD NACIONAL
SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO

"Una Nueva Universidad para el Desarrollo"

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

CIUDAD UNIVERSITARIA DE SHANCAVÁN TELEFAX 043 426 588 - HUARAZ - ANCASH - PERÚ



ACTA DE CONFORMIDAD DE TESIS

Los miembros del jurado, luego de evaluar la tesis denominada "IDENTIFICACIÓN DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN ÁREAS PERTURBADAS Y NO PERTURBADAS DE YUNGAY Y CARHUAZ EN EL CALLEJÓN DE HUAYLAS, ANCASH, 2022", presentada por el Bachiller en Ciencias Agronomía MARCO ANTONIO SALVADOR MÉNDEZ, y sustentada el día 29 de DICIEMBRE del 2023, con Resolución Decanatural N° 531-2023 - UNASAM - FCA, la declaramos CONFORME.

Huaraz, 29 de diciembre de 2023.

Ph. D. JUAN FRANCISCO BARRETO RODRÍGUEZ
PRESIDENTE

Dra. XANDRA AMADA SAAVEDRA CONTRERAS
SECRETARIA

Mag. EUSEBIO REYES HUAMÁN
VOCAL

Dra. KARINA SOLEDAD VILCA MALLQUI
ASESORA



Anexo de la R.C.U N° 126 -2022 -UNASAM
ANEXO 1
INFORME DE SIMILITUD.

El que suscribe (asesor) del trabajo de investigación titulado:

IDENTIFICACIÓN DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN ÁREAS PERTURBADAS Y NO PERTURBADAS DE YUNGAY Y CARHUAZ EN EL CALLEJÓN DE HUAYLAS, ANCASH, 2022

Presentado por: MARCO ANTONIO SALVADOR MENDEZ

con DNI N°: 72691765

para optar el Título Profesional de:

INGENIERO AGRÓNOMO


Informo que el documento del trabajo anteriormente indicado ha sido sometido a revisión, mediante la plataforma de evaluación de similitud, conforme al Artículo 11 ° del presente reglamento y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de : 20% de similitud.

Evaluación y acciones del reporte de similitud de los trabajos de los estudiantes/ tesis de pre grado (Art. 11, inc. 1).

Porcentaje			
Trabajos de estudiantes	Tesis de pregrado	Evaluación y acciones	Seleccione donde corresponda
Del 1 al 30%	Del 1 al 25%	Esta dentro del rango aceptable de similitud y podrá pasar al siguiente paso según sea el caso.	<input checked="" type="radio"/>
Del 31 al 50%	Del 26 al 50%	Se debe devolver al estudiante o egresado para las correcciones con las sugerencias que amerita y que se presente nuevamente el trabajo.	<input type="radio"/>
Mayores a 51%	Mayores a 51%	El docente o asesor que es el responsable de la revisión del documento emite un informe y el autor recibe una observación en un primer momento y si persistiese el trabajo es invalidado.	<input type="radio"/>

Por tanto, en mi condición de Asesor/ Jefe de Grados y Títulos de la EPG UNASAM/ Director o Editor responsable, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto la primera hoja del reporte del software anti-plagio.

Huaraz, 24/10/2023


FIRMA
Apellidos y Nombres: VILCA MALLQUI KARINA SOLEDAD
DNI N°: 31663774

Se adjunta:
1. Reporte completo Generado por la plataforma de evaluación de similitud

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a Dios, por brindarme salud, energía, sabiduría y sobre todo mucha paciencia; a mi madre Elena Méndez Torres, por todo su amor, comprensión y esfuerzo que realiza para poder cumplir con todos mis objetivos.

AGRADECIMIENTO

Las gracias más profundas a mi Asesora Dr. Sc. Karina Soledad Vilca Mallqui, por ser la mejor maestra, por sus consejos, por sus llamadas de atención e incondicional apoyo en todo el proceso y desarrollo de mi trabajo de investigación.

Al género musical del “Rock - Metal”, por contribuir con excelentes bandas como: Iron Maiden, Metallica, Megadeth, Judas Priest, Helloween, Gamma Ray, Hammerfall, Primal Fear, Manowar, etc; estos grupos me brindaron mediante sus canciones serenidad y alegría al momento de hacer todo el trabajo.

Y, por último, a los creadores de Marvel Comics, Martin Goodman, Jack Kirby y Stan Lee; por haber contribuido al mundo con personajes icónicos e historias épicas que hasta el día de hoy siguen marcando un antes y un después en el ámbito de la lectura y cine, que tanto ayudan a la sociedad, creando una distracción sana a esta.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.....	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Formulación del problema.....	3
1.2. Objetivos.....	3
1.2.1. Objetivo general.....	3
1.2.2. Objetivos específicos.....	3
1.3. Hipótesis.....	3
II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. Antecedentes de la investigación.....	4
2.2. Bases teóricas.....	7
2.2.1. El manejo integrado plagas (mip).....	7
2.2.2. El control biológico.....	7
2.2.3. Hongos entomopatógenos.....	8
2.2.4. Distribución de hongos entomopatógenos.....	9
2.2.5. Aislamiento de hongos entomopatógenos.....	9
2.2.6. Identificación de microorganismos entomopatógenos.....	10
2.2.7. Principales hongos entomopatógenos reportados.....	11
2.3. Definición de términos.....	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1. Ubicación.....	15

3.1.1. Ubicación de la fase de campo.....	15
3.1.2. Ubicación de la fase de laboratorio.....	15
3.1.3. Fecha de instalación y finalización del experimento	15
3.2. Materiales e insumos	15
3.3. Material biológico	17
3.4. Equipos.....	17
3.5. Métodos.....	17
3.5.1. Tipo de investigación	17
3.5.2. Diseño de investigación	18
3.5.3. Población y muestra de estudio.....	18
3.6. Metodología.....	18
3.6.1. Procedimiento	18
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
4.1. Especies aisladas y conservadas de áreas perturbadas y no perturbadas.....	46
4.2. Caracterización del desarrollo de colonias e identificación microscópica de los hongos entomopatógenos	50
4.2.1. <i>Beauveria Bassiana</i> B.....	50
4.2.2. <i>Metarhizium anisopliae</i> S.	51
4.2.3. <i>Purpureocillium lilacinum</i> L.....	53
V. CONCLUSIONES.....	56
VI. RECOMENDACIONES	57
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
VIII. ANEXOS	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Muestreo de suelos.	20
Figura 2: Muestras de suelo embolsadas y rotuladas.	20
Figura 3: Mapa de ubicación del Punto N°01 – Áreas Perturbadas.	22
Figura 4: Mapa de ubicación del Punto N°02 – Áreas Perturbadas.	23
Figura 5: Mapa de ubicación del Punto N°03 – Áreas Perturbadas.	24
Figura 6: Mapa de ubicación del Punto N°04 – Áreas Perturbadas.	25
Figura 7: Mapa de ubicación del Punto N°05 – Áreas Perturbadas.	26
Figura 8: Mapa de ubicación del Punto N°01 – Áreas No Perturbadas.	28
Figura 9: Mapa de ubicación del Punto N°02 – Áreas No Perturbadas.	29
Figura 10: Mapa de ubicación del Punto N°03 – Áreas No Perturbadas.	30
Figura 11: Mapa de ubicación del Punto N°04 – Áreas No Perturbadas.	31
Figura 12: Mapa de ubicación del Punto N°05 – Áreas No Perturbadas.	32
Figura 13: Taper con huevos de <i>Galleria mellonella</i> L.	34
Figura 14: Tapers instalados en la cámara de climatización.	35
Figura 15: Larvas de <i>G. mellonella</i> en los primeros estadíos.	35
Figura 16: Dieta artificial preparada a base de Thor y miel de abejas.	36
Figura 17: Pupas de <i>G. mellonella</i> formando cocones.	36
Figura 18: Pareja de <i>G. mellonella</i> copulando.	37
Figura 19: Limpieza de tapers para la preparación de trampas cebo.	38
Figura 20: Rotulación de tapers.	39
Figura 21: Colocando larvas de <i>G. mellonella</i> como trampas cebo.	39
Figura 22: Trampas cebo preparadas.	40
Figura 23: Larva infectada en la trampa cebo.	40
Figura 24: Larvas infectadas, transferidas a cámara húmeda.	41
Figura 25: Siembra de hongos desarrollados en las larvas, en placas de Petri con medio de cultivo PDA.	42
Figura 26: Siembra de las dos últimas diluciones.	42

Figura 27: Observación del desarrollo de las colonias.....	43
Figura 28: Observaciones microscópicas.....	44
Figura 29: Rotulación de tubos de vidrio.....	45
Figura 30: Colocación de PDA en los tubos de vidrio.....	45
Figura 31: Especies aisladas en Áreas Perturbadas.....	47
Figura 32: Especies aisladas en Áreas Perturbadas.....	49
Figura 33: Características del desarrollo de las colonias de <i>Beauveria bassiana</i>	50
Figura 34: Identificación microscópica.....	51
Figura 35: Características del desarrollo de las colonias de <i>Metarhizium anisopliae</i>	52
Figura 36: Identificación microscópica.....	53
Figura 37: Características del desarrollo de las colonias de <i>Purpureocillium lilacinum</i> (<i>Paecylomyces lilacinus</i>).....	54
Figura 38: Identificación microscópica.....	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Información de los puntos de muestreo en Áreas Perturbadas.....	21
Tabla 2: Información de los puntos de muestreo en Áreas No Perturbadas.....	27
Tabla 3: Especies y cepas encontradas y almacenadas, de Áreas Perturbadas.	46
Tabla 4: Especies y cepas encontradas y almacenadas, de Áreas No Perturbadas.....	48



RESUMEN

Este trabajo de investigación se realizó desde el mes de diciembre del 2022 a septiembre del 2023, en dos fases, la primera fue en distintos campos, en Áreas Perturbadas y Áreas No Perturbadas, de las provincias de Yungay y Carhuaz, Departamento de Ancash, entre los 2300 y 4100 m.s.n.m., con el fin de coleccionar muestras de suelos para evaluar la posibilidad de encontrar hongos entomopatógenos; la siguiente fase se desarrolló en la sala de crianza del Laboratorio de Entomología y el Laboratorio de Fitopatología de la UNASAM, a una altitud de 3052 m.s.n.m, donde se realizó: La crianza de *Galleria mellonella* L., aislamientos, identificaciones y almacenamientos de los hongos encontrados. Para esta investigación no se usó un diseño experimental debido a que se trata de una investigación exploratoria y descriptiva. El trabajo se inició con la crianza de *G. mellonella* L.; cuyas larvas sirvieron de atrayente para los hongos entomopatógenos, posteriormente se realizó el muestreo de suelos, la determinación de presencia de estos microorganismos mediante el uso de trampas cebo, se continuó con los aislamientos de los hongos encontrados en las larvas, seguidamente se realizó la identificación correspondiente de cada hongo entomopatógeno y para culminar con las labores se precedió a conservar las cepas en un ambiente adecuado. Se logró aislar 3 especies de hongos entomopatógenos, tanto en Áreas Perturbadas como en Áreas No Perturbadas, que fueron identificados y corresponden a las especies de: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Purpureocillium lilacinum*. Al momento de hacer la conservación de las cepas se contó con tres cepas de *B. bassiana*, nueve de *M. anisopliae* y dos de *P. lilacinum*.

Palabras claves: Hongos entomopatógenos, *Galleria mellonella* L, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Purpureocillium lilacinum*.

ABSTRACT

This research work was carried out from December 2022 to September 2023, in two phases, the first was in different fields, in Disturbed Areas and Undisturbed Areas, in the provinces of Yungay and Carhuaz, Department of Ancash, between 2200 and 4100 meters above sea level, in order to collect soil samples to evaluate the possibility of finding entomopathogenic fungi; The next phase was developed in the breeding room of the Entomology Laboratory and the Phytopathology Laboratory of UNASAM, at an altitude of 3052 meters above sea level, where: The breeding of *Galleria mellonella* L., isolations, identifications and storage of the fungi was carried out. found. An experimental design was not used for this research because it is an exploratory and descriptive research. The work began with the breeding of *G. mellonella* L.; whose larvae served as an attractant for entomopathogenic fungi, soil sampling was subsequently carried out, the presence of these microorganisms was determined through the use of bait traps, the isolation of the fungi found in the larvae was continued, then the identification was carried out corresponding to each entomopathogenic fungus and to complete the work, the strains were preserved in a suitable environment. It was possible to isolate 3 species of entomopathogenic fungi, both in Disturbed and Undisturbed Areas, which were identified and correspond to the species: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Purpureocillium lilacinum*. At the time of conservation of the strains, there were three strains of *B. bassiana*, nine of *M. anisopliae* and two of *P. lilacinum*.

Key words: Entomopathogenic fungi, *Galleria mellonella* L, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Purpureocillium lilacinum*.

I. INTRODUCCIÓN

La mayoría de agricultores de la región Ancash, para el control de plagas en sus cultivos recurren solamente al control químico, esto mediante aplicaciones de pesticidas, cuyo uso en otros países se encuentran prohibidos. En tal sentido, las consecuencias medioambientales del uso de insecticidas son motivo de gran preocupación. No obstante, diversos aspectos de la agricultura actual generalmente tienen una mayor huella en el medio ambiente, los pesticidas son una de las herramientas agrícolas más asociadas con la destrucción del medio ambiente. Los insecticidas están diseñados específicamente para matar plagas (insectos) y, por lo tanto, puede tener efectos letales e irreversibles en organismos benéficos (por ejemplo, polinizadores de plantas y depredadores naturales) (Devine et al., 2008). El uso excesivo de pesticidas ha causado daño al bienestar de las personas, presentado dolores de cabeza, mareos, molestias en el pecho, diarrea, sudoración, vómitos, hipertemia, secreciones orales y nasales, causando malestares y/o envenenamiento (Montaña et al., 2011).

La falta de capacitación sobre el uso de insecticidas de los agricultores, genera el uso inadecuado de estos productos, ocasionando diversos problemas como, por ejemplo, la resistencia por parte de las plagas hacia los químicos usados, esto debido a la no rotación de ingredientes activos. Ya está fundado que esta resistencia no progresa a la misma rapidez en las diferentes especies y poblaciones. Dicha resistencia puede incrementarse de una forma más rápida en algunas poblaciones y lentamente en otras (Bisset, 2002). En la actualidad, lo primordial es encaminarnos a una agricultura limpia y sostenible, de tal manera que el medio ambiente y los productores salgan beneficiados mutuamente.

Inicialmente, el impacto ambiental de esta actividad era consistente con la resiliencia ambiental, pero hoy en día gracias al incremento de la población y de la producción agrícola, el impacto irreversible en el medio ambiente es muy grande, principalmente en la tierra, el

agua, la biodiversidad y la salud de la población. En respuesta, diferentes investigadores y agricultores, han propuesto y desarrollado estilos de cultivo “únicos” en los que buscan reducir el impacto negativo de esta práctica en el medio ambiente, implementando diferentes opciones y estrategias (Brown y Gil, 2003).

El control de plagas agrícolas mediante la aplicación del control biológico, específicamente con el uso de un control microbiano, usando hongos entomopatógenos tiene como fin el reducir las poblaciones de insectos plagas, que dañan los distintos cultivos presentes en el Callejón de Huaylas, y así disminuir el uso del control químico, que ocasiona el deterioro no solo al medio ambiente, sino también a la salud de los consumidores y agricultores.

Una de las virtudes de los hongos patógenos de insectos es: la especificidad, que es muy variable, algunos hongos infectan a muchos tipos de huéspedes y otros se limitan a unas pocas especies de insectos o una sola. Por ejemplo, los aislados de *Bauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, que infectan a unas 100 especies de insectos diferentes en varios órdenes (Coleóptera, Lepidóptera, Hemíptera, Díptera), son muy eficaces (García et al., 2008).

Los hongos entomopatógenos son organismos poco conocidos en cuanto a su diversidad y uso en el país y región; sin embargo, en lugares con mayor desarrollo estos organismos vienen siendo usados en grandes cantidades, por ejemplo, para controlar una de las plagas más importantes a nivel mundial como es la mosca de la fruta.

Está en las manos de los profesionales del agro, el hacer llegar a los agricultores todo el potencial de los hongos entomopatógenos, haciéndoles saber que son una de las mejores alternativas que se usan para controlar plagas, por ser económicos, sencillos de manejar y ecológicamente sustentables.

1.1. Formulación del problema

¿Qué especies de hongos entomopatógenos se encuentran en áreas perturbadas y no perturbadas de las localidades de Yungay y Carhuaz, en el Callejón de Huaylas?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Aislar e identificar hongos entomopatógenos de áreas perturbadas y no perturbadas de las localidades de Yungay y Carhuaz.

1.2.2. Objetivos específicos

- Aislar hongos entomopatógenos de áreas perturbadas y no perturbadas en las localidades de Yungay y Carhuaz.
- Identificar los principales hongos entomopatógenos aislados de áreas perturbadas y no perturbadas en las localidades de Yungay y Carhuaz.
- Implementar una colección de hongos entomopatógenos aislados de áreas perturbadas y no perturbadas en las localidades de Yungay y Carhuaz.

1.3. Hipótesis

Por tratarse de una investigación descriptiva y exploratoria no se plantean hipótesis, puesto que solo se va a describir los hongos entomopatógenos que se aíslen en cada zona de muestreo.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

Diversos análisis hechos en América (Brasil, Colombia, Costa Rica, Guatemala y México), en Europa (Grecia e Italia), en Asia (India, Pakistán, y Tailandia) y África (Argelia, Egipto, Ghana, Marruecos y Kenia); reportan que *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, son los hongos entomopatógenos con mayor capacidad y uso para el control de la mosca de la fruta. Las moscas de la fruta controladas microbianamente son *Anastrepha fraterculus*, *A. Obliqua*, *A. ludens*, *Bactrocera zonata*, *B. dorsalis*, *B. carambolae*, *B. oleae*, *Ceratitis rose*, *C. fasciventris*, *C. capitata*, *Rhagoletis indifferens* L., *R. cerasi* y *Zeugodacus cucurbitae*. Se desarrollaron 21 estudios con *Metarhizium. anisopliae*, 50 con *Beauveria. bassiana*, y 9 con aislados de *Beauveria. pseudobassiana*, *Metarhizium. brunneum*, *Metarhizium quizhouense*, *Isaria fumosorosea* (Villaseñor et al., 2019).

Las técnicas de inoculación de hongos entomopatógenos, como: *Bauveria bassiana*, *Metarhizium robertsii* y *Metarhizium anisopliae* pueden ser utilizados en forma de: pulverización foliar, remojo de semillas y remojo de raíces, en cultivos de soya y maíz. El método de la salpicadura fue el más efectivo en la introducción de endófitos, creando así relaciones endófitas entre hongos y plantas, como se verificó mediante el reaislamiento de los hongos hasta 28 días después de la inoculación. Las líneas de prueba de *Lecanicillium lecanii* y *Tolypocladium cylindrosporum* no fueron identificados como endófitas en ni una de las especies de plantas porque no se volvieron a aislar durante ninguna de las etapas estudiadas y se relacionaron con los efectos de los hongos sobre las plantas estudiadas y sus plagas más importantes., la cepa LPSc 1098 de *Bauveria. bassiana* promueve el aumento y la utilidad de las plantas; se detectó efectos perjudiciales sobre la supervivencia, la fertilidad, y el desarrollo general de las plagas como: *Spodoptera frugiperda* y *Helicoverpa zea*, y

redujo significativamente las preferencias alimentarias de esas especies en cultivos de soja y maíz inoculadas con *B. bassiana* (Russo, 2017).

