

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

Escuela Profesional de Agronomía



TESIS

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

Para Optar El Título Profesional de:

INGENIERO AGRONOMO

Presentado por la Bachiller:

THALIA MILAGROS CUEVA VILLANUEVA

Asesor:

Ing. Agr. Mg. Sc. Jhon Anthony Vergara Copacandori

CAJAMARCA – PERÚ

2024

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

El que suscribe, Ing. Agr. Mg. Sc. Jhon Anthony Vergara Copacandori, asesor de la Tesis denominada “EFECTO DE *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) SOBRE BABOSAS TERRESTRES EN ALFALFA”, elaborada por la Bachiller **Thalia Milagros Cueva Villanueva**, de la Escuela Profesional de Agronomía de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, hace constar:

Que, la tesis antes mencionada ha sido analizada mediante el software antiplagio Turnitin obteniéndose un resultado de 2 % de similitud general.

Se expide el presente, a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Cajamarca, 06 de marzo del 2024.

Ing. Agr. Mg. Sc. Jhon Anthony Vergara Copacandori
Asesor



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 ocho días del mes de febrero del año dos mil veinticuatro, 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° 313-2023-FCA-UNC, de fecha 27 de junio del 2023, con la finalidad de evaluar la sustentación de la TESIS titulada: "EFECTO DE *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) SOBRE BABOSAS TERRESTRES EN ALFALFA", realizada por la Bachiller THALIA MILAGROS CUEVA VILLANUEVA para optar el Título Profesional de INGENIERO AGRÓNOMO.

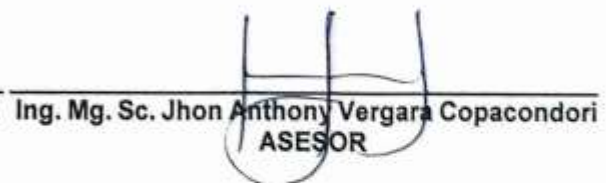
A las diez horas y diez minutos, de acuerdo a lo establecido en el Reglamento Interno para la Obtención de Título Profesional de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Presidente del Jurado dio por iniciado el Acto de Sustentación, luego de concluida la exposición, 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, la Bachiller queda expedita para proceder con los trámites que conlleven a la obtención del Título Profesional de INGENIERO AGRÓNOMO.

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


Dr. Juan Edmundo Chávez Rabanal
PRESIDENTE


Ing. Alonso Vela Ahumada
SECRETARIO


MBA Ing. Santiago Demetrio Medina Miranda
VOCAL


Ing. Mg. Sc. Jhon Anthony Vergara Copacandori
ASESOR

DEDICATORIA

A mi Madre Consuelo Villanueva, 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 Roberto Cueva, por su gran amor, 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 Lesly, Roybert y Rubén, 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.

El autor

AGRADECIMIENTOS

A:

Dios por haberme permitido vivir hasta este día, haberme guiado a lo largo de mi vida, por ser mi apoyo, mi luz y mi camino.

Ing. Agr. Mg. Sc. Jhon Anthony Vergara Copacandori por su grandioso tiempo dedicado como Asesor y sus aportes constructivos en el presente trabajo de investigación.

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 Fundo la Victoria de la Universidad Nacional de Cajamarca, distrito, provincia y región de Cajamarca, con el objetivo de determinar el efecto de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuil, *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) sobre babosas terrestres en alfalfa (*Medicago sativa* L). El hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) ($T_4 = 24 \times 10^9$ conidias /litro) fue el que ocasionó la mayor mortalidad (26,08 %) sobre babosas terrestres, luego de siete días posteriores a su aplicación, superando a los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. (12.00 %) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) (18.18 %). Los principales síntomas causados por *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) sobre babosas terrestres en alfalfa 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 at the Fundo la Victoria of the National University of Cajamarca, district, province and region of Cajamarca, with the objective of determining the effect of *Beauveria bassiana* (Bals) Vuil, *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) and *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) on land slugs in alfalfa (*Medicago sativa* L). The entomopathogenic fungus *Lecanicilium lecanii* (Zimm.) (T4 = 24 x 10⁹ conidia /liter) was the one that caused the highest mortality (26,08 %) on land slugs, seven days after its application, surpassing the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. (12.00 %) and *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) (18.18 %). The main symptoms caused by *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) and *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) on ground slugs in alfalfa 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

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	vi
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II: REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Antecedentes	3
2.2 Bases teóricas	6
2.2.1 <i>Babosas terrestres</i>	6
a. Taxonomía	7
b. Morfología	7
b.1 <i>Huevo</i>	7
b.2 <i>Juveniles</i>	7
b.2.1 <i>Adulto</i>	7
c. Biología	8
c.1 <i>Huevo</i>	8
c.2 <i>Juvenil</i>	8
c.3 <i>Adulto</i>	9
d. Ecología	9
2.2.2 <i>Hongos entomopatógenos</i>	10
a. <i>Beauveria bassiana</i> (Bals) Vuill.	10
a.1 <i>Taxonomía</i>	10
a.2 <i>Morfología</i>	10
a.3 <i>Modo y mecanismo de acción</i>	11
b. <i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.)	11
b.1 <i>Taxonomía</i>	11
b.2 <i>Morfología</i>	12

b.3	<i>Modo y mecanismo de acción</i>	12
c.	<i>Metarhizium anisopliae (Metchnikoff)</i>	13
c.1	<i>Taxonomía</i>	13
c.2	<i>Morfología</i>	13
c.3	<i>Modo y mecanismo de acción</i>	13
2.2.3	<i>La alfalfa (Medicago sativa L.)</i>	14
a.	<i>Fenología</i>	14
a.1	<i>Estado vegetativo</i>	14
a.2	<i>Estado de botón floral</i>	14
a.3	<i>Estado de floración</i>	15
a.4	<i>Estado de producción de semillas</i>	15
	CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1	Ubicación	16
3.2	Materiales	17
3.2.1	Material biológico	17
3.2.2	Material de campo	17
3.2.3	Material y equipo de laboratorio	17
3.3	Tipo y diseño de investigación	18
3.3.1	Características del campo experimental	18
a.	Área	18
b.	Bloques	18
c.	Parcelas	18
3.4	Metodología	20
3.4.1	Trabajo de campo	20
a.	Evaluación de babosas terrestres	21
b.	Aplicación de entomopatógenos (<i>Beauveria bassiana</i>, <i>Lecanicillium lecanii</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i>)	21
c.	Cálculo de dosis (<i>Beauveria bassiana</i>, <i>Lecanicillium lecanii</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i>)	21
d.	Dosis baja (2 bolsas): 11,52 g/ 1,44 L	21
e.	Dosis alta (4 bolsas): 23,04 g/1,44 L	21
3.4.2	Trabajo de laboratorio	21
4.4.3	Trabajo de gabinete	21
	CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
4.1	Tratamiento 1 (T₁): <i>Beauveria bassiana</i> (Bals) (12 x 10⁹ conidias)	22
4.2	Tratamiento 2 (T₂): <i>Beauveria bassiana</i> (Bals) (24 x 10⁹ conidias)	24

4.3	Tratamiento 3 (T ₃): <i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.) (12 x 10 ⁹ conidias)	26
4.4	Tratamiento 4 (T ₄): <i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.) (24 x 10 ⁹ conidias)	28
4.5	Tratamiento 5 (T ₅): <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff) (12 x 10 ⁹ conidias)	31
4.6	Tratamiento 6 (T ₆): <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff) (24 x 10 ⁹ conidias)	33
4.7	Comparación entre tratamientos	35
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		39
5.1	Conclusiones	39
5.2	Recomendaciones	39
CAPÍTULO VI: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		40
CAPÍTULO VII: ANEXOS		45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Título	Página
1	<i>Número de babosas terrestres enfermas y muertas</i>	22
2	<i>Número de babosas terrestres enfermas y muertas</i>	24
3	<i>Número de babosas terrestres enfermas y muertas</i>	27
4	<i>Número de babosas terrestres enfermas y muertas</i>	29
5	<i>Número de babosas terrestres enfermas y muertas</i>	31
6	<i>Número de babosas terrestres enfermas y muertas</i>	33
7	<i>Análisis de varianza (ANOVA) para el número de babosas terrestres muertas</i>	36
8	<i>Prueba de Tukey al 5 % de probabilidad para los niveles del factor hongo entomopatógeno</i>	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	<i>Ubicación del experimento.</i>	16
2	<i>Diseño del campo experimental y distribución de los tratamientos.</i>	19
3	<i>Número de babosas terrestres enfermas y muertas.</i>	23
4	<i>Número de babosas terrestres enfermas y muertas.</i>	24
5	<i>Número de babosas terrestres enfermas y muertas.</i>	27
6	<i>Número de babosas terrestres enfermas y muertas.</i>	29
7	<i>Número de babosas terrestres enfermas y muertas.</i>	33
8	<i>Número de babosas terrestres enfermas y muertas.</i>	34
9	<i>Comparación del efecto entre <i>Beauveria bassiana</i>, <i>Metarhizium anisopliae</i> y <i>Lecanicillium lecanii</i>.</i>	35
10	<i>Comparación del efecto entre tratamientos.</i>	37
11	<i>Colecta de babosas terrestres.</i>	46
12	<i>Babosa terrestre infectada.</i>	46
13	<i>Micelio de <i>Lecanicillium lecanii</i>.</i>	47
14	<i><i>Lecanicillium lecanii</i> observado al microscopio.</i>	47
15	<i>Micelio de <i>Beauveria bassiana</i>.</i>	48
16	<i><i>Beauveria bassiana</i> observado al microscopio</i>	48
17	<i>Micelio de <i>Metarhizium anisopliae</i>.</i>	49
18	<i><i>Metarhizium anisopliae</i> observado al microscopio</i>	49

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo	Título	Página
1	<i>Evaluaciones realizadas en campo</i>	46
2	<i>Evaluaciones realizadas en laboratorio</i>	47
3	<i>Datos meteorológicos</i>	50
4	<i>Valores de Temperatura, humedad y precipitación</i>	50
5	<i>Costo de Inversión</i>	51

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es la principal leguminosa utilizada en la alimentación de animales menores como es el cuy a nivel mundial, teniendo un rango adaptación muy amplia desde los 700 hasta los 4000 msnm, donde se resalta la importancia en su rendimiento y valor nutritivo entre proteínas, vitaminas, macro y micro minerales de forma natural; siendo así de gran interés por el crecimiento en la industria por la transformación de forrajes y por no afectar al medio ambiente (Vázquez *et al.* 2010).

En el Perú se cuenta con las condiciones ecológicas favorables que han permitido, en diferentes lugares del país, tal como, en Cajamarca, la producción de plantas forrajeras, dentro de ellas, la alfalfa, debido a su potencial de producción y valor nutritivo, y a su utilización como forraje verde, heno y ensilado, sin embargo, como cualquier especie forrajera, se ha visto infestada por las plagas, que impiden el óptimo crecimiento y desarrollo del cultivo.

La escasa información existente sobre el manejo sanitario ecológico de babosas terrestres presentes en los campos de cultivo de alfalfa, se constituye en el fundamento para el desarrollo de investigaciones que permitan la implementación de tácticas de control microbiológico mediante el empleo de hongos entomopatógenos, tales como, *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) que faciliten el establecimiento de un programa de Manejo para la producción sustentable de esta especie forrajera con fines de alimentación de animales menores y mayores.

