

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



**Evaluación del tamaño de partícula de molienda de maíz
para la optimización de la producción de conidios del
hongo *Metarhizium anisopliae***

Nereida Lily Aguilar Melgar

**Evaluación del tamaño de partícula de molienda de maíz
para la optimización de la producción de conidios del
hongo *Metarhizium anisopliae***

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

Departamento de Ciencias Agrícolas

**Evaluación del tamaño de partícula de molienda de maíz
para la optimización de la producción de conidios del
hongo *Metarhizium anisopliae***

**Trabajo de investigación presentado por Nereida Lily Aguilar
Melgar para optar al grado de Licenciado en Ingeniería en
Ciencias Agrícolas**

Guatemala 2004

PREFACIO

Este estudio sirvió para determinar de acuerdo a la interpretación de los datos de resultados y la aplicación de fórmulas, el tamaño de molienda óptimo para el mejor desarrollo del hongo *Metarhizium anisopliae*, utilizando para su estudio 5 diferentes tratamientos, cuantificando los conidios por gramo producidos, esto con el fin de disponer de un procedimiento para pronosticar los volúmenes de producción de lotes con diferente graduación granulométrica y poder seleccionar entre los mismos los que tengan mayor eficiencia productiva.

Esta investigación se dividió en tres fases, la primera consistió en la clasificación del maíz quebrado comercial, la que fue realizada en el Laboratorio de Mecánica de Suelos de la Universidad del Valle de Guatemala. La segunda fase se efectuó en el Laboratorio de Producción de Hongo *Metarhizium anisopliae* del Ingenio Santa Ana. La última fase consistió en el trabajo de gabinete en el cual se analizó la información recabada con los experimentos de laboratorio, para elaborar el presente documento.

Este trabajo de graduación lo dedico a Dios y a la Virgen María, a Mis Papás José Leonel Aguilar Girón y Gloria Evangelina Melgar Rojas, a mi abuelito Enrique Melgar Santos, a mi hermano Leonel Aguilar y al Dr. Rolando Cifuentes.

Mis más sinceros agradecimientos a mi papá, José Leonel Aguilar Girón, por su paciencia y apoyo, al Ing. Jorge Mario Reyes, por su valiosa asesoría, al Dr. Rolando Cifuentes, por su confianza y enseñanzas, al Ing. Mario Fuentes y al Lic. Marco Tulio Urizar, por su desinteresada colaboración en la revisión de la presente investigación, al Ing. Frankling Matzdorf, por su apoyo en la realización de esta Investigación, a Alvaro Antonio Gonzáles y Arceli de Contreras por su desinteresada ayuda y amistad, a Ricardo Meléndez y Guillermo Coronado por su amistad y lealtad, al Ingenio Santa Ana, por permitirme realizar este trabajo de Investigación, a César Cerón y todo el personal del Laboratorio de Producción de hongo *Metarhizium anisopliae*, por su apoyo en la elaboración del trabajo de campo.

ÍNDICE

Contenido	Página
PREFACIO	v
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE GRÁFICAS	ix
RESUMEN	x
1. INTRODUCCIÓN	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
2.1 Antecedentes	2
2.2 Justificación	2
3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	3
3.1 Objetivos	3
3.1.1 General	3
3.1.2 Específicos	3
3.1.3 Hipótesis	3
4. MARCO TEÓRICO	4
4.1 Aspectos generales del Ingenio Santa Ana	4
4.2 Uso biológico del <i>Metarhizium anisopliae</i> como estrategia para el control de la chinche salivosa (<i>Aneolamia varia</i>) en el Ingenio Santa Ana	5
4.3 Chinche Salivosa (<i>Aneolamia varia</i>)	6
4.3.1 Ciclo de vida de <i>Aneolamia varia</i>	7
4.4 Utilización de enemigos naturales	7
4.5 Clasificación taxonómica	9
4.6 Rango de hospedantes	10
4.7 Modo de infección	10
4.8 Granulometría	12
4.8.1 Tamaños de las partículas	12
4.8.2 Represtación de la distribución granulométrica	12
4.8.3 Gráfica	12
5. METODOLOGÍA	14
5.1 Variables	14
5.1.1 Variable dependiente	14
5.1.2 Variable independiente	14
5.2 Estrategia metodológica	14
5.2.1 Materiales y equipo	14
5.2.1.1 Materiales	14
5.2.1.2 Equipo	14
5.3 Técnica metodológica	15
5.3.1 Proceso de crecimiento del hongo	15
5.3.2 Determinación de conidios por gramo	16
5.3.3 Elaboración de la gráfica granulométrica	17
5.3.5 Prueba con maíz entero comercial	18
5.3.6 Aplicación de los resultados	18
5.4 Técnica estadística	19
3. RESULTADOS	20
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	26

5. CONCLUSIONES	29
6. RECOMENDACIONES	30
7. BIBLIOGRAFÍA	31
8. ANEXOS	33

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Estadística descriptiva para la variable conidios por gramo	20
2	Análisis de varianza para la variable con/gr	20
3	Prueba de medias con el comparador de Tukey al 5%	20
4	Porcentaje en peso de maíz que pasa según tamaño de tamiz	20
5	Resultados del ajuste estadístico de la relación entre las variables evaluadas	21
6	Resultado de la validación del modelo $Y = 0.1146x^2 - 0.8883x + 3.9027$	25

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Adulto de <i>Aenolamia varia</i>	7
2	Distribución granulométrica del maíz comercial	21
3	Ajuste estadístico de polinomio de tercer grado	22
4	Ajuste estadístico de polinomio de segundo grado	23
5	Ajuste estadístico utilizando una función logarítmica	23
6	Ajuste estadístico utilizando una función potencial	24
7	Ajuste estadístico utilizando una función exponencial	24
8	Ajuste estadístico utilizando una función lineal	25

RESUMEN

Entre los métodos para producir *Metarhizium anisopliae* en condiciones de laboratorio, se utiliza el de la inoculación del hongo en maíz amarillo (*Zea mays*) quebrado comercial el cual contiene diversos tamaños de partículas, por lo cual en la actualidad no se ha determinado el tamaño óptimo que debe tener este fragmento de grano para incrementar la eficiencia de producción en conidios por gramo de solución.

Este estudio sirvió para determinar de acuerdo a la interpretación de los datos de resultados y la aplicación de fórmulas, el tamaño de molienda óptimo para el mejor desarrollo del hongo *Metarhizium anisopliae*, utilizando para su estudio 5 diferentes tratamientos, cuantificando los conidios por gramo producidos, esto con el fin de disponer de un procedimiento para pronosticar los volúmenes de producción de lotes con diferente graduación granulométrica y poder seleccionar entre los mismos los que tengan mayor eficiencia productiva.

Para la elaboración de esta investigación se planteó la siguiente hipótesis, "Utilizando diferentes tamaños de partícula de maíz amarillo como sustrato no existe diferencia significativa en la producción de conidios del Hongo *Metarhizium anisopliae*.", la cual fue rechazada ya que mediante un análisis de varianza se comprobó que existía una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y por medio de una prueba de medias con el comparador Tuckey se determinó que el mejor tratamiento fue el N° 1, el cual incluía partículas menores de 2.00mm y mayores de 1.8mm. al igual por medio de los resultados se realizó una correlación y se hizo un ajuste estadístico para determinar la función que tuviera el coeficiente de determinación más alto, esta función fue la cuadrática y la ecuación utilizada fue $Y = 0.1146x^2 - 0.8883x + 3.9027$, la cual se utilizó para validar los resultados al igual que se podrá utilizar en el futuro para pronosticar la producción de con/g de una mezcla de tamaños de partículas conocidas.

1. INTRODUCCIÓN

El hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*, el cual pertenece a la familia Moniliaceae, posee todas las estructuras típicas de esta familia. Es de color verde musgo y de micelio cenocítico hialino. Este hongo es de gran importancia para el control biológico de insectos plaga, entre los que se encuentra la chinche salivosa, *Aeneolamia spp*, que afecta en gran medida el óptimo desarrollo de las plantaciones de caña de azúcar, ya que al momento de existir una incidencia muy fuerte de este insecto, se reduce en gran medida el área fotosintética, disminuyendo así el rendimiento por planta.

Existen varios métodos de producir *Metarhizium anisopliae* en condiciones de laboratorio. El Laboratorio de *Metarhizium* del Ingenio Santa Ana, utiliza un sistema comercial de inoculación del hongo en maíz previamente quebrado, humedecido y esterilizado.

Para el cultivo de este hongo se utiliza el maíz amarillo (*Zea mays*) quebrado-comercial el cual contiene diversos tamaños de partículas. En la actualidad no se ha determinado el tamaño óptimo que debe tener el substrato para incrementar la producción en conidios por gramo de muestra.

