

**UNIVERSIDAD DE PANAMA
VICERRECTORIA DE INVESTIGACION Y POST GRADO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE MAESTRIA EN CIENCIAS AGRICOLAS CON ENFASIS EN
PROTECCION VEGETAL**

**Eficacia del Aislado de una Cepa Nativa de *Isaria sp* en el Control
Biológico de la Broca del Fruto del Café (*Hypothenemus hampei
Ferrari*) en Café Robusta (*Coffea Canephora*).**

MIGDALIA DEL ROSARIO CASTILLO

Tesis presentada para optar por el grado de Maestro en Ciencias Agrícolas con
especialidad en Protección Vegetal

Panamá, Rep. De Panamá.

2019

EFICACIA DEL AISLADO DE UNA CEPA NATIVA DE *Isaria sp* EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA BROCA DEL FRUTO DEL CAFÉ (*Hypothenemus hampei Ferrari*) EN CAFÉ ROBUSTA (*Coffea Canephora*).

Trabajo de graduación

Sometido Para Optar Por El Título De Maestro en Ciencias Agrícolas Con Énfasis en Protección Vegetal

Vicerrectoría de Investigación y Post grado
Facultad de Ciencias Agropecuarias

Permiso para su publicación, reproducción total o parcial debe ser obtenida por la Vicerrectoría de Investigación y Post grado

Aprobado

_____ José Lezcano. M.Sc. Director

_____ Eddy Barraza. Ph.D. Asesor

_____ Ismael Camargo Ph.D. Asesor

Panamá, Provincia de Panamá.
República de Panamá.

2019

Agradecimiento

En primer lugar, deseo agradecer a Dios Todopoderoso por haberme permitido alcanzar esta nueva etapa en mi vida con salud y rodeada del cariño de mi esposo e hijos.

Al Ingeniero José Lezcano, M.Sc. Director del trabajo de grado por el tiempo dedicado a la revisión y los sabios consejos para que el mismo cumpliera su cometido.

A los Doctores Ismael Camargo y Eddy Barraza, asesores técnicos, por sus recomendaciones y correcciones. Al Dr. Francisco Mora por su labor y empeño de guiarnos y apoyarnos hasta el final.

También deseo expresar un agradecimiento especial al Ing. Raúl De León, quien nos apoyó con la revisión técnica del trabajo final A mi gran amiga, Enereida Herrera, por darme ánimos para que culminara este trabajo,

A todos Ustedes, que hicieron posible que hoy presente este trabajo de investigación como culminación de mis estudios.....

*Muchas Gracias.
Migdalia*

Dedicatoria

Deseo dedicar este trabajo a mi familia, a mis hijos, Frederick; Dereek y Rodrigo, a mi nieta Milagros y a mi esposo Rodrigo que son el motor que me han impulsado durante todos estos años a continuar hasta culminar mis estudios, esperando que el mismo sea un ejemplo a seguir por ellos...

Una dedicatoria muy especial a mi mamá Cristina (Q.E.P.D) quien desde el cielo me inspiro a cumplir esta meta.

Y recuerden, todo es posible si lo ponemos en manos de Dios.

EFICACIA DEL AISLADO DE UNA CEPA NATIVA DE *Isaria sp* EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA BROCA DEL FRUTO DEL CAFÉ (*Hypothenemus hampei Ferrari*) EN CAFÉ ROBUSTA (*Coffea Canephora*).

Migdalia Castillo.

Resumen.

El café constituye uno de los rubros de exportación y de consumo nacional más importante en el país, por lo que las enfermedades e insectos plagas representan un factor de primer orden para los caficultores. La broca del fruto del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari), representa una de sus plagas de mayor importancia desde el 2005, siendo necesario buscar alternativas viables y seguras para su control. Este trabajo se desarrolló del 21 de junio al 20 de septiembre de 2017; iniciado en el laboratorio de Parasitología, Subcentro del IDIAP en Alto Boquete, distrito de Boquete y en una parcela de Café Robusta, ubicada en el Subcentro del IDIAP en Buena Vista, Corregimiento de la Provincia de Colón. El estudio comprendió dos fases: Una en Laboratorio y otra en campo. Con el objetivo de determinar la eficacia biológica de un biopreparado resultante del aislamiento de una cepa nativa de *Isaria sp.*, reproducida con tecnología artesanal sobre sustrato sólido, para lo cual se emplearon técnicas de aislamiento de microorganismos, metodología de reproducción de hongos entomopatógenos, métodos de muestreo de broca. En laboratorio se utilizó un diseño TCA con tres repeticiones y en la prueba en campo un BCA con tres repeticiones. En el estudio se demostró que los valores de concentración obtenidos de 4.66×10^9 a 1.71×10^{10} UFC/ml, presentaron patogenicidad que oscilaron entre 85.62% a 95%, no presentando diferencias estadísticas entre ellos ($P > 0.05$). Mientras que la eficacia con concentraciones de 1.19×10^{10} y 1.94×10^{10} UFC/ml entre 42.97 y 68.79%, no presentaron diferencias estadísticas entre ellas ($P > 0.05$). El aislado de *Isaria sp.* mostró patogenicidad sobre las brocas tratadas. A pesar de que los resultados no son concluyentes, se puede indicar que la eficacia del biopreparado de *Isaria sp.* bajo condiciones de la zona baja de Colón, fue buena. Se recomienda continuar con las pruebas de eficacia para validar los resultados obtenidos con este estudio aislado.

Palabras Claves: Patogenicidad, mortalidad, infestación, conidias,

**EFFECTIVENESS OF THE ISOLATION OF A NATIVE HARVEST OF
FUNGUS ENTOMOPATHOGEN IN THE BIOLOGICAL CONTROL OF THE
COFFEE BERRY BORER (*Hypothenemus hampei* Ferrari) IN COFFEE
ROBUSTA (*Coffea canephora*)**

Coffee is one of the most important export and national consumption items in the country, which is why diseases and insect pests represent a major factor for coffee growers. The coffee berry borer (*Hypothenemus hampei* Ferrari), represents one of its most important pests in coffee cultivation since 2005, and it is necessary to look for viable and safe alternatives for its control. This work was developed from June 21 to September 20, 2017; starting at the Parasitology Laboratory, sub-center of IDIAP in Alto Boquete, district of Boquete and on a Robusta Coffee plot, located in the IDIAP Sub-center in Buena Vista, Corregimiento de Colón. The study comprised two phases: One in the Laboratory and another in the field. In order to determine the biological effectiveness of a biopreparation resulting from the isolation of a native strain of *Isaria* spp. reproduced in artisanal technology on solid substrate, for which techniques of isolation of microorganisms, methodology of reproduction of entomopathogenic fungi, methods of sampling of drill were used. In the laboratory a completely randomized design with three repetitions was used and in the field-test a DBCA with three repetitions. The study showed that the concentration values obtained from 4.66×10^9 to 1.71×10^{10} CFU / ml presented the pathogenicity values that ranged from 85.62% to 95%, with no statistical differences between them ($P > 0.05$). While the efficacy with concentrations of 1.19×10^{10} and 1.94×10^{10} CFU / ml produced an efficiency in the control of the coffee berry borer that ranged between 42.97 and 68.79%, showing no statistical differences between them ($P > 0.05$). Isolation of *Isaria* spp. showed pathogenicity on the treated drill bits. Although the results are not conclusive, it can be indicated that the efficacy of the *Isaria* spp. Under conditions of the lower area of Colon, it was good. It is recommended to continue with the efficacy tests to confirm the effectiveness of the preparation with *Isaria* spp.