El chinche de la caña de azucar (Hemíptera: Cercopidae) amenaza con ser plaga de este cultivo en Colombia. Desde 2007, *Aeneolamia varia* ha sido detectada en la zona central del Valle del Cauca, lo que ha llevado a los cañeros a tomar medidas urgentes para controlar esta infestación. También se informó que otra especie de *Zulia carbonaria* ataca a este cultivo y se utilizó en este estudio debido a las restricciones de cuarentena forzadas a *A. varia*. Los gusanos de *Galleria mellonella* se han utilizado como cebo de suelo para conseguir hongos entomopatógenos. Los aislados fueron reactivados sobre *Z. carbonaria* y caracterizados según su índice de desarrollo, formación, germinación y patogenicidad. Se consiguieron 26 hongos patógenos de insectos (11 de aislados de *Paecilomyces lilacinus*, 15 de *Metarhizium anisopliae*), ocho cepas de *M. anisopliae* y seis cepas de *P. lilacinus* infectan a los chinches salivales. Las cepas *M. anisopliae*: CCMa0907 y *P. lilacinus*: CCPL0805, CCPL0802, CCPL0801, CCPL0904, y, presentaron características ideales en cuanto a formación de esporas, índice de crecimiento y de germinación. Finalmente, se desarrolló un protocolo de bioensayo en invernadero para evaluar la patogenicidad de estos hongos para la regulación del chinche de la caña (García et al., 2012).

Nasutitermes es el género de termitas que son consideradas una de las plagas más arrasadoras en cuanto a agroforestales en Brasil. El principal método de regulación es el uso de insecticidas. Los hongos entomopatógenos se pueden usar como una de las tantas alternativas que se tienen hoy en día para regular la población de esta plaga en el medio ambiente. Entonces, el fin de este análisis fue evaluar la virulencia de hongos nativos aislados del suelo amazónico de las especies *Metarhizium marquandii*, *Tolypocladium endophyticum*, *Metarhizium anisopliae*. Para la regulación de *Nasutitermes* sp., se evaluaron las cepas *T. endophyticum* (4439), *M. anisopliae* (3) y *M. marquandii* (4472) con sus

respectivos aislamientos utilizando suspensiones a 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} y 10^{-8} conidios/ml para combatir termitas. Los hongos se caracterizaron por análisis molecular para confirmar la especie. La mayor virulencia se observó con *T. endophyticum* (4.439), con un 100% de mortalidad al cuarto día de tratamiento para todas las concentraciones ensayadas. La cepa *M. anisopliae* (3) fue eficaz, causando una mortalidad del 100 % en los días seis y siete a diluciones de 10^{-7} y 10^{-8} conidios/ml, correspondientemente. Se han informado tasas por debajo del 100% con *M. marquandii*. Por lo tanto, las tres cepas fúngicas mostraron virulencia contra *Nasutitermes* sp. En este estudio, las cepas de *M. marquandii* y *T. endophyticum* fueron revelados por primera vez para el control biológico de plagas, demostrando el potencial de los hongos nativos que se encuentran en el suelo amazónico y son usados en el control biológico de las termitas *Nasutitermes* sp. (Diniz et al., 2022).

Ramos, et al (2022) en su trabajo denominado “Abundancia de *Beauveria* spp. y *Metarhizium* spp. en agroecosistemas de maíz y banano en el centro de Cuba.”, afirman que, “Los hongos entomopatógenos son una alternativa ecológica para el control de plagas agrícolas. Estos hongos viven en la materia orgánica contenida en el suelo y pueden causar epizootias naturales a muchos artrópodos asociados a la rizósfera. El objetivo de este estudio fue evaluar la abundancia de *Beauveria* spp. y *Metarhizium* spp. dentro de los agroecosistemas de maíz y banano en el centro de Cuba. Se utilizaron los métodos de medio selectivo e insecto cebo para aislar los hongos entomopatógenos del suelo. *Metarhizium* spp. fue significativamente más abundante que *Beauveria* spp. en ambos agroecosistemas. La abundancia de *Metarhizium* spp. fue mayor en Sagua la Grande que en los municipios de Santa Clara y Camajuaní. Además, el método de insecto cebo constituye el más apropiado para aislar hongos entomopatógenos. Estos resultados muestran la composición de los hongos entomopatógenos en diferentes agroecosistemas y constituyen un avance en la comprensión de su ecología”.

Cañedo y Ames (2004), en su trabajo denominado “Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos”, mencionan que el Centro Internacional de la Papa (C.I.P) en la sede Perú trabaja con hongos como: *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Lecanicillium lacanii* y *Paecilomyces* spp; ya que tienen un rango amplio de hospedantes y son usados para controlar diversas plagas en distintos lugares. Estos organismos han sido utilizados especialmente en el programa del control del gorgojo de los andes.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. El manejo integrado plagas (MIP)

El Manejo Integrado de Plagas se define como un conjunto de herramientas que, cuando se manejan de manera oportuna e integrada, logran contener las poblaciones de plagas para que no causen daños económicos a la producción agrícola y mejoren la calidad de vida y salud, primordialmente de los agricultores (Vivas, 2017).

2.2.2. El control biológico

Se refiere al uso de diferentes organismos (compuestos o extractos de los mismos), solos o en combinación, que tienen la capacidad de restar las consecuencias nocivas causadas por las poblaciones de insectos plagas y las enfermedades que afectan el desarrollo y/o el rendimiento de las plantas (Vinchira y Moreno, 2019).

El control biológico es una alternativa natural y que sobre todo es muy amigable con el medio ambiente que involucra el uso de microorganismos benéficos (MB) entre los cuales tenemos a los hongos, nematodos, virus y bacterias que reducen las poblaciones de plagas a concentraciones más bajas, ya sea de forma temporal o permanente (Viera et al., 2020).

Estos agentes de control natural se caracterizan porque su distribución es muy amplia, su riesgo para la salud humana y animal es baja y sobre todo por poseer una alta virulencia y compatibilidad con el medio ambiente (Martínez-García et al., 2023).

2.2.3. Hongos entomopatógenos

Estos organismos tienen una gran capacidad como intermediarios de control debido a que son un grupo de más de 750 especies que infectan a las poblaciones de insectos cuando ingresan al ambiente. Cuando las esporas quedan en la superficie del medio, estos hongos comienzan a infectar, donde comienzan a formarse tubos germinativos y los hongos comienzan a secretar enzimas como proteasas, quitinasas, lipasas y lipoxigenasas (Rojas, 2022). Las enzimas mencionadas descomponen la cutícula del insecto y ayudan en el proceso de penetración por presión mecánica iniciado por la cutícula, una estructura especializada que se forma en el tubo germinativo. Cuando el insecto muere y muchos de los nutrientes se agotan, el hongo comienza a formar un micelio e invade todos los órganos del huésped. El micelio penetra en la epidermis desde el interior del insecto y emerge a la superficie, donde, en las condiciones ambientales adecuadas, se comenzarán a formar las esporas nuevas (Pucheta et al., 2006).

La eficiencia de la infección está determinada por factores ambientales como la humedad, la temperatura, la lluvia, la radiación solar, factores biológicos como la edad del huésped y la patogenicidad de este control (Viera et al., 2020).

Se han realizado estudios sobre psílidos asiáticos *Diaphorina citri* usando *Hirsutella citriformis*; *Paecilomyces fumosoroseus*; y *Lecanicillium lecanii*. Además de estudios con *B. bassiana* y *M. anisopliae*. En todos estos estudios, las cepas analizadas se consideraron prometedoras para el desarrollo de tecnología de biocontrol contra *D. citri*, como en el caso de *M. anisopliae*, causa una mortalidad del 93-100% en pupas, mientras que la mortalidad en adultos es del 40-95% (Lourdes, 2020).

La especie *Cerotoma tingomariana* que pertenece al orden Coleóptera, y familia Chrysomelidae, es una de las tantas plagas que infestan el cultivo de soja, reduciendo en grandes cantidades su rendimiento. Para combatir esta plaga se emplean medidas de control

biológico mediante el uso de hongos patógenos de insectos. El fin de este análisis fue separar y caracterizar un hongo patógeno de insectos debido a su alta eficiencia y crecimiento bajo diferentes condiciones de temperatura, pH y radiación UV-B. Las actividades biológicas fueron de 10 cepas de *Beauveria b.* y *Metarhizium spp.*, en contra de *C. tingomarianna* en condiciones de laboratorio. Los aislamientos Bv003 y Bv060 de *B. bassiana* se seleccionaron con una concentración letal media CL50 de $5,6 \times 10^{-4}$ esporas/ml, para Bv003 y $5,8 \times 10^{-5}$ esporas/ml, para el aislado Bv060, es decir; Bv003, es más virulento que Bv060. Al evaluar el desempeño en condiciones de invernadero, la eficiencia fue de 54,5% y 79,5%, respectivamente (Mejía et al., 2020).

2.2.4. Distribución de hongos entomopatógenos

Muchas especies de estos microorganismos viven en el suelo y forman parte de varios ecosistemas en nuestro planeta, juegan un rol primordial en la regulación de las poblaciones de plagas (insectos). (Moreu, 2019). Algunos de los géneros más comunes incluyen *Beauveria*, *Metarhizium*, *Conidiobolus* y *Paecilomyces* (García et al., 2012).

Las cepas de hongos de *M. anisopliae* han sido estudiadas en diferentes partes del planeta, demostrando su efectividad en el control de chinches de caña, como *Mahanarva fimbriolata* en el país de Brasil (García, et al., 2012).

2.2.5. Aislamiento de hongos entomopatógenos

Chase et al., (1986); Liud et al., (1993); Alves, et al., (1998), citado por Bignell et al., (2011), tomaron muestras de suelo a una profundidad de 0 a 20 cm y lo colocaron en bolsas de plástico debidamente rotuladas. En cada sitio de muestreo, tomaron una muestra compuesta de seis submuestras tomadas de puntos alrededor de un bloque central. En el laboratorio, las muestras fueron mezcladas y tomaron 1 g de suelo, a partir de estas alícuotas se prepararon sucesivamente diluciones 10^{-41} utilizando agua destilada estéril hasta obtener una dilución 10^{-1} . De las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} se tomaron 0,1 ml y se añadieron a medio de

cultivo PDA que contenía el fungicida Dodina. El fungicida Dodina se agrega en pequeñas concentraciones (alrededor de 10 mg/L) a medios selectivos para aislar hongos insectos del suelo y preservar aislados menos susceptibles a contaminaciones. Esto suele ser efectivo, especialmente con *Metarhizium anisopliae*. Luego de este paso, tomaron 0,1 ml del diluyente final y se depositó sobre la superficie del medio de cultivo contenido en la caja Petri. La masa añadida se distribuye sobre la superficie mediante un bucle Drigalski (acero inoxidable o vidrio). Las placas se incubaron a 27 °C. El crecimiento fúngico y las esporas se evaluaron 7-15 días después de la inoculación. Después de la incubación, la identificación de los explantes de interés (principalmente *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces spp.*) se puede realizar mediante microscopía compleja y claves de identificación basadas en características morfológica de estructuras reproductivas, como: células germinales, micelio, esporas, conidióforos y fiálides, con la posterior purificación de los cultivos y almacenamiento en condiciones de congelación utilizando un tubo Eppendorf para este fin.

2.2.6. Identificación de microorganismos entomopatógenos

En el caso de hongos, se basa en las características morfológicas del organismo desarrollado en un medio de cultivo y en la estructura de las células germinales, micelio y esporas; sin embargo, para lograr una buena identificación, es necesario aislar el organismo en un cultivo puro o al menos aislar la población. La población microbiana en cualquier ambiente natural es muy grande y, por lo tanto, cuando se recolecta un insecto muerto para cultivo microbiano, es muy común encontrar hongos, bacterias y otros microorganismos (Bignell et al., 2011).

2.2.7. Principales hongos entomopatógenos reportados

A. *Beauveria bassiana* B. Alexopoulos y Mims (1979), reportan que su clasificación taxonómica es la siguiente:

Reino : Fungi
División : Ascomycota
Clase : Sordariomycetes
Orden : Hypocreales
Familia : Cordypitaceae
Género : *Beauveria*
Especie : *Beauveria bassiana* B.

Este es un hongo filamentosos que forma esporas unicelulares llamadas conidios. Estos conidios son la forma infectiva del hongo y se adhieren a la cutícula de los insectos huéspedes. Su ciclo de vida incluye una fase parasítica y una fase saprofítica. En la fase parasítica, el hongo infecta al insecto huésped. Las esporas del hongo se adhieren a la cutícula del insecto, germinan y penetran en su cuerpo, donde crecen y se multiplican, eventualmente matando al insecto. En la fase saprofítica, el hongo se desarrolla en el cadáver del insecto muerto y produce nuevas esporas, que pueden infectar a otros insectos (Hoog, 1972). Es un hongo que puede sobrevivir y crecer en un rango de pH relativamente amplio (Norjmaa et al., 2023). Características similares fueron reportadas por Cañedo y Ames (2004) para este hongo.

Naimul et al., (2023) reportan que las principales características de la morfología de la especie *Beuaveria bassiana* son: las colonias de hongos son individuales, de color blanco, redondo, ligeramente elevado con aspecto polvoriento y ligeramente veloso con anillos circulares. Las conidias son hialinas y redondas. Los conidióforos unicelulares cortos, densamente agrupados y hialinos.

Akrich et al. (2023), mencionan que las colonias de *B. bassiana* se caracterizaron por tener un crecimiento disperso y denso, de colores turbios y blanco, con el reverso amarillento, en la identificación con el microscópico la observación reveló conidios globosos a subglobosos sostenidos por hifas ramificadas translúcidas.

B. *Metarhizium anisopliae* M. Tanada y Kaya (1993), mencionan que su clasificación taxonómica es la siguiente:

Reino : Fungi
División : Ascomycota
Clase : Sordariomycetes
Orden : Hypocreales
Familia : Clavicipitaceae
Género : *Metarhizium*
Especie : *Metarhizium anisopliae* S.

Este hongo presenta una morfología típica de los hongos entomopatógenos. Su forma puede variar, pero generalmente produce esporas de color blanco a verde claro, son pequeñas y unicelulares, y a menudo tienen una apariencia alargada o cilíndrica, Cañedo y Ames (2004) y (Sani et al., 2022). El pH del suelo también puede influir en la capacidad de *Metarhizium anisopliae* para colonizar y actuar sobre las plagas de insectos. Algunas investigaciones han sugerido que el pH del suelo puede afectar la germinación de las esporas y la capacidad del hongo para infectar a los insectos huéspedes. En general, se ha observado que este hongo se desarrolla en distintos tipos de suelos, con distintos rangos de pH y porcentaje de materia orgánica (Ojeda et al., 2010).

C. *Purpureocillium lilacinum* L. Luangsa-Ard, et al., (2011) indican que la clasificación taxonómica de este hongo es la siguiente:

Reino : Fungi
División : Ascomycota
Clase : Sordariomycetes
Orden : Hypocreales
Familia : Ophiocordycipitaceae
Género : *Purpureocillium*
Especie : *Purpureocillium lilacinum* L.

Purpureocillium es un género nuevo que se clasifica a partir de *Paecilomyces lilacinus* (antiguo nombre científico) y fue establecido por Luangsa-Ard et al., (2011). Se utiliza como agente de control de ciertas plagas insectiles y también de especies de nematodos fitoparásitos del género *Meloidogyne* (Khan y Tanaka, 2023).

Se ha descubierto que *P. lilacinum* puede colonizar plantas y crecer endofíticamente, protegiéndolas de plagas y enfermedades y así estimular y promover el crecimiento de las estas (Baron, et al., 2020).

El color de las colonias varías entre tonos rosados a púrpuras, y se presentan en masas globosas. Las conidias de este hongo son ovoides y largas, generalmente se presentan en cadenas extensas. Están presentes en distintos tipos de suelos, con diferentes condiciones (Sani et al., 2022).

2.3. Definición de términos

- **Control biológico:** es la producción y liberación en masa de insectos y microorganismos denominados enemigos naturales, como predadores, parasitoides y entomopatógenos respectivamente, para combatir los insectos plagas de manera sana con el medio ambiente.

- **Hongos:** son especímenes eucariotas que necesitan de otros individuos vivos para obtener su alimento. Sus células tienen una pared gruesa de un compuesto llamado quitina, el cual les abastecerá de mucha resistencia.
- **Entomopatógenos:** son microorganismos capaces de infectar a las plagas, provocándoles la muerte tras un breve periodo de incubación.
- **Espora:** es la unidad reproductora fúngica que consta de una o más células
- **Conidio:** estas son esporas asexuales de hongos formadas en los extremos de los conidióforos
- **Conidióforo:** es una hifa especializada donde se forman una o más conidios.
- **Enfermedad:** disfunción de las células y tejidos del huésped como resultado de la estimulación prolongada por patógenos o factores ambientales que conducen al desarrollo de síntomas.
- **Micelio:** hifa o masas de hifas que constituyen el soma de un hongo.
- **Apresorio:** extremo hinchado de una hifa o tubo germinativo que facilita la fijación y penetración de un hongo en su hospedante.
- **Incubación:** es el intervalo de tiempo que transcurre entre la exposición a un agente infeccioso y la aparición del primer signo o síntoma de la enfermedad de que se trate.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

3.1.1. *Ubicación de la fase de campo*

Provincias : Yungay y Carhuaz

Región : Ancash

Altitud : Entre los 2300 m.s.n.m y 4100 m.s.n.m aproximadamente

3.1.2. *Ubicación de la fase de laboratorio*

Lugar : Ciudad Universitaria – Shancayán.

Distrito : Independencia.

Provincia : Huaraz.

Región : Ancash

Altitud : 3052 m.s.n.m

3.1.3. *Fecha de instalación y finalización del experimento*

El trabajo de investigación se instaló el 01 de diciembre de 2022 y se culminó con las evaluaciones el 15 de septiembre de 2023.