En la región andina, tal es el caso, de la ciudad de Cajamarca, las precipitaciones influyen en la presencia de babosas, que devoran plantas jóvenes de alfalfa, afectando la economía de muchos agricultores, siendo este su principal ingreso de supervivencia.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo general

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

1.1.2 Objetivo específico

Evaluar la sintomatología que produce *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., sobre babosas terrestres en alfalfa.

Evaluar la sintomatología que produce *Lecanicillium lecanii* (Zimm.), sobre babosas terrestres en alfalfa.

Evaluar la sintomatología que produce *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) sobre babosas terrestres en alfalfa.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes

Andrews y Huezco de Mira (1982), utilizaron observaciones nocturnas directas y trampas de caída con cebo para determinar las densidades de población de babosas activas, *Vaginulus plebeius*, a diversas distancias de una fuente de infestación. Estas observaciones estuvieron relacionadas con el daño a las plántulas y el rendimiento de frijol seco. Cada babosa activa/m²/noche dio como resultado una reducción de la plantación del 20 % y una reducción del rendimiento del 16 %. Por cada babosa capturada en las trampas de caída por noche, la superficie de plantas se redujo en un 14 % y el rendimiento en un 11 %. Se calcularon niveles tentativos de daño económico de 0,25 babosas activas/m² o 0,4 babosas/trampa/noche. En presencia de plántulas de frijol, las babosas se mueven sólo distancias cortas.

López *et al.* (2023), evaluaron la actividad molusquicida de tres extractos de Agavaceae; *Agave americana*, *Furcraea bedinghausii* y *F. andina*, como alternativas para el control de babosas en papa criolla, obtenidas por dos métodos de extracción, jugo y fracción. Se realizó una investigación experimental en un ensayo de campo en un cultivo de papa. Tres tratamientos consistieron en jugos de las tres plantas mencionadas al 20 % y otros tres con extractos acuosos de las hojas picadas de las plantas a 4 kg/10L de agua, un tratamiento con Tierra de Diatomeas como estándar de producción y un testigo sin tratamiento. Los extractos vegetales de *Furcraea andina*, tanto en jugo como en trozos, obtuvieron más del 60 % de eficacia técnica en papa criolla con diferencia estadística con el control y resultados similares al testigo de producción estándar, Tierra de Diatomeas. Los tratamientos que lograron mayor estabilidad para reducir el daño por babosas en papa

fueron los extractos vegetales de *Furcraea andina*, tanto en forma de jugo como en fracciones.

Jaimés (2021) evaluó el efecto de extractos de plantas de la familia Agavaceae (*Agave americana*, *Furcraea bedinghausii* y *F. andina*) como alternativas para el control de babosas plagas de los cultivos en Pamplona, Norte de Santander. La investigación se ejecutó en un cultivo de fresa en la Vereda Chíchira, en Pamplona Norte de Santander. Se condujo una investigación experimental donde se emplearon siete tratamientos en un diseño de bloque al azar con cuatro réplicas. Los tratamientos fueron extractos de las tres especies de agaváceas, en forma de jugo al 20 % y troceado de hojas a 4 kg/10L de agua. Se realizaron dos aspersiones con espaciados en 8 días utilizando una bomba de espalda de 16 Litros. Se realizaron muestreos a los 3, 5 y 7 días posteriores a la aplicación para determinar la población de babosas/trampa día, así como, el porcentaje de frutos dañados por plantas. Se compararon las poblaciones de las babosas y los daños en fruto con los datos de cada muestreo por medio de ANOVAS empleando el paquete estadístico SPSS. Los tratamientos de jugo de *F. andina* al 20 % y de extracto de fracciones *F. andina* a 4 kg/10 L de agua mostraron ser superiores estadísticamente al resto de otros extractos de agaváceas para disminuir las poblaciones de babosas en el cultivo de fresa. Los tratamientos con jugo de *F. andina* al 20 % y con el extracto de fracciones *F. andina* a 4 kg/10 L de agua aplicados por aspersión alcanzaron eficacias técnicas para el control de babosas en fresa superiores al 70 %. Los tratamientos fitoplaguicidas a base de *F. andina* tanto en jugo al 20 % como en fracciones de hojas a 4 kg/10 L de agua, permitieron menores daños por babosas, de forma significativa en los frutos de fresas, reduciendo el porcentaje de daños por encima de 50 % con la primera aplicación y por encima de 75 % con una segunda aplicación.

Espinosa y Maza (2012), evaluaron el control de babosas (*Deroceras reticulatum* Müller) en el cultivo de caña de azúcar, utilizando cuatro trampas caseras, que consistían

en trampas de caída + cerveza, trampas de caída + chicha de uvas, trampas de caída + chicha de yuca, trampas de caída + guarapo de caña. El trabajo investigativo se realizó en el cantón Santa Clara, provincia de Pastaza, en el sector El Carmen, propiedad de la Sra. María Maza Yaguana. Los trabajos de campo se realizaron bajo condiciones de temperatura ambiente 20 °C, 75 % de humedad relativa, heliofanía 1,130 horas de promedio anual y 1014 msnm. El diseño experimental empleado fue un D.C.A. con 4 tratamientos y 5 repeticiones; se realizó un análisis estadístico mediante Statistical Analysis System (SAS). Se empleó el procedimiento ADEVA para el análisis de varianza y prueba de Tukey (0,05). También se efectuó un análisis económico de costo de control a cada tratamiento en estudio. De los resultados se establece que el mejor tratamiento es el T1 (Trampa de caída + 100 ml de cerveza), porque logra atrapar hasta 160,8 babosas (*Deroceras reticulatum* Müller). Los tratamientos T1 (Trampa de caída + 100 ml de cerveza) y T4 (Trampa de caída + 100 ml de guarapo de caña) presentaron el menor costo de control con un valor de 0,02 y el tratamiento T2 (Trampa de caída + 100 ml de chicha de uva) presentó el mayor valor de 0,05 en costo de control. Para atrapar 160,8 babosas en métodos alternativos para el control de babosas (*Deroceras reticulatum* Müller) en el cultivo de caña de azúcar, se recomienda utilizar trampas de caída más cerveza.

Velásquez *et al.* (2014), determinaron la distribución, incidencia del daño y especies de plaga de babosas en el cultivo de vainilla; se muestrearon 22 localidades de 9 municipios en 2 estados productores de vainilla en México. Se determinó la incidencia del daño por la plaga en el cultivo y se identificaron las especies presentes. En el 100 % de las localidades muestreadas predominó la especie *Leidyula moreleti* y, en menor proporción se encontró a *Sarasinula plebeia* (31,8 %), ambas mostrando incidencias en el cultivo que oscilan entre el 11 y 89 %.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Babosas terrestres

Salazar y Granados (2014), mencionan que, las babosas terrestres son responsables de causar importantes pérdidas económicas en los cultivos agrícolas, así como, actúan como vectores intermedios del nemátodo *Angiostrongylus costaricensis*, responsable de causar afectaciones intestinales al ser humano. Esto ha promovido el desarrollo de diferentes investigaciones con el objetivo de establecer tácticas de manejo eficientes, que permitan mantener las poblaciones por debajo del umbral de daño económico. Dentro de estas, predomina las sustancias sintéticas tales como los metaldehídos y carbamatos aplicados en diferentes concentraciones y generalmente en forma de cebos o pellets, mismos que por sus características a mediano o corto plazo pueden repercutir sobre la biodiversidad; como alternativa a esta táctica, la utilización de diferentes tipos de trampa alrededor y dentro de las plantaciones ha generado resultados promisorios; por otra parte, el uso de extractos botánicos de origen vegetal actúan sobre el comportamiento de esta plaga provocando no solo un efecto repelente sino también antialimenticio, aunado a lo anterior el uso de agentes de control biológico tales como el nemátodo *Phasmarhabditis hermaphrodita*, microorganismos entomopatógenos como *Pochonia chlamydosporia*, así como, depredadores tales como *Scarites anthracinus* y *Pterostichus melanarius*, los cuales han demostrado un efecto positivo no solo en el manejo de las babosas terrestres, sino también en el equilibrio general de las poblaciones presentes en el cultivo, brindando beneficios a largo plazo.

a. **Taxonomía.** Según South, (1992), la taxonomía de la babosa terrestre es la siguiente:

Reino	:	Animal
Phyllum	:	Mollusca
Clase	:	Gasteropoda
Subclase	:	Gymnomorpha

b. **Morfología.**

b.1 Huevo. Es de forma ovoide, posee diferentes coloraciones dependiendo del estado de desarrollo, mostrándose al inicio traslucido y luego amarillo claro (Constantino *et al.* 2010; Coto y Saunders 1987).

b.2 Juveniles. Son pequeños y pesan 20 g, la coloración de su cuerpo es diversa según el género al cual pertenezcan (Zare *et al.* 2001). Son de color blanco lechoso, gris claro o acastañado, midiendo en extensión 3 - 4 mm de largo (Castillejo 1998).

b.3 Adulto. Es de consistencia carnosa, cubierto de una sustancia pegajosa, provisto de un pie musculoso que le permite deslizarse (Aguilera 2001). Según Castillejo (1998), el cuerpo de una babosa (adulto) se puede dividir en cuatro partes: cabeza, manto o escudo, tronco o cola y suela pedía. La cabeza es anterior y porta cuatro tentáculos invaginables: un par anterior de tentáculos bucales con función quimiosensorial y un par posterior de tentáculos oculares u omatóforos, que incluyen los ojos. Los tentáculos generalmente tienen la misma coloración que el cuerpo, pero en ocasiones es distinta. Debajo del tentáculo ocular derecho se encuentra el orificio genital. La cabeza se une al

resto del cuerpo por lo que algunos malacólogos denominan cuello. El manto o escudo está generalmente colocado en la mitad anterior del animal, en su parte dorsal, y tiene una ornamentación característica. Así, pueden aparecer estriaciones a modo de huellas dactilares, un granulado característico o, incluso, manchas o bandas específicas. El pneumostoma u orificio respiratorio se encuentra en el costado derecho, y en función del género se puede encontrar en el tercio anterior o en el tercio posterior del escudo. El tronco o cola puede tener su parte final roma o aguzada, con, o sin, una glándula caudal. Sobre la parte superior media del tronco puede aparecer, más o menos prominente, una carena o quilla, que en ocasiones discurre desde el ápice caudal hasta el manto. La suela pedia está delimitada superiormente por el reborde de la suela, que tiene un surco peripedial. En el reborde de la suela se encuentran las lineolas. Éstas son verticales y tienen una coloración distinta o igual al resto del cuerpo: rojas, negras, naranjas, etc.

c. Biología.

c.1 Huevo. Una babosa puede poner entre 100 y 500 huevos en grupos de 10 a 50; los deposita en un agujero cavado en la tierra o bajo un refugio (Constantino *et al.* 2010; Coto y Saunders 1987). Los huevos son depositados en montoncitos de 4 a 20, en la primera puesta el número de huevos es numeroso (Castillejo 1998).

c.2 Juvenil. En el estado larval, la etapa infantil se caracteriza por la presencia de gónadas indiferenciadas, mientras que en los estados juveniles se da un aumento en el crecimiento, 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).

c.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).

d. Ecología.