Este estudio sirvió para determinar, con base en la interpretación de resultados y posteriormente la aplicación de fórmulas, el tamaño de molienda óptimo para el mejor desarrollo del hongo *Metarhizium anisopliae*. Esta determinación se logró por medio de la clasificación de 5 diferentes medidas de grano (mayor o igual a 4.75 mm, 3.35 mm, 2.36 mm y 2.00 mm) utilizando para su clasificación tamices número 6, 8, 10 y 16 respectivamente. Se utilizó como testigo el maíz quebrado empleado comercialmente. La información generada se puede utilizar para pronosticar la producción de conidios/gramo de una mezcla de diferentes tamaños de maíz.

Este documento detalla la metodología empleada para llegar a los resultados obtenidos, al igual se incluye un Marco Teórico en el cual se describen los aspectos generales del Ingenio Santa Ana, uso del hongo *Metarhizium anisopliae*, así como su clasificación taxonómica, rango de hospedantes y modo de infección, entre otros. De la misma forma también se incluye información bibliográfica correspondiente a la elaboración de curvas granulométricas, las cuales tendrán aplicación directa en dicho estudio.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1. Antecedentes

Uno de los procedimientos utilizados en el Ingenio Santa Ana para el control de la chinche salivosa en el cultivo de caña de azúcar es mediante la aplicación del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*. Esto requiere producir el hongo en volúmenes elevados y en condiciones uniformes que únicamente se logran realizando la producción en laboratorio. Para lograr una producción más eficiente, se deben establecer las características de tamaño más apropiado del medio de producción, que en este caso es el maíz, para lo cual se consideró importante efectuar mediciones de laboratorio para determinar los niveles de producción del hongo de acuerdo al tamaño de las partículas manteniendo constantes las otras variables que puedan afectar la producción.

2.2. Justificación

En la producción del hongo *Metarhizium anisopliae* en condiciones de laboratorio se registra una elevada variabilidad de rendimiento debido a la falta de uniformidad en las características físicas de la materia prima disponible en el mercado. Por lo cual se hizo necesario definir el efecto de la variación en el tamaño de las partículas de materia prima para establecer la conveniencia de uniformizar mediante procedimientos de tamizado las partículas usadas en los procedimientos de cultivo en laboratorio o disponer de un procedimiento para pronosticar los volúmenes de producción de lotes con diferente graduación granulométrica y poder seleccionar entre los mismos los que tengan mayor eficiencia productiva.

La realización de este estudio contribuyó a evaluar el efecto del tamaño partícula de materia prima sobre la producción del hongo y con base a los resultados determinar la partícula de molienda adecuada para hacer más eficiente este proceso.

3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

3.1. Objetivos

3.1.1. General

- Incrementar la producción de conidios de *Metarhizium anisopliae* mediante el manejo del tamaño de partícula de maíz.

3.1.2. Específicos

- Determinar el tamaño de la partícula de maíz óptimo para maximizar la producción del hongo *Metarhizium anisopliae*, bajo condiciones uniformes de humedad, temperatura e iluminación.
- Establecer la relación que existe entre el tamaño de partículas de maíz quebrado y la producción del hongo *Metarhizium anisopliae* bajo condiciones de laboratorio.
- Proponer el modelo que mejor describa la relación entre tamaño de partícula y producción de conidios por gramo.
- Validar el mejor modelo obtenido con base en la producción de una muestra compuesta comparada con la predicción realizada con el modelo.

3.1.3. Hipótesis

La producción de conidios del Hongo *Metarhizium anisopliae* depende del tamaño de partícula de molienda de maíz amarillo utilizado como sustrato y mediante un modelo de regresión es posible producir la producción del hongo.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 Aspectos generales del Ingenio Santa Ana

En los años actuales, la producción de azúcar de Guatemala ha tomado más importancia, debido a que en las cosechas recientes ha alcanzado los niveles de producción récord, y ha ocupado el tercer lugar como exportador más grande de América Latina y el sexto en importancia a nivel mundial. Este hecho representa beneficios económicos significativos para el país, especialmente, por la generación de divisas y por la cantidad de empleos que esta industria provee (Agroindustria Azucarera 2002). La agroindustria de azúcar de Guatemala está constituida por 17 ingenios activos, ubicados en la costa del Océano Pacífico, al sur del país uno de estos es El Grupo Corporativo Santa Ana (Ingenio Santa Ana) en donde se realizó la Práctica de tesis. Este Ingenio está situado en el Km. 64.5 carretera a Santa Lucía Cotzumalguapa, Finca Interior Cerritos, Departamento de Escuintla (Manual de Inducción a la Corporación Santa Ana 2001).

El Grupo Corporativo Santa Ana, es una corporación con sobresaliente desempeño. En sus 25 años se ha convertido en uno de los líderes de la agroindustria azucarera; empezó como un pequeño ingenio con capacidad de molienda de 3,000 toneladas métricas de caña de azúcar por día (<http://www.santaana.com.gt/c.htm>).

Hoy el Ingenio Santa Ana constituye un complejo agroindustrial con una diversidad de productos que son reconocidos a nivel mundial por sus altos estándares de calidad.

El Ingenio Santa Ana se dedica a la producción de caña de azúcar, elaboración de azúcar y generación de energía eléctrica. También comercializa subproductos como la melaza, bagazo y cachaza y diversos servicios conexos (<http://www.santaana.com.gt/c.htm>).

También este Ingenio contribuye con el desarrollo de Guatemala, produciendo en promedio 3.8 millones de quintales de azúcar (177,331 toneladas métricas de azúcar) por año y generando 45 MW en los meses de diciembre a marzo y 25 MW en los meses de abril a noviembre. Del total de la generación de energía eléctrica se vende al Sistema Nacional Interconectado (S.N.I.) (<http://www.santaana.com.gt/c.htm>).

4.2. Uso biológico del *Metarhizium anisopliae* como estrategia para el control de chinche salivosa (*Aneolamia varia*) en el Ingenio Santa Ana

El uso de hongos entomopatógenos constituye una estrategia biológica ampliamente utilizada dentro del Manejo Integrado de Plagas (MIP) de la caña de azúcar en el Ingenio Santa Ana. A partir de la creación del Laboratorio de Producción de hongo *Metarhizium anisopliae* en 1999, este laboratorio ha logrado a través de los años abastecer en cierta medida, las grandes demandas del patógeno no solamente en las fincas a su cargo si no que a nivel comercial proporcionándole este producto a otros ingenios para el control de la chinche salivosa (*Aneolamia varia*). Este insecto se encuentra distribuido a nivel nacional, pero afecta con mayor severidad las zonas cañeras y pastizales de la Costa Sur.

El Laboratorio de Producción del hongo *Metarhizium anisopliae* cuenta con diferentes salas para realizar el proceso de producción del hongo, entre estas están:

- **Sala de autoclaves**, cuya función principal es esterilizar todos los materiales que se utilizan en el laboratorio para la producción del hongo.
- **Unidad de enfriamiento de bolsas**, su función es la de esterilizar las bolsas para ser inoculadas con *Metarhizium anisopliae* a una temperatura de 26°C.
- **Sala de control de calidad**, su función primordial es determinar la calidad (viabilidad y conidios por g o ml) del hongo *Metarhizium anisopliae* para su almacenamiento y formulación para así entregar el producto formulado en campo.
- **Sala de elaboración de materia prima**, en ésta se elaboran las placas y matrices líquidas del *Metarhizium anisopliae*, al igual que se encuentran las placas en crecimiento del hongo bajo condiciones óptimas (fotofase de 14 hr luz y hr oscuridad a 26°C) para su desarrollo.
- **Sala de inoculación**, es ahí donde se inocula el sustrato con el hongo *Metarhizium anisopliae* para su posterior crecimiento.
- **Sala de fermentadores**, es ahí donde se desarrollan y multiplican las estructuras infectivas del hongo (blastosporos) en un medio rico en

proteínas y carbohidratos, para posteriormente ser inoculadas en el sustrato.

- **Salas de desarrollo**, este laboratorio cuenta con seis salas de desarrollo, su función principal es el crecimiento del hongo inoculado en el sustrato durante 13 a 15 días hongo bajo condiciones óptimas (fotofase de 14 hr luz y hr oscuridad a 26°C) para su óptimo desarrollo.
- **Sala de secado**, éstas son tres. en esta salas se enbandedan el contenido del lote y se deja deshumificar por 4-5 días hasta obtener una humedad relativa de 12%.
- **Cuarto frío**, estos permanecen a una temperatura promedio de 4°C, este laboratorio cuenta con dos en los cuales se almacenan los lotes previamente empacados en bolsas de plástico e identificados, los cuales permanecen ahí hasta el momento de la formulación.

El proceso que se sigue para la producción del hongo se puede observar en un diagrama de flujos adjunto en la sección de anexos.

4.3. Chinche Salivosa (*Aenolamia varia*)

La chinche salivosa que pertenece al orden Hemiptera y a la familia Cicadellidae son insectos chupadores los cuales remueven la savia de la planta de los tejidos del xilema y floema. Las plantas dañadas con baja incidencia presentan puntos necroticos a lo largo de toda la hoja y parte del tallo y las plantas dañadas severamente se secan y adquieren una apariencia cafésosa de plantas que han sido dañadas por fuego (<http://www.agricolaelsol.com/met92.htm>).