Key Words: Pathogenicity, mortality, infestation, conidia,

<u>INDICE GENERAL</u>	<u>PAG</u>
Agradecimiento.....	i
Dedicatoria.....	ii
Resumen.....	iii
Índice General.....	v
Índice de Cuadros.....	vi
Índice de Gráficas.....	vii
Introducción.....	1
CAPITULO II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Ecología del cultivo de café.	4
2.2 Características botánicas.	5
Enfermedades y plagas del café.	7
La broca del fruto del café.	9
Ciclo de vida y daño causado por <i>H. hampei</i> .	10
El Control Biológico de <i>H. hampei</i>	11
CAPITULO III. MATERIALES Y METODOS	14
3.1 Localización	14
3.2. Metodología	14
3.2.1. En Laboratorio	15
3.2.1.1 Prueba Microbiológica	15
3.2.1.1.1. Concentración de esporas	15
3.2.1.1.1.1 Procedimiento para determinar la concentración de esporas para los tratamientos de laboratorio y campo	15
3.2.1.1.2. Prueba de Patogenicidad	17
3.3. Análisis estadístico	21
3.3.1. En Campo	22
3.4. Tratamientos	23
3.5. Toma de datos	24
3.6. Modelo estadístico	26
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSION.	27
4.1. Prueba de Patogenicidad	27
4.2. Prueba de Eficacia	29
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	33
BIBLIOGRAFIA	34
ANEXOS	41

ÍNDICE DE CUADROS

N°	TITULO DEL CUADRO	Pág.
Cuadro 1	TRATAMIENTOS UTILIZADOS EN LA PRUEBA DE PATOGENICIDAD DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO <i>Isaria sp.</i> , SOBRE LA BROCA DEL CAFÉ, EN % DE CONCENTRACIÓN Y EN UFC/ML	18
Cuadro 2	LOS TRATAMIENTOS EVALUADOS EN PRUEBA DE EFICACIA, BUENA VISTA, COLÓN 2017	22
Cuadro 3	CUADRADO MEDIO DE LOS TRATAMIENTOS PARA BROCAS MUERTAS POR EL HONGO, POR OTRAS CAUSAS Y LA PATOGENICIDAD.	27
Cuadro 4	MEDIAS DEL EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN LA PRUEBA DE PATOGENICIDAD	28
Cuadro 5	CUADRADO MEDIOS PARA LAS VARIABLES No. DE BROCA INICIAL Y FINAL, MICOSADAS, VIVAS, REINFESTACIÓN, MORTALIDAD A LOS 14 DÍAS.	29
Cuadro 6	MEDIAS DEL EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN LA PRUEBA DE CAMPO SOBRE EL NÚMERO DE BROCAS INICIAL Y FINAL, LA MORTALIDAD A LOS 14 DÍAS Y LA EFICACIA DE <i>Isaria spp.</i>	30

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	TITULO DE LA FIGURA	<u>Pág.</u>
Figura 1.	Preparación de los tratamientos del hongo <i>Isaria</i> diluciones de 20 a 100% de la suspensión madre.	16
Figura 2	Vista general del bioensayo de Patogenicidad, con diseño completamente al azar.	18
Figura 3	Las Brocas vivas después de la aplicación de los tratamientos; se colocaron sobre plato Petri con disco de papel húmedo.	19
Figura 4.	Efecto de la aplicación de <i>Isaria sp.</i> en la prueba de patogenicidad. Se observa insectos colonizados por el hongo	20
Figura 5.	Frutos mostrando la presencia de broca del café. Observe el daño en el ombligo del fruto.	21
Figura 6.	Los tratamientos fueron aplicados directamente sobre las ramas con frutos brocados, para asegurar el éxito de la prueba	23

INTRODUCCIÓN

Coffea canephora (Cultivar Robusta) se estableció en Panamá en 1938 en la comunidad de Cuipo, área del Lago Gatún en la provincia de Colón. El *C. canephora* a pesar de ser una especie considerada con menor calidad de taza, tiene una gran importancia económica para muchas de las familias del área rural sobre todo en la Costa Abajo de Colón, Norte del distrito de Penonomé en la provincia de Coclé, y en la región Norte del distrito de Capira en la provincia de Panamá Oeste. Se estima que en el país se cultivan unas 6,000 hectáreas de esta especie, por parte de unos 3,000 pequeños productores.

Los problemas fitosanitarios de mayor importancia en el cultivo de café en el país, incluye la roya del cafeto *Hemileia vastatrix* desde 1987, que puede causar pérdidas hasta del 23% en variedades susceptibles de la especie *Coffea arabica* (Cristancho et. al 2007; Rivillas et. al 1999), si no se efectúa control; la antracnosis (*Colletotrichum* spp.) su ataque provoca la pérdida de hojas, ramas, de todo el follaje e incluso la pérdida de frutos; y la broca del fruto del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) desde el 2005, que produce severos daños a la caficultura en más de 15.000 hectáreas incluyendo las especies *C. arabica* y *C. canephora* (MIDA 2017), produce una reducción de la producción, la alteración de la calidad, el aumento de los costos de producción; que para el control de broca se estima un 7% (Duque et al. 1997), y la disminución del precio de compra, y el peso de la lata de café, que antes estaba entre 28 y 30 libras. Debido a la distribución de la cosecha en las tierras altas y baja de Panamá, la broca encuentra frutos durante todo el año, en la mayor parte de la zona cafetera (Arcila et

al. 1993). Una vez que el fruto tiene un 20% de peso seco, penetra, realizando galerías en los granos, ovipositando, permaneciendo en su interior mientras que su progenie se desarrolla, lo que complica su manejo. Actualmente se realizan controles químicos, biológicos y principalmente culturales (Bustillo 2002).

En la zona baja de Panamá, uno de los problemas que enfrenta el cultivo de café robusta es la presencia de plagas, donde sobresale por su importancia la broca del café *Hypothenemus hampei*, insecto plaga, que puede reducir los rendimientos en un 50%, así como la calidad organoléptica del café.

En tierras altas, la broca del café afecta el fruto a partir de los 90 días después de la floración, colonizando frutos verdes y maduros, lo que reduce el rendimiento del cultivo, y que ha provocado que las empresas compradoras del café lo hagan a través del peso de fruto, cuando anteriormente se realizaba por volumen (lata de café), este volumen tenía un peso promedio de 30 libras.

El manejo de este insecto se realiza a través del manejo integrado, dentro del cual se incluye el manejo agronómico, cultural, biológico y químico. Para café robusta en la zona baja de Colón en el manejo biológico no se ha logrado identificar un hongo entomopatógeno efectivo contra la broca del café.

En Panamá, se ha utilizado en el control biológico de broca, parasitoides y hongos entomopatógenos. El hongo *Beauveria bassiana*, en formulación comercial, que presenta concentraciones máximas de 6.4×10^8 UFC, no ha sido efectivo para el control de la broca

del café, además, de otros factores como la dosis, aplicación y viabilidad de las esporas del hongo.

El presente estudio tuvo como objetivos principales determinar el efecto patogénico de un aislado del hongo entomopatógeno *Isaria* sp., y su eficacia bajo condiciones de la Costa Abajo de Colón sobre *H. hampei* en café robusta.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 Ecología del cultivo de café.

El café es una planta tropical que crece entre los 25° de latitud Norte y los 25° de latitud Sur, y que necesita unas condiciones ambientales muy concretas para poder cultivarse a nivel comercial. Factores como la temperatura, la lluvia, el sol, el viento y la composición del suelo son importantes para su desarrollo, aunque las exigencias varían en función de la variedad que se cultive. Las condiciones de cultivo van a ser muy importantes ya que van a influir notablemente en la incidencia de enfermedades y en la capacidad de la planta para resistir o tolerar el daño causado por ellas (Rojo 2014).

Según Rojo (2014) la temperatura ideal es de entre 15° y 25°C para el café arábica y de entre 24° y 30°C para el robusta. Por lo general, *C. canephora* tolera mejor el calor y la sequía, pero, no suele tolerar temperaturas por debajo de los 15°C. Atendiendo a la altitud, el café robusta puede cultivarse entre el nivel del mar y los 800 metros, en cambio el arábica crece mejor en altitudes más elevadas y se cultiva a menudo en lugares de mayor pendiente. Dado que la altitud está vinculada a la temperatura, el Arábica puede cultivarse a menor altitud en lugares más lejanos de la línea ecuatorial, siempre que no traspase el límite por peligro de helada. Respecto a las lluvias, el café necesita unas precipitaciones anuales de entre 1.100 y 2.000 mm, aunque el Arábica necesita menos que otras especies. El ciclo de períodos lluviosos y secos es importante para el crecimiento, e influye en la brotación y la floración. Lo ideal para el Arábica es un periodo seco de tres a cuatro meses. En general la cantidad de lluvia que se necesite dependerá de las propiedades de retención

del suelo, de la humedad atmosférica, de la nubosidad y de las prácticas de cultivo. Así la falta de lluvias se tolera mejor si la humedad es elevada o los cielos son nubosos, mientras que el exceso no supone un problema siempre y cuando exista un buen drenaje. Respecto al tipo de suelo, las plantas de *Coffea* crecen mejor en suelos profundos, bien drenados y con $\text{pH} < 7$. Estas especies no toleran bien los vientos fuertes, el granizo y la exposición directa al sol, por lo que es frecuente establecer rompe vientos para proteger los cafetales, así como árboles de sombra.