Carrick (1942), menciona que factores tales como la temperatura, humedad, alimentación y especie, son determinantes en el ciclo biológico de cada individuo y la duración del mismo, en este último aspecto Serré (2005), indica que se han reportado sobrevivencias desde los seis hasta los 24 meses, Chichester y Getz (1973), reportan que los rangos de temperaturas ideales para su desarrollo oscilan entre 15 °C y 23 °C, siendo la temperatura optima los 21 °C para la incubación de los huevos y el desarrollo normal de los adultos.

2.2.2 Hongos entomopatógenos

a. *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.

a.1 Taxonomía. Según Alexopoulos (1976), la clasificación taxonómica de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill es la siguiente:

Reino	:	Myceteae
División	:	Amastigomycota
Subdivisión	:	Deuteromycotina
Clase	:	Hyphomycetidae
Orden	:	Moniliales
Familia	:	Moniliaceae
Género	:	<i>Beauveria</i>
Especie	:	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals) Vuillemin

a.2 Morfología. Presenta un micelio de color blanco, sencillos conidióforos, que pueden estar agrupados o en grupos verticilados, en algunas especies se hincha en la base y se adelgaza hacia la porción que sostiene la conidia. Presenta conidias hialinas, unicelulares y ovoides, así como, globosas a subglobosas cuyas estructuras conidióforas forman densos grupos (Agris 1997). Es un hongo filamentoso (fungi asexual), organismo eucariótico heterótrofo que posee células quitinizadas y parasita a otros hospederos, presenta un micelio de color blanco, sencillos conidióforos, que pueden estar agrupados o en grupos verticilados, en algunas especies se hincha en la base y se adelgaza hacia la porción que sostiene la conidia, apariencia algodonosa y de color blanco, tiene conidias hialinas, unicelulares y ovoides (Garces 2015).

a.3 Modo y mecanismo de acción. Existen una gran cantidad de toxinas las cuales provocan infección en el hospedante en tres fases: (1) Adhesión, El primer contacto entre el hongo entomopatógeno y la babosa que sucede cuando la espora (conidio) es depositada en la superficie de la babosa, (2) Germinación, el conidio inicia el desarrollo de su tubo germinativo y un órgano sujetador (llamado apresorio), (3) Producción de toxinas, el hongo ramifica sus estructuras y coloniza las cavidades del hospedante. Produce la toxina llamada Beauvericina que ayuda a romper el sistema inmunológico del patógeno, lo que facilita la invasión del hongo a todos los tejidos provocando así la muerte (Alves 1986).

Presente gran actividad entomopatógena en varios hospederos alrededor del mundo, incluyendo las ordenes Coleóptera y Lepidóptera. Se han encontrado cepas con virulencia hacia importantes plagas tanto en la agricultura. Es amigable con el medio ambiente y eficaces en el control de enfermedades y plagas, constituyéndose los microorganismos como los más utilizados y aceptados por mostrar excelentes resultados en el campo (Gómez 2015).

b. *Lecanicillium lecanii* (Zimm.).

b.1 Taxonomía. Según Alexopoulos y Mims (1979) la clasificación taxonómica de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) es la siguiente:

Reino	:	Myceteae
División	:	Amastigomycota
Subdivisión	:	Deuteromycotina
Clase	:	Hyphomycetidae
Orden	:	Moniliales
Familia	:	Moniliaceae

Género : *Lecanicillium* (= *Verticillium*)
Especie : *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *lecanii* (Zimm.)

b.2 Morfología. Presenta conidióforos 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. Las colonias llegan a alcanzar desde 15 a 30 mm de diámetro después de 10 días a 20 °C sobre PDA, presenta conidióforos solitarios o verticilados que originan hifas aéreas, se diferencian en fialides simples, en pares o verticilos de consistencia delicada y relativamente cortos 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).

b.3 Modo y mecanismo de acción. Posee una particularidad en infectar al hospedero directamente a través de la penetración de la superficie del hospedero 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 superficie del hospedero (2) penetración en el sistema y (3) desarrollo del hongo, lo cual generalmente resulta en la muerte del hospedero. Es un hongo imperfecto que se reproduce asexualmente por conidias, las cuales son pequeñas, hialinas, posee amplia distribución capaz de ocasionar epizootias de gran magnitud, amplio rango de infestación de los órdenes Homóptera, Coleóptera, Díptera y Collembola entre otros (Carreño 2003).

c. *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff).

c.1 Taxonomía. Según Monzón (2001) la clasificación taxonómica de *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) es la siguiente:

Hongo	:	Deuteromyceto,
Orden	:	Moniliales,
Familia	:	Moniliaceae.
Género	:	<i>Metarhizium</i>
Especie	:	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff)

c.2 Morfología. Presenta un micelio de color verde oliváceo, amarillento e hifas lisas y septadas (Guerrero *et al.* 1999). Los conidióforos nacen del micelio y son irregularmente ramificados con dos o tres ramas en cada septo, mide de 4 a 14 μ de longitud x 1,5 a 2,5 de diámetro. Las fialides son cilíndricas en forma de clava, adelgazadas en el ápice, miden de 6 a 13 μ y de 2 a 4 μ de diámetro, las conidias son unicelulares, cilíndricas y truncadas formadas en cadenas muy largas, hialinas a verde oliváceo, miden de 3,5 μ de longitud x 1,5 a 3,5 μ de diámetro (Cañedo y Ames 2004).

c.3 Modo y mecanismo de acción. Comienza por la adhesión de la conidia al tegumento del hospedero y la germinación de los conidios o esporas sobre éste. Luego se produce la penetración a través de la superficie del hospedero por mecanismo físico (presión sobre la superficie) y químico producción de enzimas lipasas, quitinasas y proteasas que degradan la superficie. La multiplicación del hongo y la producción de toxinas. Sobreviene la muerte del hospedero y el hongo coloniza todo el interior del hospedante. Posteriormente, el micelio sale hacia el exterior pasando a través del

tegumento, esporula sobre la superficie del hospedero y finalmente los propágulos son diseminados al medio (Acosta 2016).

2.2.3 La alfalfa (*Medicago sativa* L.)

a. Fenología.

Según Fick *et al.* 1989, el cultivo de alfalfa se caracteriza por presentar los siguientes estados fenológicos:

a.1 Estado vegetativo. Es la primera etapa de desarrollo, donde no existe la presencia de estructuras reproductivas. Estadio 0 (Vegetativo temprano): la altura de los tallos es inferior a 15 cm y las yemas axilares no son visibles debido a su escaso desarrollo, Estadio 1 (Vegetativo medio): la altura de los tallos es de 16 a 30 cm y, como consecuencia del desarrollo de yemas axilares, se observan de una a dos hojas nuevas en las axilas de las hojas viejas y Estadio 2 (vegetativo tardío): la altura de los tallos es de más de 30 cm y se observan ramificaciones de las yemas axilares con dos a tres hojas en al menos dos nudos.

a.2 Estado de botón floral. A partir de este momento comienza la diferenciación de los meristemas reproductivos y se visualizan los botones florales. Las yemas reproductivas aparecen cerca del ápice de crecimiento del tallo principal o sus ramificaciones. Estadio 3 (botón floral temprano): las yemas de los botones florales sólo se visualizan en uno o dos nudos. Los botones florales, en cada racimo, se pueden palpar dado que están muy cerca el uno del otro. Estadio 4 (botón floral): tres o más nudos presentan inflorescencias visibles y se aprecia una clara separación de los botones florales en el racimo.

a.3 Estado de floración. Cuando las condiciones ambientales (fotoperiodo y temperatura) lo permiten, las flores se abren y se hacen visibles. La floración es la expresión del estado reproductivo de la planta. Estadio 5 (floración temprana): una o más flores abiertas se observan en el racimo floral de un nudo del tallo. Se considera una flor abierta cuando el estandarte de la flor está desplegado. Estadio 6 (floración tardía): en un tallo se presentan al menos dos nudos con flores abiertas. Además, a diferencia del anterior, hay una mayor cantidad de inflorescencias en el tallo.

a.4 Estado de producción de semillas. Comprende el desarrollo de vainas y semillas, que comienza después de la polinización de las flores. Estadio 7 (fructificación temprana): uno a tres nudos contiene una vaina recién formada, de color verde. Una o más vainas se pueden contar en cada racimo. Mientras que las vainas se encuentran principalmente en la parte media de los tallos, en las partes apicales todavía se observan flores. Estadio 8 (fructificación tardía): cuatro o más nudos tienen vainas todavía verdes, pero bien formadas y en espiral. Los tallos más viejos se encuentran muy ramificados y con una baja proporción de hojas. Estadio 9 (vainas maduras): la mayoría de las vainas, ya maduras, son de color marrón y están secas. La proporción de hojas es muy baja y los tallos son muy fibrosos. Este es el momento adecuado para la recolección de semillas.

CAPÍTULO III

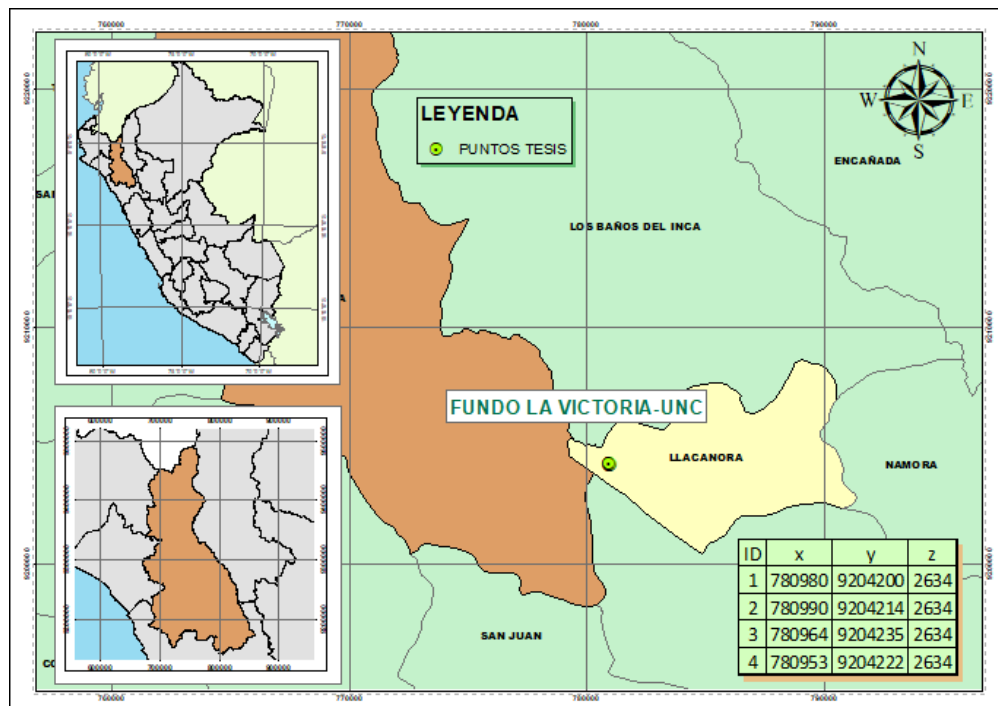
MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación

La investigación fue realizada en el Fundo La Victoria de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, geográficamente localizado entre las coordenadas UTM 780909 Este y 92044202 Norte y a una altitud de 2636 msnm.

Figura 1

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)
Plantas de alfalfa.