3.2. Materiales e insumos

- Comida de perros para cachorros
- Miel de abeja
- Polen de abeja
- Cera para carro sin olor
- Tela tul
- Tela poliseda negra
- Baldes de plástico de 1 galón
- Envases de plástico de 250 gr
- Pinceles finos

- Pinzas
- Placas de Petri vidrio de 9cm de diámetro
- Papel filtro
- Ligas
- Alcohol de 70 %
- Alcohol de 96 %
- Bolsas de polipropileno de 3x3
- Marcador indeleble
- Etiquetas de 5x2 cm
- Bandejas de plástico de 30x20x5 cm
- Espátula de metal
- Lampa recta
- Medio de cultivo PDA
- Tween 80®
- Micro pipeta de 100 – 1000 ul
- Lamina portaobjetos 26x76x1.0 mm
- Laminas cubre objetos 22 x 22 mm
- Tubo de vidrio (Schott®) (2,5 cm de diámetro x 8,5 cm de altura)
- Gradilla de polipropileno para tubo de ensayo 16 mm
- Punteras de pipetas (tips) de 1000 ul
- Algodón hidrofílico
- Pissetas de 500ml
- Probetas de 1L
- Papel toalla

3.3. Material biológico

- Huevos de *Galleria mellonella* (L.)
- Larvas de *G. mellonella* (L.)

3.4. Equipos

- Cámara de climatización
- Termo higrómetro digital con reloj y sensor de temperatura y humedad
- Estereomicroscopio con cámara
- Microscopio compuesto
- Computadora
- Impresora
- Cámara fotográfica
- Autoclave
- Cocinilla eléctrica
- Flujo laminar
- Agitador Vortex
- Incubadora

3.5. Métodos

3.5.1. Tipo de investigación

La presente investigación corresponde a una búsqueda cualitativa y según su propósito es básica porque comprende principios y teorías sobre el control biológico, incrementando conocimientos específicamente acerca de hongos entomopatógenos; este trabajo se contrasta solo hasta realizar aislamientos e identificaciones de los agentes de control encontrados, mas no hasta saber su patogenicidad, ni mucho menos producirlos de forma masal y aplicarlos en el campo. También se trata de una investigación descriptiva,

porque se hará una caracterización macro y microscópica minuciosa de todos los hongos entomopatógenos encontrados en esta investigación.

3.5.2. Diseño de investigación

Se aplicó el diseño no experimental transversal, que consistió en identificar los hongos entomopatógenos en un solo momento.

3.5.3. Población y muestra de estudio

A. Población o universo. El universo de investigación se refiere al espacio en donde serán válidos los resultados del trabajo; en este caso en las zonas muestreadas de las provincias de Yungay y Carhuaz, comprendidas entre los 2200 y 4100 m.s.n.m.

B. Unidad de análisis y muestra. La unidad de análisis estuvo representada por una muestra de suelo tomada de áreas perturbadas (Cañasbamba (maíz) y Tingua (coliflor) en la provincia de Yungay; Yanamarca (alfalfa), Chucchun (maíz) y Allpa Rumi (zapallito italiano) en la provincia de Carhuaz), cada muestra estuvo conformada por 10 submuestras. Cada muestra de las áreas no perturbadas (Quebrada Llanganúco y Tumpa en la provincia de Yungay; Shilla y Chanchopunta en la provincia de Carhuaz), estuvo compuesta por 30 submuestras, parte de cada muestra fue enviadas al laboratorio de Suelos y Aguas de la Facultad de Ciencias Agrarias, para su respectivo análisis de pH y materia orgánica.

3.6. Metodología

3.6.1. Procedimiento

La presente investigación se desarrolló en dos fases:

Fase de campo: Consistió en ubicar las zonas de muestreo, determinar la ubicación de las localidades y la toma de muestras.

Muestreo de suelos. Al tener identificados los lugares a trabajar, se hicieron los mapeos y muestreos correspondientes. Se ubicaron cinco puntos tomados en áreas perturbadas, en los cultivos de melocotonero, coliflor, alfalfa, maíz y zapallito italiano y

cinco puntos en áreas no perturbadas. En las áreas perturbadas se seleccionaron 10 submuestras por punto en forma de “X” en todos los cultivos mencionados anteriormente, y en las áreas no perturbadas se seleccionaron 30 submuestras por punto para cada lugar trabajado. Cada submuestra se conformó por aproximadamente 500 gr de tierra, al finalizar el muestreo de cada punto se procedió a combinar todas las submuestras de tierra colectadas. Estas muestras fueron debidamente rotuladas y guardadas en bolsas de polipropileno; una parte de cada muestra fue llevada al laboratorio de Suelos y Aguas, para el análisis de pH y contenido de materia orgánica y otra al laboratorio de Fitopatología; para la preparación de trampas cebo.

Figura 1

Muestreo de suelos.



Figura 2

Muestras de suelo embolsadas y rotuladas.



Tabla 1

Información de los puntos de muestreo en Áreas Perturbadas.

ÁREAS PERTURBADAS													
	Lugar	Distrito	Provincia	Región	Cultivo	E	N	Latitud	Longitud	Altitud (Z)	Clase textural	pH	M.O %
Punto N°01	Centro de Investigación y Producción Cañasbamba	Yungay	Yungay	Ancash	Melocotonero (<i>Prunus persica</i> L.)	195441.798m. (18S)	8992898.730m.	- 9.10025333	- 77.77061167	2309.50 m.s.n.m	Franco arenoso	6.78	1.946
Punto N°02	Centro de Investigación y Producción Tingua	Yungay	Yungay	Ancash	Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	204631.864m. (18S)	8979571m.	- 9.22128707	- 77.68797802	2518.33 m.s.n.m	Franco	7.29	1.864
Punto N°03	Caserío Yanamarca	Carhuaz	Carhuaz	Ancash	Alfalfa (<i>Medicago sativa</i> L.)	210081.699m. (18S)	8971987.497m.	- 9.29018167	- 77.63893000	2690.50 m.s.n.m	Franco	6.65	3.412
Punto N°04	Caserío Chucchun	Carhuaz	Carhuaz	Ancash	Maíz (<i>Zea mays</i> L.)	210778.806m. (18S)	8971925.450m.	- 9.29078889	- 77.63262990	2698.05 m.s.n.m	Franco arenoso	5.08	2.246
Punto N°05	Centro de Investigación y Producción Allpa Rumi	Marcará	Carhuaz	Ancash	Zapallito italiano (<i>Cucurbita pepo</i> L.)	213706.911m. (18S)	8967818.610m.	- 9.32809187	- 77.60624411	2727.39 m.s.n.m	Franco arenoso	5.49	1.348



Figura 3

Mapa de ubicación del Punto N°01 – Áreas Perturbadas.

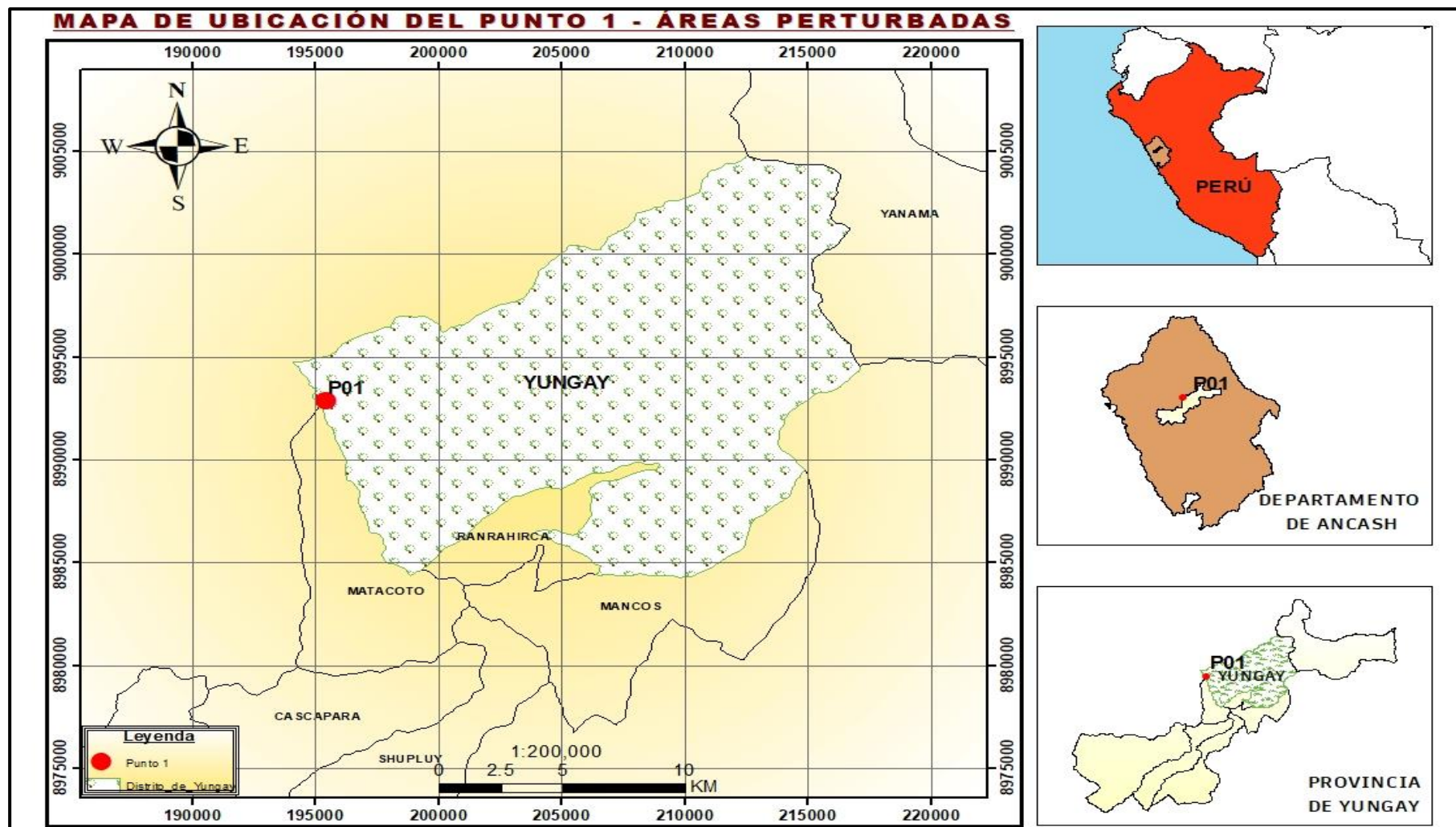


Figura 4

Mapa de ubicación del Punto N°02 – Áreas Perturbadas.

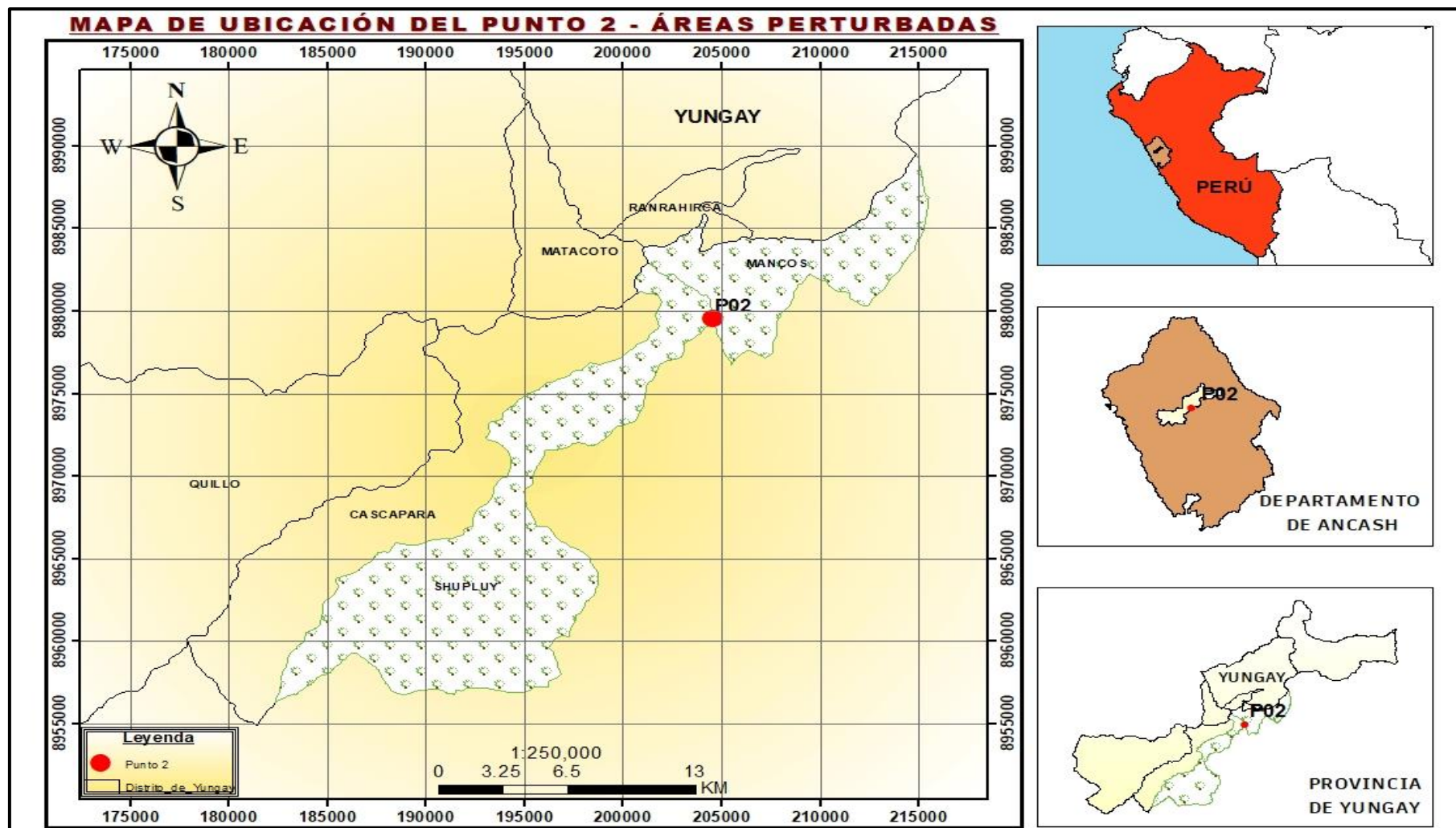


Figura 5

Mapa de ubicación del Punto N°03 – Áreas Perturbadas.

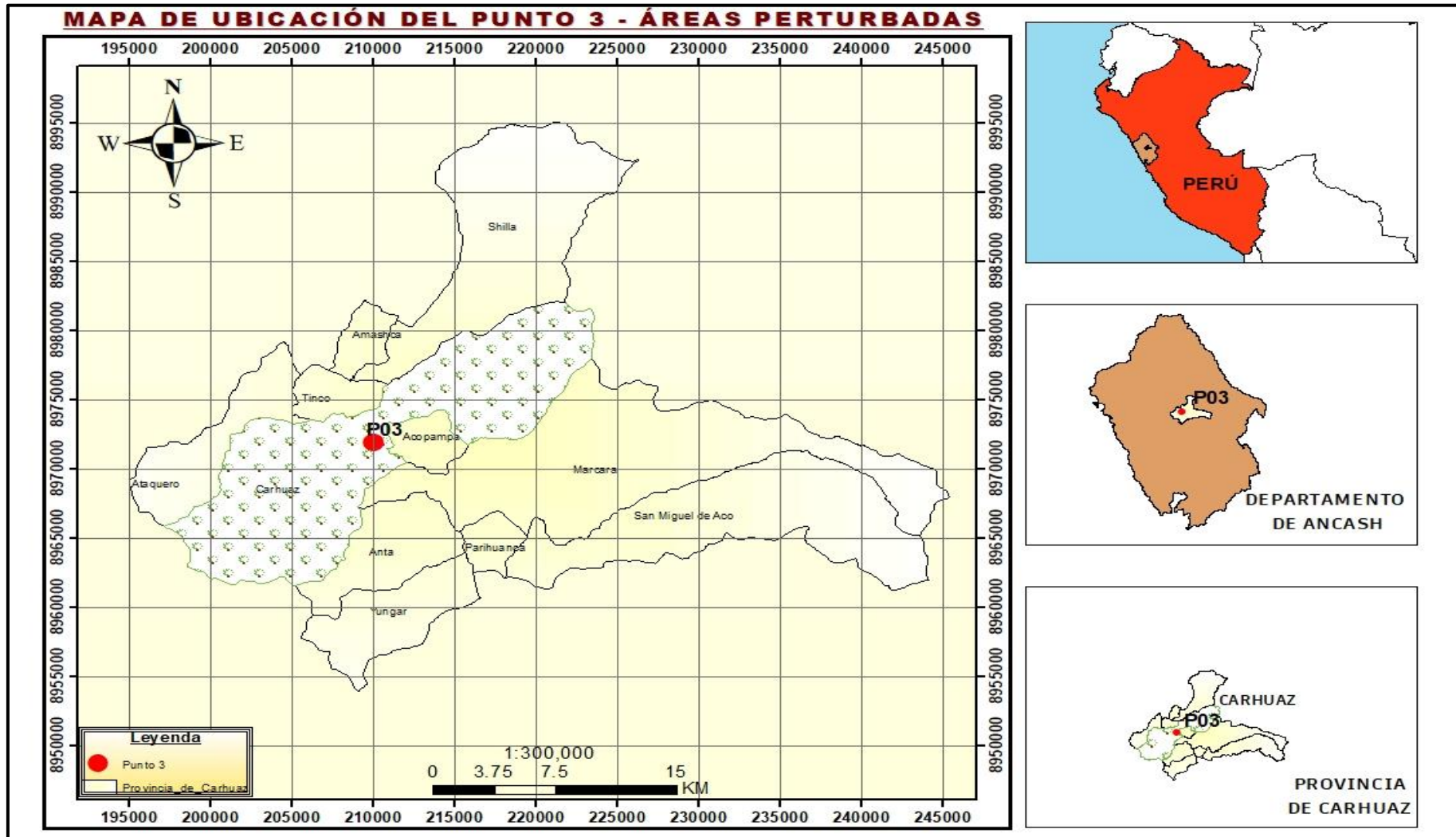


Figura 6

Mapa de ubicación del Punto N°04 – Áreas Perturbadas.