El adulto de *Aenolamia varia* ataca todas las partes aéreas de la planta refugiándose en la parte de los cogollos. En tanto que la fase juvenil y ninfal atacan las partes basales (tallos o cañas) (<http://www.agricolaelsol.com/met92.htm>).



Figura 1. Adulto de *Aenolamia varia*

4.3.1 Ciclo de vida de *Aenolamia varia*. Tienen metamorfosis incompleta huevo, ninfas y adulto. En la temporada de lluvias los huevos remanentes de la estación anterior en estado de diapausa eclosionan para dar lugar a cinco estadíos ninfales que se encuentran en la superficie del suelo a los primeros centímetros del tallo de las plantas afectadas; al cabo de aproximadamente un mes terminan con la emergencia de los adultos voladores que copulan y la hembra grávida inicia dispersa la plaga al colonizar nuevas áreas depositando huevos en el suelo enterrados en los primeros milímetros de profundidad, estos huevos eclosionan en menor tiempo alrededor de una semana dependiendo de la temperatura y humedad del suelo (<http://www.agricolaelsol.com/met92.htm>).

4.4. Utilización de enemigos naturales

La necesidad de disminuir el gasto de dinero invertido por concepto de compras de plaguicidas y la enconada lucha por la preservación del medio ambiente ha llevado al Ingenio Santa Ana a acometer el control de plagas con un enfoque ecologista al igual que a la utilización de los enemigos naturales para la disminución de las poblaciones de los insectos dañinos.

El término enemigos naturales se utiliza generalmente para señalar insectos depredadores y parasitoides y muy poco para organismos patógenos. Sin embargo, estos agentes reguladores merecen ocupar también un lugar importante ya sea como un tercer grupo o bien a un lado de los dos primeros. En la actualidad el nivel de conocimiento en los procesos de infección de los entomopatógenos y del papel que juega el medio ambiente físico y biológico, permiten que se puedan enumerar muchos ejemplos exitosos de uso como

bioinsecticidas dentro de programas integrados de control de plagas, al grado de que algunos se comercializan (Lezama 1992).

De acuerdo a Lezama (1992), las propiedades de los hongos entomopatógenos que los hacen interesantes como una alternativa más de uso en el control de plagas son:

- Su alto poder patogénico.
- La conservación de la virulencia en la preparación, antes de su aplicación y después de un período de almacenaje.
- La especificidad que presentan (definida como la adaptación recíproca entre el entomopatógeno y su hospedante, en relación con las condiciones del medio en el cual se encuentran).
- Sus posibilidades de multiplicación y conservación en condiciones económicamente rentables.
- Su gran poder de persistencia.
- Su inocuidad para insectos parasitoides, depredadores, peces y vertebrados.

Los hongos mitospóricos previamente clasificados como deuteromicetes están siendo intensamente investigados por su alto potencial como agentes de control biológico de malezas, patógenos de plantas y plagas insectiles (Alves 1986). *M. anisopliae* tiene su posición taxonómica en este grupo; a este hongo se le conoce como el causante de la muscardina verde (DeBach 1969) y se ha reportado como patógeno de más de 300 especies de insectos de diferentes órdenes (Veen 1968). En él, sus conidios son las unidades básicas de reproducción asexual y a la vez constituyen los propágulos infecciosos (Alves 1986). Los trabajos de Metchnikoff en 1879 confirman la idea de que los hongos entomopatógenos podían ser utilizados en el control de plagas, este investigador estudió las epizootias que sobre el escarabajo *A. austriaca* se producían, cuyo agente etiológico resultó ser *M. anisopliae*, y sugirió su uso como un agente microbial contra plagas insectiles (Steinhaus 1949), sin embargo el primer intento de uso de *M. anisopliae* como agente de control biológico lo realizó Krassilstchik en 1888 (Alves 1986).

4.5. Clasificación taxonómica, morfología y sintomatología del hongo *Metarhizium anisopliae*

Clasificación taxonómica según Agrios (2002).

Reino.....	Mycetae
División.....	Eumycota
Sub división.....	Deuteromycotina
Clase de forma.....	Hyphomycetes
Orden de forma.....	Hyphales (Moniliales)
Familia de forma.....	Moniliaceae
Género.....	<i>Metarhizium</i>
Especie.....	<i>Metarhizium anisopliae</i>

Las colonias de *M. anisopliae* se presentan blancas cuando son jóvenes, pero al madurar el color se torna verde oscuro. El micelio de este hongo es septado donde aparecen conidióforos característicos agrupados sobre un extremo globoso, las fiálides se observan empalizadas de forma cilíndrica, aplastada en la base, sus conidios se disponen en cadenas compactas paralelas que se forman en cada conidióforo, y la adherencia de éstos al hospedante varía con la raza del hongo, son cilíndricos, unicelulares y de dimensiones variables, generándose por empuje, siendo el más joven el de la base. Presentan pigmentaciones que permiten hacer diferenciaciones del género.

Tulloch (1976), estudió el género y concluyó que sólo estas dos especies fueron aceptadas. Las razas de *M. anisopliae* han sido caracterizadas por su producción de esterazas.

Guaglumi *et. al.*, (1974), reportaron este hongo sobre insectos de los órdenes homoptera, lepidoptera y coleoptera. ellos señalaron que los insectos atacados por este hongo muscardino quedan letárgicos y adheridos a las hojas o al tallo de las plantas, no se alimentan, reducen su radio de vuelo y las hembras dejan de ovipositar, el cuerpo permanece con su forma normal, pero lleno su interior de un micelio muy apretado; las estructuras reproductoras del hongo emergen generalmente a través del tegumento y le dan el aspecto que nos facilitan su clasificación, el cuerpo se cubre de una capa pulverulenta, inicialmente blanca y luego verde aceituna que no es otra cosa que los micelios y conidios del hongo, que emergen del cuerpo del insecto infectado, lo que es más común en insectos adultos. en el caso de las muscardinas, al salir el micelio al exterior el color puede ser un elemento a considerar para diagnosticar el género. Si es blanco puede tratarse del género *Beauveria*, si es

verde del género *Metarhizium*, amarillo pudiera ser *Aspergillus flavus* o *Paecilomyces farinosus* (Alves 1986).

4.6. Rango de hospedantes

Según Alves (1986), *M. anisopliae* se encuentra ampliamente distribuida por todo el planeta y se señalan unas 300 especies de insectos dañinos atacados por este entomopatógeno, los cuales se ubican en diferentes órdenes taxonómicos. Ha sido mayormente aislado de insectos de áreas mediterráneas y tropicales sobre Coleopteros, Lepidopteros y Homopteros entre ellos *Aeneolamia selecta* y *Aeneolamia varia*.

4.7. Modo de infección del hongo *Metarhizium anisopliae*

Según Alves (1986), la infección puede producirse por vía oral, a través de los espiráculos y de forma particular a través de la superficie del tegumento; esto nos lleva a pensar que existe la posibilidad teórica de infectar insectos independientemente de su actividad alimentaria. En el modo de acción de *M. anisopliae* se denotan dos fases: una patogénica y otra saprofitica.

La fase de patogénesis ocurre cuando los conidios entran en contacto con el tejido vivo del hospedante. El hongo penetra a través de la cutícula por acción mecánica y efectos enzimáticos. Enzimas como las quitinasas, la proteasas y la lipasas, actúan de manera sinérgica para digerir y penetrar la epicutícula. La invasión del hemocele y tejidos se produce a través de cuerpos hifales entre las 24 y 48 horas siguientes.

Estudios de patogenicidad de los hongos han revelado que la composición de los hidrocarburos en la epicutícula, afectan la germinación de los conidios, la adherencia y penetración del hongo. También se ha observado que en la superficie de insectos plagas, existen nutrientes que pueden ser utilizados por el hongo para su germinación y desarrollo.

De forma general el desarrollo de una micosis en insectos puede ser dividida en diez etapas.

- Adhesión al tegumento
- Germinación de conidios sobre éste
- Penetración a través de la cutícula
- Multiplicación en la hemolinfa

- Producción de toxinas
- Muerte del insecto
- Colonización miceliana total en el hemocele
- Salida del micelio a través del tegumento hacia el exterior
- Esporulación sobre la superficie del hospedante
- Diseminación de los propágulos.

Las tres primeras etapas son decisivas para que ocurra la micosis, porque influyen sobre la especificidad parasitaria del hospedante-patógeno

Adhesión: Es un fenómeno que permite la fijación de las unidades infectivas sobre las superficies celulares que son de naturaleza compleja (Lípidos, proteínas, glucoproteínas, etc). Sobre ellas se producen diferentes interacciones que involucran reacciones hidrofóbicas, hidrofílicas, uniones hidrógeno, electrostáticas, etc. (Tadros 1980). Por tal razón el proceso de adhesión es complejo ya que intervienen propiedades físicas, químicas y electrostáticas del patógeno y del hospedante como así también de su interacción.