Rojo (2014) indica que el cambio en las condiciones climáticas y el aumento global de las temperaturas suponen una de las amenazas más grandes a la producción mundial de café. Representa entonces un motivo importante de preocupación especialmente en el caso del *C. arabica*, pues no tolera temperaturas superiores a los 24°C . En general, temperaturas superiores a los 28°C conducen a la aparición de anomalías que afectan a la flor y que reducen el rendimiento, mientras que las bajas temperaturas (inferiores a 7°C) afectan a la raíz, donde aparecen malformaciones, especialmente cuando se dan fuertes fluctuaciones a lo largo del día.

2.2 Características botánicas.

El café pertenece a la familia de las rubiáceas (Rubiaceae), grupo que engloba unos 500 géneros y más de 6.000 especies, la mayoría árboles y arbustos tropicales. Dentro del género *Coffea* hay más de 100 especies, todas ellas autóctonas de África Tropical y de algunas islas de Océano Índico. Todas son leñosas, pero comprenden desde arbustos hasta árboles de 5 a 10 metros de altura. Sus hojas son elípticas, acabadas en punta y aparecen

por pares. Presentan peciolos cortos y pequeñas estípulas, y en el envés pueden aparecer unas pequeñas cavidades que albergan pequeños artrópodos. Las hojas pueden ser también de distintos colores: verde lima, verde oscuro, bronce o con matices purpúreos. Los frutos son tipo drupa, con epicarpio carnosos y doble semilla. Las flores aparecen en inflorescencias (ICO 2015; Waller *et al.* 2007 citado por Rojo 2014).

Las dos especies más importantes desde el punto de vista económico son *Coffea arabica* L. (café arábico) y *Coffea canephora* Pierre ex Froehner (café robusta). Existen diversas variedades híbridas de *C. arabica* y *C. canephora*. El objetivo de este cruce es mejorar la planta para que adquiriera vigor y resistencia frente a enfermedades y, por otro lado, lograr que el café adquiriera mayor calidad en taza (Waller *et al.* 2007; citado por Rojo 2014).

Coffea canephora es un árbol robusto con raíz poco profunda que puede alcanzar los 10 metros de altura. El fruto es redondeado y tarda hasta 11 meses en madurar. Su semilla es alargada y más pequeña que la del *C. arabica*, mientras que las hojas por lo general suelen ser más grandes. El café robusta se cultiva en África Central y Occidental, en todo el Sudeste de Asia y un poco en Brasil, donde se le conoce como “Conillón” (Waller *et al.* 2007). En el caso de las variedades, *C. canephora* es diferente a *C. arabica*, ya que es diploide y auto estéril, por lo que origina muchas formas y variedades silvestres diferentes. En el *C. canephora*, la identificación de cultivares es confusa, pero están reconocidas dos formas principales, “Robusta” (erguidas) y “Uganda” (esparcidas) (ICO, 2014; Waller *et al.* 2007 citado por Rojo 2014).

2.3 Enfermedades y plagas del café.

Hay tres enfermedades de importancia que han causado grandes estragos en las fincas cafeteras de todo el mundo y que hoy en día aún siguen causando gran destrucción. Una de ellas es la roya, que afecta a las hojas, otro es la antracnosis, que ataca hojas el fruto, y por último, la traqueomicosis (Marchitez por *Fusarium xilaroides* que tiene una fase sexual (*Gibberella xilaroides*) (Rojo 2014).

La roya del café es causada por *Hemileia vastatrix* Berk. y Br. (Basidiomycota, Uredinales). Fue identificada por primera vez en Sri Lanka en la segunda mitad del siglo XIX. Esta grave enfermedad, que afecta solamente a las hojas, ataca a los cafetos en las tierras bajas. Esto ha provocado que con el paso de los años su cultivo se haya visto relegado a las tierras altas. Los síntomas se caracterizan por manchas localizadas en el haz y en el envés de las hojas de color amarillo-anaranjado. La severidad de la infección se manifiesta con la defoliación de los cafetos afectados y ocurre principalmente durante el periodo de sequía, después de un largo periodo de lluvias intensas y temperaturas moderadas. Debido a que el cultivo de *C. arabica* fue introducido en América del Sur, sus poblaciones tenían una variabilidad genética muy reducida. Esto provocó que, a la llegada de la enfermedad a Brasil en 1970, la mayoría de las plantaciones se perdieran a causa de la enfermedad y tuvieron que ser sustituidas por nuevas variedades resistentes. En 1911 apareció en la India el primer cultivar resistente a la enfermedad y unas décadas después, en 1940 se encontró en Timor un híbrido resistente a la roya y a *Colletotrichum coffeanum*. Esta híbrido, conocido como “CaTimor” es el que principalmente se ha implantado en Latinoamérica. A pesar de ello, actualmente la roya está causando una fuerte epidemia que

está afectando a más del 53% de los cultivos en Centroamérica (Gómez y Bustamante 2006).

La antracnosis del café es una de las enfermedades más importantes que afectan a este cultivo. Esta enfermedad es causada por el hongo *Colletotrichum* spp. Los síntomas de esta enfermedad se manifiestan principalmente en cafetales con mala nutrición, ubicados en suelos pobres en materia orgánica y poco profundos; también es común encontrarla en plantaciones enmalezadas, así como en plantas que presentan daños causados ya sea por herbicidas, factores climáticos o por otras plagas.

Este hongo afecta a los cafetos con exceso de sombra, humedad excesiva y mala ventilación. Su ataque provoca la pérdida de hojas, ramas, de todo el follaje e incluso la pérdida de la cosecha. Aún y así, se considera, esencialmente una enfermedad de los frutos ya que estos son atacados tomando un color negro característico, se resecan y caen (FUNICA 2018).

Los síntomas de la antracnosis del café se traducen en manchas pardas que se dejan ver sobre las dos superficies de las hojas, que se extienden de sus puntas hacia la base.

Esta enfermedad se propaga durante la estación lluviosa y normalmente ataca a plantas ya infectadas por otras enfermedades fúngicas. Para evitar la caída de los frutos y controlar el hongo es conveniente un buen drenaje, regular la humedad ambiental, disminuir la sombra y mantener una buena ventilación. Se presenta en cafetales mal abonados, sobre tejidos afectados por otras enfermedades, por daños de insectos o por maltrato en las labores de cultivo. La enfermedad pudre los ápices y tumba las hojas de las ramas. En los bordes y las puntas de las ramas aparecen manchas irregulares de color café oscuro. Los granos verdes y pintones atacados se manchan y las ramas se tornan negras y secas.

2.3.1 La broca del fruto del café.

En Panamá, la plaga insectil más importante del cultivo de café, desde 2005, es la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), que produce severos daños a la caficultura en 19.000 hectáreas (MIDA 2015). Por la reducción de la producción, la alteración de la calidad, el aumento de los costos de producción se estima en 7% el costo del control de la broca (Duque et al. 1997), y la disminución del precio de compra. Debido a la distribución de la cosecha en las tierras altas y bajas de Panamá, la broca encuentra frutos durante todo el año, en la mayor parte de la zona cafetera (Arcila *et al.* 1993). Una vez en el fruto, penetra, realiza galerías, oviposita y permanece en su interior mientras que su progenie se desarrolla, lo que complica su manejo. Actualmente se realizan controles químicos, biológicos y principalmente culturales (Bustillo 2002).

La resistencia varietal es otra herramienta para el control de insectos, que disminuye la población de la plaga al alargar su ciclo de vida y reducir la supervivencia de los individuos o su capacidad reproductiva (Adkinsson y Dyck 1984). A pesar de que dentro del género *Coffea* no se conocen genotipos resistentes a la broca, trabajos previos (Koch 1973; Villagran 1991; Duarte 1992), han mostrado diferencias entre algunos, que, aunque pequeñas, pueden ser de interés en un programa de control integrado de la plaga. Romero y Cortina (2004), evaluaron la colección colombiana de café, criaron brocas en 18 introducciones etíopes de *Coffea arabica* L. y una de *Coffea liberica* Bull ex Hiern., encontrando que cuatro introducciones tuvieron significativamente menos individuos que el testigo, la variedad Caturra.

2.3.1.1 Ciclo de vida y daño causado por *H. hampei*.

Según Bergamin (1943) el ciclo de vida de la broca del fruto del café ocurre en el interior de las cerezas del café. Las hembras adultas emergen de las cerezas infestadas y perforan nuevos frutos. La oviposición ocurre durante un periodo de 20 días, tiempo durante el cual deposita dos a tres huevecillos diariamente dentro de los granos. El promedio de progenie por hembra ha sido estimado en 74 individuos y el ciclo de vida ha sido calculado en 27.5 días (24.5°C). Las hembras viven hasta 150 días. La broca tiene un comportamiento reproductivo que asegura un alto grado de endogamia (Bergamin 1943).