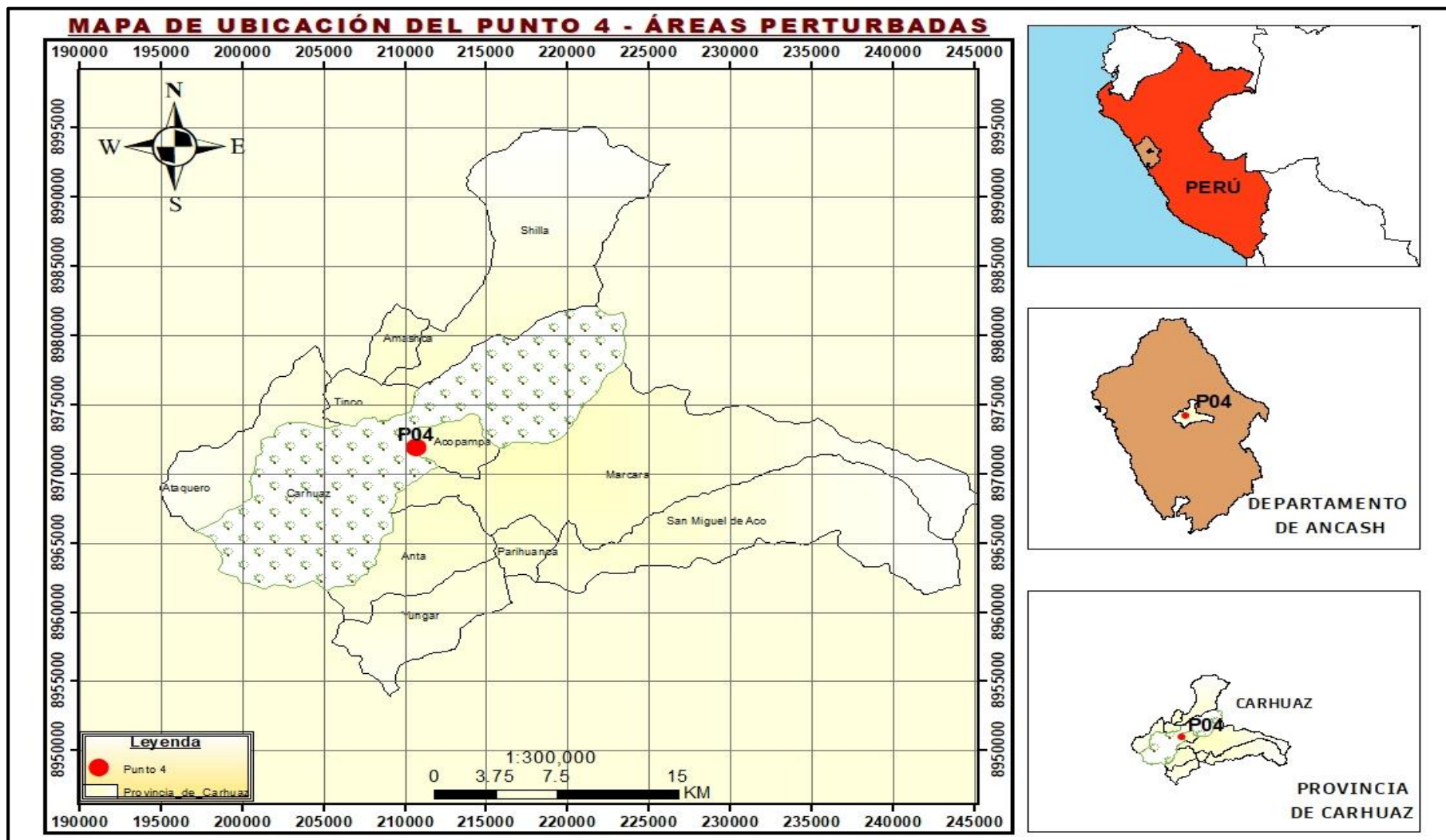


Figura 7

Mapa de ubicación del Punto N°05 – Áreas Perturbadas.

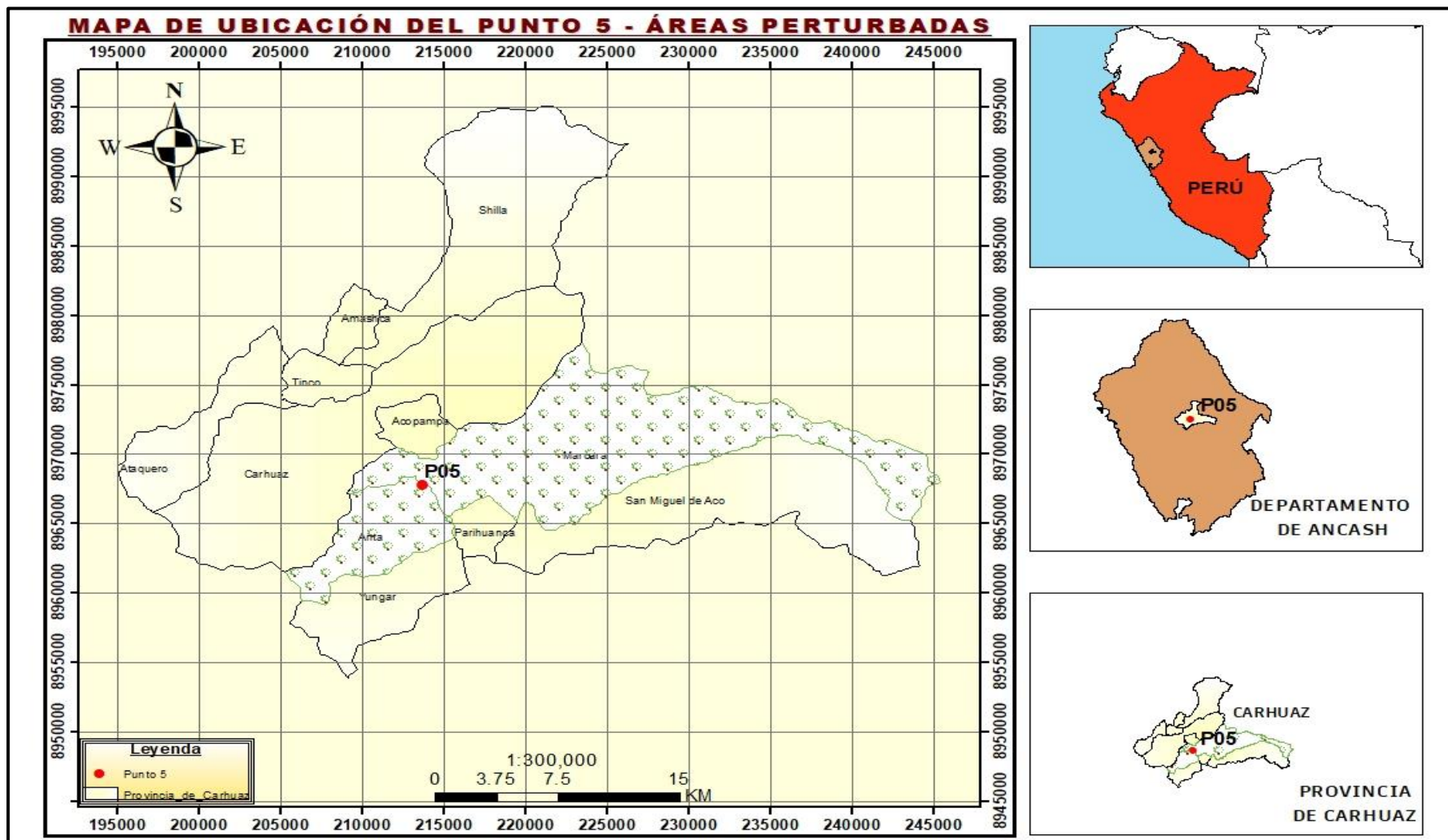


Tabla 2*Información de los puntos de muestreo en Áreas No Perturbadas.*

ÁREAS NO PERTURBADAS												
	Lugar	Distrito	Provincia	Región	E	N	Latitud	Longitud	Altitud (Z)	Clase textural	pH	M.O %
Punto N°01	Shilla I – Quebrada Uta	Shilla	Carhuaz	Ancash	218144.052m. (18S)	8987358.421m.	-9.15181167	-77.56457000	3820.90 m.s.n.m	Franco arenoso	4.26	5.632
Punto N°02	Shilla I	Shilla	Carhuaz	Ancash	216612.563m. (18S)	8985955.794m.	-9.16444500	-77.57785667	3751.80 m.s.n.m	Franco arenoso	4.08	4.844
Punto N°03	Chanchopunta	Carhuaz	Carhuaz	Ancash	207478.354m. (18S)	8971581m.	-9.29367833	-77.66264833	3268.40 m.s.n.m	Franco	7.26	1.642
Punto N°04	Quebrada Llanganuco	Yungay	Yungay	Ancash	213878.861m. (18S)	8998597.242m.	9.05000000	-77.60265500	4083.20 m.s.n.m	Franco arenoso	4.40	6.618
Punto N°05	Tumpa	Yungay	Yungay	Ancash	208808.715m. (18S)	8985495.812m.	-9.16805167	-77.64959667	3268.00 m.s.n.m	Franco	3.79	1.748



Figura 8

Mapa de ubicación del Punto N°01 – Áreas No Perturbadas.

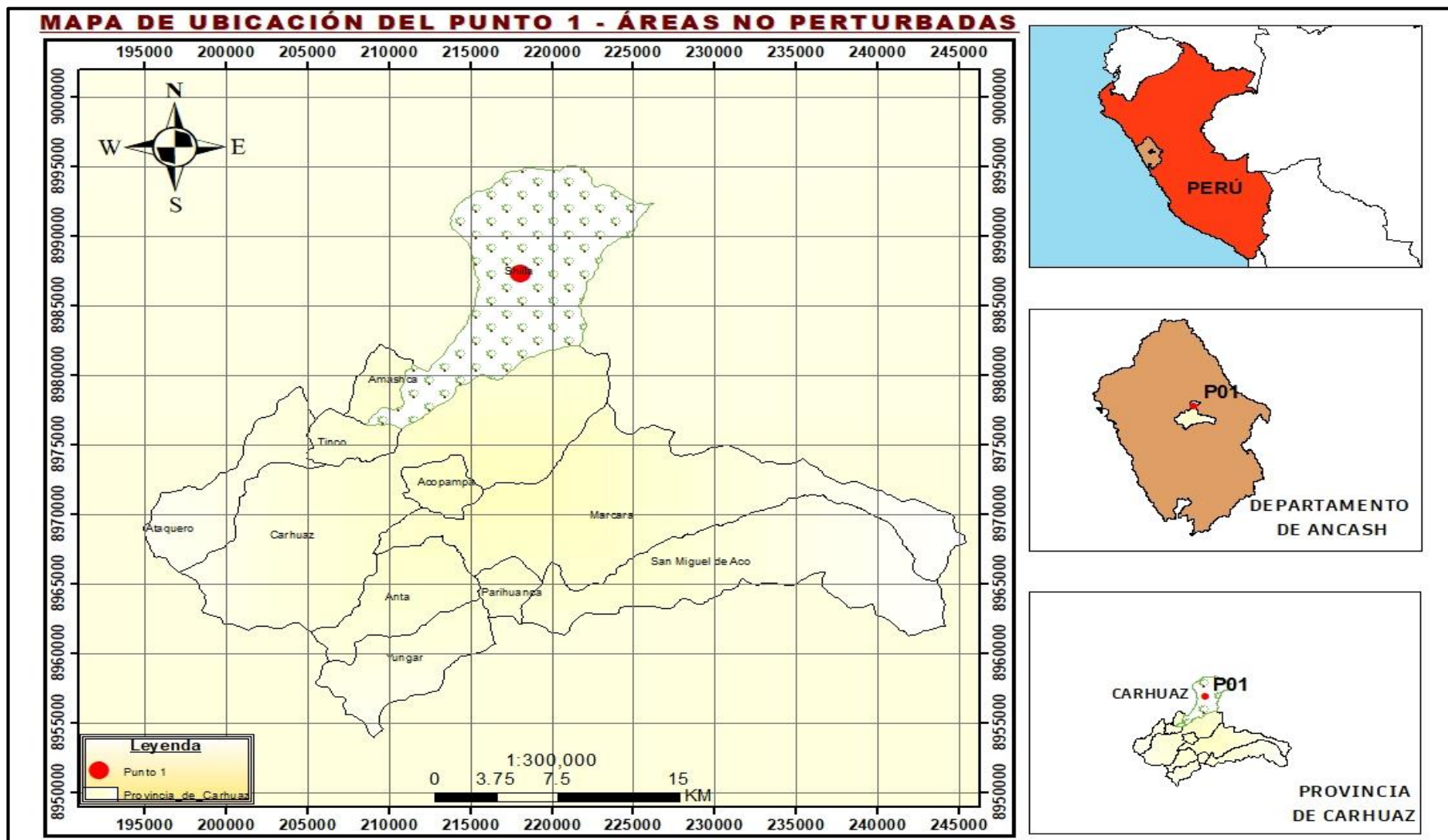


Figura 9

Mapa de ubicación del Punto N°02 – Áreas No Perturbadas.

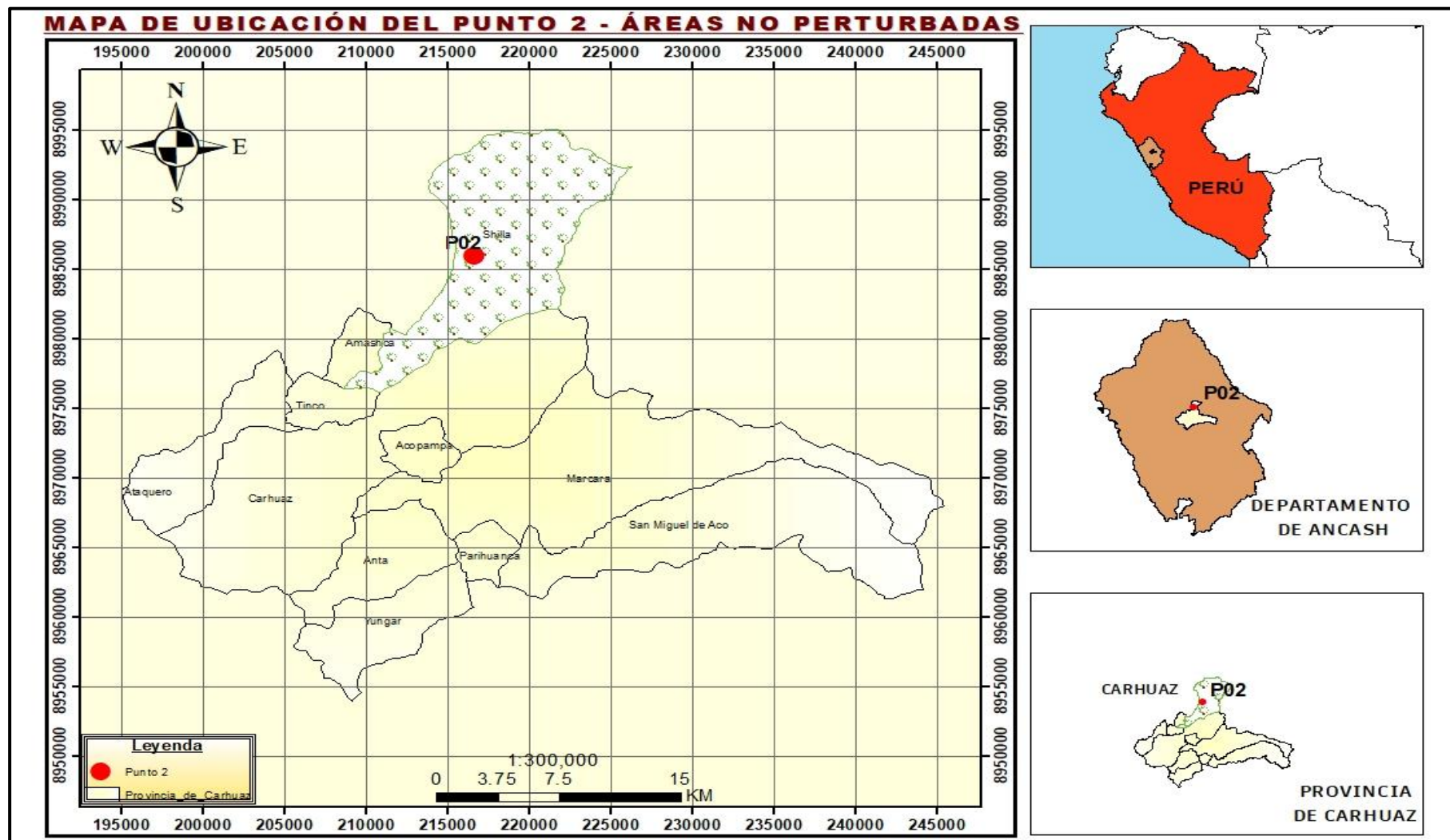


Figura 10

Mapa de ubicación del Punto N°03 – Áreas No Perturbadas.

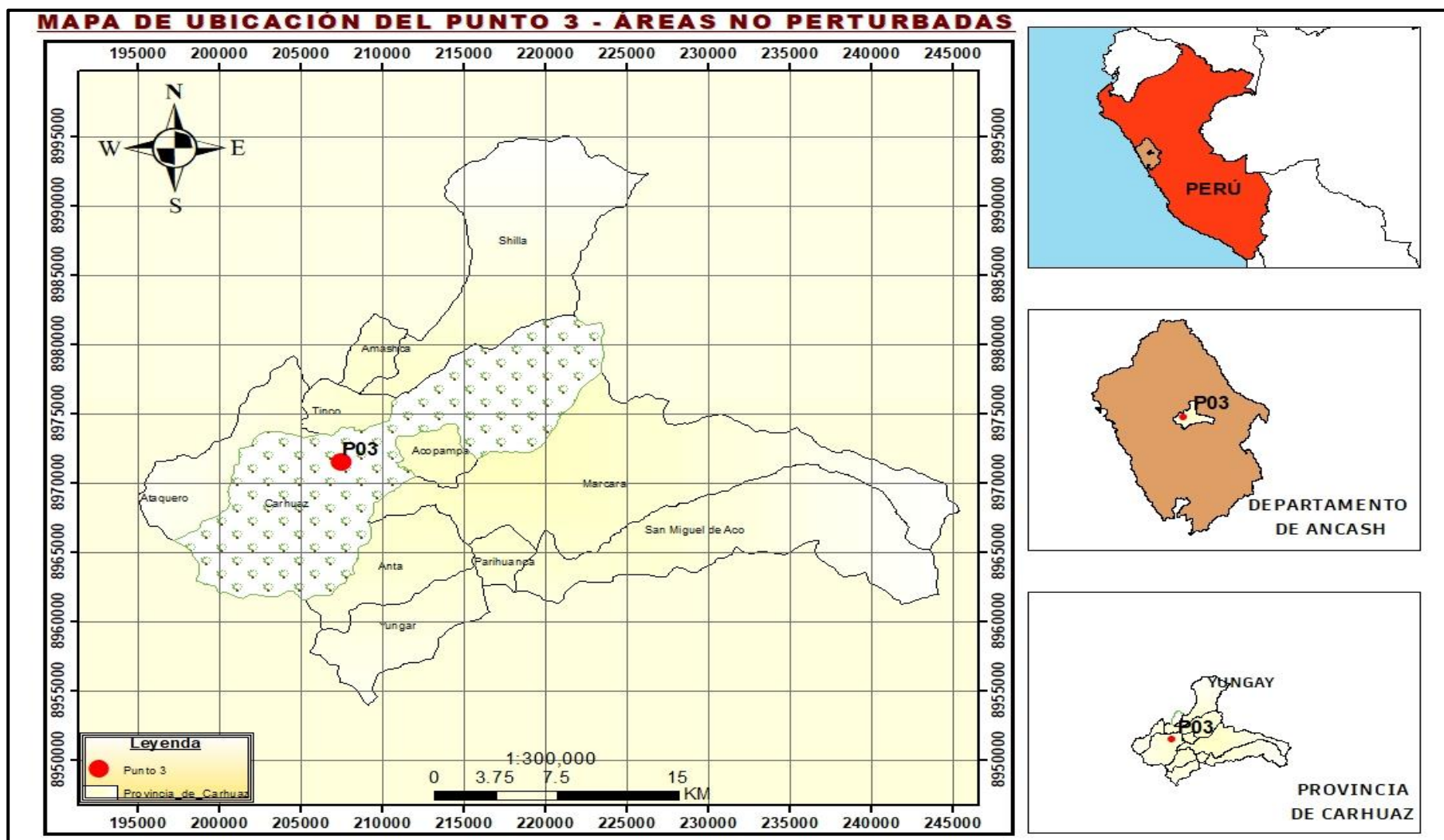


Figura 11

Mapa de ubicación del Punto N°04 – Áreas No Perturbadas.