3.2.2 Material de campo

Aceite agrícola.
Cámara digital.
Cordel.
Equipo de protección personal.
Estaca.
Etiqueta.
Frasco de plástico.
GPS.
Lapicero.
Libreta de campo.
Lupa entomológica 20X.
Mochila de pulverización.
pHmetro.
Wincha.

3.2.3 Material y equipo de laboratorio

Alcohol metílico al 70 %.
Cámara digital.
Computadora.
Estereoscopio.
Etiqueta.

Frasco de plástico.
Lapicero.
Lupa entomológica 20X.
Marcador permanente resistente al agua.
Vial de vidrio.

3.3 Tipo y diseño de investigación

3.3.1 Características del campo experimental

a. Área

Largo	:	24 m
Ancho	:	20 m
Área Experimental	:	480 m ²
Área total	:	900 m ²

b. Bloques

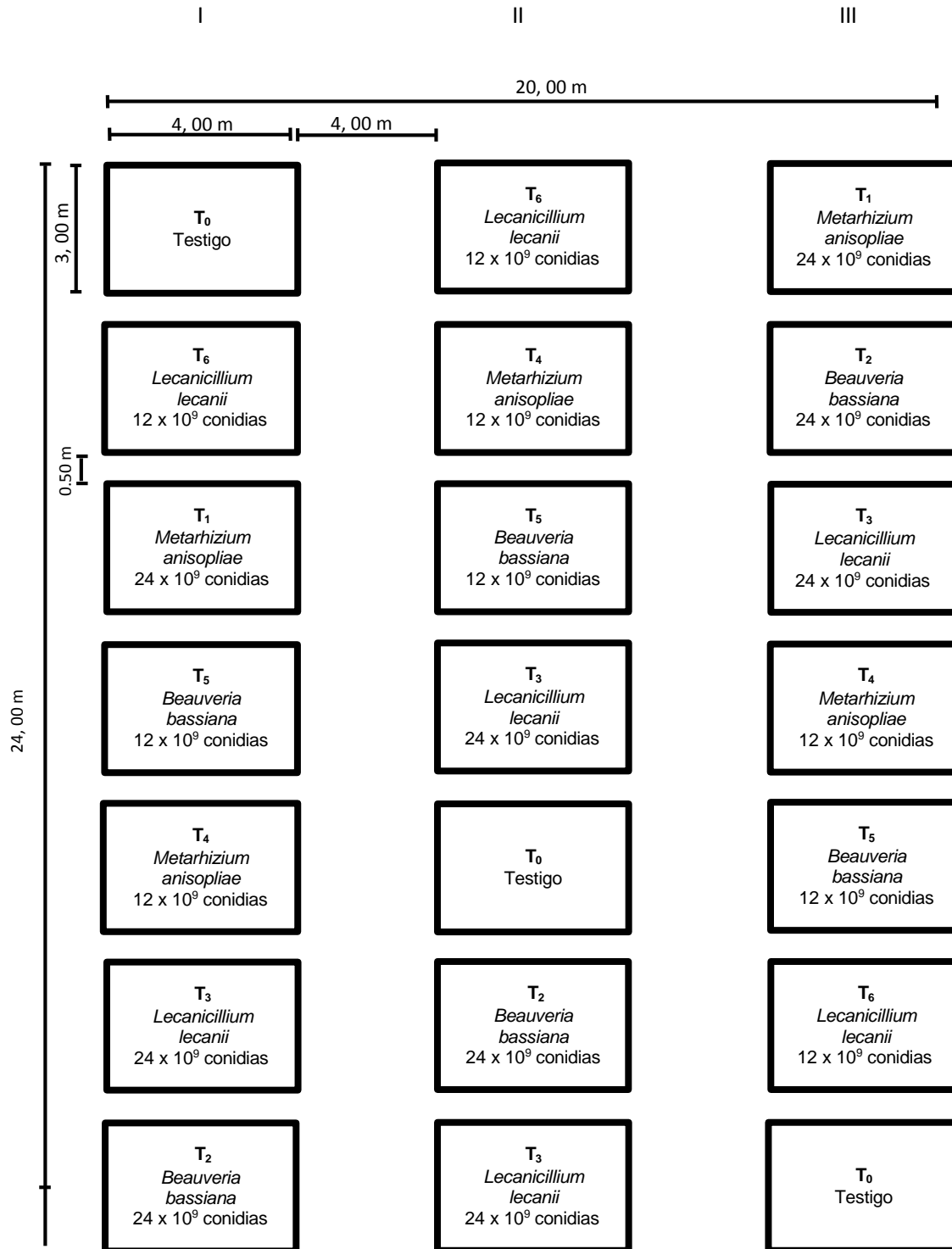
Número	:	3
Largo	:	24 m
Ancho	:	4 m
Área	:	96 m ²

c. Parcelas

Número / Bloque	:	7
Número total	:	21
Largo	:	24 m
Ancho	:	4 m
Área	:	96 m ²

Figura 2

Diseño del campo experimental y distribución de los tratamientos.



3.4 Metodología

3.4.1 Trabajo de campo

3.4.1.1 Evaluación de babosas terrestres

Se realizaron evaluaciones antes y después de cada aplicación, de cada uno de los tratamientos establecidos, con la finalidad de determinar la presencia sintomatología de las babosas terrestres.

3.4.1.2 Aplicación de entomopatógenos (*Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii* y *Metarhizium anisopliae*)

Se realizó tomando en consideración los siguientes tratamientos:

Tratamiento	Entomopatógeno	Dosis	Concentración de conidias en solución	Dosis/Litro
T ₀	Ninguno	-	-	-
T ₁	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals)	1,6 Kg/Cil	12 x 10 ⁹	8,0 g
T ₂	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals)	3,2 Kg/Cil	24 x 10 ⁹	16,0 g
T ₃	<i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.)	1,6 Kg/Cil	12 x 10 ⁹	8,0 g
T ₄	<i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.)	3,2 Kg/Cil	24 x 10 ⁹	16,0 g
T ₅	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff)	1,6 Kg/Cil	12 x 10 ⁹	8,0 g
T ₆	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Metchnikoff)	3,2 Kg/Cil	24 x 10 ⁹	16,0 g

a. Cálculo de dosis (*Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii* y *Metarhizium anisopliae*)

Concentración = 1,5 x 10⁹ conidias/g de producto

a.1 Dosis baja (2 bolsas): 11,52 g/ 1,44 L

$$\begin{array}{l} 1600 \text{ g} \text{-----} 200 \text{ litros} \\ X \text{-----} 14,4 \text{ litros} \end{array}$$

$$X = 11,52 \text{ g}/1,44 \text{ litros}$$

$$X = 8 \text{ g/L}$$

a.2 Dosis alta (4 bolsas): 23,04 g/1,44 L

$$\begin{array}{l} 3200 \text{ g} \text{-----} 200 \text{ litros} \\ X \text{-----} 1,44 \text{ litros} \end{array}$$

$$X = 23,04 \text{ g}/1,44 \text{ litros}$$

$$X = 16 \text{ g/L}$$

3.4.2 Trabajo de laboratorio

Las babosas terrestres colectadas durante las evaluaciones, fueron llevadas al Laboratorio de Entomología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, para la determinación de la sintomatología ocasionada por los hongos entomopatógenos.

3.4.3 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.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Tratamiento 1 (T₁): *Beauveria bassiana* (Bals) (12 x 10⁹ conidias)

En la Tabla 1, se observa que luego de siete días posteriores a las aplicaciones del tratamiento establecido, fueron registradas en promedio 2 babosas terrestres enfermas y 3 babosas terrestres muertas de un total de 22 babosas terrestres evaluadas.

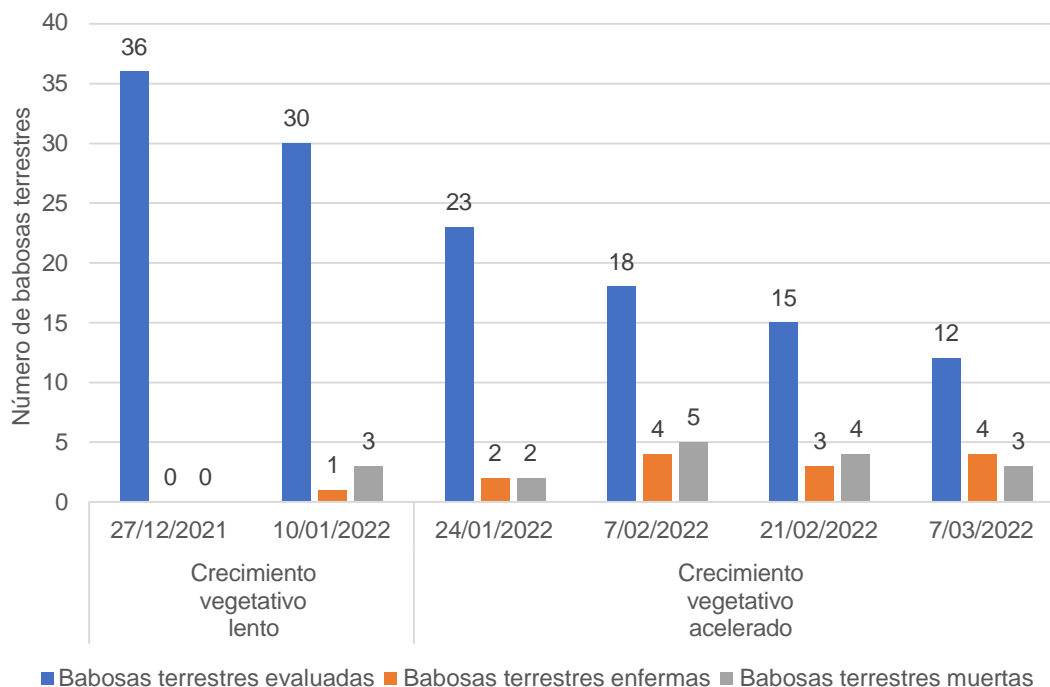
Tabla 1

Número de babosas terrestres enfermas y muertas

Fecha de aplicación	Evaluación inicial	Evaluación posterior			
	N° de babosas terrestres	Fecha	7 días		
			Número de babosas terrestres evaluadas	Número de babosas terrestres enfermas	Número de babosas terrestres muertas
20/12/2021	40	27/12/2021	36	0	0
03/01/2022	33	10/01/2022	30	1	3
17/01/2022	28	24/01/2022	23	2	2
31/01/2022	20	07/02/2022	18	4	5
14/02/2022	16	21/02/2022	15	3	4
28/02/2022	13	07/03/2022	12	4	3
Promedio	25		22	2	3

Figura 3

Número de babosas terrestres enfermas y muertas.



En la Figura 3, se observa que, al realizar la evaluación de babosas terrestres después de siete días de la aplicación del entomopatógeno, cuando la alfalfa se encontraba en el estado fenológico de crecimiento vegetativo lento (27 de diciembre) se registró el menor número (0) de babosas terrestres enfermas, así como, el mayor número (4) de babosas terrestres enfermas fue registrado el 07 de febrero y el 07 de marzo, en el estado fenológico de crecimiento vegetativo acelerado. En tanto que, durante el estado fenológico de crecimiento vegetativo lento (27 de diciembre), se registró el menor número (0) de babosas terrestres muertas, así mismo, el mayor número (5) de babosas terrestres muertas fue registrado el 07 de febrero, en el estado fenológico de crecimiento vegetativo acelerado. La ausencia de mortalidad de individuos probablemente estuvo relacionada con las condiciones ambientales.