Los daños causados por la broca son, la reducción de la producción debido a la caída de los frutos infestados tempranamente en el campo, la disminución en el peso, ya que la broca perfora inicialmente un grano de los dos que tienen el fruto, la pérdida de la calidad del grano y por ende una baja en el precio de venta. La pérdida de peso de los granos de café causada por la broca ha sido estimada en 55% (Montoya 1999); sin embargo, la disminución del peso en la producción total de café fue establecida en alrededor del 18% (Borbon 1990). La broca además ataca cerezas pequeñas en formación (menor de 20 semanas después de la floración) lo cual resulta en la caída del 32% de éstas (Mendoza 1996). La broca causa pérdidas en la producción total de café de 40 a 80% a niveles de infestación en campo de 90% (Le Pelley 1968).

2.3.1.2 El Control Biológico de *H. hampei*.

Entre las medidas de control más comunes contra la broca, están la utilización de entomopatógenos (Monzón 2001), siendo *Beauveria bassiana* el más conocido y aplicado con éxito en programas de manejo integrado de plagas, por ser compatible con la utilización de parasitoides (Bustillo *et al.* 1998; Bustillo *et al.* 2003; Reyes *et al.* 1995; Ibarra y Varela 2002). Benavides *et al.* (2002) destacaron que, dentro de los controles de *H. hampei*, el componente cultural es el más importante en el manejo integrado de esta plaga, ya que redundará en una mayor producción de café, mayores ingresos y márgenes de contribución económica, mientras que otros controles son menos efectivos.

En control biológico a nivel mundial las dos especies más estudiadas son la *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* por su eficiencia y facilidad de multiplicación, por lo que podrían ser utilizados como agentes parásitos contra organismos patógenos causantes de enfermedades o de organismos que sirven de vectores de otros microorganismos que causan daño a las plantaciones (Scholte, *et al.* 2004; Allendes 2006; Rodríguez *et al.* 2007).

La utilización del hongo *Beauveria bassiana* resulta una buena opción en el manejo integrado de la broca del fruto del café cuando se utiliza en concentraciones superior a 1×10^9 , por los beneficios que este hongo ofrece y logra ser muy efectivo si se toman en cuenta todas las labores culturales que se deben hacer al cultivo del café ya que de este modo el productor modifica el medio para que la broca no logre sobrevivir. Su eficiencia en el campo ha sido demostrada ampliamente por diferentes autores (Flórez *et al.* 1997;

Bustillo y Posada 1996; Bustillo. 1995; 1991) con resultados muy variables, influenciados por condiciones climáticas y condiciones del cultivo, reportándose niveles de control que están entre 20% hasta 75%.

Arcila *et al.* (2006), evaluaron el efecto patogénico de *B. bassiana* cepa Bb9295, bajo diferentes condiciones de los cafetales. Al evaluar el efecto de *B. bassiana* sobre los niveles de infestación de broca, encontró que el mismo es independiente del porcentaje de infestación de broca. En relación con la sombra, se encontró una tendencia a incrementarse la eficacia del hongo cuando se incrementa la sombra, lo cual no fue más evidente debido a la auto sombra que normalmente tiene el café en altas densidades.

Un estudio realizado por Posada (1998), evaluó la efectividad de *B. bassiana* formulada en agua y aceite. Los resultados indicaron que la mortalidad más alta de broca (60% después de 15 días) ocurrió cuando las esporas se aplicaron en la formulación en aceite antes de la infestación. Ensayos similares conducidos en ICAFE (2008), para evaluar formulados de *B. bassiana* se obtuvo hasta 60% de mortalidad de broca, sin mostrar diferencia entre las formulaciones con base de arroz y aceite. Vargas *et al.* (2003) evaluaron la persistencia de *B. bassiana* aplicada en el campo para control de broca, demostrando que el hongo persistió por más tiempo (hasta 72 horas) luego de la aplicación.

Según Jaramillo *et al* (2015) se ha demostrado que el uso de una mezcla de cepas de entomopatógenos con diferentes espectros de acción permite mantener porcentajes de broca en el lote, inferiores al 6,6%. La mezcla Cenicafé logró afectar la capacidad de

ovoposición de las brocas hasta en un 87%, indicando que las mezclas de cepas, además de incrementar la mortalidad en las poblaciones de broca y reducir la infestación en los árboles, afectan directamente nuevas generaciones.

Estudios realizados por Ruiz y Saldaña (2012), en Renacimiento, provincia de Chiriquí, encontraron una patogenicidad entre 81 y 91% utilizando el aislamiento de la cepa nativa de *Isaria* sp., con una eficacia de 85.76% a una concentración de 1.7×10^9 , y una mortalidad de 82.94%; mientras que con las cepas comerciales de *B. bassiana* esta eficacia fue menor del 60% con una concentración menor de 10^8 .

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Localización

El estudio se realizó en la finca del IDIAP ubicada en el Corregimiento de Buena Vista (Latitud Norte 9°16'34.7196'' y Longitud Oeste 79°41'52.4976''), distrito de Colón, provincia de Colón y en el Laboratorio de Parasitología (Latitud Norte 8°43'14.94'', Longitud Oeste 82°26'18.54'') del Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá, ubicado en el Corregimiento de Alto Boquete, distrito de Boquete, provincia de Chiriquí.

El estudio comprendió dos fases de investigación, la primera fase se realizó en laboratorio y consistió en la multiplicación del aislamiento de la cepa nativa de *Isaria* sp., y la evaluación de su patogenicidad *in vitro* sobre adultos de *H. hampei*.

La segunda fase del estudio se desarrolló a nivel de Campo, donde se evaluó la eficacia de una cepa nativa de *Isaria* sp, bajo condiciones de campo, en el control de la broca del café.

3.2 Metodología

La finca seleccionada presentaba un historial de incidencia de la broca. La metodología del estudio incluyó dos tipos de pruebas: una microbiológica de patogenicidad y otra de eficacia del hongo en campo.

3.2.1 En Laboratorio

3.2.1.1 Prueba Microbiológica

Utilizando la metodología de Vélez *et al.* (1997) se realizaron las siguientes pruebas:

3.2.1.1.1 Concentración de esporas:

Con la cepa nativa, se preparó suspensiones madres. La preparación de la suspensión madre de la cepa nativa *Isaria* sp., se realizó a partir de un aislamiento, luego de un proceso de desinfección y esterilización del sustrato arroz su produjo el material biológico a evaluar, (Figura 1). El hongo en el sustrato se colocó en un cuarto de incubación por 20 días a 28°C, luego de este periodo, se le adicionó agua destilada estéril hasta un volumen conocido 1000 ml (vaso químico) agregándole Tween 80 al 0.1% para romper la tensión superficial de las esporas del hongo. Una vez preparada la suspensión madre se prepararon cinco tratamientos 100%, 80%, 60%, 40% y 20%, tomando de cada uno 10 ml, se utilizaron los mismos tratamientos en cada suspensión madre preparada para laboratorio y campo.

3.2.1.1.1.1 Procedimiento para determinar la concentración de esporas para los tratamientos de laboratorio y campo.

Para el conteo de esporas en la cámara de Neubauer, se realizó una dilución seriada de la siguiente forma: de la suspensión madre de cada tratamiento del hongo (10^0) se tomó 1.0 ml y se depositó en un tubo con rosca y se le agregaron 9.0 ml de agua destilada estéril (ADE), quedando de esta manera preparada la dilución 10^{-1} ; se repite este procedimiento llevando 1 ml de la dilución (10^{-1}) a tubo con rosca y se le agregan 9 ml de ADE (10^{-2}) y

así sucesivamente hasta obtener una dilución de 10^{-4} o la dilución apropiada que permitió el conteo para estimar el número de esporas por mililitro de la suspensión (Figura 1).



Figura 1. Preparación de los tratamientos del hongo *Isaria* diluciones de 20 a 100% de la suspensión madre.