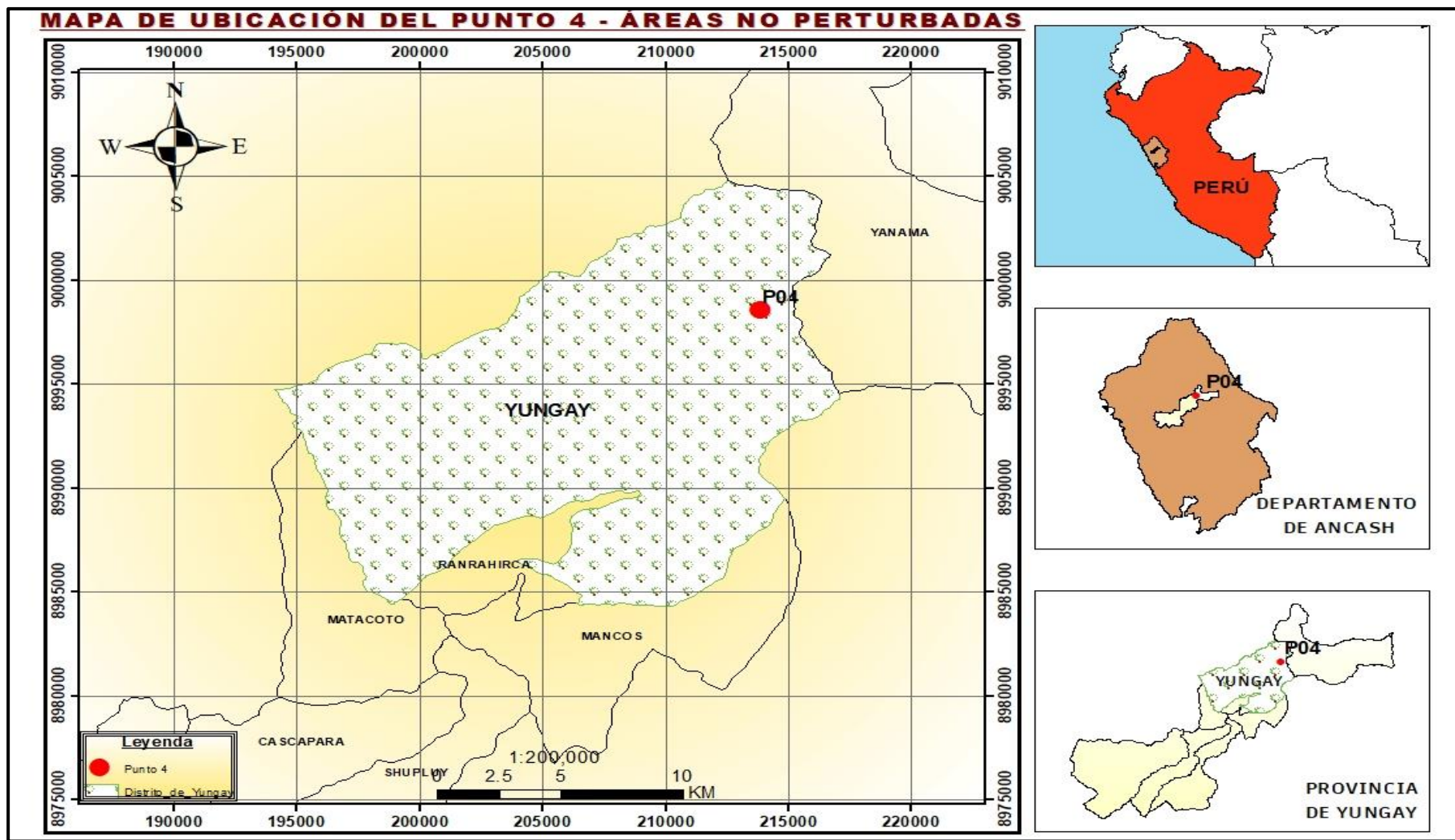
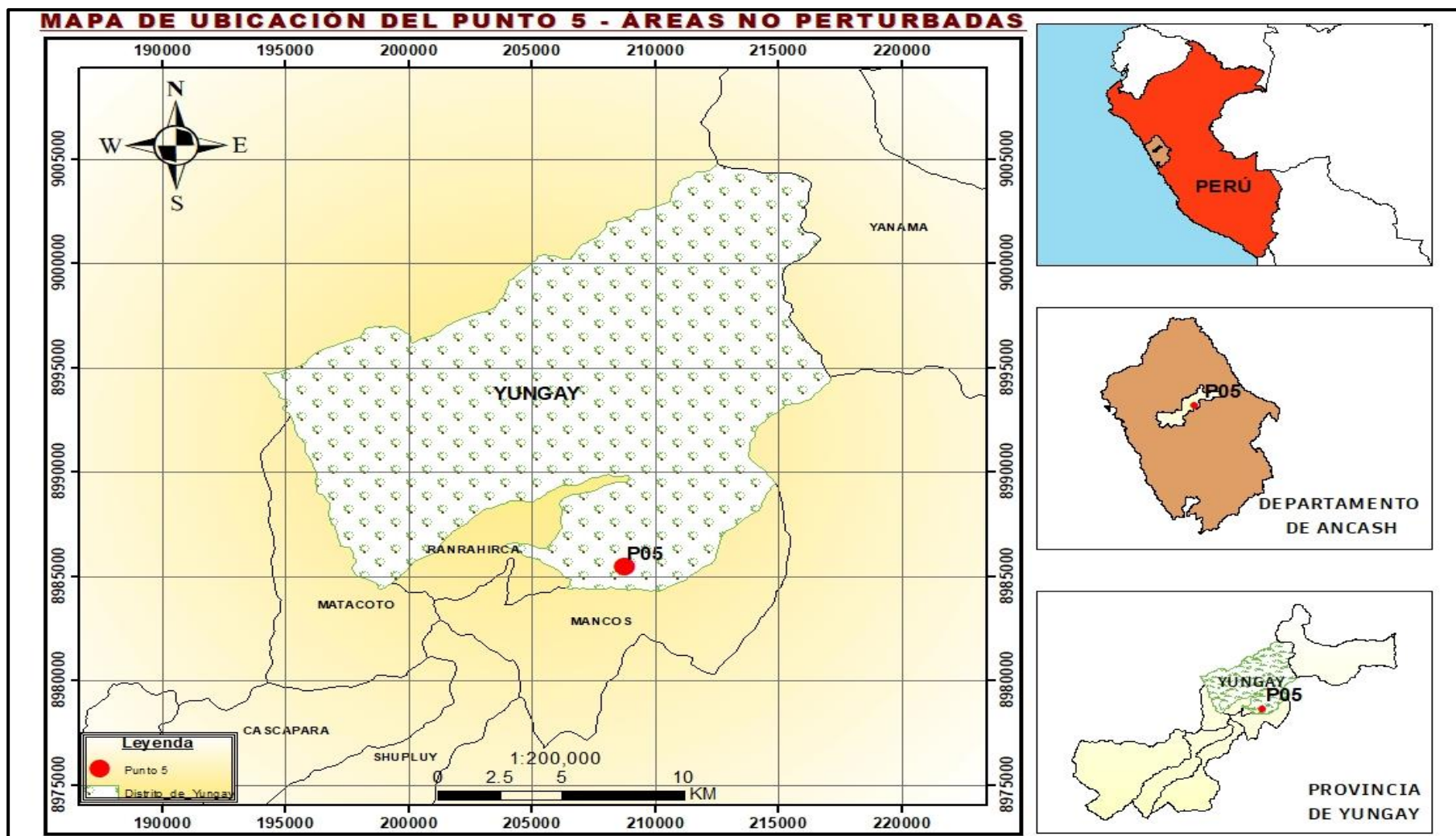


Figura 12:

Mapa de ubicación del Punto N°05 – Áreas No Perturbadas.



Fase de laboratorio: Se desarrollaron tres actividades: la crianza de *Galleria mellonella*, uso de las larvas de *G. mellonella* en su último estadio para atraer los hongos entomopatógenos existentes en las muestras de suelo; el aislamiento y multiplicación de los hongos desarrollados en las larvas; purificación, caracterización e identificación de los hongos y por último la creación de una colección de hongos entomopatógenos.

A. Crianza de *Galleria mellonella* L. Se inició estableciendo la crianza de la polilla de la cera (*G. mellonella*) que pertenece al orden Lepidóptera, familia Pyralidae, para esto se adquirieron 12 millares de huevos del Servicio Nacional de Sanidad Agraria - SENASA. La crianza se instaló en la cámara de climatización del laboratorio de Entomología de la UNASAM, con ayuda de un calentador y humidificador se le proporcionó las condiciones adecuadas que fueron, la temperatura entre 20 a 27 °C y la humedad entre 40 a 60 %. Los huevos se repartieron en 4 tapers de 500 gr de capacidad, con 3 millares cada uno aproximadamente, después de 3 a 4 días los huevos empezaron a eclosionar y se preparó como alimento de las larvas una dieta a base de polen humedecido con agua destilada (10 gr por taper); finalmente se untó el borde superior interno de cada taper con grasa para carro sin olor, para evitar que las larvas se escapen. Al cabo de 20 a 25 días las larvas ya se encontraban entre los estadios 2 y 3, y fueron transferidas a baldes de 5 litros de capacidad conteniendo una dieta distinta, a base de comida para perros (etapa cachorros) molida (2 kg por balde) y combinada con miel de abeja (500 gr por balde). Luego de 30 a 35 días ya se observaron larvas en último estadio y algunas ya en el estado de pupa. Las pupas fueron reconocidas por la presencia de un cocón blanco y duro. Entre los 40 y 42 días todas las larvas ya en estado de pupa fueron trasladadas a tapers de 1 kg (30 pupas aproximadamente por taper) para que los adultos puedan emerger y luego aparearse. Entre los 46 a 48 días de haber iniciado la crianza se observaron los primeros adultos y se procedió a colocar papel madera y malla tul como tapa del taper para que estas polillas luego de aparearse puedan

colocar sus posturas sobre el papel madera; y así volver a iniciar con la crianza. Este proceso se realizó de forma constante y cíclica durante todo el tiempo que duró la investigación, con el fin de mantener una población de esta especie que sirvieron como atrayente para atraer los hongos entomopatógenos.

Figura 13

Taper con huevos de Galleria mellonella L.



Figura 14

Tapers instalados en la cámara de climatización.



Figura 15

Larvas de *G. mellonella* en los primeros estadíos.

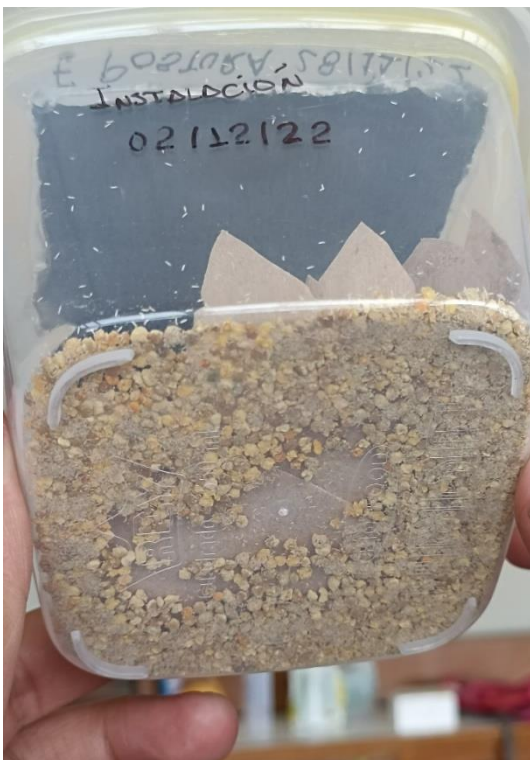


Figura 16

Dieta artificial preparada a base de Thor y miel de abejas.



Figura 17

*Pupas de *G. mellonella* formando cocones.*



Figura 18

Pareja de G. mellonella copulando.



B. Determinación de presencia de hongos entomopatógenos. Con las muestras de tierras ya en el laboratorio de Fitopatología, se procedió a preparar las trampas cebo, se inició con el tamizaje de la tierra, para eliminar hojas y pequeñas rocas. Por cada punto muestreado se trabajó con 5 tapers de plástico de 500 gr de capacidad, a los que se le colocó 300 gr de tierra, preparándose un total de 50 tapers. Luego de tener los 50 tapers con su respectiva tierra, se procedió a colocar 10 larvas de *Galleria mellonella* en su último instar, a cada taper; por último, estos fueron tapados y se invirtieron de posición, y finalmente colocados en la cámara de climatización hasta por 15 días.

A partir de los 10 días se fueron revisando los tapers para observar la presencia de hongos, al cabo de los 15 días se observó el crecimiento de micelio de los hongos sobre las larvas.

Las larvas con presencia de hongos fueron separadas para su posterior desinfección con hipoclorito de sodio al 1%, en una probeta de 1 L, luego fueron lavadas con agua destilada para eliminar el exceso del hipoclorito de sodio y posteriormente fueron colocadas sobre papel toalla para eliminar el exceso de agua de la superficie de las larvas.

Para que los hongos se desarrollen al máximo estas larvas infectadas fueron colocadas sobre cámaras húmedas que fueron hechas con, placas de Petri esterilizadas, conteniendo papel filtro humedecido con agua destilada y láminas porta objetos, sobre los cuales se colocaron las larvas infectadas. Las placas se dejaron incubando a temperatura ambiente hasta por 14 días, tiempo en que se observó una alta esporulación sobre las larvas.

Figura 19

Limpieza de tapers para la preparación de trampas cebo.



Figura 20

Rotulación de tapers.



Figura 21:

Colocando larvas de G. mellonella como trampas cebo.



Figura 22

Trampas cebo preparadas.



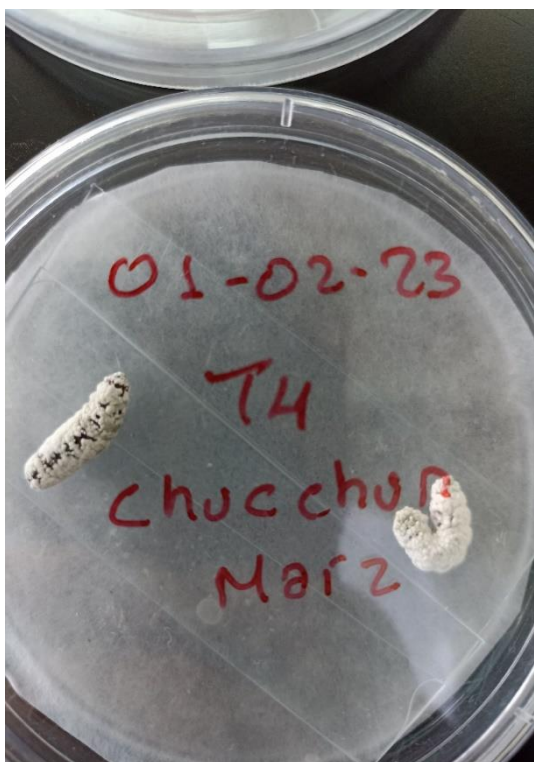
Figura 23

Larva infectada en la trampa cebo.



Figura 24

Larvas infectadas, transferidas a cámara húmeda.



C. Aislamiento y cultivo monospórico de hongos entomopatógenos. Se realizó la preparación de medio de cultivo PDA en placas de Petri esterilizadas, con toda las medidas de asepsia necesarias, dentro de la cámara de flujo laminar, posteriormente se realizó la siembra de los hongos transfiriendo una pequeña porción de micelio de las larvas a las placas con PDA, y se dejaron incubando dentro de la cámara de flujo laminar cuya temperatura osciló entre 19 a 21 °C por 2 semanas aproximadamente, observándose diariamente el desarrollo de las colonias de los hongos.

Para obtener cultivos puros de los hongos cultivados se procedió a preparar diluciones de esporas hasta 10^{-8} , y se sembraron en placas las dos últimas diluciones, 10^{-7} y 10^{-8} (Figura 26). Una vez desarrollas las colonias monospóricas, se transfirió una porción pequeña de micelio de una de estas colonias, a nuevas placas conteniendo PDA; obteniéndose así un cultivo puro.

Figura 25

Siembra de hongos desarrollados en las larvas, en placas de Petri con medio de cultivo PDA.



Figura 26:

Siembra de las dos últimas diluciones.



D. Identificación de los hongos entomopatógenos. Luego de obtener cultivos puros, se realizó la caracterización del desarrollo de las colonias, mediante la observación, describiendo el color y la forma del crecimiento del micelio; luego para la descripción microscópica de los hongos, se hicieron montajes, utilizando láminas porta objeto y colocando sobre estas una gota de azul de metileno o safranina, en la que se colocó pequeñas porciones de los hongos desarrollados en las placas a partir del cultivo monospórico, luego se colocó una lámina cubre objeto, y se observaron en el microscopio compuesto, para su descripción utilizando la clave taxonómica de Barnet y Hunter (1998).

Figura 27

Observación del desarrollo de las colonias.



Figura 28

Observaciones microscópicas.



E. Conservación de los aislamientos. Con los cultivos puros de cada especie de hongos entomopatógenos encontrados se procedió a sembrarlos en tubos de vidrio conteniendo medio de cultivo PDA, posteriormente se sellaron los tubos con plástico “Para Film”, y se almacenaron las cepas en refrigeración a 4°C, para su conservación en el laboratorio de Fitopatología; iniciándose así la formación de una Micoteca regional.

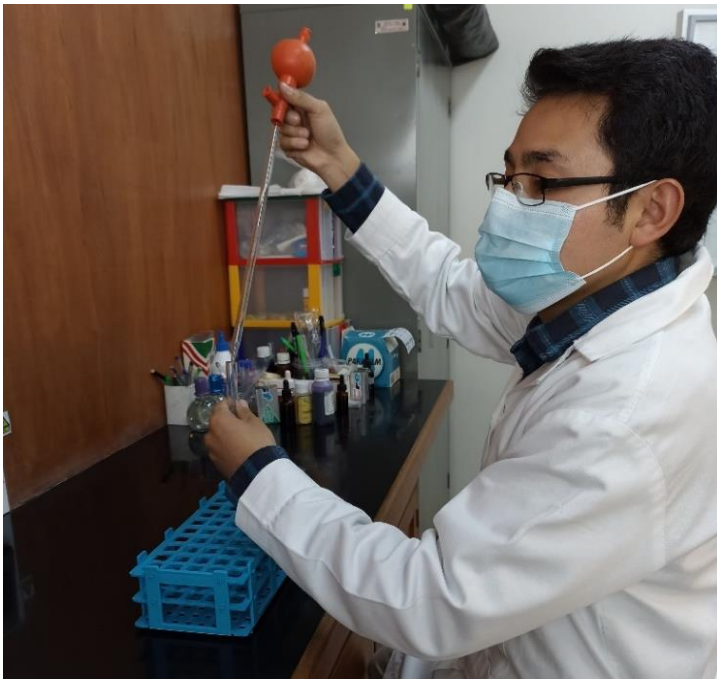
Figura 29

Rotulación de tubos de vidrio.