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; además Tanada y Kaya (1993) mencionan que el proceso de adherencia de las esporas en el hospedero se relaciona con las condiciones ambientales favorables.

4.2 Tratamiento 2 (T₂): *Beauveria bassiana* (Bals) (24 x 10⁹ conidias)

En la Tabla 2, se observa que luego de siete días posteriores a las aplicaciones del tratamiento establecido, fueron registradas en promedio 3 babosas terrestres enfermas y 3 babosas terrestres muertas de un total de 21 babosas terrestres evaluadas.

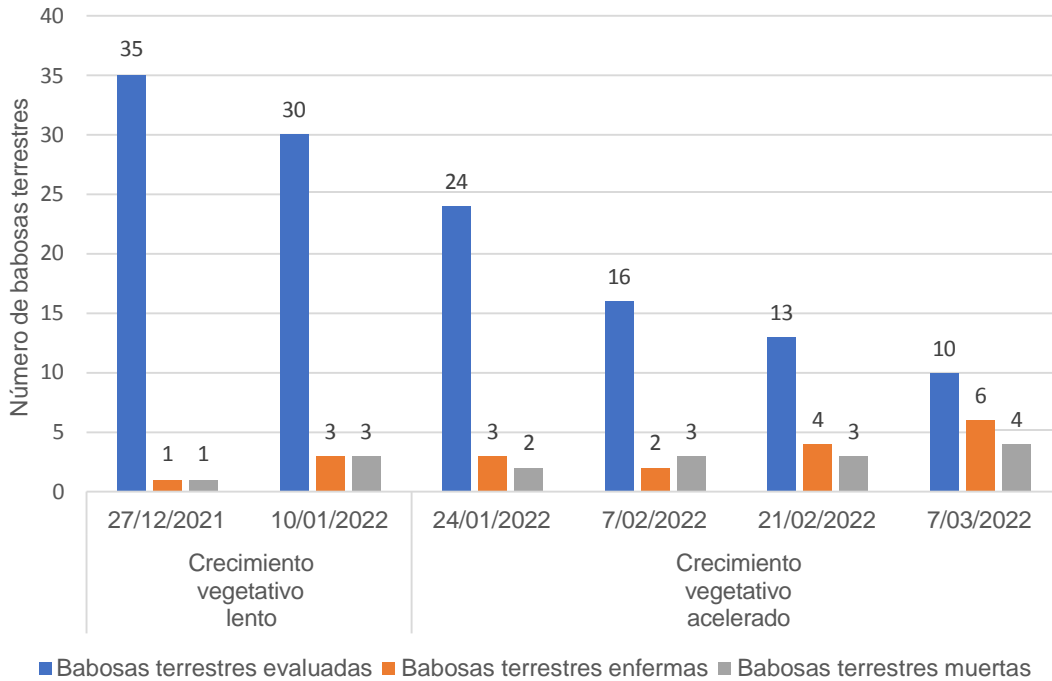
Tabla 2

Número de babosas terrestres enfermas y muertas

Fecha de aplicación	Evaluación inicial	Evaluación posterior			
	N° de babosas terrestres	Fecha	7 días		
Número de babosas terrestres evaluadas			Número de babosas terrestres enfermas	Número de babosas terrestres muertas	
20/12/2021	41	27/12/2021	35	1	1
03/01/2022	33	10/01/2022	30	3	3
17/01/2022	25	24/01/2022	24	3	2
31/01/2022	22	07/02/2022	16	2	3
14/02/2022	17	21/02/2022	13	4	3
28/02/2022	14	07/03/2022	10	6	4
Promedio	25		21	3	3

Figura 4

Número de babosas terrestres enfermas y muertas.



En la Figura 4, se observa que, al realizar la evaluación de babosas terrestres después de siete días de la aplicación del entomopatógeno, cuando la alfalfa se encontraba en el estado fenológico de crecimiento vegetativo lento (27 de diciembre) se registró el menor número (1) de babosas terrestres enfermas, así como, el mayor número (6) de babosas terrestres enfermas fue registrado el 07 de marzo, en el estado fenológico de crecimiento vegetativo acelerado. En tanto que, durante el estado fenológico de crecimiento vegetativo lento (27 de diciembre), se registró el menor número (1) de babosas terrestres muertas, así mismo, el mayor número (4) de babosas terrestres muertas fue registrado el 07 de marzo, en el estado fenológico de crecimiento vegetativo acelerado. La ausencia de mortalidad de individuos probablemente estuvo relacionada con las condiciones ambientales.

Charnley (1984), menciona que el modo de penetración principalmente depende del grosor, esclerotización y la presencia de sustancias antifúngicas y nutricionales; así como, el resultado de la germinación y la penetración no depende necesariamente del porcentaje total de la germinación sino de la duración de la germinación, modo de germinación, agresividad del hongo, el tipo de espora y la susceptibilidad del hospedero. Al respecto (Samson *et al.* 1988), refieren que las babosas terrestres son capaces de perder la piel, eliminando así cualquier sustancia que sea tóxica. Hunter y Runham (1971), indican que el mucus secretado por las babosas terrestres sirve para proteger, lubricar y asistirles en su motilidad, al ser 14 veces más rica en carbohidratos que la piel del ser humano.

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 que la infección de *Beauveria bassiana* se produce a través de las partes frágiles del dorso y la suela de la babosa terrestre mediante procesos físicos y químicos relacionadas con las enzimas (quitinasas, proteasas y lipasas) producidas durante la germinación y penetración.

4.3 Tratamiento 3 (T₃): *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) (12 x 10⁹ conidias)

En la Tabla 3, se observa que luego de siete días posteriores a las aplicaciones del tratamiento establecido, fueron registradas en promedio 7 babosas terrestres enfermas y 4 babosas terrestres muertas de un total de 18 babosas terrestres evaluadas.

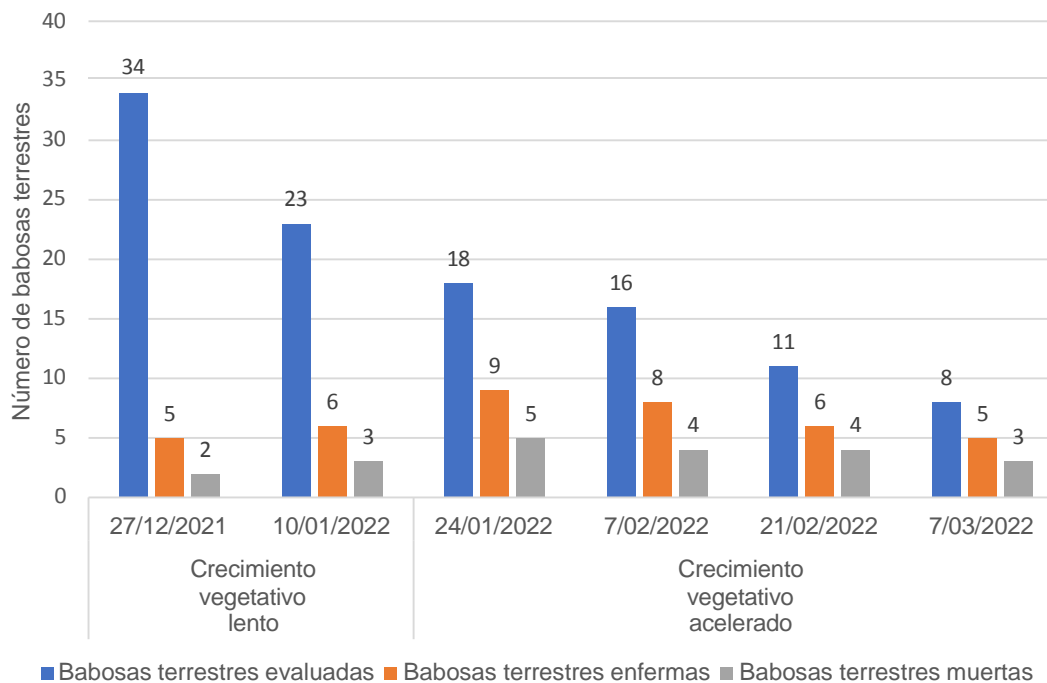
Tabla 3

Número de babosas terrestres enfermas y muertas

Fecha de aplicación	Evaluación inicial		Evaluación posterior		
	N° de babosas terrestres	Fecha	7 días		
Número de babosas terrestres evaluadas			Número de babosas terrestres enfermas	Número de babosas terrestres muertas	
20/12/2021	43	27/12/2021	34	5	2
03/01/2022	25	10/01/2022	23	6	3
17/01/2021	20	24/01/2022	18	9	5
31/01/2022	19	07/02/2022	16	8	4
14/02/2022	14	21/02/2022	11	6	4
28/02/2022	10	07/03/2022	8	5	3
Promedio	22		18	7	4

Figura 5

Número de babosas terrestres enfermas y muertas



En la Figura 5, se observa que, al realizar la evaluación de babosas terrestres después de siete días de la aplicación del entomopatógeno, cuando la alfalfa se encontraba en el estado fenológico de crecimiento vegetativo lento (27 de diciembre) se registró el menor número (5) de babosas terrestres enfermas, así como, el mayor número (9) de babosas terrestres enfermas fue registrado el 24 de enero, en el estado fenológico de crecimiento vegetativo acelerado. En tanto que, durante el estado fenológico de crecimiento vegetativo lento (27 de diciembre), se registró el menor número (2) de babosas terrestres muertas, así mismo, el mayor número (5) de babosas terrestres muertas fue registrado el 07 de febrero, en el estado fenológico de crecimiento vegetativo acelerado. La ausencia de mortalidad de individuos probablemente estuvo relacionada con las condiciones ambientales.

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.

4.4 Tratamiento 4 (T₄): *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) (24 x 10⁹ conidias)

En la Tabla 4, se observa que luego de siete días posteriores a las aplicaciones del tratamiento establecido, fueron registradas en promedio 10 babosas terrestres enfermas y 6 babosas terrestres muertas de un total de 20 babosas terrestres evaluadas.