Germinación: La germinación del propágulo exige una asimilación de fuentes de carbono presentes en el tegumento, para lo cual el microorganismo dispone de mecanismos enzimáticos apropiados, aunque existe competencia con la flora de esta zona así como extrema dependencia de los niveles hídricos y térmicos del microclima en que se desarrolla el hongo.

Penetración: En el proceso infeccioso de los hongos entomopatógenos se le atribuye una gran importancia a su actividad enzimática, sobre todo en la fase de penetración, siendo relevante la acción de proteasas, quitinasas y lipasas (Hajek y Leger 1994). Se produce en los lugares del tegumento menos esclerosados mediante un órgano de fijación o apresorio que se desarrolla por procesos bioquímicos del propágulo sobre la cutícula, con la liberación de lipasas, proteasas y quitinasas extracelular, una reacción de melanización acompaña la penetración del tubo germinativo dentro del hemocele, donde brotan las blastosporas, que son propágulos de multiplicación en forma de levaduras, el hongo es encapsulado por los plasmocitos, pero la rápida multiplicación y la secreción de toxinas polipeptídicas de gran peso molecular (proteasas) o de pequeña talla (Ciclopeptidos), alteran la eficacia del proceso de defensa del insecto, sobreviene la muerte del hospedante antes que el germen colonice toda la superficie de su cuerpo, la esporulación se produce cuando las condiciones físicas del medio ambiente son favorables.

La infección puede ocurrir también por vía oral. Las esporas germinan en el estómago en las primeras 72 horas. Luego las hifas pueden penetrar las paredes del integumento, permitiendo que los jugos gástricos penetren el hemocele. Esto a su vez causa un cambio en el pH de la hemolinfa. La muerte del insecto es ocasionada por la acción de toxinas, producidas durante el crecimiento micelial (Alves 1986).

Según Alves (1986), *M. anisopliae* ha mostrado tener efectos subletales sobre insectos que de alguna forma contribuyen al control de insectos dañinos, algunos de estos son:

- Susceptibilidad a agentes climáticos como el viento, sol y lluvia.
- Predisposición a elementos naturales como virus, bacterias y otros hongos.
- Movilidad reducida y exposición en la superficie foliar, los hacen más vulnerables a la acción de depredadores y parasitoides.
- Incapacidad de larvas y ninfas para completar su ciclo de metamorfosis.
- Disminución de la fertilidad de adultos que emergen de larvas tratada.

4.8. GRANULOMETRÍA

4.8.1. Tamaños de las partículas. La distribución de las partículas por tamaño en una muestra, se establece mediante un gráfico que relaciona, el porcentaje de partículas de tamaño inferior, en peso, con cada diámetro mm.

Existen muchas razones, tanto prácticas como teóricas, por las cuales la curva granulométrica de una mezcla de partículas es sólo aproximada. El tamaño de las partículas es diferente para las fracciones gruesas que para las finas (Juárez y Rodríguez 1989).

4.8.2. Representación de la distribución granulométrica. Siempre que se cuente con suficiente número de puntos, la representación grafica de la distribución granulométrica debe estimarse preferible a la numérica en tablas (Juárez y Rodríguez 1989).

4.8.3. Gráfica. La gráfica granulométrica suele dibujarse con porcentajes como ordenadas y tamaños de las partículas como abscisas. Las ordenadas se refieren a porcentaje, en peso, de las partículas menores que el tamaño correspondiente. La representación en escala semilogartímica (eje de abscisas

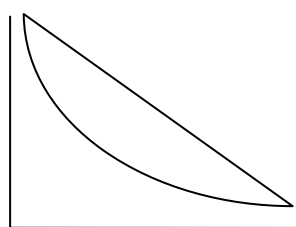
en escala logarítmica) resulta preferible a la simple representación natural, pues en la primera se dispone de mayor amplitud en los tamaños finos y muy finos, que en escala natural resultan muy comprimidos, usando un módulo práctico de escala (Juárez y Rodríguez 1989).

Todo material particulado, en estado natural o producto de trituración aparece en diferentes diámetros de partículas (<http://www.mineria.unam.mx/cgratis/Tema1.html>).

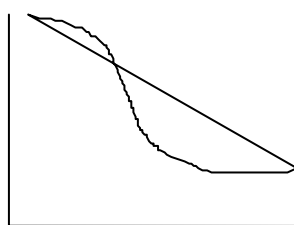
La forma de la curva da inmediata idea de la distribución granulométrica; una mezcla constituida por partículas de un solo tamaño estará representada por una línea vertical (pues el 100 por ciento de sus partículas, en peso, es de menor tamaño que cualquiera mayor que el que la mezcla de partículas posea y 60 por ciento de partículas tienen tamaño menor); una curva muy tendida indica gran variedad en tamaños (Lambe y Whitman 1974).

El siguiente esquema muestra los diferentes tipos de curvas granulométricas que se encontrarán en la práctica.

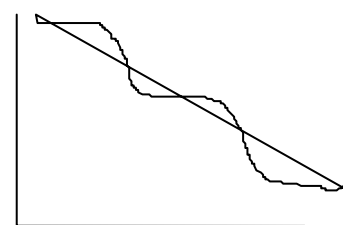
Esquema 1. Diferentes tipos de curvas granulométricas



CONTINUA



DISCONTINUA E
UNIFORME



DE VARIAS
CONTINUIDADES EN
ESCALERA

(<http://icc.ucv.cl/geotecnia/laboratorio/granulometria/granulometria.htm>)

También se han presentado las curvas granulométricas en escala doblemente logarítmica, con la ventaja, para algunos usos, que en este caso la forma de las curvas se acerca notablemente a una línea recta en muchos casos (Lambe y Whitman 1974).

5. METODOLOGÍA

5.1. Variables

5.1.1. Variable dependiente. La producción de conidio por gramo que se obtuvo con diferentes tamaños de partículas de molienda de maíz.

5.1.2. Variable independiente. El tamaño de partícula de la molienda de maíz estableció la producción del hongo.

5.2. Estrategia metodológica

5.2.1. Materiales y equipo

5.2.1.1. Materiales

- 50 lbs de maíz quebrado
- 4 tamices N° 6, 8, 10 y 16
- 1 zaranda
- 50 gal de agua pura
- 5 cubetas plásticas
- 5 ml de cloro
- 60 bolsas con censor para autoclavar
- 300 grapas
- 1 engrapadora
- 1 rollo de masking tape
- 1 pipeta desechable
- 1 marcador permanente
- 1 matriz líquida con hongo
- 15 bandejas
- 5 gotas de agente dispersante Twen

5.2.1.2. Equipo

- 1 Rotap con su Kit de tamices (#6, #8, #10 y #16)
- 1 balanza en gramos
- 1 autoclave
- 2 ventiladores

- 1 cronómetro
- 1 agitador
- 1 cámara de Newbauer
- 1 microscopio
- 1 computadora

5.3. Técnica Metodológica

5.3.1. Proceso de crecimiento del hongo. El maíz amarillo quebrado comercial se clasificó por medio de 4 tamices de diferentes tamaños de abertura, los tamaños de las partículas que se utilizaron para hacer el estudio fueron:

- Tratamiento 1: partículas de 1.18mm, retenidas en el tamiz N°16 mesh.
- Tratamiento 2: partículas de 2.00mm, retenidas en el tamiz N°10 mesh.
- Tratamiento 3: partículas de 2.36mm, retenidas en el tamiz N°8 mesh.
- Tratamiento 4: partículas de 3.35mm, retenidas en el tamiz N°6 mesh.
- Tratamiento 5: mezcla de partículas de maíz comercial utilizadas en la producción del hongo a nivel de laboratorio.

Posteriormente de separados los tamaños de las partículas se procedió a realizar con estas el mismo procedimiento que se sigue en el laboratorio, el cual se describe a continuación:

Se colocaron 9.25 lb de cada tratamiento del maíz ya tamizado del tamaño requerido en 2.30lt de agua. Esta mezcla se dejó en imbibición durante 4.5 horas, posteriormente se secó en una zaranda durante 15 min. Se colocó 350 g de peso húmedo en las bolsas para autoclavar con censor térmico y se cerró con 5 grapas. Se procedió a autoclavar las bolsas durante 35 min a 120°C. Se dejaron enfriar las bolsas utilizando por ello dos ventiladores. Posteriormente se inocularon con 12cc de matriz líquida que contienen el hongo (previamente descartada la posibilidad de que esta esté

contaminada), es muy importante que la temperatura del maíz al momento de la inoculación sea menor de 30°C. Después de la inoculación se movieron las bolsas para regar el inóculo en toda la muestra. Posteriormente se condujeron las bolsas a la sala de desarrollo, en esta sala a los 4 y 8 días se hizo un rompimiento del micelio agitando levemente, en este tiempo se observó que no hubiera crecimiento de bacteria u otro tipo de hongo que no sea *Metarhizium anisopliae*. Las bolsas se cosecharon después de 12 días.