En la cámara de Neubauer el recuento se realizó sumando el total de esporas presentes en los 25 cuadrantes centrales de la cámara. A cada submuestra se le realizó tres veces este procedimiento para un total de seis lecturas. La concentración de esporas se calculó multiplicando el promedio del número de esporas obtenido por el inverso de la dilución empleada para el conteo (si la dilución empleada es de 10^{-3} el inverso es 10^3) y por el inverso del factor de la cámara (10^4). La fórmula utilizada fue la siguiente:

$$C = N \times \text{Dilución empleada} \times \text{Factor de cámara} (10^4).$$

Donde,

N = es el número promedio de esporas por cuadrante,

C = es la concentración que se desea conocer.

El tubo de dilución del tratamiento al cual se realizó el conteo de esporas se agitó en un vórtex durante 30 segundos e inmediatamente se tomó la muestra de 10 μ l (0.01 ml) con una micropipeta y se depositó con cuidado, de manera que el líquido entrara por capilaridad sin que se formaran burbujas en la cámara.

En cada compartimiento de la cámara se depositó 10 μ l de cada dilución que facilitara un conteo de 10 a 50 esporas por cuadrante. Se dejó reposar medio minuto antes de proceder al conteo. Luego se llevó la cámara al microscopio y con el objetivo 10X se localizó en el campo visual el cuadrante central, se enfocó en tal forma que se observan nítidamente los cuadrantes y luego se observó al objetivo 40X.

3.2.1.1.2 Prueba de Patogenicidad.

Se seleccionaron adultos de la broca del café de menos de ocho días de edad. Se desinfectaron previamente con una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% durante 10 segundos y se lavaron en ADE usando mallas de tul esterilizadas que sirvieran de colador o un colador de plástico. De estas brocas se seleccionaron las que presentaron mayor actividad (Figura 2).



Figura 2. Vista general del bioensayo de Patogenicidad, con diseño completamente al azar.

Los tratamientos evaluados (Cuadro 1) se compararon con un testigo absoluto (agua).

CUADRO 1. TRATAMIENTOS UTILIZADOS EN LA PRUEBA DE PATOGENICIDAD DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Isaria* sp., SOBRE LA BROCA DEL CAFÉ, EN % DE CONCENTRACIÓN Y EN UFC/ML.

Tratamiento	% de concentración	Concentración en UFC/ml
1	0	Testigo absoluto
2	20	4.66×10^9
3	40	7.85×10^9
4	60	1.01×10^{10}
5	80	1.57×10^{10}
6	100	1.71×10^{10}

En los tratamientos con la cepa nativa de *Isaria* sp., se utilizaron diluciones en ADE con concentración de 100, 80, 60, 40% y 20% de la suspensión madre (Cuadro 1). De cada dilución se tomaron 10 ml y se realizó el conteo de esporas para conocer la concentración de las unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml).

En la evaluación de patogenicidad se tomaron 20 brocas vivas por tratamiento, estas se colocaron en un colador de plástico y se sumergieron en agua con hipoclorito de sodio para desinfectarlas, luego se lavaron en agua limpia y se sumergieron en los tratamientos por 10 segundos, manteniéndolas en agitación; se colocaron en platos petrí conteniendo disco de papel filtro humedecido (con solución de Cloranfenicol) con granos de café (figura 3)



Figura 3. Las Brocas vivas después de la aplicación de los tratamientos; se colocaron sobre plato petrí con disco de papel húmedo.

Durante 10 días se evaluaron los tratamientos, registrando el número de adultos de la broca muertos diariamente; y la mortalidad causada por el hongo en estudio, observando al estereoscopio los síntomas y signos de enfermedad en las brocas (según formatos) (Figura 4). Las brocas vivas o muertas permanecieron en los platos petrí para no interrumpir el desarrollo normal del hongo en el insecto. Con una jeringa desechable diariamente se le colocó agua destilada estéril, hasta humedecer el disco de papel evitando la presencia de agua libre. La humedad es considerada como el factor más importante en el desarrollo de una micosis en las etapas de germinación de las esporas y conidiogénesis.

Con el registro diario de colonización se estableció el ciclo de desarrollo del hongo sobre la broca, el porcentaje de mortalidad y el promedio del tiempo de mortalidad, que constituyen otros criterios de importancia en la calidad biológica del hongo en estudio (Vélez *et al* 1997).



Figura 4. Efecto de la aplicación de *Isaria* sp, en la prueba de patogenicidad. Se observa insectos colonizados por el hongo.

3.3 Análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental de tratamiento completamente al azar con seis tratamientos incluyendo el testigo absoluto, distribuidas en 3 repeticiones. Para cada evaluación el testigo absoluto estuvo compuesto de adultos de broca que no entraron en contacto con el hongo.

Las variables evaluadas fueron: días a mortalidad, a crecimiento de micelio, a cubrimiento de micelio, a esporulación. ANEXO 1

3.3.1. En Campo

La parcela experimental estuvo formada por nueve árboles, donde la parcela efectiva fue el árbol central y la unidad experimental dos ramas o bandolas (Figura 5). El criterio para la instalación del ensayo y aplicación de los tratamientos fue la presencia mínima del 10% de infestación.



Figura 5. Frutos mostrando la presencia de broca del café. Observe el daño en el omblico del fruto.

Se utilizó un Diseño Completo al Azar, con seis tratamientos y tres repeticiones.

3.4. Tratamientos.

CUADRO 2. LOS TRATAMIENTOS EVALUADOS EN PRUEBA DE EFICACIA,
Buena Vista, Colón 2017

Tratamiento	Cepa de hongo	Concentración (%)	Concentración UFC/ml
1	Testigo absoluto	0	0
2	<i>Isaria</i> spp.	20	1.19 x 10 ¹⁰
3	<i>Isaria</i> spp.	40	1.25 x 10 ¹⁰
4	<i>Isaria</i> spp.	60	1.34 x 10 ¹⁰
5	<i>Isaria</i> spp.	80	1.55 x 10 ¹⁰
6	<i>Isaria</i> spp.	100	1.94 x 10 ¹⁰

Los tratamientos (Cuadro 2) fueron preparado a través de una suspensión madre del hongo, proveniente de un cultivo o producción del hongo en sustrato arroz. El volumen de la suspensión madre fue de 3,000 ml, del cual se formuló cada tratamiento de la siguiente manera: a 400 ml de suspensión madre se le agregaron 600 ml de agua; a 600 ml de suspensión madre se le agregaron 400 ml de agua, a 800 ml de suspensión madre se le agregaron 200 ml de agua, el volumen empleado fue de 1000 ml por tratamiento.

Los tratamientos fueron aplicados con un pulverizador de compresión de 4.7 lt marca Guarany, previa calibración y la estimación de la infestación en la parcela experimental.

Los tratamientos fueron aplicados directamente sobre las bandolas que presentaban infestación de broca del café (600 ml por tratamiento) (Figura 6).



Figura 6. Los tratamientos fueron aplicados directamente sobre las ramas con frutos brocados, para asegurar el éxito de la prueba.

La toma de datos se realizó a los siete y 14 días después de la aplicación. Los frutos brocados a los 14 días fueron recolectados y colocados en bolsas de ziploc con cierre hermético, y trasladados al laboratorio, en aquellos frutos que no presentaron crecimientos

de micelio, se les realizó un corte longitudinal, para determinar la presencia de brocas muertas o vivas, las muertas con micelios.

3.5. Toma de Datos

La infestación se estimó de la siguiente manera:

$$\% \text{ de Infestación} = \frac{\text{Número de frutos brocados en 2 bandolas/árbol}}{\text{Número de frutos totales en 2 bandolas/árbol}} \times 100$$

La aplicación de los tratamientos se realizó una sola vez, con una infestación >10%.

Mortalidad: Se determinó el porcentaje de mortalidad con la siguiente formula:

$$\% \text{ mortalidad} = \frac{\text{Número de frutos brocados con micelio}}{\text{Número total de frutos brocados}} \times 100$$

Eficacia: La eficacia se estimó utilizando la fórmula de Henderson y Tilton:

$$\% \text{ de eficacia: } \left[1 - \frac{Td \times Ca}{Ta \times Cd} \right] \times 100$$

Donde,

Ta = Número de individuos vivo antes del tratamiento;

Td = Número de individuos vivos después del tratamiento;

Ca = Número de individuos vivos antes del tratamiento en el testigo;

Cd = Número de individuos vivos después del tratamiento en el testigo;

Variables de respuesta:

1. Número de frutos totales por bandola

2. Número de frutos brocados por bandola
3. Número de frutos brocados con micelio
4. Número de frutos brocados con brocas vivas

3.6. Modelo Estadístico

El modelo estadístico utilizado para la prueba de laboratorio es el siguiente:

Modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde;

Y_{ij} = variables de respuestas

μ = media poblacional

T_i = efecto de i-ésimo tratamiento

E_{ij} = error experimental

En campo, El modelo matemático se representa a través de la siguiente ecuación:

Modelo:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde;

μ = media poblacional

τ_i = i-ésimo efecto de tratamiento

β_j = j-ésimo efecto de bloque

ε_{ij} = interacción tratamiento x bloque, tratado como error experimental.