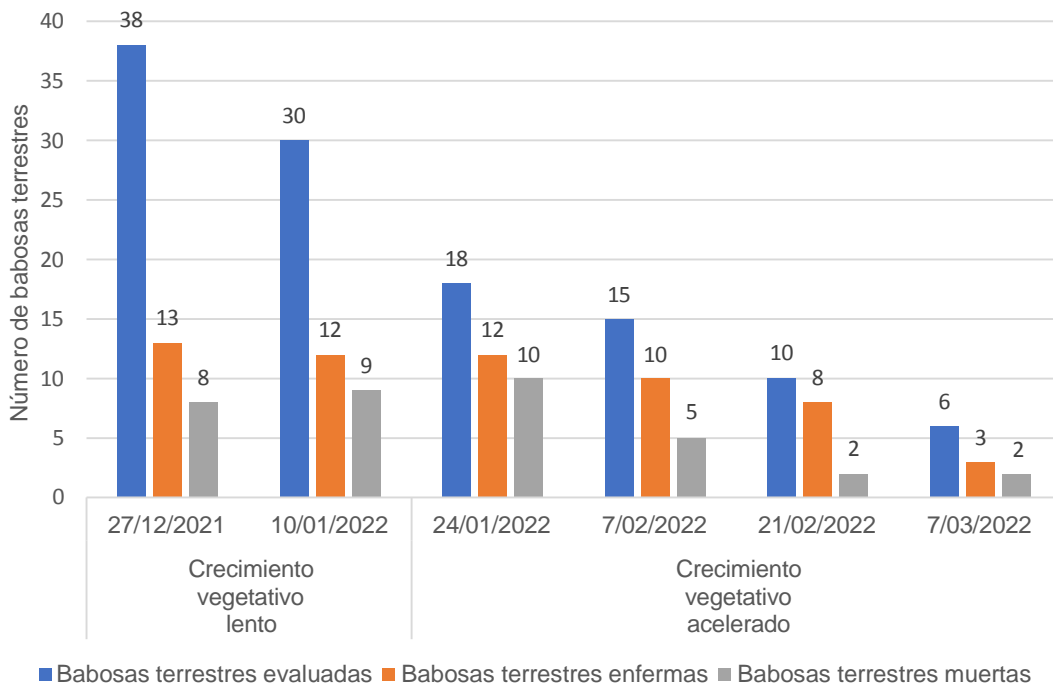
Tabla 4

Número de babosas terrestres enfermas y muertas

Fecha de aplicación	Evaluación inicial	Evaluación posterior			
	N° de babosas terrestres	Fecha	Número de babosas terrestres evaluadas	Número de babosas terrestres enfermas	Número de babosas terrestres muertas
20/12/2021	42	27/12/2021	38	13	8
03/01/2022	36	10/01/2022	30	12	9
17/01/2022	20	24/01/2022	18	12	10
31/01/2022	17	07/02/2022	15	10	5
14/02/2022	13	21/02/2022	10	8	2
28/02/2022	7	07/03/2022	6	3	2
Promedio	23		20	10	6

Figura 6

Número de babosas terrestres enfermas y muertas



En la Figura 6, se observa que, al realizar la evaluación de babosas terrestres después de siete días de la aplicación del entomopatógeno, cuando la alfalfa se encontraba en el estado fenológico de crecimiento vegetativo acelerado (07 de marzo) se registró el menor número (3) de babosas terrestres enfermas, así como, el mayor número (13) de babosas terrestres enfermas fue registrado el 27 de diciembre, en el estado fenológico de crecimiento vegetativo lento. En tanto que, durante el estado fenológico de crecimiento vegetativo acelerado (21 de febrero y 07 de marzo), se registró el menor número (2) de babosas terrestres muertas, así mismo, el mayor número (10) de babosas terrestres muertas fue registrado el 24 de enero, en el estado fenológico de crecimiento vegetativo acelerado. La ausencia de mortalidad de individuos probablemente estuvo relacionada con las condiciones ambientales.

El control de babosas terrestres con el entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* requiere de una temperatura 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 inmunomoduladoras o toxinas fúngicas, donde el hospedero no podrá defenderse.

4.5 Tratamiento 5 (T₅): *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) (12 x 10⁹ conidias)

En la Tabla 5, se observa que luego de siete días posteriores a las aplicaciones del tratamiento establecido, fueron registradas en promedio 4 babosas terrestres enfermas y 4 babosas terrestres muertas de un total de 21 babosas terrestres evaluadas.

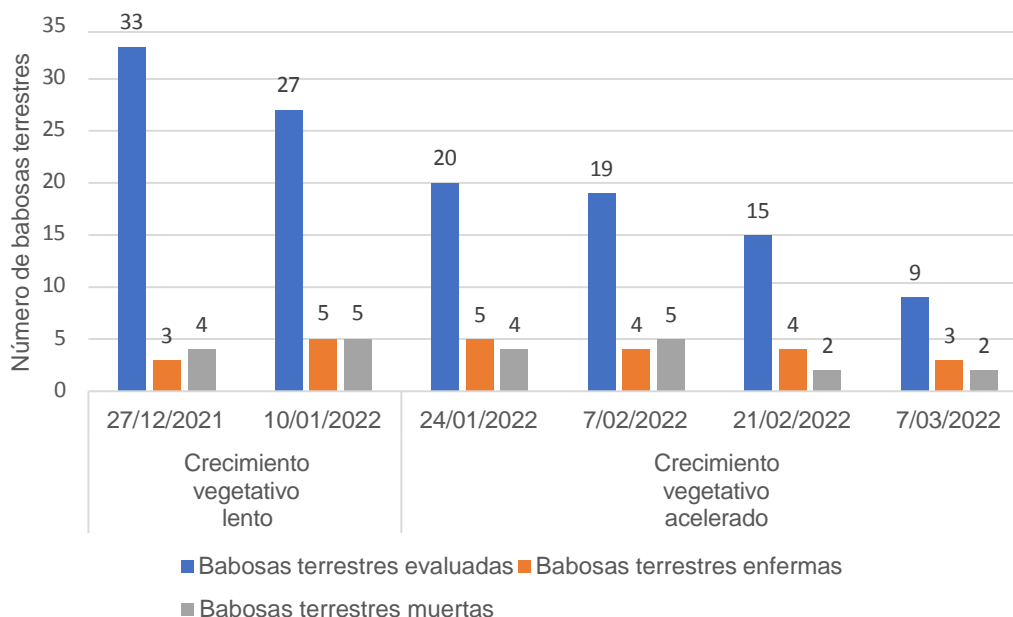
Tabla 5

Número de babosas terrestres enfermas y muertas

Fecha de aplicación	Evaluación inicial N° de babosas terrestres	Evaluación posterior			
		Fecha	7 días		
			Número de babosas terrestres evaluadas	Número de babosas terrestres enfermas	Número de babosas terrestres muertas
20/12/2021	40	27/12/2021	33	3	4
03/01/2022	35	10/01/2022	27	5	5
17/01/2022	24	24/01/2022	20	5	4
31/01/2022	19	07/02/2022	19	4	5
14/02/2022	12	21/02/2022	15	4	2
28/02/2022	8	07/03/2022	9	3	2
Promedio	23		21	4	4

Figura 7

Número de babosas terrestres enfermas y muertas



En la Figura 7, se observa que, al realizar la evaluación de babosas terrestres después de siete días de la aplicación del entomopatógeno, cuando la alfalfa se encontraba en el estado fenológico de crecimiento vegetativo lento (27 de diciembre) y crecimiento vegetativo acelerado (07 de marzo) se registró el menor número (3) de babosas terrestres enfermas, así como, el mayor número (5) de babosas terrestres enfermas fue registrado el 10 de enero (crecimiento vegetativo lento) y 24 de enero (crecimiento vegetativo acelerado). En tanto que, durante el estado fenológico de crecimiento vegetativo acelerado (21 de febrero y 07 de marzo), se registró el menor número (2) de babosas terrestres muertas, así mismo, el mayor número (5) de babosas terrestres muertas fue registrado el 10 de enero y 07 de febrero, en el estado fenológico de crecimiento vegetativo lento y crecimiento vegetativo acelerado, respectivamente. La ausencia de mortalidad de individuos probablemente estuvo relacionada con las condiciones ambientales

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).

4.6 Tratamiento 6 (T₆): *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) (24 x 10⁹ conidias)

En la Tabla 6, se observa que luego de siete días posteriores a las aplicaciones del tratamiento establecido, fueron registradas en promedio 6 babosas terrestres enfermas y 4 babosas terrestres muertas de un total de 23 babosas terrestres evaluadas.

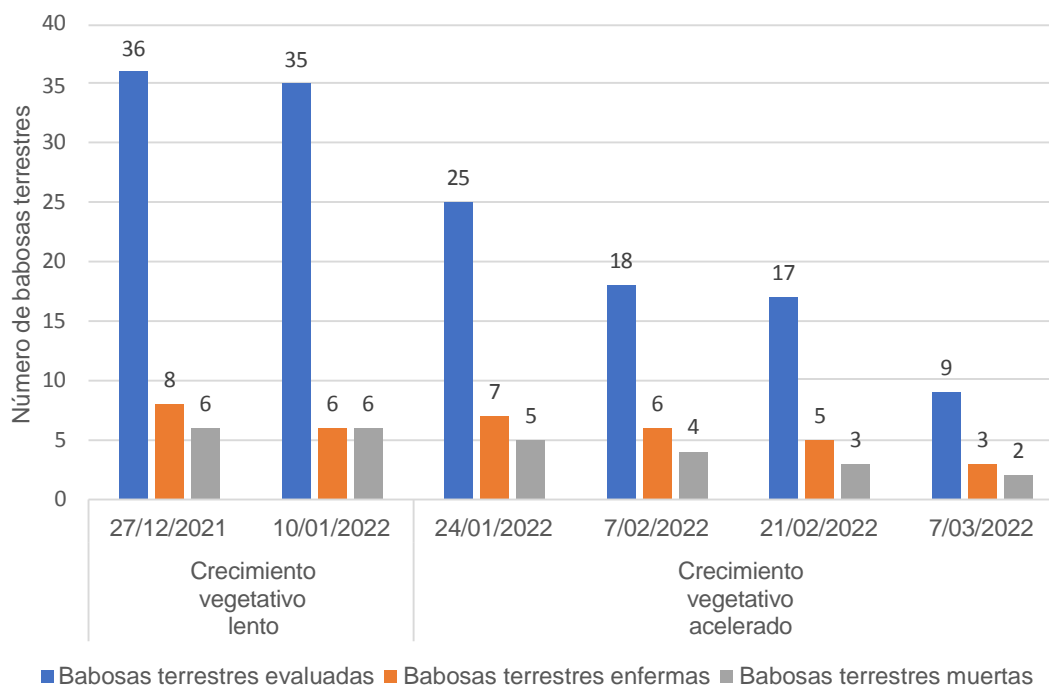
Tabla 6

Número de babosas terrestres enfermas y muertas

Fecha de aplicación	Evaluación inicial		Evaluación posterior		
	N° de babosas terrestres	Fecha	7 días		
			Número de babosas terrestres evaluadas	Número de babosas terrestres enfermas	Número de babosas terrestres muertas
20/12/2021	39	27/12/2021	36	8	6
03/01/2022	33	10/01/2022	35	6	6
17/01/2022	23	24/01/2022	25	7	5
31/01/2022	16	07/02/2022	18	6	4
14/02/2022	13	21/02/2022	17	5	3
28/02/2022	10	07/03/2022	9	3	2
Promedio	22		23	6	4