Después se condujeron las bolsas que tenían el maíz con el hongo desarrollado sobre él a la sala de secado en la cual se pusieron a secar en bandejas las cuales tenían el contenido de 4 bolsas, aquí permanecieron durante 4 días hasta obtener una humedad relativa de 12%.

5.3.2. Determinación del número de conidios por gramo. Para poder determinar el tamaño óptimo de la partícula se procedió a realizar una comparación entre el rendimiento en conidios por gramo que se obtuvo de los 4 tamaños de partícula seleccionadas y el testigo, siguiendo la metodología descrita a continuación.

Se tomaron 5 muestras con una espátula acanalada de cada una de las bandejas de secado que compuso cada tratamiento, se colocaron estas muestras en una bolsa plástica esta se homogeneizaron bien de la cual se sacaron 8 submuestras (repeticiones) de 10 g cada una. Estos 10g se suspendieron en 100ml de agua destilada que contuvieron el agente dispersante (5 gotas/lit), esta muestra se puso en el agitador durante una hora.

Se hicieron 3 diluciones sucesivas 1:9, 1:9 y 1:1 relación muestra de hongo: agua. De la última dilución utilizada, se extrajo 1ml con una pipeta y se vertió en la cámara de Neubauer una gota, la cual se dejó reposar durante 30 segundos y se observó bajo el microscopio a 40X. Se efectuó el recuento contando los conidios presentes en cada campo, este procedimiento se realizó ocho veces por cada repetición para posteriormente calcular la media, desviación estándar con el fin de obtener el coeficiente de variación que fue menor a 10 %. Este proceso se repitió 8 veces por cada tratamiento.

Con los resultados obtenidos se procedió a realizar la comparación entre los 5 tratamientos y por medio de análisis de regresión se pudo identificar el tratamiento que presenta la mayor producción de conidios/gramo.

5.3.3. Elaboración de la gráfica granulométrica. Para determinar el efecto de la distribución granulométrica en la producción de conidios se trabajaron muestras de tamaño uniforme con los materiales retenidos en cada tamiz de tal manera de que se pudo establecer una función de producción total de conidios de acuerdo con la distribución del tamaño de las partículas.

El análisis granulométrico se empleó para determinar la distribución del tamaño de las partículas de la mezcla. Para el efecto se seleccionó una serie de tamices y se determinaron los pesos netos retenidos en cada tamiz, los que se obtuvieron restándole al peso total de un tamiz y las partículas retenidas en el, el peso propio del tamiz o tara del mismo. Al establecer los pesos retenidos por cada tamiz se determinaron los porcentajes retenidos en cada tamiz y los porcentajes acumulados correspondientes. Los porcentajes en peso acumulados que pasan en cada tamiz se determinaron restando del cien por ciento los porcentajes retenidos acumulados, para este fin se diseñó una hoja de cálculo en el programa Excel ®.

Los resultados de este proceso se representaron gráficamente tabulando en el eje de las abscisas los valores del tamaño de cada tamiz elevado a la potencia 0.45 y en el eje de las ordenadas los porcentajes acumulados de los pesos que pasan en cada tamaño de tamiz.

Se hace notar que las curvas de distribución granulométrica se representaron en función de los porcentajes acumulados que pasan por cada tamaño de tamiz, mientras que el análisis de producción se efectuó en función de los porcentajes retenidos en cada tamiz.

5.3.4. Validación de Resultados. Se separaron las partículas de maíz por tamaños utilizando el mismo procedimiento empleado anteriormente, estas porciones de maíz se clasificaron en un tratamiento descrito a continuación:

N° de tamiz (Mesh)	Tratamiento	
	Lb a utilizar	
6	0.40	
8	2.5	
10	0.92	
16	1.65	

A este tratamiento se le agregaron 2.18 litros de agua y se dejó en imbibición durante 4.2 horas, a continuación de esto se siguió todo el proceso de crecimiento del hongo indicado anteriormente.

Con los datos de los pesos utilizados para hacer la mezcla se realizó una predicción utilizando la función del ajuste estadístico de polinomio de segundo grado (parábola) la cual fue la siguiente:

$$Y= 0.1146x^2 - 0.8883x + 3.9027$$

Para validar los resultados la producción de conidios por gramo en muestras con tamaño variable, se comparó con el resultado del cálculo de la sumatoria de los productos de los valores de la producción promedio de cada tamaño por el porcentaje retenido en cada tamiz.

El procedimiento indicado anteriormente también es aplicable para establecer una función que se pueda utilizar en el futuro para pronosticar la producción de un lote con tamaño variable.

De conformidad con lo indicado anteriormente, para determinar la producción de un lote determinado, se obtuvo una muestra representativa del mismo, procediendo a la determinación del peso total de dicha muestra, de la cual se sacaron cuatro submuestras. El porcentaje del peso total que se encuentre de cada submuestra se multiplicó por el peso total de la muestra madre, este resultado se dividió entre el peso estándar de cada submuestra y se multiplicó por la producción en conidios por gramo que se obtuvo de esa submuestra. Este procedimiento se siguió con las cuatro submuestras, las cuales se sumaron para así poder dar la producción total por lote o saco.

5.3.5. Prueba con maíz amarillo entero comercial. Se utilizaron 5.5 libras de maíz entero comercial equivalentes a 10 repeticiones, a las cuales se les siguió el mismo proceso de crecimiento del hongo indicado anteriormente.

5.3.6. Aplicación de los Resultados. La producción usando material de cultivo de un solo tamaño se pudo pronosticar aplicándole el promedio de producción obtenido para ese tamaño, mientras que cuando el material de cultivo tiene partículas de diferente tamaño, para pronosticar la producción de conidios se aplicaron promedios de producción de cada tamaño a cada una de las fracciones retenidas.

5.4. Técnica estadística. Los resultados de las muestras de conidios por gramo se evaluaron calculando la media, desviación estándar y el coeficiente de variación. Al igual que se aplicó una regresión para así determinar la función para pronosticar los niveles de producción de muestras con diferentes composición granulométrica en el futuro, estableciendo al mismo tiempo su correspondiente coeficiente de determinación.

Los datos finales se analizaron mediante un diseño completamente aleatorio (ANOVA) utilizando el paquete estadístico Mstat®.

Se realizó una prueba de medias para obtener de forma estadística cual fue el tratamiento que obtuvo el mayor rendimiento, la prueba de diferencias honestamente significativa (DHS) de Tukey. Se escogió esta prueba para comparar todas las parejas posibles de medias, al mantener el error tipo I para el conjunto completo de comparaciones en $P\alpha = 0.05$.

3. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en cada unidad experimental se presentan en el cuadro anexo A1. El promedio de conidios por gramo entre los tratamientos fue de 2.46E+9. El análisis de varianza de la variable conidios por gramo se presenta en el Cuadro 2.

Cuadro 1. Estadística descriptiva para la variable conidios por gramo

Variable	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Con/g	1.20E+9	3.33E+9	2.46E+9	4.54E+8

Cuadro 2. Análisis de varianza para la variable con/gr

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Valor F
Tratamiento	4	4.56E+18	11.46 **
Error	35	3.49E+18	
Total	39	8.15E+18	

**= Altamente significativo ($p < 0.01$)

CV = 12.8%

La discriminación entre los tratamientos obtenidos por medio de la prueba de Tukey se presentan en el cuadro 3.

Cuadro 3. Prueba de Medias con el comparador de Tukey al 5% de probabilidad

Tamaño de partícula (mm)	Media (Con/g)
1.18	3.01E+9 A
2.00	2.64E+9 B
2.36	2.39E+9 C
3.35	2.22E+9 D
Control	2.04E+9 E

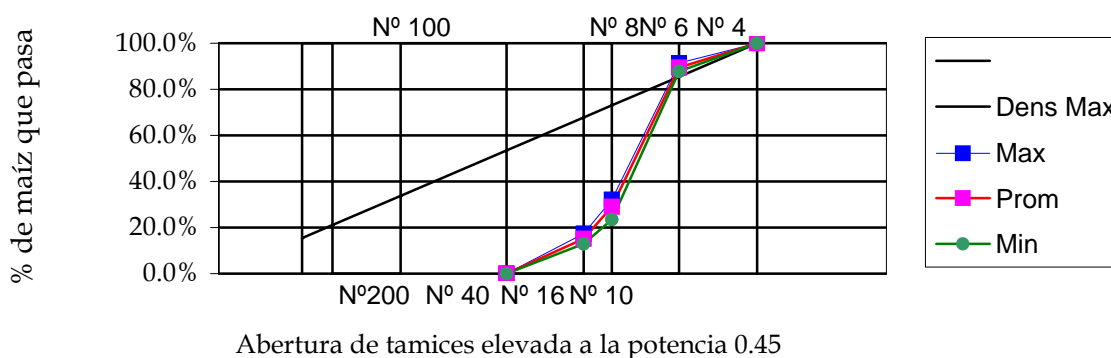
T crítica = 4.10

El cuadro 4 muestra el porcentaje en peso de maíz quebrado que pasa a través de cada abertura de tamiz. Estos valores también se presenta en la Figura 2, en la cual el eje de las abscisas corresponde a la abertura de los tamices en mm elevada a la potencia 0.45. También se presenta la línea teórica de densidad máxima.