Figura 30

Colocación de PDA en los tubos de vidrio.



IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Especies aisladas y conservadas de áreas perturbadas y no perturbadas

Tabla 3

Especies y cepas encontradas y almacenadas, de Áreas Perturbadas.

Lugar muestreado	Hongos encontrados	Código de la Cepa	Cantidad
Punto N°01 – AP	<i>Beauveria bassiana</i>	UHZBb0123	1
	<i>Metarhizium anisopliae</i>	UHZMa0223	1
Punto N°02 – AP	<i>Beauveria bassiana</i>	UHZBa0323	1
	<i>Metarhizium anisopliae</i>	UHZMa0423	1
Punto N°03 – AP	<i>Metarhizium anisopliae</i>	UHZMa0523	1
Punto N°04 – AP	<i>Metarhizium anisopliae</i>	UHZMa0623	1
Punto N°05 – AP	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	UHZPI0723	1
Total de cepas			7

Leyenda: UHZ: Universidad de Huaraz; Bb: *Beauveria bassiana*, Ma: *Metarhizium anisopliae*, Pl: *Purpureocillium lilacinum*; 01, ... ,07: Número de aislamiento conservado y 23: Año.

Figura 31:

Especies aisladas en Áreas Perturbadas.

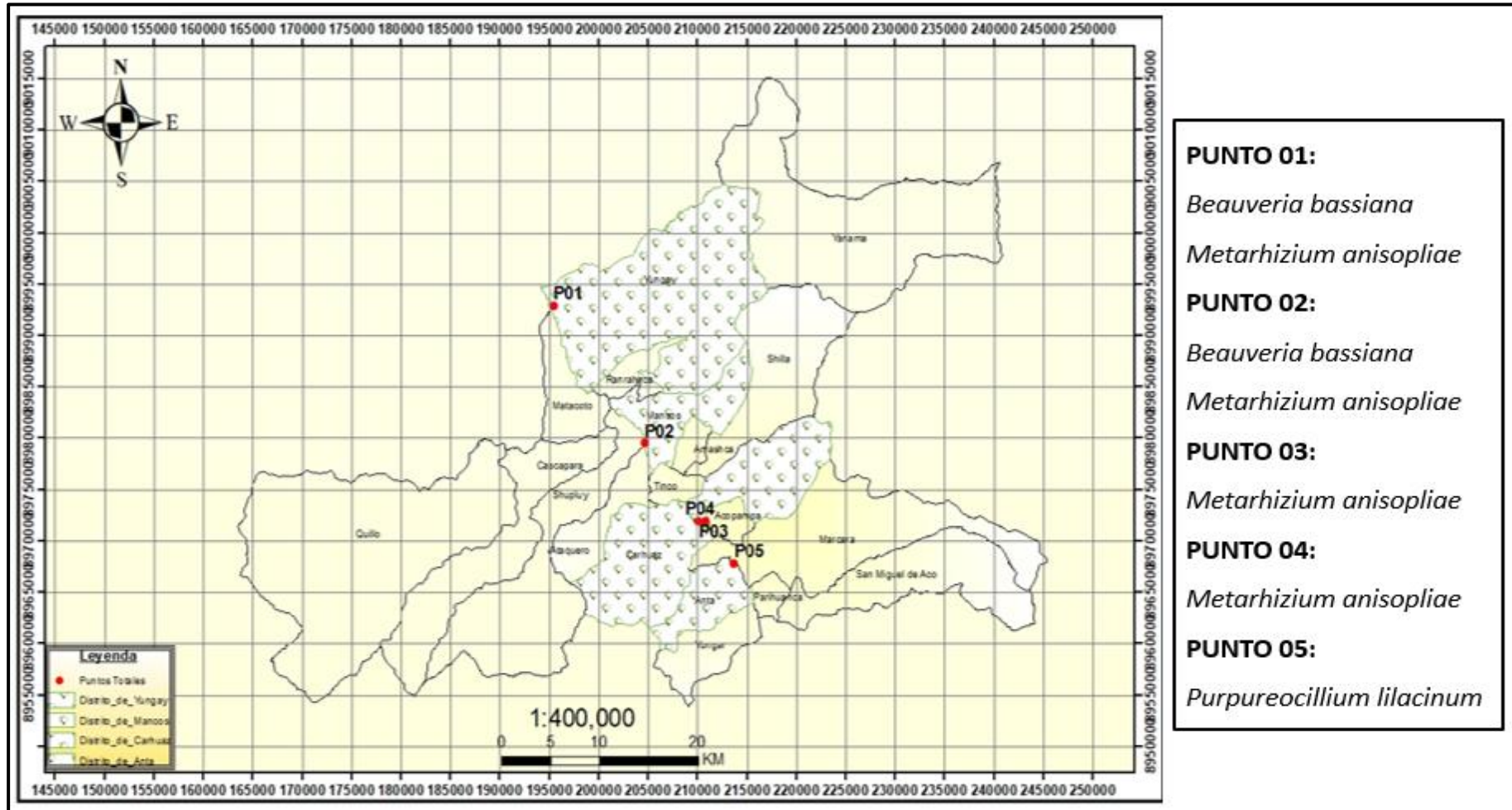


Tabla 4

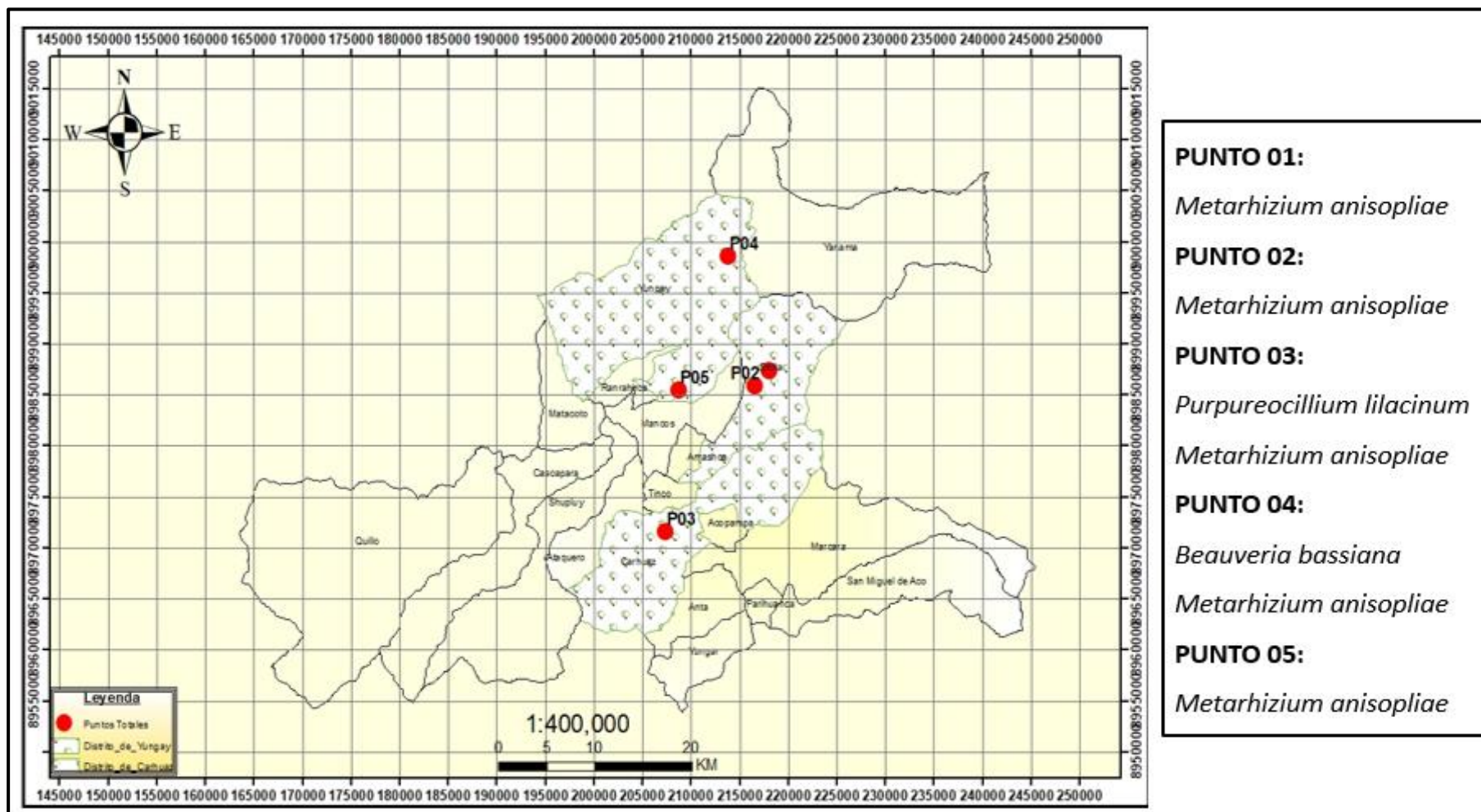
Especies y cepas encontradas y almacenadas, de Áreas No Perturbadas.

Lugar muestreado	Hongos encontrados	Código de la Cepa	Cantidad
Punto N°01 – ANP	<i>Metarhizium anisopliae</i>	UHZMa0823	1
Punto N°02 – ANP	<i>Metarhizium anisopliae</i>	UHZMa0923	1
Punto N°03 – ANP	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	UHZPl1023	1
	<i>Metarhizium anisopliae</i>	UHZMa1123	1
Punto N°04 – ANP	<i>Beauveria bassiana</i>	UHZBa1223	1
	<i>Metarhizium anisopliae</i>	UHZMa1323	1
Punto N°05 – ANP	<i>Metarhizium anisopliae</i>	UHZMa1423	1
Total de cepas			7

Leyenda: UHZ: Universidad de Huaraz; Bb: *Beauveria bassiana*, Ma: *Metarhizium anisopliae*, Pl: *Purpureocillium lilacinum*; 08, ... ,14: Número de aislamiento conservado y 23: Año.

Figura 32

Especies aisladas en Áreas No Perturbadas.



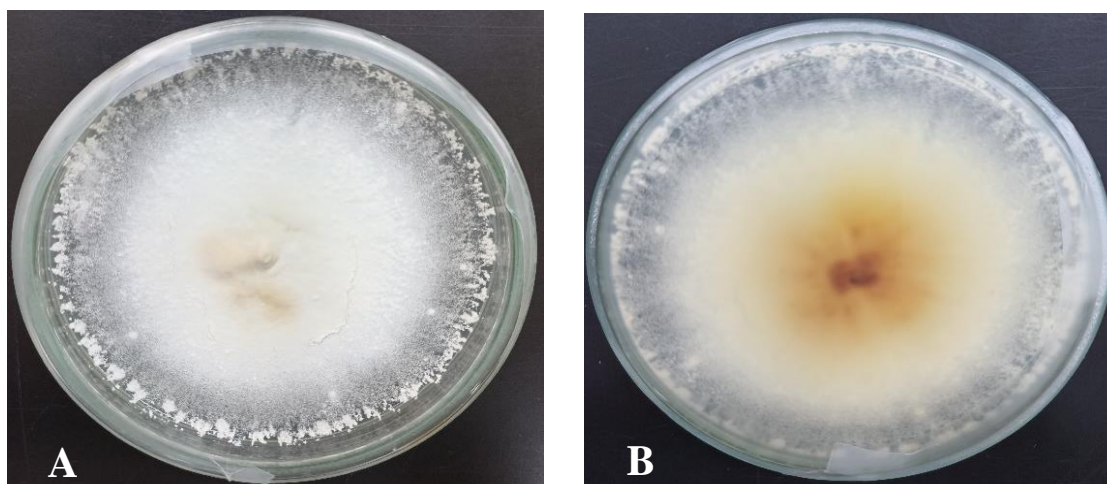
4.2. Caracterización del desarrollo de colonias e identificación microscópica de los hongos entomopatógenos

4.2.1. *Beauveria Bassiana* B.

Características del desarrollo de las colonias: en la figura 33 A, se muestran las características macroscópicas: las colonias en medio PDA a 21 días de haber sido sembradas, presentan un color blanquecino, y a medida que crecen se van tornando ligeramente amarillentas, su textura es algodonosa y bastante polvorienta. En la figura 33 B, se observa la parte reversa de la placa, de un color rojizo en la parte central y los contornos son ligeramente amarillentos, estas características coinciden con los reportes de Cañedo y Ames (2004), Naimul et al., (2023) y Akrich et al., (2023) para *Beauveria bassiana*.

Figura 33

Características del desarrollo de las colonias de Beauveria bassiana – A. Parte anversa de la placa, B. Parte reversa de la placa.

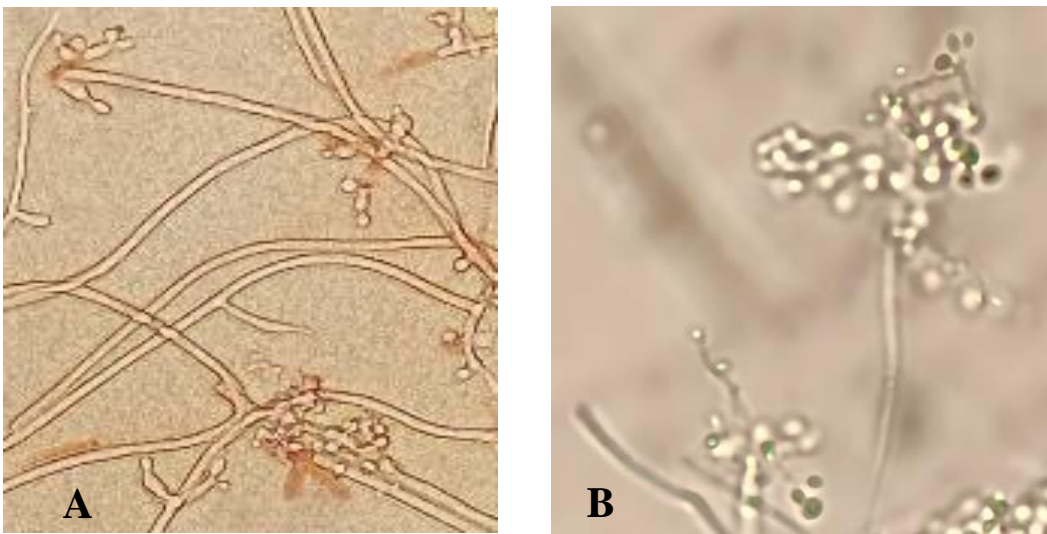


Identificación a nivel microscópico: la figura 34, muestra estructuras en forma de botellas pequeñas (fiálides) (3 a 6 x 3 a 5 micrómetros), que pueden estar agrupadas de forma compacta o incluso en ocasiones se encuentran solitarias; en la parte final de estas estructuras se forma un raquis (miden hasta 20 micrómetros de longitud) que sirve de sostén a las

conidias, estas últimas presentan una coloración hialina, tienen forma de globo y oscilan entre 2 a 3 x 2 a 2.3 micrómetros de tamaño. Estos resultados concuerdan con los trabajos reportados por Alean (2003), Cañedo y Ames (2004), y con la clave de Barnet y Hunter (1998), para el hongo *Beauveria bassiana*.

Figura 34

Identificación microscópica: **A.** Micelio, fiálides solitarias y conidias, **B.** Micelio, fiálides agrupadas, raquis y conidias.

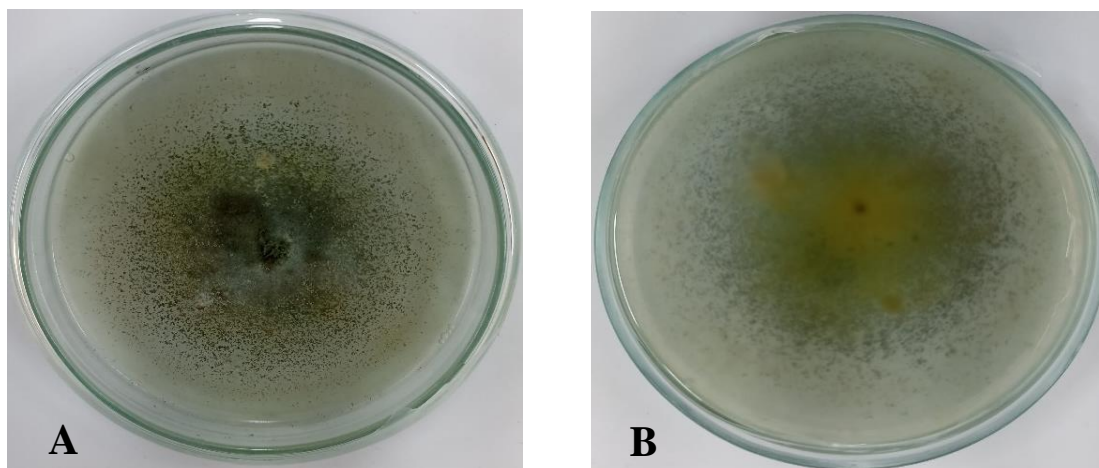


4.2.2. *Metarhizium anisopliae* M.

Características del desarrollo de las colonias: en la figura 35 A se muestran las características de las colonias en medio PDA, a 28 días de haber sido sembradas, presenta una serie de colores que van desde el verde amarillento, oliváceo, hasta un marrón tenue, su textura es pegada o adherida al medio de cultivo y siempre en forma redonda. En la figura 35 B, se observa y es de un color verde tenue, ligeramente amarilloso, estas características también las describen Cañedo y Ames (2004), la clave de Barnet y Hunter (1998) y (Sani et al., 2022) para *Metarhizium anisopliae*.