Figura 8

Número de babosas terrestres enfermas y muertas



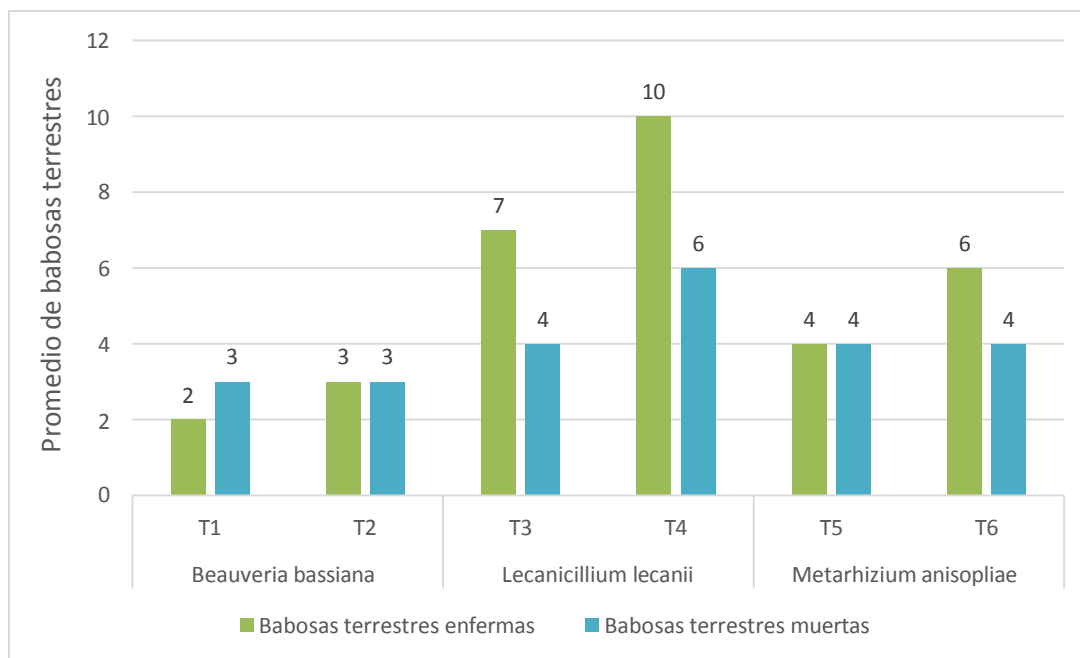
En la Figura 8, se observa que, al realizar la evaluación de babosas terrestres después de siete días de la aplicación del entomopatógeno, cuando la alfalfa se encontraba en el estado fenológico de crecimiento vegetativo acelerado (07 de marzo) se registró el menor número (3) de babosas terrestres enfermas, así como, el mayor número (8) de babosas terrestres enfermas fue registrado el 27 de diciembre (crecimiento vegetativo lento). En tanto que, durante el estado fenológico de crecimiento vegetativo acelerado (07 de marzo), se registró el menor número (2) de babosas terrestres muertas, así mismo, el mayor número (6) de babosas terrestres muertas fue registrado el 27 de diciembre y el 10 de enero, en el estado fenológico de crecimiento vegetativo lento. La ausencia de mortalidad de individuos probablemente estuvo relacionada con las condiciones ambientales.

4.7 Comparación entre tratamientos

En la Figura 9, se observa que, al realizar la evaluación de babosas terrestres después de siete días de la aplicación del entomopatógeno el Tratamiento 4 (T₄): *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) (24×10^9 conidias), ocasionó los mayores números (10 y 6) de babosas terrestres enfermas y 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.



Los resultados del análisis de varianza (Tabla 7), muestran la existencia de significación estadística para la interacción entre tratamientos homogéneos, dado que el valor de significación (p- valor) es igual a 0,0001 para esta fuente de variación, siendo menor a 0,05, presentando efectos dependientes en la mortalidad de babosas terrestres; así mismo, la fuente de variación producto tiene significación estadísticamente, cuyos efectos son dependientes del factor hongo entomopatógeno, dado que el valor de significación (p-valor) es igual a 0,0001 y menor a 0,05, es decir, los hongos entomopatógenos *B. bassiana*, *L. lecanii* y *M. anisopliae* causan efectos no significativos en la mortalidad de babosas terrestres. Por último, la fuente de variación Bloque no muestra significación estadística dado que el valor de significación (p- Valor) es igual a 0,4966 y es mayor al 0,05.

Tabla 7

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

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	F Calculado	p-valor
Modelo	4.22	8	0.53	21.97	0.0001
Producto	4.19	6	0.7	29.04	0.0001
Bloque	0.04	2	0.02	0.74	0.4966
Error	0.29	12	0.02		
Total	4.51	20			

El coeficiente de variación (CV = 5,91 %), expresa que los resultados son homogéneos para la variable evaluada (mortalidad de babosas terrestres), relacionada de manera directa con las dosis de los tratamientos, así como, con las condiciones ambientales. La prueba de Tukey al 5 % de probabilidad para el factor hongo (Tabla 8 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*.

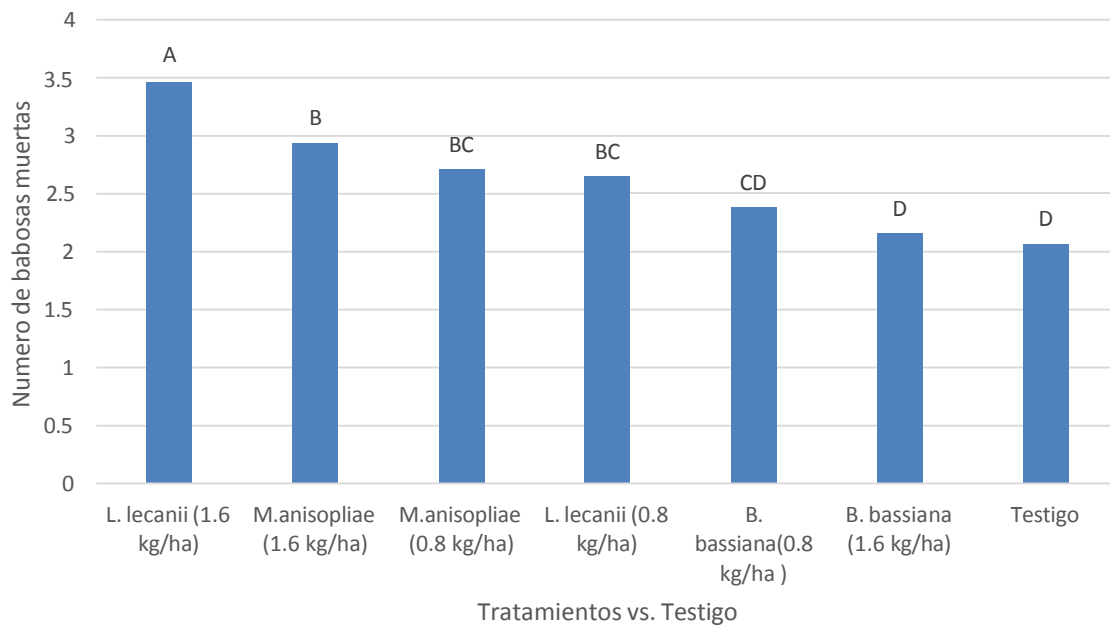
Tabla 8

Prueba de Tukey al 5 % de probabilidad para los niveles del factor hongo entomopatógeno

Tratamientos	Medidas	Significación al 5 %
T4	3.46	A
T6	2.94	B
T5	2.71	BC
T3	2.65	BC
T1	2.38	CD
T2	2.16	D
T0	2.07	D

Figura 10

Comparación del efecto entre tratamientos.



En la Figura 10, se observa que los tratamientos difieren estadísticamente uno del otro, razón por la cual la prueba de Tukey los ha clasificado en diferentes agrupaciones, destacando el entomopatógeno *L. lecanii* para el control de babosas terrestres debido al alto porcentaje de mortalidad que provoca. Por otro lado *M. anisopliae* y *L. lecanii* en dosis bajas generan semejante porcentaje de mortalidad, finalmente *B. bassiana* en dosis bajas y altas muestran un porcentaje de mortalidad similar a lo observado en condiciones naturales en los ecosistemas agrícolas.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

El hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) ($T_4 = 24 \times 10^9$ conidias /litro) fue el que ocasionó la mayor mortalidad (26,08 %) sobre babosas terrestres, luego de siete días posteriores a su aplicación, superando a los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. (12.00 %) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) (18.18 %).

Los principales síntomas causados por *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) sobre babosas terrestres en alfalfa fueron la pérdida de movilidad, el hinchamiento y la presencia de micelio de los entomopatógenos.

5.2 Recomendaciones

Realizar investigaciones utilizando diferentes entomopatógenos (hongos, bacterias, virus, nemátodos, etc.) en diversas estaciones del año.

Se recomienda que los agricultores utilicen esta táctica de control para el control de las Babosas terrestre, además contribuyen con medio ambiente.

CAPÍTULO VI

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, G. Diestre, M. Figueras, S. 2011. Control biológico: introducción de una especie alcotana para el control de plagas. Universidad Autónoma de Barcelona. 68 p.
- Andres, L. Huezco de Mira, A. 1983. Relación entre Densidad Poblacional de la Babosa *Vaginulus plebelus* y el Daño en Frijol Común, *Phaseolus vulgaris*. 4p.
- Aguilera, A. 2001. Babosas de importancia económica en Chile. Tierra adentro. Chile. 40-43 p.
- Alexopoulos, C. Mims, W. 1979. Introductory Myology. Ed. John Wiley and Sons. New York, USA. 288 p.
- Agrios, G. 1997. Fitopatología. Limusa. México. 930 p
- Alves, S. Pereira, R. 1998. Producción de hongos entomopatógenos y Microbiano de Insectos. Sao Paulo, Brasil. 1163 p.
- Avalos, T. Wilson. J. 2015. Mecanismo de Acción de *L. lecanii*. 19p.
- Ayala, J. Saenz, G. Gallardo, L. Frances. J. 2005. Ensayo sobre diferentes dosis de *Beauveria bassiana*. Cali, Colombia. 110 p.
- Cañedo, J. Ames, T. 2004. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. Tesis Ing. PUJ. Colombia. 116 p.
- Carballo, M. Guharay, F. 2004. Control Biológico de Plagas Agrícolas. Managua, República de Nicaragua. 36 p.

- Carreño, I. 2003. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. Tesis Ing. PUJ. Colombia. 116 p.
- Castillejo, P. 1998. Plagas de cultivo de soya. UNT (Universidad Nacional de Tumbes). 39p.
- Carrick, R. 1942. The grey field slugs *Agriolimax agrestis* L., and its environment. Annals of Applied Biology. USA. 43-55 p.
- Castillo, E. Cañizalez, M. Valera, R. Godoy, C. Guedez, C. Olivar, R. Morillo, S. 2012. Caracterización morfológica de *Beauveria bassiana*, aislada de diferentes insectos en Trujillo - Venezuela (en línea). Venezuela. 275-281 p.
- Cerquín, B. 2019. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii* sobre larvas de *Pseudoplusia* sp. en el cultivo de repollo (*Brassica oleracea* var. capitata L.).
- Charnley, J. 1984. Influencia relativa de muerte por el hongo infeccioso de *Beauveria bassiana* (Moniliales) en *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae). 345p
- Chichester, L. Getz, L. 1973. The terrestrial slugs in Northeastern North America. USA. 11-42 p.
- Constantino, L. Gomes, S. Benavides, P. 2010. Descripción y daños causados por las babosas.
- Córdoba, J. León, T. 2010. Control de babosas mediante tratamientos. México. 23p.
- Coto, D. Saunders, J. 1987. Biología y comportamiento de las babosas en el laboratorio y su medio ambiente. Brasil. 179 -192 p.
- Espinosa, L. Maza, J. 2012. Cultivo de Caña de azúcar donde evaluaron la eficacia de métodos alternativos para el control de babosas. México. 23p.
- FAO. 2003. Resistencia a los antiparasitarios: estado actual con énfasis en América Latina y Dirección de producción y sanidad animal de la FAO. 33-35 p.