Cuadro 4. Porcentaje en peso de maíz que pasa según tamaño de tamiz

Tamiz	MAX	MIN	Prom	Desv Est	CV%
6	91.35	87.83	89.74	1.14	1.27
8	33.59	14.25	27.77	4.86	17.49
10	17.34	9.68	14.77	1.80	12.18
16	0.00	0.00	0.00	0.00	

Figura 2. Distribución granulométrica del maíz comercial



La relación entre la abertura de tamiz y el número de conidios $\times 10^9$ para los diferentes modelos evaluados se presentan en las Figuras 3 a la 8 y el resumen de los parámetros de cada función regresión se presentan en el cuadro 5.

Cuadro 5. Resultados del ajuste estadístico de la relación entre las variables evaluadas

Tipo de ajuste estadístico utilizado	Función	Coefficiente de determinación (r^2)
Polinomio de tercer grado (cúbico)	$y = 0,265x^3 - 1,6683x^2 + 2,8049x + 1,5814$	1.00
Polinomio de 2do grado (parábola)	$y = 0,1146x^2 - 0,8883x + 3,9027$	0.9835
Función logarítmica	$y = -0,7734\text{Ln}(x) + 3,1296$	0.9772
Función potencial	$y = 3.1661x-0.2973$	0.9765
Función exponencial	$y = 3.4885e-0.1415x$	0.9484
Función lineal	$y = -0,3653x + 3,3757$	0.9345