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza y a la prueba de rangos múltiples de Duncan ($P=0.05$).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Prueba de Patogenicidad.

Según Vélez *et al* (1997), esta es la prueba más importante en el análisis de calidad de una formulación, ya que determina si el patógeno realmente ataca la plaga para lo cual está recomendado. No se asegura que bajo condiciones de campo su eficacia será igual a la registrada en el laboratorio.

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza, en el cual se determinó que no existió diferencias estadísticas significativas ($P>0.05$) entre los diferentes tratamientos y el testigo (Concentraciones del hongo) (Cuadro 3).

CUADRO 3. CUADRADO MEDIO DE LOS TRATAMIENTOS PARA BROCAS MUERTAS POR EL HONGO, POR OTRAS CAUSAS Y LA PATOGENICIDAD.

Fuente de Variación	Brocas		Patogenicidad
	Muertas por el hongo	Otras causas	
Modelo	8.9000	1.23333	61.7726
Error	13.400	1.06667	70.8306
Tratamiento	8.9000 ^{ns}	1.2333 ^{ns}	61.772 ^{ns}

ns = No se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$)

En el Cuadro 3, se presentan los valores del cuadrado medio de los tratamientos para el número de brocas muertas por el hongo, por otras causas; y la patogenicidad, no presentando diferencias estadísticas significativas ($P>0.05$) entre los mismos. En los resultados de la prueba de patogenicidad se evalúa los tratamientos versus el testigo

absoluto, debido a que el testigo absoluto se utiliza para determinar la viabilidad de la prueba, y se acepta el bioensayo si el testigo presenta una mortalidad inferior al 20%.

CUADRO 4. MEDIAS DEL EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN LA PRUEBA DE PATOGENICIDAD.

Tratamiento	Concentración UFC/ml	Brocas		Patogenicidad
		Muertas por el hongo	Otras causas	
1	4.66 x 10 ⁹	18.667 a	1.000 a	95.000 a
2	7.85 x 10 ⁹	19.000 a	1.333 a	94.913 a
3	1.01 x 10 ¹⁰	15.000 a	1.667 a	85.623 a
4	1.57 x 10 ¹⁰	16.667 a	2.333 a	87.963 a
5	1.71 x 10 ¹⁰	18.667 a	0.667 a	94.903 a

Nota: Medias seguidas de la misma letra en la misma columna, no difieren entre sí estadísticamente, según la Prueba de Rangos múltiples de Duncan (P=0.05)

Las concentraciones utilizadas en la prueba de patogenicidad estuvieron en un rango de 4.66 x 10⁹ UFC/ml a 1.71 x 10¹⁰ UFC/ml, estando dentro de la concentración en que *H. hampei* es susceptible al hongo entomopatógeno en este caso *Isaria* sp. Los valores en la variable número de brocas muertas por el hongo estuvo entre 15 a 19 brocas, no presentando diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos; la patogenicidad estuvo en un rango de 85.623% hasta 95% no presentando diferencias estadísticas significativa (P>0.05) entre los tratamientos según la prueba de Rangos múltiples de Duncan (Cuadro 4). Estos resultados se deben a la alta concentración de UFC/ml de cada tratamiento. Los datos coinciden con los resultados obtenidos en pruebas realizadas por Bustillo (1995) que señala que la dosis mínima que la broca es susceptible por ejemplo al

hongo entomopatógeno *B. bassiana* es de 1.0×10^9 UFC/ml. Por lo que debido a que la concentración de la suspensión madre después de 20 días de incubación del hongo, se obtuvo una concentración de 1.71×10^{10} UFC/ml.

4.2 Prueba de eficacia

En campo, una vez evaluado los tratamientos y sometidos a un análisis de varianza de los datos se encontró que no hubo diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, según la prueba de Rangos múltiples de Duncan ($P > 0.05$), para las variables evaluadas (Cuadro 5).

CUADRO 5. CUADRADO MEDIOS PARA LAS VARIABLES No. DE BROCA INICIAL Y FINAL, MICOSADAS, VIVAS, REINFESTACIÓN, MORTALIDAD A LOS 14 DÍAS.

F. V.	Número de Brocas				reinfestación	Mortalidad 14 días	Eficacia %
	Inicial	Final	Micosadas 14 días	vivas			
Modelo	509.577	791.444	369.866	1451.311	274.66	1577.274	389.387
Error	605.683	1272.13	250.216	629.566	377.466	767.501	169.831
Tratamiento	336.23 ns	408.93 ns	390.56 ns	869.76 ns	211.76 ns	1856.65 ns	273.40 ns
Repetición	856.266	1556.47	328.466	2614.40	400.466	1018.520	621.358

ns = No se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$)

La suspensión madre utilizada en la preparación de los tratamientos presentó una concentración después de los 20 días de incubación del hongo, de 1.94×10^{10} UFC/ml. Debido a esta alta concentración del hongo se obtuvieron tratamientos que estuvieron en un rango de 1.19×10^{10} UFC/ml y 1.94×10^{10} UFC/ml. Debido a estas concentraciones

no hubo diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos según la prueba de Rangos múltiples de Duncan ($P>0.05$) (Cuadro 6).

CUADRO 6. MEDIAS DEL EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN LA PRUEBA DE CAMPO SOBRE EL NÚMERO DE BROCAS INICIAL Y FINAL, LA MORTALIDAD A LOS 14 DÍAS Y LA EFICACIA DE *Isaria* spp.

Trat.	Conc. UFC/ml	Número de frutos Brocados				Re- infest.	Mortalidad 14 días	Eficacia %
		Inicial	Final	Micosadas 14 días	vivas			
1	0.00	19.67	22.67	0.00	22.67	3.0	0.00	0.00
2	1.19×10^{10}	46.00 a	46.33 a	16.33 a	30.00 a	0.33 a	34.61 ab	62.46 a
3	1.25×10^{10}	27.67 a	43.00 a	8.00 a	35.00 a	15.33 a	46.52 ab	57.39 a
4	1.34×10^{10}	40.33 a	49.00 a	11.33 a	37.67 a	21.33 a	31.03 ab	56.28 a
5	1.55×10^{10}	39.00 a	59.33 a	32.33 a	27.00 a	20.33 a	72.52 a	68.79 a
6	1.94×10^{10}	56.67 a	71.67 a	2.33 a	69.33 a	15.00 a	4.07 b	42.97 a

Nota: Medias seguidas de la misma letra en la misma columna, no difieren entre sí estadísticamente, según la Prueba de Rangos múltiples de Duncan ($P=0.05$)

La variabilidad e inconsistencia de los resultados se debió a factores externos no controlables por el investigador.

Los valores de las medias (Cuadro 6) en el número de brocas inicial y final encontrados, no presentaron diferencias estadísticas significativas ($P>0.05$). Durante el experimento se dieron reinfestaciones en las parcelas experimentales que tuvieron una media entre 1 a 21 individuos entre los tratamientos 1.19×10^{10} y 1.34×10^{10} , respectivamente; no presentando diferencias significativas entre ellos ($P>0.05$). En todos los tratamientos evaluados se encontró variabilidad en el incremento del número de frutos brocados (Cuadro 6).

La eficacia de *Isaria* sp., bajo condiciones del agroecosistema de Buena Vista, presentó valores de 42.97% a 68.79% entre los tratamientos 1.94×10^{10} y 1.55×10^{10} , respectivamente (Cuadro 6), no presentando diferencias significativas entre las concentraciones.

Estos resultados coinciden con los señalado por Florez *et al* (1997) citado por Bustillo (2007) en que los resultados con aislamientos de hongos entomopatógenos son muy variables y están influenciados por condiciones climáticas y del cultivo.

Arcila *et al* (2006) estudiaron bajo diferentes aspectos en condiciones de cafetales el efecto patogénico de un hongo como *Beauveria bassiana*, encontrando variabilidad en los resultados. Al evaluar el efecto de diferentes niveles de infestación de la broca, encontró que la patogenicidad del hongo es independiente del porcentaje de infestación de la broca.