- Fick, R. Sáenz, L.1989. El cultivo de alfalfa se caracteriza por presentar los siguientes estados fenológicos.
- Garces, J. 2015. Morfología. *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill y el efecto de la temperatura, humedad relativa y humedad del suelo sobre la patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* en larvas de *Anastrepha ludens*. Tesis Dr. Colina, México, Universidad de Colina. 131 p.
- Gómez, M. 2015. Uso de bioinsecticidas para el control de plagas de hortalizas en comunidades rurales. Vol. 6. Colombia. 22 p.
- Guerrero, J. Terrones, L. Marin. K, Saenz, D. 1999. Efecto de la temperatura, humedad relativa y humedad del suelo sobre la patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* en larvas de *Anastrepha ludens*. Tesis Dr. Colina, México, Universidad de Colina. 131 p.
- Gonzales, E. 2003. Efecto de la temperatura, humedad relativa y humedad del suelo sobre la patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* en larvas de *Anastrepha ludens*. Tesis Dr. Colina, México, Universidad de Colina. 131 p.
- Herrero, N. 2011. Micovirus asociados a los hongos endofíticos y entomopatógenos *Tolyposcladium cylindrosporium* y *Beauveria bassiana*. Tesis Dr. Ciudad de Salamanca, España. UDS. 188 p.
- Hunter, P. Symonds, B. 1971. The leap frogging slug. *Nature* (London). Londres. 349 p.
- Keit, A. Areli, H. 1983. Relación entre densidad poblacional de la babosa *Vaginulus plebeius* y el daño en frijol común, *Phaseolus vulgaris*. 3-4p
- Jaimes, O. 2021. Evaluación del Efecto Extractos de Plantas de la Familia Agavaceae (*A. americana*, *Furcraea bedinghausii* y *F. andina*) Como Alternativas para el Control de babosas plagas de los Cultivos de Fesa en Pamplona, Norte de Santander
- López, C. Castellanos, L. Ramón, J.2023. Evaluación De Tres Extractos De Plantas De La Familia Agavaceae Para El Manejo De Babosas En Papa. 2-3p.

- Pal, S. Leger, S. Wu, L. 2007. Fungal peptide destruxin A plays a specific role in suppressing the innate immune response in *Drosophila melanogaster*. *The Journal of Biological Chemistry*.
- Pucheta, M. Flores, A. Rodríguez, S. De la Torre, M. 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. 856-860 p.
- Runham, W. Hunter, P. 1970. *Terrestrial Slugs*. Hutchinson University. London. 184 p.
- Rusell, D. 1964. Physiological aspects of ecology in nonmarine mollusca. In K. W. Wilbur and C. M. Yonge (eds.) *Physiology of Mollusca*. New York. 83-126 p.
- Samson, L., Bernal, G., Vélez, E., Montoya, C. 1988. Caracterización patogénica y morfológica de aislamientos de *Metarhizium anisopliae* obtenidos de diferentes órdenes insectiles (en línea). Colombia. 28-40 p.
- Salazar, M., Granados, M., Flores, A., Rodríguez, S., De la Torre, M. 2014. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. 856-860 p.
- Serré, M. 2005. Manejo de babosas en el cultivo de girasol en siembra directa. Pioneer. Argentina. 6 p.
- South, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas*. Costa Rica. 95-103 p.
- Tanada, Y., Kaya, H. 1993. *Insect Pathology*. San Diego, California – USA. 666 p.
- Tiago, V., Fungaro, M., Furlaneto, M. 2002. Cuticle-degrading proteases from the entomopathogen *Metarhizium flavoviride* and their distribution in secreted and intracellular fractions. *Letters in Applied Microbiology*. 91-94 p.
- Vázquez, C., García, L., Salazar, E., Murillo, B., Orona, I., Zuñiga, R., Rueda, E., Preciado, P. 2010. Rendimiento y valor nutritivo de forraje de alfalfa (*Medicago sativa* L.) con diferentes dosis de estiércol bovino. México. 2010. 2-3 p.

- Velásquez, J. Alejandro, L. 2014. Distribución e incidencia de *Leidyula moreleti* y *Sarasinula plebeia* (Soleolifera: Veronicellidae), babosas plaga en la región principal productora de vainilla en México. Mexico 34p.
- Venancio, J. 2018. Identificación y densidad poblacional de las plagas en el cultivo de *Cucurbita maxima* D. Perú. 12p.
- Zare, R. Gams, W. Evans, H. 2001. A revision of *Verticillium* section Prostrata. V. The genus *Pochonia*, with notes on *Rotiferophthora*. CABI Bioscience. 51-58 p.

ANEXOS

Anexo 1. Evaluaciones realizadas en campo

Figura 11

Colecta de babosas terrestres.



Figura 12

Babosa terrestre infectada.



Anexo 2. Evaluaciones realizadas en laboratorio

Figura 13

Micelio de Lecanicillium lecanii.



Figura 14

Lecanicillium lecanii observado al microscopio.

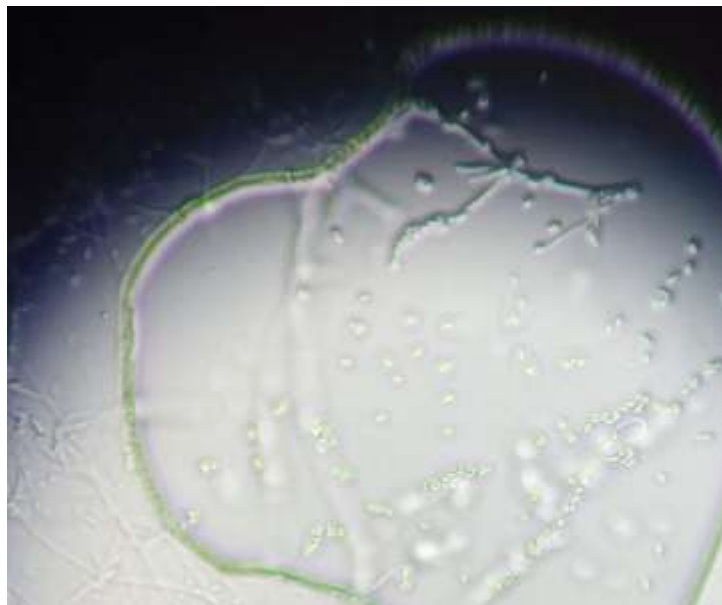


Figura 15

Micelio de Beauveria bassiana



Figura 16

Beauveria bassiana observado al microscopio.

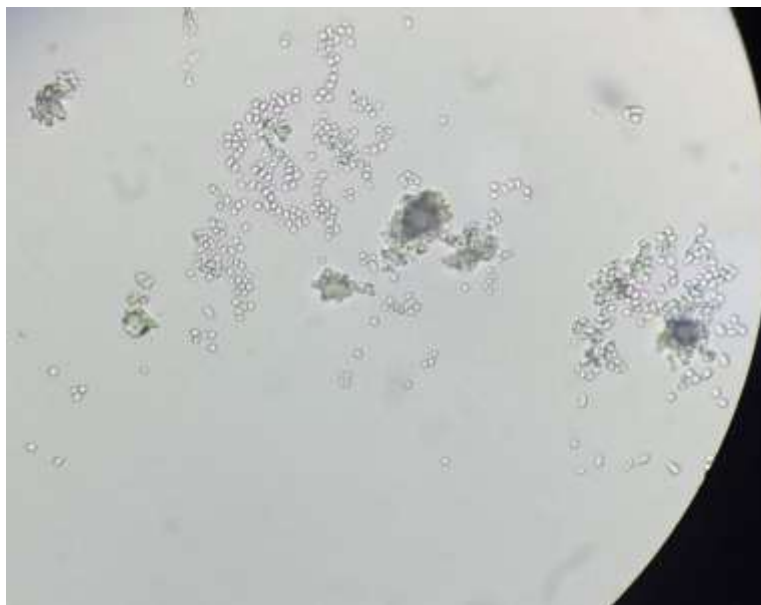


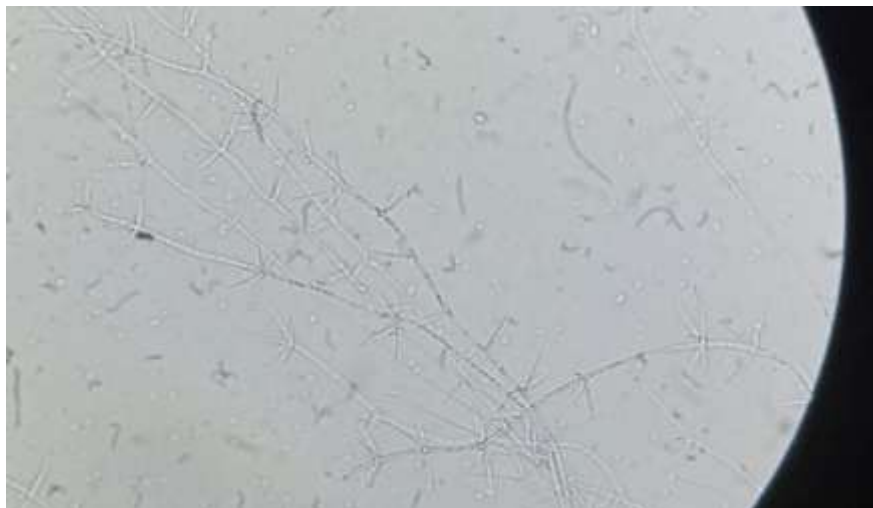
Figura 17

Micelio de Metarhizium anisopliae



Figura 18

Metarhizium anisopliae observado al microscopio.



Anexo 3. Datos meteorológicos registrados durante la investigación (diciembre de 2021 a marzo de 2022)

Fecha	Temperatura Promedio (°C)	Humedad Relativa Promedio (%)	Precipitación promedio (mm)
20/12/2021	16.3	75	4.5
27/12/2021	14.4	86	3
03/01/2021	17.4	82	0
10/01/2022	14.6	88.6	5.4
17/01/2021	13.4	79	0
24/01/2022	13.7	85.3	0
31/01/2022	13.2	87.5	1.2
07/02/2022	14.5	84	0.3
14/02/2022	17.2	87	3
21/02/2022	15.5	85	0
28/02/2022	16.7	90	1.3
07/03/2022	17.5	87	0

Anexo 4. Valores de Temperatura, humedad y precipitación promedios registrados según evaluaciones

Fecha	Evaluación	Temperatura Promedio (°C)	Humedad Relativa Promedio (%)	Precipitación promedio (mm)
27/12/2021	Primera	15.7	85	3
10/01/2022	Segunda	16	86	5.4
24/01/2022	Tercera	15.0	85	0
07/02/2022	Cuarta	15.5	84	0.3
21/02/2022	Quinta	15.5	86.3	0
07/03/2022	Sexta	17.5	85	0
Promedio		15.9	85.2	1.5

Anexo 4. Costos de Inversión: Por hectárea

N°	Materiales	Und medida	cantidad	Precio und	Precio Total
1	Entomopatógeno	Bolsa	4	s/. 28.00	s/. 112.00
2	Aceite agrícola	unidad	1	s/. 12.00	s/. 12.00
3	Regulador	unidad	1	s/. 15.00	s/. 15.00
4	Caja de Cinta de pH (20 Und)	unidad	1	S/. 80.00	s/. 80.00
5	Baldes	unidad	2	s/. 15.00	s/. 30.00
6	Mochila de Pulverización	unidad	1	s/. 200.00	s/. 200.00
7	Colador	unidad	1	s/. 2.00	s/. 2.00
Total					s/. 451.00