Figura 3. Ajuste estadístico de polinomio de tercer grado

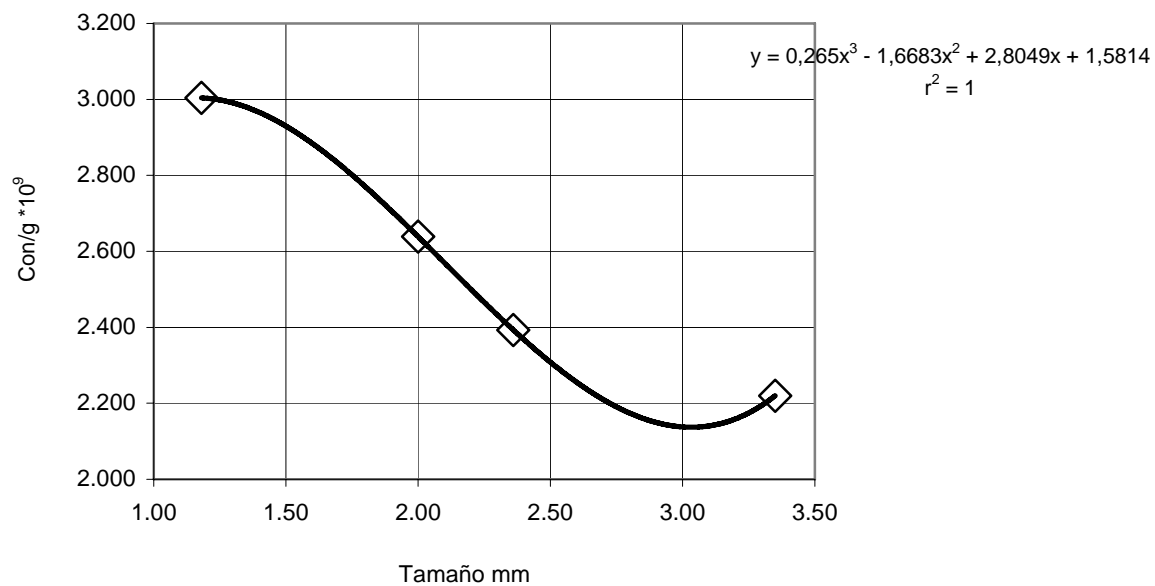


Figura 4. Ajuste estadístico de polinomio de segundo grado

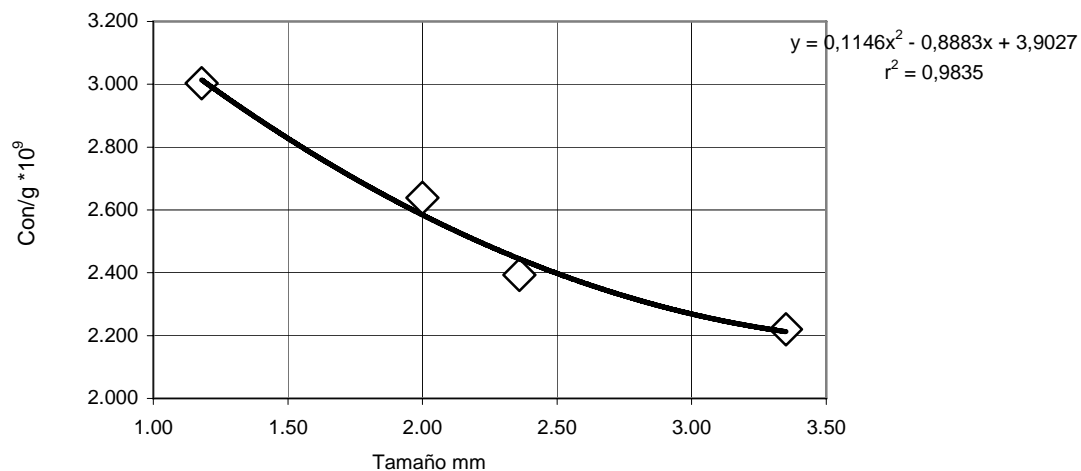


Figura 5. Ajuste estadístico utilizando una función logarítmica

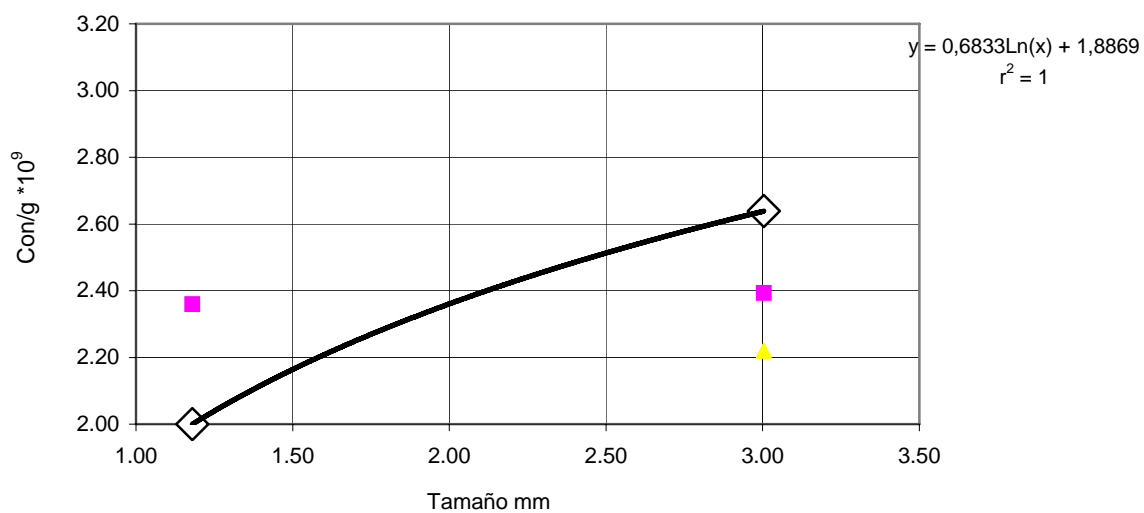


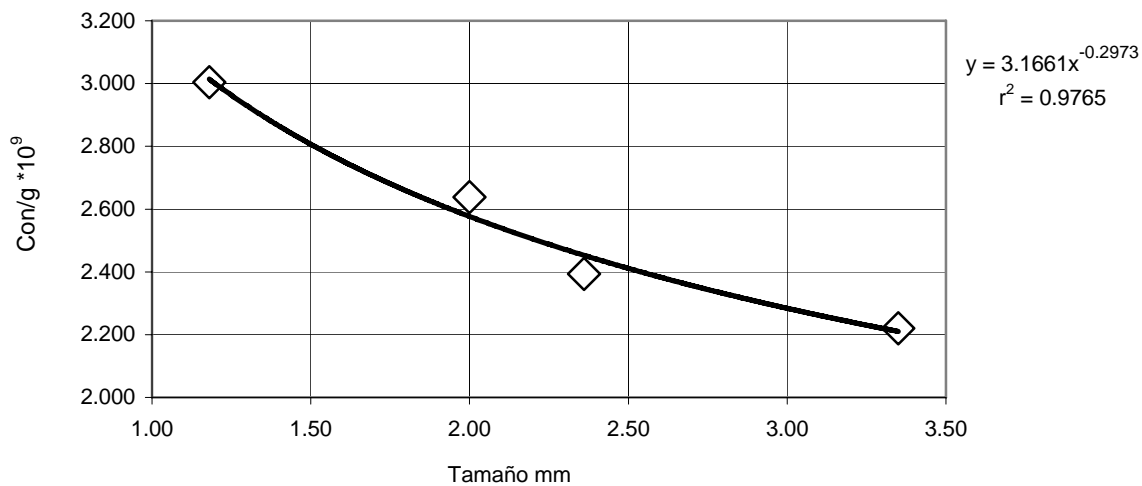
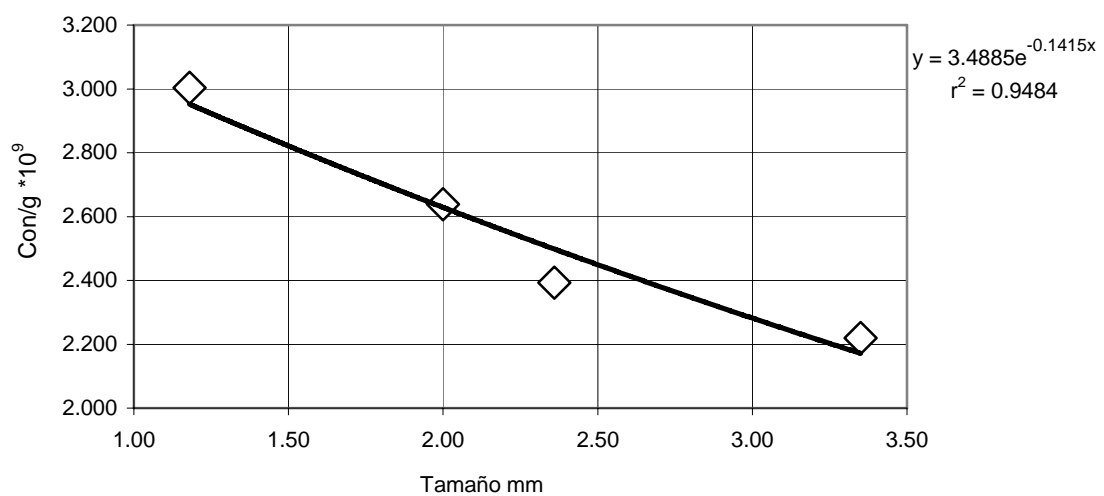
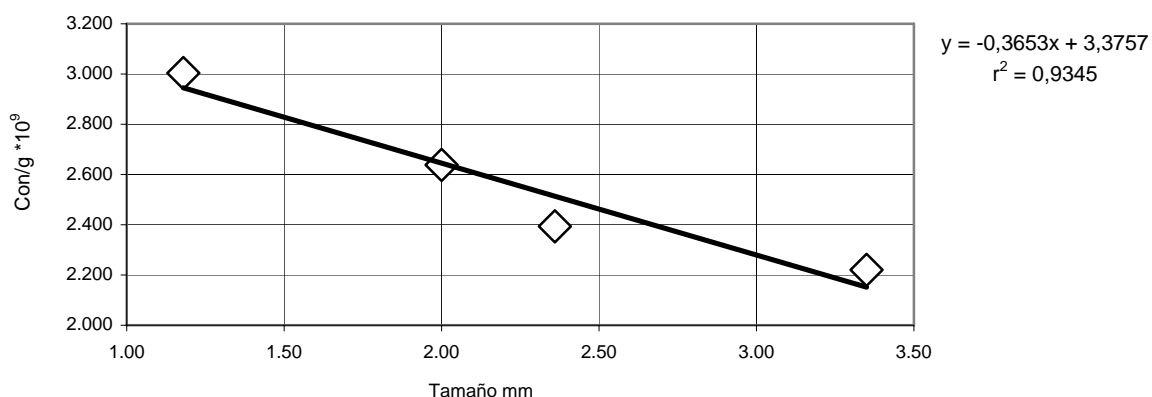
Figura 6. Ajuste estadístico utilizando una función potencial**Figura 7. Ajuste estadístico utilizando una función exponencial**

Figura 8. Ajuste estadístico utilizando una función lineal



El cuadro 6 presenta los resultados de validación con el modelo $Y = 0.114x^2 - 0.8883 + 3.9027$ de una mezcla de 2413.1 gramos que se hizo pasar por una serie de tamíes. La columna de conidios/ gramo $\times 10^9$ (Y) representa el valor teórico de producción de conidios si el tamaño de partícula fuera totalmente uniforme. La última columna, representa el valor teórico para cada tamaño de partículas pero toma en consideración la porción de la mezcla retenida en cada tamiz. El valor final de 2.63 E+9 con/g representa la proporción teórica de conidios por gramo utilizando el modelo y el porcentaje de maíz retenido por cada fracción.

Cuadro 6. Resultado de la validación del modelo $Y = 0.1146x^2 - 0.8883 + 3.9027$

Tp (mm) (X)	Peso (g)	%	Con/g (E+9) (Y)	Predicción (con/gr (E+9))
3.35	131.44	5.41	2.213	0.120
2.36	1133.98	46.64	2.45	1.140
2.00	417.30	17.17	2.59	0.444
1.18	748.42	30.79	3.014	0.928
Total	2413.14	100		2.63

Donde:

Tp = tamaño de abertura del tamiz donde quedaron retenidas las partículas de maíz

Peso (g) = peso en gramos retenido en cada tamiz.

% = porcentaje de partículas retenidas en cada tamiz del 100% del peso de la muestra.

Predicción (con/gr (E+9)) = $(Y * \%) / 100$

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El objetivo principal de este trabajo fue, mediante ensayos de laboratorio, determinar el tamaño óptimo de la partícula de molienda de maíz para incrementar la producción del Hongo *Metarhizium anisopliae*. Para alcanzar los objetivos se realizaron diversos análisis estadísticos que se pueden observar en la sección de resultados.

El Cuadro 2 muestra los resultados del análisis de varianza unifactorial, en el cual se puede observar que la F obtenida (11.65), la cual fue mayor a la F crítica (2.65), por lo cual se pudo inferir que al 0.05 de nivel de error existe diferencia significativa entre los tratamientos.

Seguido a este análisis fue necesario realizar una prueba de medias para saber que tratamiento era el que tuvo mejor rendimiento, por lo que se realizó la prueba de Tukey cuyos resultados se observan en el Cuadro 3. Con esta prueba se pudo identificar que el mejor tratamiento fue el número 1 con una producción de 3.01E+9 con/g, superando al control en 47%. En este tratamiento se utilizaron partículas menores de 2.00 mm y mayores o iguales a 1.18mm. En el mismo cuadro se puede observar que según aumentó el tamaño de partícula también se redujo la cantidad de conidios por gramo. También se hace notar que el tratamiento que tuvo el menor rendimiento en cuanto a producción de conidios por gramo fue el control (tratamiento 5) con 2.04E+9 con/g. Dicho tratamiento contenía diferentes tamaños de partículas de maíz utilizadas comercialmente para la producción del hongo *Metarhizium* en el laboratorio, por lo cual se infiere que el cultivo del hongo en partículas del mismo tamaño (no importando el tamaño) presentan mayor rendimiento que la utilización de la mezcla de maíz quebrado comercial. Se destaca que el hongo tendrá una mayor área superficial para desarrollarse en partículas uniformes de tamaño pequeño.

También se realizó un ensayo de producción del hongo empleando maíz amarillo entero. Este ensayo se repitió dos veces, debido a que aproximadamente cuatro días después de haber sido inoculado estos lotes con la cepa del hongo *Metarhizium anisopliae* se contaminaban de otros hongos como *Fusarium* sp y *Aspergillus* sp. El material se tuvo que desechar para evitar que la sala de crecimiento del hongo se contaminara, esto se presume que pudo haberse debido a la insuficiente cocción pues las partículas de maíz no habían recibido ningún daño mecánico antes y la cutícula que recubría estos granos era más dura imposibilitando una adecuada esterilización de dicho material. Por esta razón no se tuvo un dato verdadero de la producción

en este sustrato, ya que al momento de la contaminación el hongo solamente había desarrollado micelio y era imposible identificar conidios.