Experimentos llevados a cabo por investigadores, han demostrado que el control del insecto en campo en plantaciones comerciales es posible empleando dosis de $1 \times 10^{10-12}$ esporas por árbol, las cuales causan 70 a 80% de mortalidad en los insectos. Sin embargo, el uso de esta concentración de esporas es costoso y una de las formas de reducir el costo es aumentar la virulencia de las cepas de *Beauveria bassiana* (De Real 2015).

Neves (2007) agrega que todos los agentes de control biológico su uso debe ser más un componente en el manejo de las plagas del café.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Basado en los resultados obtenidos en este experimento, puedo llegar a las siguientes conclusiones:

1. La prueba de laboratorio dio como resultado la confirmación que el aislamiento del hongo entomopatógeno *Isaria* sp. es patogénico sobre la broca del café.
2. La mortalidad de las brocas fue la misma para todos los tratamientos del hongo *Isaria* sp.
3. La variabilidad en la eficacia de los tratamientos del hongo utilizado se debió a los factores no controlables que afectaron la prueba.

Se recomienda lo siguiente:

1. Continuar con la prueba con el *Isaria* sp. tanto en laboratorio como en campo.
2. Sugerir la implementación de un proceso de formulación del hongo, por parte de un laboratorio estatal, que permita un producto de fácil adquisición.
3. Validar el hongo en fincas de café robusta para confirmar su efectividad, costos y dosis a aplicar por árbol.

BIBLIOGRAFÍA

- Adkinsson, P. L.; Dyck, V. A. 1984. Variedades resistentes en los sistemas de manejo de plagas. En: Maxwell, F. G.; Jennings, P. R. Manejo de plantas resistentes a insectos. Primera edición. Editorial Limusa. México. pp. 253-271.
- Allendes, G. L. 2006. Evaluación de ocho cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* var. *Anisopliae*(Metsch) sorokin., para el control de *Aleurothrixus floccosus*Maskell. Universidad Pontificia Católica de Valparaíso. Facultad Agrónoma.
- Arcila, A.; Bustillo, A. E.; Cháves, B. 2006. Estudio de la cepa Bb9205 de *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café. Revista Cenicafé, en prensa. 20 p.
- Arcila P., J.; Jaramillo R., A.; Baldion R., J. V.; Bustillo P., A. E. 1993. La floración del cafeto y su relación con el control de la broca. Avances técnicos Cenicafé (Colombia) no. 193:1-6.
- Bergamin, J. 1943. Contribuicao para o conhecimento da biología da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Col. Ipidae). Arquivos do Instituto Biológico, Brasil, v. 14, p. 31-72.
- Benavides, P.; Bustillo, A. E; Montoya, E. C.; Cárdenas, R.; Mejía, C. G. 2002. Participación del control cultural, químico y biológico en el manejo de la broca del café. Revista Colombiana de Entomología 28 (2): 161-166
- Borbón, O. 1990. Pérdidas de café provocadas por la broca del fruto del cafeto en Togo *Hypothenemus hampei* (Ferr.) In: Taller Regional sobre la broca del fruto del cafeto. p. 4, San Salvador (El Salvador), PORMECAFE.

- Bustillo P., A. E. 1991. Perspectivas de manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei* en Colombia. Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen), Medellín, Colombia. Miscelánea No. 18 p. 106-118.
- Bustillo P., A. E. 1995. Utilización del control biológico clásico en un programa de manejo integrado: El caso de la broca del café, *Hypothenemus hampei*, en Colombia. En: Memorias Curso Internacional Manejo Integrado de Plagas, ICA Universidad de Nariño, nov. 27-dic. 1, 1995, San Juan de Pasto, Colombia, p.143-148.
- Bustillo P., A. E.; Posada, F. J. 1996. El desarrollo y uso de entomopatógenos en el control de la broca del café. In Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, SOCOLEN (23, 1991, Cartagena, Colombia). Memorias. Cartagena. p. 232-253.
- Bustillo P., A. E.; Cárdenas, R.; Villalba, D.; Benavides, P.; Orozco, J.; Posada, F. 1998. Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. CENICAFE, Chinchiná, Colombia. 133 p.
- Bustillo P., A. E. 2002. El manejo de los cafetales y su relación con el control de la broca del café en Colombia. Boletín técnico No.24, Cenicafé. Chinchiná, Colombia. 40p.
- Bustillo P., A. E.; Villalba, D.; Orozco J.; Benavides, P.; Reyes, I. C.; Cháves, B. 2003. Integrated pest management to control the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Colombia. ASIC, 16e. Colloque, Kyoto, Japan, p. 671-680
- Bustillo P., A. E. 2007. Control Biológico de la broca del café en Colombia. En: IAPAR. Manejo da Broca-do-café: workshop internacional / organizado por Celso Luíz Hohmann – Londrina. Pp. 233-248

- Cristancho A., M.; Escobar O., C.; Ocampo, J. D. 2007. Evolución de razas de *H. vastatrix* en Colombia. *Cenicafé* 58(4): 340-359
- De Real, S. F. 2015. Control biológico de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari). *Revista Vinculando* 2003 – 2018. México. Disponible en: <https://vinculando.org/mercado/cafe/control-biologico-broca-cafe-hypothenemus-hampei-ferrari.html>
- Duarte N., M. T. 1992. Determinación de la atractividad de frutos de varios cultivares de café a la broca del fruto del cafeto *Hypothenemus hampei* (Ferrari), utilizando el método de olfatometría a nivel de laboratorio. (tesis: ingeniero Agrónomo). Guatemala, Universidad de San Carlos, facultad de agronomía, 55 p.
- Duque, O. H.; Chaves, C. B.; Hernández, S. M. 1997. Costos del manejo de la broca *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en lotes comerciales de café del departamento de Risaralda. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Centro Nacional de Investigaciones de Café. Cenicafé. Chinchiná, Colombia. 37 p.
- Flórez, E.; Bustillo, A. E.; Montoya, E. C. 1997. Evaluación de equipos de aspersión para el control de *Hypothenemus hampei* con el hongo *Beauveria bassiana*. *Cenicafé* 48 (2): 92-98.
- Fundación para el Desarrollo Tecnológico Agropecuario y Forestal de Nicaragua (FUNICA) 2018. Guía de identificación y manejo de antracnosis del café. Universidad Nacional Agraria. Nicaragua. 24 p.

- Gómez, G. C.; Bustamante, A. B. 2006. Las enfermedades del café: logros y desafíos para la caficultura colombiana del siglo XXI. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. Costa Rica. 77: 89-93.
- Ibarra, A.; Varela, A. 2002. Aislamiento, identificación y caracterización de hongos como agentes potenciales de control biológico en algunas regiones colombianas. Revista Colombiana de Entomología, 28 (2):129-137.
- Instituto del Café de Costa Rica (ICAFFE). 2008. Informe sobre la actividad cafetalera de Costa Rica. XXXVII Congreso Nacional Cafetalero Ordinario. San José, Costa Rica. 78 p.
- Jaramillo, J. L.; Montoya, E. C.; Benavides, P.; Góngora B, C. E. 2015. *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control de broca del café en frutos del suelo. Revista Colombiana de Entomología 41 (1): 95-104 (enero - junio 2015), Colombia
- Koch, V. J. M. 1973. Abundance de *Hypothenemus hampei* ferr., Scolyte des graines de café, en fonction de sa plant-hote et de son parasite *Cephalonomia stephanoderis* Betren, en Cote d'Ivoire. (tesis de Doctorado) Wageningen, Holanda, Veenman and Zonen, 84 p.
- LePelley, R. H. 1968. Pest of Coffee. London (England): Longmans, Green and Co. Ltd.
- Ministerio de Desarrollo Agropecuario (MIDA) 2017. Dirección de Sanidad Vegetal. Disponible en www.MIDA.gob.pa
- Mendoza, M. E. 1996. Evaluación del daño ocasionado por la broca del café *Hypothenemus hampei* Ferrari 1967 (Coleoptera: Scolytidae) en los primeros estados de desarrollo del fruto, en dos zonas cafeteras del Departamento del Valle