Figura 35

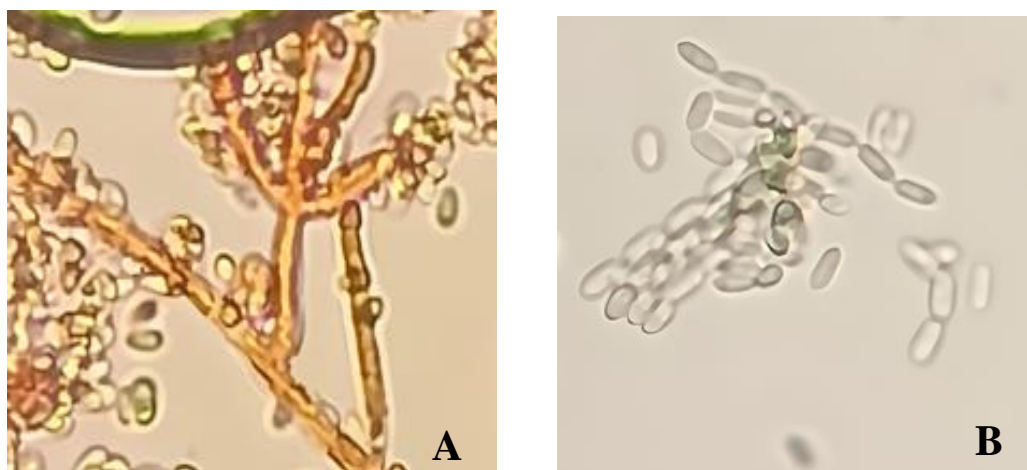
Características del desarrollo de las colonias de *Metarhizium anisopliae* – **A.** Parte anversa la placa, **B.** Parte reversa de la placa.



Identificación a nivel microscópico: en la figura 36 se muestran las fiálides, tienen una forma cilíndrica, con el ápice delgado, sus conidióforos emergen del micelio y son ramificados, pudiendo tener entre 2 o 3 ramas por septa, estas miden aproximadamente entre 4 a 14 micrómetros de largo x 1.5 a 2.5 de diámetro. Sus conidias tienen forma de un cilindro truncado, son unicelulares y forman cadenas extensas; estos en un inicio son de color blanco, pero cuando van madurando se van tornando de un color verde oscuro; miden entre 3.5 a 9 micrómetros de largo por 1.5 a 3.5 de ancho, tal como lo mencionan Cañedo y Ames (2004), Sosa y Alvez, (1983), la clave de Barnet y Hunter (1998) y (Sani et al., 2022), para el hongo *Metarhizium anisopliae*.

Figura 36

Identificación microscópica: **A.** Micelio, Conidióforo, fiálides, conidias, **B.** Conidias en cadena.

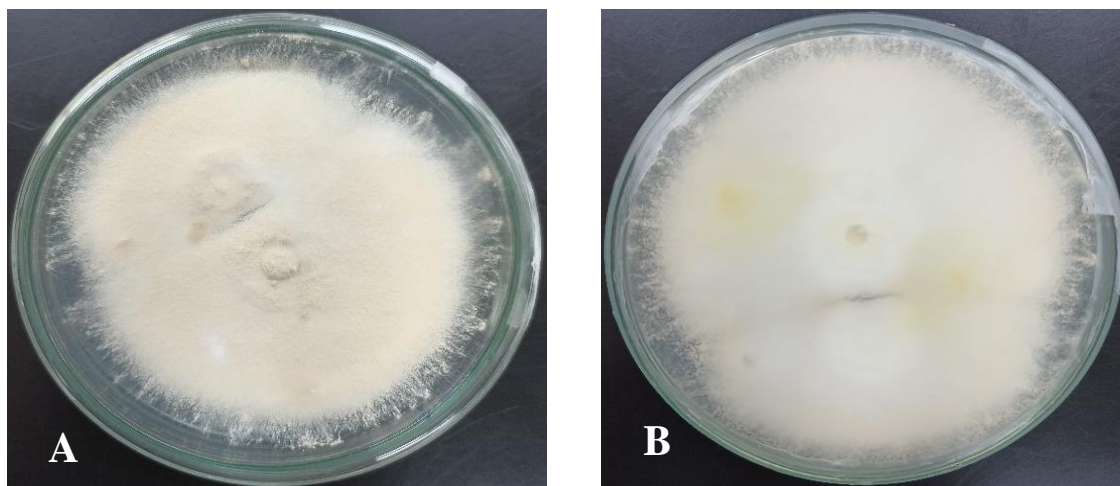


4.2.3. *Purpureocillium lilacinum* L.

Caracterización del desarrollo de las colonias: en la figura 37 A, se observa el desarrollo de las colonias en medio PDA a 21 días de haber sido sembradas, presentan una coloración que al inicio son de color blanquecinos, posteriormente con el paso de los días adquiere un tono entre rosado a lila, el desarrollo del micelio es superficial, de textura algodonosa o peluda y ligeramente elevada sobre el medio de cultivo y con los bordes de la colonia dentados. En la figura 37 B, se observa la parte reversa de la placa, y es de un color blanco a amarillo tenue, que se mantiene durante el desarrollo de las colonias, estas características del anverso y reverso de las placas también fueron observadas y reportadas por Cañedo y Ames (2004), Sani et al., (2022) y Bali et al. (2022).

Figura 37

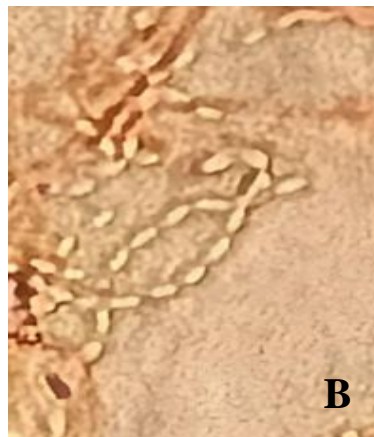
Características del desarrollo de las colonias de *Purpureocillium lilacinum* (*Paecylomyces lilacinus*) – **A.** Parte anversa de la placa, **B.** Parte reversa de la placa.



Identificación a nivel microscópico: en la figura 38 se muestra las fiálides que se forman en grupos de 2 a 5, estas tienden a ser hinchadas en la base y se asemejan en su forma a una botella pequeña; los conidióforos son ramificados, septados, largos y delgados, dan origen a las fiálides, miden entre 200 a 400 micrómetros de largo y 2 a 4 de ancho. Las conidias tienen forma de un elipse o limón, se presentan en cadenas y son unicelulares, miden aproximadamente entre a 6 a 13 micrómetros de largo y 2 a 4 de ancho. Estas descripciones concuerdan con los trabajos de identificación hechos por Cañedo y Ames (2004), Sani et al., (2022) y Bali et al. (2022).

Figura 38

Identificación microscópica: **A.** Conidióforo, fálides y conidias, **B.** Conidias en cadena.



V. CONCLUSIONES

En el presente trabajo de investigación se aislaron 3 especies de hongos entomopatógenos, tanto en Áreas perturbadas como en Áreas no perturbadas, en las localidades de Yungay y Carhuaz, en el callejón de Huaylas.

Las tres especies de hongos aislados fueron identificados y corresponden a: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Purpureocillium lilacinum*.

Se evidencia que los hongos entomopatógenos tienen una presencia natural en los agroecosistemas, al encontrarse en distintos tipos de suelo con diferentes condiciones de textura, pH y contenido de materia orgánica.

Con las tres especies de hongos entomopatógenos aisladas e identificadas se inició la implementación de una micoteca regional de estos organismos, contando con tres cepas de *B. bassiana* (UHZBb0123, UHZBa0323 y UHZBa1223), nueve cepas de *M. anisopliae* (UHZMa0223, UHZMa0423, UHZMa0523, UHZMa0623, UHZMa0823, UHZMa0923, UHZMa1123, UHZMa1323, UHZMa1423) y dos cepas de *P. lilacinum* (UHZPI0723 Y UHZPI1023).

VI. RECOMENDACIONES

Para posteriores trabajos se recomienda probar la eficiencia de control de estas cepas de especies de hongos entomopatógenos sobre plagas agrícolas.

Se debe continuar con los trabajos de aislamiento e identificación de otras especies de hongos entomopatógenos, que no han sido descritas en la zona del callejón de Huaylas.

Implementar la multiplicación masiva de estos hongos, para distribuirlos en forma comercial, y así, disminuir el uso excesivo de pesticidas en el control de plagas agrícolas.

Promover los beneficios del control biológico de plagas, a través de distintos medios: académicos, conferencias, charlas a agricultores.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akrich, A., Righi, K., Righi, K. y Abdelkader, E. (2023). *Characterization of a new isolate of B. bassiana in Algeria and evaluation of its pathogenicity against the cowpea aphid (Aphis craccivora Koch)*. Egyptian Journal of Biological Pest Control.
- Alexopoulos, C. y Mims, C. (1979). *Micología introductoria*. Edición Jhon Wiley y hermanos.
- Bali, G., Singh, S., Maurya, D., Wani, F. y Pandit, R. (2022). *Morphological and molecular identification of the entomopathogenic fungus Purpureocillium lilacinum and its virulence against Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) larvae and pupae*. Egyptian Journal of Biological Pest Control.
- Barnet, H. y Hunter, B. (1998). *Illustrated genera of imperfect fungi*. Second edition. American Phytopathological Society.
- Baron, C., Souza, A. y Rigobelo, E. (2020). *Purpureocillium lilacinum and Metarhizium marquandii as plant growth-promoting fungi*.
- Bedding, R. A. y Akhurst, R. J. (1974). *A simple technique for the detection of insect parasitic nematodes in soil*. Nematologica, 21: 109–110.
- Bignell, D., Huising, E. J., & Moreira, F. (2011). *Manual de biología de suelos tropicales. Hongos y nemátodos entomopatógenos*. 287-295.
- Bisset, Juan A. (2002). *Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia*. Revista Cubana de Medicina Tropical. 54(3), 202-219.
- Cañedo, V. y Ames, T. (2004). *Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos*. Centro Internacional de la Papa (C.I.P). Vol (1).
- Diniz, Fernanda Viana, Mendonça, Gleison Rafael Queiroz, Araújo, Atilon Vasconcelos de Peters, Leila Priscila, & Carvalho, Clarice Maia. (2022). *Native amazonian fungi to control termites nasutitermes sp. (Blattodea: Termitidae)*. Acta Biol. Colom. 36-43.

- Devine, Gregor J., Eza, Dominique, Ogusuku, Elena, & Furlong, Michael J. (2008). *Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas*. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. 25(1), 74-100.
- French, E. y Hebert, T. (1982). *Métodos de investigación fitopatológica*. Instituto interamericano de cooperación para la agricultura. Vol (1).
- García D, Anamaría, Bustillo P, Alex Enrique, Castro V, Ulises, & Arenas B, Yolima. (2012). *Selección de hongos entomopatógenos para controlar salivazos (Hemiptera: Cercopidae) de la caña de azúcar en Colombia*. Revista Colombiana de Entomología, 38(2), 252-259.
- García M., Coppello S., Leshner J., y Molina R. (2008). *Hongos entomopatógenos como una alternativa en el control biológico*. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. 15(27), 26-69.
- Hoog, D. (1972). *El género Beauveria, Isaria, Tritirachium y Acondontium*. Micología vol 1.
- Khan, M. y Tanaka, K. (2023). *Purpureocillium lilacinum for plant growth promotion and biocontrol against root-knot nematodes infecting eggplant*. Plos one.
- Lourdes, M. De, Hernández, P., & Reséndiz, J. F. (2020). *Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México*. 10 (56).
- Luangsa-Ard, J., Houbraken, J., van Doorn, T., Hong, S. B., Borman, A. M., Hywel-Jones, N. L. and Samson, R. A. (2011). *Purpureocillium, a new genus for the medically important Paecilomyces lilacinus*. FEMS Microbiology Letters 321(2), 141-149.
- Marco Brown, Olymar L, & Reyes Gil, Rosa E. (2003). *Tecnologías limpias aplicadas a la agricultura*. Interciencia. 28(5), 252-259.
- Martínez-García, Jared, Abad-Zavaleta, José, García-Gómez, María de Jesús, & Núñez-Gaona, Oscar. (2023). *Evaluación in vitro del potencial acaricida de Beauveria*

bassiana DS3.17 sobre la garrapata común (*Rhipicephalus microplus*) en Oaxaca, México. Revista mexicana de ciencias pecuarias, 14(3), 644-657.

Mejía Maldonado, Cindy, Espinel Correal, Carlos, Santos Díaz, Adriana, Guevara Agudelo, Judith, & Grijalba Bernal, Erika. (2020). *Selección y caracterización de hongos entomopatógenos para el control de Cerotoma tingomariana*. Centro Agrícola, 47(4), 32-41.

Montaña, M., Montilla, J., Perdomo, V., Valera, Y., & Valenzuela, J. (2011). *Causas y efectos del mal manejo de los insecticidas sobre la salud del agricultor*. Creando, 0, 183-188.

Moreu, M. (2019). *Ocurrencia natural de hongos entomopatógenos como alternativa para el manejo de plagas en el agroecosistema cafetero del municipio Manaure Cesar*. Edu.co.

Naimul, S., Hasan, M., Ferdaous, M., Bente, M. y Islam, T. (2023). *Biocontrol potencial of natives isolates of Beauveria b. against cotton leafworm Spodoptera litura (Fabricius)*. Scientific reports.

Norjmaa, U., Nasandulam, D., Enkhjargal, B. y Banrahch, D. (2022). *Morphological and molecular identification of Beauveria bassiana from agricultural soils*. School of Agroecology, Mongolian University of Life Sciences, Ulaanbaatar, Mongolia

Ojeda, C., Rodríguez, V., Galindo, V. y Lezama G. (2010). *Evaluación de laboratorio y campo de Metarhizium anisopliae para el control de Rhipicephalus microplus en los trópicos mexicanos*. Vet. Parasitol, Vol 170.

Pucheta Díaz, Micaela, Flores Macías, Antonio, Rodríguez Navarro, Silvia, & de la Torre, Mayra. (2006). *Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos*. Interciencia, 31(12), 856-860.

- Rojas, J. (2022). *Aplicación de hongos entomopatógenos (Beauveria bassiana y Metarhizium) en el control de insectos comedores de hoja en el cultivo de ají charapita (capsicum chinense) en aguaytía.*
- Ramos, Yordany, Taibo, Alberto Daniel, Alvarez Vega, Andy Luis, Lemes, Chabeli Abreu, Castaneda-Ruiz, Rafael Felipe, & Portal, Orelvis. (2022). *Abundance of Beauveria spp. and Metarhizium spp. in maize and banana agroecosystems in central Cuba.* Agronomía Colombiana, 40(1), 141-146.
- Russo, M. (2017). *Hongos entomopatógenos: colonización endofítica y control de insectos plaga en cultivos agrícolas.* Universidad Nacional de la Plata. 12-184.
- Sani, I., Jamian, S., Ismail, S., Saad, N., Abdullah, S., Hata, E., Kamarudin, M. y Jalinas, J. (2022). *Identification of entomopathogenic fungi Metarhizium anisopliae and Purpureocillium lilacinum from oil palm plantation soils in Universiti Putra Malaysia.* Malaysian Journal of Microbiology.
- Tanada, Y. y Kaya. K. (1993). *Patología de los insectos.* Prensa académica N°01.
- Ulloa, M. y Hanlin, R. (2006). *Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología.* The American Phytopathological Society. Vol (1).
- Viera-Arroyo, William Fernando, Tello-Torres, Cristina Margarita, Martínez-Salinas, Aníbal Arturo, Navia-Santillán, Daniel Fernando, Medina-Rivera, Lorena Anabel, Delgado-Párraga, Alex Gabriel, Perdomo-Quispe, Cynthia Estefanía, Pincay-Verdezoto, Ana Katherine, Báez-Cevallos, Francisco Javier, Vásquez-Castillo, Wilson Arturo, & Jackson, Trevor. (2020). *Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador.* Journal of the Selva Andina Biosphere. 8(2), 128-149.
- Villaseñor A., Flores S., Campos S., Toledo J., Montoya P., Liedo P., y Enkerlin W. (2019). *Uso de Hongos Entomopatógenos para el Control de Moscas de la Fruta en*





Programas TIE en Área Amplia. Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación/Organismo internacional de energía atómica. 46 pp.

Vinchira-Villarraga, Diana Marcela, & Moreno-Sarmiento, Nubia. (2019). *Control biológico: Camino a la agricultura moderna*. Revista Colombiana de Biotecnología. 21(1), 2-5.


Vivas-Carmona, Luis Enrique. (2017). *El Manejo Integrado de Plagas (MIP): Perspectivas e importancia de su impacto en nuestra región*. Journal of the Selva Andina Biosphere. 5(2), 67-69.

VIII. ANEXOS


Anexo 1: Análisis de suelos- Áreas Perturbadas, Punto N°01.

	<p style="text-align: center;">UNIVERSIDAD NACIONAL "Santiago Antúnez de Mayolo" "Una Nueva Universidad para el Desarrollo" FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS CIUDAD UNIVERSITARIA – SHANCAYAN Telefax: 043-426588 - 106 HUARAZ – REGIÓN ANCASH</p>																										
RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE FERTILIDAD																											
SOLICITANTE : Salvador Méndez Marco Antonio / Saéñz Huerta Marín Abanto																											
MUESTRA : M-04 - Melocotonero																											
UBICACIÓN : Cañasbamba - Yungay - Ancash																											
<table border="1"><thead><tr><th rowspan="2">Muestra N°</th><th colspan="3">Textura (%)</th><th rowspan="2">Clase Textural</th><th rowspan="2">pH</th><th rowspan="2">M.O%</th><th rowspan="2">Nt. %</th><th rowspan="2">P ppm</th><th rowspan="2">K ppm</th><th rowspan="2">C.E dS/m.</th></tr><tr><th>Arena</th><th>Limo</th><th>Arcilla</th></tr></thead><tbody><tr><td>084-a</td><td>61</td><td>27</td><td>12</td><td>Franco arenoso</td><td>6.78</td><td>1.946</td><td>0.097</td><td>21</td><td>112</td><td>0.190</td></tr></tbody></table>	Muestra N°	Textura (%)			Clase Textural	pH	M.O%	Nt. %	P ppm	K ppm	C.E dS/m.	Arena	Limo	Arcilla	084-a	61	27	12	Franco arenoso	6.78	1.946	0.097	21	112	0.190		
Muestra N°		Textura (%)										Clase Textural	pH	M.O%	Nt. %	P ppm	K ppm	C.E dS/m.									
	Arena	Limo	Arcilla																								
084-a	61	27	12	Franco arenoso	6.78	1.946	0.097	21	112	0.190																	
RECOMENDACIONES Y OBSERVACIONES ESPECIALES: La muestra es de textura franco arenoso, se caracteriza por tener una reacción neutra, pobre en materia orgánica y % de nitrógeno total, rico en fósforo y pobre en potasio, no tiene problemas de salinidad.																											
Huaraz, 25 de enero del 2023.																											
  M.Sc. GUILLERMO CUSUMA PARRAGA JEFE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS Y AGUAS																											

Anexo 2: Análisis de suelos- Áreas Perturbadas, Punto N°02.



UNIVERSIDAD NACIONAL
“Santiago Antúnez de Mayolo”
“Una Nueva Universidad para el Desarrollo”
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CIUDAD UNIVERSITARIA – SHANCAYAN
 Telefax. 043-426588 - 106
HUARAZ – REGIÓN ANCASH



RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE FERTILIDAD

SOLICITANTE : Salvador Méndez Marco Antonio / Saéñz Huerta Marín Abanto

MUESTRA : M-03.- Coliflor


UBICACIÓN : Tingua - Yungay - Ancash

Muestra N°	Textura (%)			Clase Textural	pH	M.O.%	Nt. %	P ppm	K ppm	C.E dS/m.
	Arena	Limo	Arcilla							
086	50	31	19	Franco	7.29	1.864	0.093	17	96	0.369

RECOMENDACIONES Y OBSERVACIONES ESPECIALES:

La muestra es de textura franco, se caracteriza por tener una reacción neutra, pobre en materia orgánica y % de nitrógeno total, rico en fósforo y pobre en potasio, no tiene problemas de salinidad.