El análisis de la distribución granulométrica de las muestras observado en el Cuadro 4 y la Figura 2 indica que existe un alto grado de uniformidad en el proceso de molienda de los granos de maíz ya que no se observa una elevada dispersión entre los valores máximos y mínimos que pasan cada tamiz. Así mismo se puede observar que la graduación de las partículas más finas no alcanzó una magnitud suficiente como para llenar los espacios entre las partículas de mayor tamaño ya que prácticamente la totalidad de la gráfica se desarrolla por debajo de la línea teórica de densidad máxima, es decir cuando los espacios entre partículas son ocupados por las partículas del tamaño inmediato. Otro aspecto que se hace notorio es que existe un predominio de partículas con tamaño comprendido entre los tamices N° 6 y N°10, teniendo el material triturado una alta uniformidad dentro de este rango, mientras que las fracciones más gruesas comprendidas entre los tamices N°4 y N°6 así como las más finas, comprendidas entre los tamices N°10 y N°16, constituyen la menor proporción entre todas las muestras analizadas.

El uso de la escala en el eje de las abscisas como la abertura en mm elevada a la potencia 0.45 de cada tamiz, se basa en que este sistema aparte de ilustrar la distribución granulométrica como en los gráficos logarítmicos, permite definir la distribución que produce la densidad máxima, lo cual se representa como la recta que une el origen con el tamaño máximo correspondiente al tamiz en donde pasa el 100% del material analizado. El valor del exponente 0.45 ha sido aceptado en el análisis de materiales granulares pues experimentalmente se ha comprobado que con este valor, se obtienen las densidades más elevadas que cuando se aplica el exponente de 0.50, obtenido mediante análisis teóricos, razón por lo cual en el presente estudio se optó por utilizar el sistema indicado.

Para comprobar la relación entre la producción promedio y el tamaño de las partículas se efectuó un análisis de regresión utilizando como variable independiente el tamaño en mm del tamiz que retenía a las partículas y como variable dependiente la producción de con/g. Como resultado de este análisis se estableció que existe una relación inversa entre estas variables, correspondiendo una mayor producción de conidios a los tratamientos con partículas de menor tamaño mientras que la producción de conidios se redujo al analizar muestras compuestas por partículas de mayor tamaño. Esto se atribuye a que en igualdad de pesos las partículas de menor tamaño tienen una mayor superficie que las partículas de más tamaño.

El objetivo del proceso de ajuste estadístico es para proporcionar una ecuación que permita pronosticar la producción de conidios en función del tamaño de las partículas.

El polinomio de tercer grado observado en la Figura 3 presenta como resultado un ajuste estadístico exacto de uno a los valores promedio obtenidos en los resultados de laboratorio, pero no corresponde a la realidad física pues indica una reducción en la producción de conidios conforme aumenta el tamaño de las partículas hasta llegar a un valor aproximado de 3mm a partir del cual resulta en un incremento de la producción de conidios al continuar incrementando el tamaño de las partículas.

En la Figura 4 se puede observar que el ajuste de un polinomio de segundo grado resulta en una ecuación relativamente simple ($Y = 0.1146x^2 - 0.8883x + 3.9027$) y un coeficiente de determinación de 0.9835, en relación con los ajustes mediante ecuaciones potenciales, exponenciales y logarítmicas mostradas en las Figuras de la 5 a la 7 que dieron como resultado coeficientes de determinación menores de 0.97, 0.97 y 0.94 respectivamente, con ecuaciones con un mayor grado de complejidad que no ofrecen ninguna ventaja en cuanto a la calidad del ajuste estadístico. Por lo cual la función de ajuste de polinomio de segundo grado fue la utilizada para el cálculo de la predicción de la producción de con/g de una muestra de maíz de tamaños conocidos.

En la Figura 8 se presentan los resultados mediante el ajuste estadístico de una línea recta con un coeficiente de determinación aceptable de 0.93, que proporciona a cambio la ecuación más simple que podría ser de utilidad para ser utilizada por personal operativo en los laboratorios de campo. No obstante, para la validación del estudio se utilizó la ecuación cuadrática que no significó un alto grado de complejidad y proporcionó un excelente ajuste estadístico de 0.93%.

El proceso de validación consistió en comparar la producción total de con/g obtenida de la siembra y producción del hongo (2.65 con/g) de una muestra compuesta por partículas de diferente tamaño con la obtenida al aplicara a cada fracción las producciones correspondientes a cada tamaño obtenidas en el análisis estadístico (2.63 con/g) los resultados demuestran la alta aproximación que tiene la función polinomial de segundo grado a lo obtenido experimentalmente.

5. CONCLUSIONES

- El tamaño de partícula de maíz influyó sobre la producción de con/g del hongo *Metarhizium anisopliae* .
- Existe una mayor producción de con/g en partículas de maíz finamente quebrado (menores a 2.00 mm y mayores a 1.80 mm), Lo cual se atribuye a que en igualdad de pesos las partículas de menor tamaño tienen una mayor superficie que las partículas de mas tamaño permitiendo mayor desarrollo del hongo.
- El análisis de regresión demostró que existe una relación negativa con respecto a las variables tamaño de partícula y producción de con/g, correspondiendo una mayor producción de conidios a los tratamientos empleando partículas de menor tamaño mientras que la producción de conidios se redujo al analizar muestras compuestas por partículas de mayor tamaño.
- La función de ajuste de polinomio de segundo grado ($Y = 0.1146x^2 - 0.8883x + 3.9027$) se consideró como el mejor modelo y fue la utilizada para el cálculo de la predicción de la producción de con/g de una muestra de maíz de tamaños conocidos.
- En el proceso de validación de la función de ajuste del polinomio de segundo grado el resultado obtenido mediante los cálculos de predicción varió del dato real obtenido por 0.018 E+9 con/g, que representa una diferencia de 0.68 %, lo cual es despreciable.

6. RECOMENDACIONES

- Se deberán efectuar estudios adicionales secando y desmenuzando las muestras posterior al autoclavado, para establecer el efecto de la cocción en su distribución granulométrica.
- Evaluar si el factor de autoclaveado tiene un efecto en la producción de con/g adicional al efecto del tamaño de las partículas.
- Analizar diferentes variedades de maíz amarillo para establecer si existen variaciones en los niveles de producción de conidios según cada variedad.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Alexopoulos, C.J. and Mims, C.W. 1979. *Introductory Mycology*. 3 ed. John Wiley and Sons. New York. 457pp.
- Alves, S.B. 1986. *Control microbiano de insectos*. Editora Manole. Primera Edición. Brasil. 841pp.
- DeBach, P. 1969. *Control Biológico de las plagas de insectos y malas hierbas*. Edición Revolucionaria. Cuba. 196pp.
- El Mundo del Azúcar. 2002. Revista informativa. Agroindustria Azucarera Guatemalteca, Guatemala.
- Guaglumi et. al. 1983. *Contribuição on estudo da cultura e aplicação de Metarhizium anisopliae (Metsch) Sorok.*, Brasil. Pernambuco, CODECAP. 54pp.
- Hajek, A. y Leger, R. 1994. *Interactions between fungal pathogens and insect hosts*. Annual Reviews Entomology. Estados Unidos. 322pp.
- Juárez, B y Rodríguez, R. 1989. *Mecánica de Suelos*. 3 ed. Editorial Limusa. México D.F. 643pp.
- Lamber, W y Whitman, R. 1974. *Mecánica de Suelos*. Instituto Tecnológico de Massachussets. Editorial Limusa. 1 ed. Editorial Limusa. México D.F. 582pp .
- Lezama, G.R. 1992. *Biología y aplicación de los hongos entomopatógenos*. Memorias del III Curso de Control Biológico. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 166pp.
- Manual de Inducción a la Corporación, 20001. Grupo Corporativo Santa Ana, División de Recursos Humanos, Departamento de Capacitación y Desarrollo.
- Pagano, R. 1998. *Estadística para las ciencias del comportamiento*. Brooks Cole Publishing Company. México, México. 548pp.
- Steinhaus, E.A. 1949. *Principles of Insect Pathology*. McGraw-Hill Book. New York. 231pp

Tulloch, N. 1976. *The genus Metarhizium*. Transaction of the British Mycological Society. Cambridge. Estados Unidos. 411pp.

Sitios de Internet visitados

<http://icc.ucv.cl/geotecnia/laboratorio/granulometria/granulometria.htm>

<http://www.mineria.unam.mx/cgratis/Tema1.html>

<http://www.santaana.com.gt/c.htm>

8. ANEXOS



Figura 1a. Forma de hacer los conteos para determinar con/gr en la Sala de Control de Calidad del Laboratorio de Producción de *Metarhizium anisopliae* del Ingenio Santa Ana.



Figura 2a. Proceso de pesado de las muestra de los diferentes tratamientos para obtener 10g de material, empleado posteriormente para la cuantificación de con/g.



Figura 3a. Aspecto de los cinco tratamientos evaluados antes de empezar el proceso de disolución del hongo en agua.



Figura 4a. Aspecto del tratamiento en el cual se empleo maíz amarillo entero, antes de su descarte por estar contaminado.



Figura 5a. Aspecto de los tratamientos en la sala de crecimiento del hongo *Metarhizium anisopliae*.



Figura 6a. Equipo empleado para el conteo de conidios



Figura 7a. Control de calidad diario de las muestras de los tratamientos, para así determinar la existencia de contaminación.