Huaraz, 25 de enero del 2023.



Ing. M.Sc. Guillermo Castillo Romero
 JEFE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS
 DE SUELOS Y AGUAS

Anexo 3: Análisis de suelos- Áreas Perturbadas, Punto N°03.



UNIVERSIDAD NACIONAL
"Santiago Antúnez de Mayolo"
"Una Nueva Universidad para el Desarrollo"
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CIUDAD UNIVERSITARIA - SHANCAYAN
Telefax. 043-426588 - 106
HUARAZ - REGIÓN ANCASH

RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE FERTILIDAD

SOLICITANTE : Salvador Méndez Marco Antonio / Saénz Huerta Marín Abanto

MUESTRA : M-02.- Alfalfa

UBICACIÓN : Yanamarca - Carhuaz - Ancash

Muestra N°	Textura (%)			Clase Textural	pH	M.O%	Nt. %	P ppm	K ppm	C.E ds/m.
	Arena	Limo	Arcilla							
085	49	39	12	Franco	6.65	3.412	0.171	24	158	0.098

RECOMENDACIONES Y OBSERVACIONES ESPECIALES:

La muestra es de textura franco arenoso, se caracteriza por tener una reacción ligeramente ácida, medianamente rica en materia orgánica y % de nitrógeno total, rico en fósforo y pobre en potasio, no tiene problemas de salinidad.

Huaraz, 25 de enero del 2023.



M. Sc. Guillermo Castillo Romero
JEFE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS
DE SUELOS Y AGUAS

Anexo 4: Análisis de suelos- Áreas Perturbadas, Punto N°04.



UNIVERSIDAD NACIONAL
"Santiago Antúnez de Mayolo"
"Una Nueva Universidad para el Desarrollo"
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
 CIUDAD UNIVERSITARIA - SHANCAYAN
 Telefax. 043-426588 - 106
HUARAZ - REGIÓN ANCASH



RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE FERTILIDAD

SOLICITANTE : Salvador Méndez Marco Antonio / Saénz Huerta Marín Abanto

MUESTRA : M-01.- Maíz

UBICACIÓN : Chucchun - Carhuaz - Ancash

Muestra N°	Textura (%)			Clase Textural	pH	M.O%	Nt. %	P ppm	K ppm	C.E ds/m.
	Arena	Limo	Arcilla							
084	57	29	14	Franco arenoso	5.08	2.246	0.112	22	132	0.174

**RECOMENDACIONES Y
OBSERVACIONES ESPECIALES:**

La muestra es de textura franco arenoso, se caracteriza por tener una reacción ácida, medianamente rica en materia orgánica y % de nitrógeno total, rico en fósforo y pobre en potasio, no tiene problemas de salinidad.

Huaraz, 25 de enero del 2023.



[Signature]
ING. M.Sc. Guillermo Caserio Romero
 JEFE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS
 DE SUELOS Y ABONOS

Anexo 5: Análisis de suelos- Áreas Perturbadas, Punto N°05.

	<p style="text-align: center;">UNIVERSIDAD NACIONAL "Santiago Antúnez de Mayolo" "Una Nueva Universidad para el Desarrollo" FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS CIUDAD UNIVERSITARIA – SHANCAYAN Telefax: 043-426588 - 106 HUARAZ – REGIÓN ANCASH</p>																										
RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE FERTILIDAD																											
SOLICITANTE : Salvador Méndez Marco Antonio / Saénz Huerta Marín Abanto																											
MUESTRA : M-05 - Zapallo Italiano																											
UBICACIÓN : Allpa Rumi - Marcara - Ancash																											
<table border="1"><thead><tr><th rowspan="2">Muestra N°</th><th colspan="3">Textura (%)</th><th rowspan="2">Clase Textural</th><th rowspan="2">pH</th><th rowspan="2">M.O%</th><th rowspan="2">Nt. %</th><th rowspan="2">P ppm</th><th rowspan="2">K ppm</th><th rowspan="2">C.E dS/m.</th></tr><tr><th>Arena</th><th>Limo</th><th>Arcilla</th></tr></thead><tbody><tr><td>085-a</td><td>60</td><td>24</td><td>16</td><td>Franco arenoso</td><td>5.49</td><td>1.348</td><td>0.067</td><td>07</td><td>86</td><td>0.069</td></tr></tbody></table>	Muestra N°	Textura (%)			Clase Textural	pH	M.O%	Nt. %	P ppm	K ppm	C.E dS/m.	Arena	Limo	Arcilla	085-a	60	24	16	Franco arenoso	5.49	1.348	0.067	07	86	0.069		
Muestra N°		Textura (%)										Clase Textural	pH	M.O%	Nt. %	P ppm	K ppm	C.E dS/m.									
	Arena	Limo	Arcilla																								
085-a	60	24	16	Franco arenoso	5.49	1.348	0.067	07	86	0.069																	
RECOMENDACIONES Y OBSERVACIONES ESPECIALES: <p>La muestra es de textura franco arenoso, se caracteriza por tener una reacción ácida, pobre en materia orgánica y % de nitrógeno total, medianamente rico en fósforo y pobre en potasio, no tiene problemas de salinidad.</p> <p style="text-align: right;">Huaraz, 25 de enero del 2023.</p>																											
  Ing. M.Sc. Guillermo Castillo Romero JEFE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS Y AGUAS																											

Anexo 6: Análisis de suelos- Áreas No Perturbadas, Punto N°01.



UNIVERSIDAD NACIONAL
“Santiago Antúnez de Mayolo”
“Una Nueva Universidad para el Desarrollo”
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CIUDAD UNIVERSITARIA – SHANCAYAN
 Telefax. 043-426588 - 106
HUARAZ – REGIÓN ANCASH



RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE FERTILIDAD

SOLICITANTE : Marco Salvador Méndez / Marín Sáenz Huerta -Tesisista

MUESTRA : 01 – Quebrada Ulta

UBICACIÓN : Shilla - Carhuaz - Ancash

Muestra N°	Textura (%)			Clase Textural	pH	M.O%	Nt. %	P ppm	K ppm	C.E dS/m.
	Arena	Limo	Arcilla							
242	75	21	04	Areno franco	4.26	5.632	0.282	05	124	0.551

RECOMENDACIONES Y OBSERVACIONES ESPECIALES:

La muestra es de textura areno franco, se caracteriza por tener una reacción fuertemente ácida, rica en materia orgánica y % de nitrógeno total, pobre en fósforo y en potasio, no tiene problemas de salinidad.

Huaraz, 20 de abril del 2023.



Ing. M.Sc. *[Signature]* Castillo Romero
 JEFE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS Y AGUAS

Anexo 7: Análisis de suelos- Áreas No Perturbadas, Punto N°02.



UNIVERSIDAD NACIONAL
“Santiago Antúnez de Mayolo”
“Una Nueva Universidad para el Desarrollo”
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CIUDAD UNIVERSITARIA – SHANCAYAN
 Telefax. 043-426588 - 106
HUARAZ – REGIÓN ANCASH



RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE FERTILIDAD

SOLICITANTE : Marco Salvador Méndez / Marín Sáenz Huerta - Tesista

MUESTRA : 02 – Shilla

UBICACIÓN : Shilla - Carhuaz - Ancash

Muestra N°	Textura (%)			Clase Textural	pH	M.O%	Nt. %	P ppm	K ppm	C.E dS/m.
	Arena	Limo	Arcilla							
243	47	47	06	Franco arenoso	4.08	4.844	0.242	04	118	0.372

RECOMENDACIONES Y OBSERVACIONES ESPECIALES:

La muestra es de textura franco arenoso, se caracteriza por tener una reacción fuertemente ácida, rica en materia orgánica y % de nitrógeno total, pobre en fósforo y en potasio, no tiene problemas de salinidad.

Huaraz, 20 de abril del 2023.



Ing. M.Sc. Guillermo Castillo Romero
 JEFE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS
 DE SUELOS Y AGUAS

Anexo 8: Análisis de suelos- Áreas No Perturbadas, Punto N°03.



UNIVERSIDAD NACIONAL
“Santiago Antúnez de Mayolo”
“Una Nueva Universidad para el Desarrollo”
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CIUDAD UNIVERSITARIA – SHANCAYAN
 Telefax. 043-426588 - 106
HUARAZ – REGIÓN ANCASH



RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE FERTILIDAD

SOLICITANTE : Marco Salvador Méndez/ Marin Sáenz Huerta - Tesista

MUESTRA : 03- Chancho Punta

UBICACIÓN : Carhuaz - Carhuaz - Ancash

Muestra N°	Textura (%)			Clase Textural	pH	M.O%	Nt. %	P ppm	K ppm	C.E d5/m.
	Arena	Limo	Arcilla							
242-a	39	35	26	Franco	7.26	1.642	0.081	07	96	0.141

RECOMENDACIONES Y OBSERVACIONES ESPECIALES:

La muestra es de textura franco, se caracteriza por tener una reacción neutra, pobre en materia orgánica y % de nitrógeno total, medianamente rico en fósforo y pobre en potasio, no tiene problemas de salinidad.

Huaraz, 20 de abril del 2023.




Ing. M.Sc. Guillermo Casallo Romero
 JEFE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS
 DE SUELOS Y FERTILIZANTES

Anexo 9: Análisis de suelos- Áreas No Perturbadas, Punto N°04.



UNIVERSIDAD NACIONAL
“Santiago Antúnez de Mayolo”
“Una Nueva Universidad para el Desarrollo”
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CIUDAD UNIVERSITARIA – SHANCAYAN
 Telefax. 043-426588 - 106
HUARAZ – REGIÓN ANCASH



RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE FERTILIDAD

SOLICITANTE : Marco Salvador Méndez / Marin Sáenz Huerta - Tesista

MUESTRA : 04 – Huashao

UBICACIÓN : Huashao - Yungay - Ancash

Muestra N°	Textura (%)			Clase Textural	pH	M.O%	Nt. %	P ppm	K ppm	C.E dS/m.
	Arena	Limo	Arcilla							
243-a	69	25	06	Franco arenoso	4.40	6.518	0.331	04	110	0.207

RECOMENDACIONES Y OBSERVACIONES ESPECIALES:

La muestra es de textura franco arenoso, se caracteriza por tener una reacción fuertemente ácida, rica en materia orgánica y % de nitrógeno total, pobre en fósforo y en potasio, no tiene problemas de salinidad.

Huaraz, 20 de abril del 2023.



Guillermo Castillo Romero
Ing. M.Sc. Guillermo Castillo Romero
 JEFE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS
 DE SUELOS Y AGUAS

Anexo 10: Análisis de suelos- Áreas No Perturbadas, Punto N°05.

	<p style="text-align: center;">UNIVERSIDAD NACIONAL “Santiago Antúnez de Mayolo” “Una Nueva Universidad para el Desarrollo” FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS CIUDAD UNIVERSITARIA – SHANCAYAN Telefax. 043-426588 - 106 HUARAZ – REGIÓN ANCASH</p>	
---	---	---

RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE FERTILIDAD

SOLICITANTE : Marco Salvador Méndez / Marín Sáenz Huerta - Tesista

MUESTRA : 05 – Tumpa

UBICACIÓN : Tumpa - Carhuaz - Ancash

Muestra N°	Textura (%)			Clase Textural	pH	M.O%	Nt. %	P ppm	K ppm	C.E dS/m.
	Arena	Limo	Arcilla							
243 - b	39	35	26	Franco	3.97	1.748	0.087	03	104	0.138

RECOMENDACIONES Y OBSERVACIONES ESPECIALES:

La muestra es de textura franco, se caracteriza por tener una reacción extremadamente ácida, pobre en materia orgánica y % de nitrógeno total, pobre en fósforo y en potasio, no tiene problemas de salinidad.

Huaraz, 20 de abril del 2023.




M.Sc. Guillermo Castillo Romero
JEFE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS Y ABONOS

Anexo 11: Larva de *G.mellonella*, desinfectada con hipoclorito de sodio.



Anexo 12: Larva de *G.mellonella*, infectada por *M. anisopliae*, a 15 días de haber sido colocada en cámara húmeda.



Anexo 13: Larva de *G. mellonella*, infectada por *B. bassiana*, a 15 días de haber sido colocada en cámara húmeda.



Anexo 14: Larva de *G. mellonella*, infectada por *P. lilacinum*, a 15 días de haber sido colocada en cámara húmeda.



Anexo 15: Larva de *G. mellonella*, infectada por *M. anisopliae*, a 35 días de haber sido colocada en cámara húmeda.



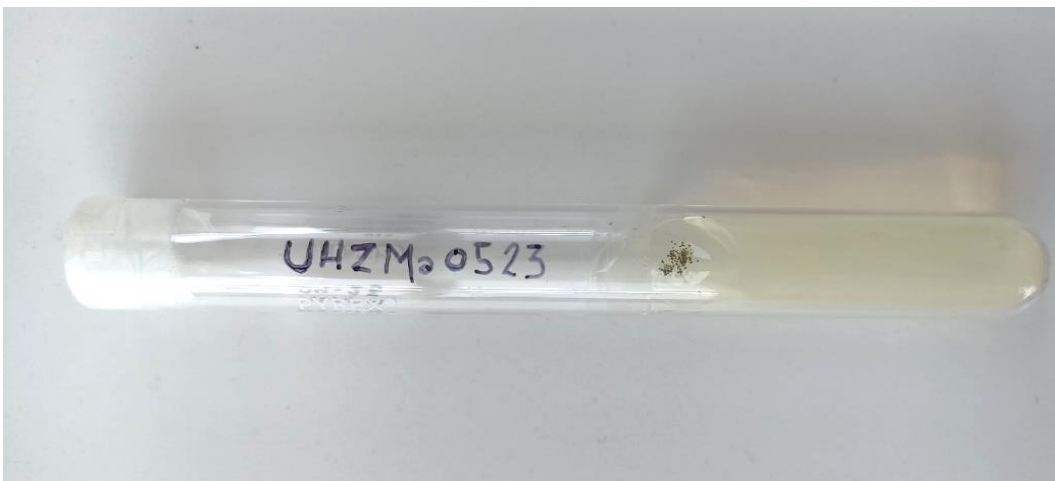
Anexo 16: Larva de *G. mellonella*, infectada por *B. bassiana*, a 35 días de haber sido colocada en cámara húmeda.



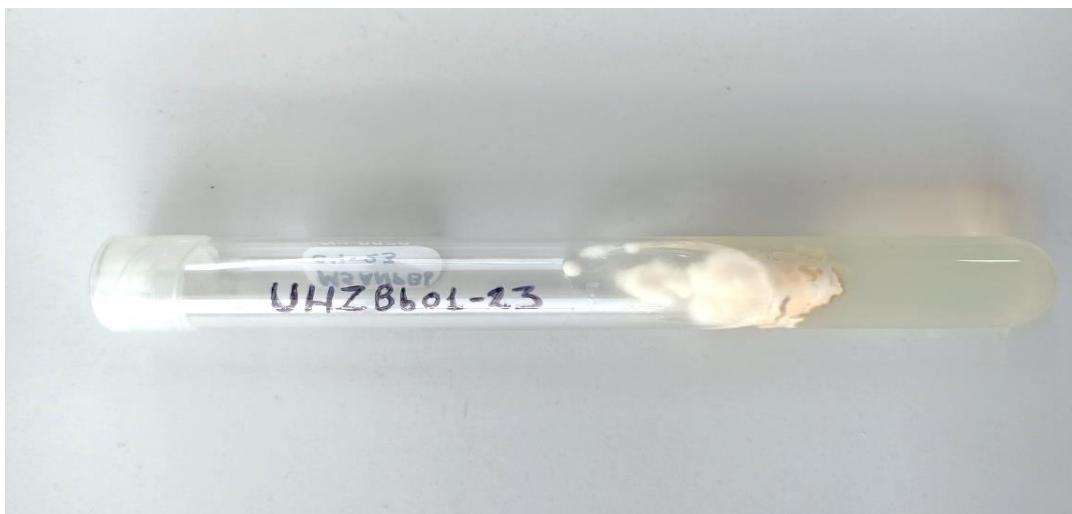
Anexo 17: Larva de *G. mellonella*, infectada por *P. lilacinum*, a 35 días de haber sido colocada en cámara húmeda.



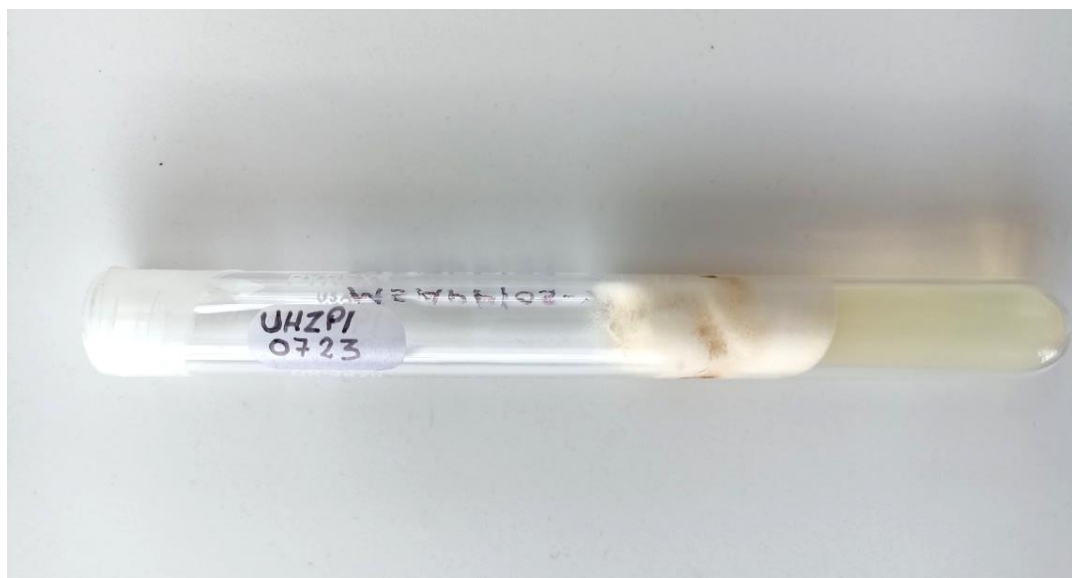
Anexo 18: Cepa “UHZMa0523” almacenada.



Anexo 19: Cepa “UHZBb0123” almacenada.



Anexo 20: Cepa “UHZPI0723” almacenada.



Anexo 21: Cepas almacenadas: Nueve de *M. anisopliae*, dos de *P.lilacinum* y tres de *B. bassiana*.