- del Cauca. In: Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, p. 23; Cartagena, Colombia.
- Montoya, E. C. 1999. Caracterización de la infestación del café por la broca y efecto del daño en la calidad de la bebida. *Cenicafé*, Colombia, v.50, p. 245-258
- Monzón A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hogos entomopatógenos en Nicaragua, Costa Rica N° 63: 95-103
- Neves, M. O. J. 2007. Utilização de *Beauveria bassiana* no manejo da broca-do-café no Brasil. En: IAPAR. Manejo da Broca-do-café: workshop internacional / organizado por Celso Luíz Hohmann – Londrina. Pp. 233-248
- Organización Internacional de Café (ICO). 2015. Anuario 2013-14. 22 Berners Street • Londres W1T 3DD • Reino Unido Tel.: +44 (0) 20 7612 0600 | Fax: +44 (0) 20 7612 0630 Disponible en info@ico.org | www.ico.org | @ICOCoffeeOrg 34 p.
- Posada, F. 1998. Production, formulation, and application of *Beauveria bassiana* for control of *Hypothenemus hampei* in Colombia. Thesis Ph. D. University of London. Inglaterra. 227 p.
- Reyes, I.; Bustillo P., A. E.; Chávez, B. 1995. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre el parasitoide de la broca del café *Cephalonomia stephanoderis*. *Revista Colombiana de Entomología*. 29(4):199-204.
- Rivillas O., C. A.; Gill V., L. F.; Leguizamón C., J. E. 1999. Recomendaciones para el manejo de la roya del cafeto en Colombia. *Boletín Técnico Cenicafé* 19: 7-36

- Rodríguez M. S.; Gerding M.; France A. 2007. Selección de aislamientos de hongos entomopatógenos para el control de huevos de la polilla del tomate *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae). Agricultura técnica N° 66 (2): 151-158. Chile.
- Rojo J., E. 2014. Café I (G. Coffea). ISSN: 1989-3620. Reduca (Biología). Serie Botánica. 7 (2): 113-132.
- Romero, J. V.; Cortina G., H. 2004. Fecundidad y Ciclo de Vida de la broca *Hypothenemus hampei* F. (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) en introducciones silvestres de café. Cenicafé 55 (3): 221-231.
- Ruiz, R; Saldaña E. 2012. Evaluación de la eficacia biológica de dos cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* y una cepa de *Beauveria bassiana* en la supresión de la broca del café, *Hypothenemus hampei* Ferrari, en Río Sereno. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Panamá; y el Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá. 89p.
- Scholte, E.J.; Knols B., G. J.; Samson, A.; Takken, W. 2004. Entomopathogenic fungi for mosquito control: A review. Journal of insect Science, 4: 19-24p
- Vargas, L; Avilés, J; Mora, J; Solórzano, A; Piedra, R.; Bravo, O. 2003. Persistencia en campo de *Beauveria bassiana* en mezcla con aceites. Memoria del Congreso Alianza Tecnológica para la Agricultura con Calidad. San José, Costa Rica. Pág. 49.
- Vélez A., P. E; Posada F., F. J; Marín M., P; González G., M. T.; Osorio V., E.; Bustillo P., A E. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Cenicafé, Chinchiná, Caldas, Colombia 17:37p

Villagran G., W. 1991. Atractividad relativa y susceptibilidad de varias especies y cultivares de café *Coffea* spp. a la broca del fruto *Hypothenemus hampei* Ferr. en condiciones de laboratorio. (tesis: ingeniero Agrónomo). Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Agronomía, 43 p.

Waller, J. M.; Bigger, M.; Hillocks, R. J. 2007. Coffee Pests, Diseases and Their Management. CABI. 437 pp.

ANEXOS

ANEXO 1. REGISTRO DE MORTALIDAD DIARIA Y CICLO DE DESARROLLO DE LA CEPA *Isaria* sp., SOBRE LA BROCA DEL CAFÉ. COLÓN.

Fecha de Inoculación: 21 de junio de 2017				Objetivo: Suceptibilidad				Repeticiones: 1		Tratamiento: 01		
Formulación: granulada (Arroz)				Hongo/cepa: (Nativa) <i>Isaria</i> spp.				Evaluador: Migdalia Castillo				
Broca No.	Muerte broca		Inicio Crecimiento		cubrimiento Micelio		Formación de esporas		Esporulación		Mortalidad por otras causas	Observaciones insectos vivo
	Fecha	Días	Fecha	Días	Fecha	Días	Fecha	Días	Fecha	Días		
1	23-jun	2	26-jun	3	28-jun	5	-	-	-	-		
2	23-jun	2	26-jun	3	28-jun	5	-	-	-	-		
3	24-jul	3	25-jun	1	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4		
4	24-jul	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	29-jun	5		
5	24-jul	3	26-jun	2	27-jun	3	28-jun	4	29-jun	5		
6	24-jul	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	29-jun	5		
7	24-jul	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	29-jun	5		
8	24-jul	3	25-jun	1	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4		
9	24-jul	3	25-jun	1	25-jun	1	26-jun	2	29-jun	5		
10	24-jul	3	26-jun	2	27-jun	3	28-jun	4	29-jun	5		
11	24-jul	3	26-jun	2	27-jun	3	28-jun	4	29-jun	5		
12	24-jul	3	26-jun	2	27-jun	3	28-jun	4	29-jun	5		
13	24-jul	3	25-jun	2	26-jun	2	28-jun	4	29-jun	5		
14	24-jul	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	29-jun	5		
15	24-jul	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	29-jun	5		
16	24-jul	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	29-jun	5		
17	24-jul	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	29-jun	5		
18	24-jul	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	29-jun	5		
19	24-jul	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	29-jun	5		
20	24-jul	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	29-jun	5		
media		2.9		1.5		2.4		3.7		4.9		

Fecha de Inoculación: 21 de junio de 2017				Objetivo: Suceptibilidad				Repeticiones: II		Tratamiento: 01			
Formulación: granulada (Arroz)				Hongo/cepa: (Nativa) Isaria spp.				Evaluador: Migdalia Castillo					
Broca	No.	Muerte broca		Inicio Crecimiento		cubrimiento Micelio		Formación de esporas		Esporulación		Mortalidad por otras causas	Observaciones insectos vivo
		Fecha	Días	Fecha	Días	Fecha	Días	Fecha	Días	Fecha	Días		
1		22-jun	1	26-jun	4	27-jun	5	28-jun	6	30-jun	8		
2		22-jun	1	26-jun	4	27-jun	5	28-jun	6	30-jun	8		
3		23-jun	2	26-jun	3	27-jun	4	28-jun	5	30-jun	7		
4		24-jun	3	26-jun	2	27-jun	4	28-jun	4	30-jun	6		
5		24-jun	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	30-jun	6		
6		24-jun	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	30-jun	6		
7		24-jun	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	30-jun	6		
8		24-jun	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	30-jun	6		
9		24-jun	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	30-jun	6		
10		24-jun	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	30-jun	6		
11		24-jun	3	26-jun	2	27-jun	3	28-jun	4	30-jun	6		
12		24-jun	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	30-jun	6		
13		24-jun	3			25-jun	1	26-jun	2	30-jun	6		
14		24-jun	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	30-jun	6		
15		24-jun	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	30-jun	6		
16		24-jun	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	30-jun	6		
17		24-jun	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	30-jun	6		
18		24-jun	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4				
19		25-jun	4	26-jun	1	26-jun	1	28-jun	3	01-jul	6		
20		25-jun	4	26-jun	1	28-jun	3	30-jun	5	30-jun	5		
media			2.85		1.5		2.5		4.2		6.2		

Fecha de Inoculación: 21 de junio de 2017				Objetivo: Suceptibilidad				Repeticiones. III		Tratamiento: 01		
Formulación: granulada (Arroz)				Hongo/cepa: (Nativa) Isaria spp.				Evaluador: Migdalia Castillo				
Broca No.	Muerte broca		Inicio Crecimiento		cubrimiento Micelio		Formación de esporas		Esporulación		Mortalidad por otras causas	Observaciones insectos vivo
	Fecha	Días	Fecha	Días	Fecha	Días	Fecha	Días	Fecha	Días		
1	22-jun	1	26-jun	4	28-jun	6	30-jun	8	01-jul	9		
2	22-jun	1	25-jun	3	26-jun	4	30-jun	8	01-jul	9		
3	22-jun	1	26-jun	4	28-jun	6	30-jun	8	01-jul	9		
4	24-jun	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	4	30-jun	6		
5	24-jun	3	26-jun	2	27-jun	3	28-jun	4	30-jun	6		
6	24-jun	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	3	30-jun	5		
7	24-jun	3			25-jun	1	26-jun	2	30-jun	6		
8	24-jun	3			25-jun	1	26-jun	2	30-jun	6		
9	24-jun	3	26-jun	2	28-jun	4	29-jun	5	01-jul	7		
10	24-jun	3	26-jun	2	28-jun	4	30-jun	6	01-jul	7		
11	24-jun	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	3	30-jun	5		
12	24-jun	3	25-jun	1	26-jun	2	28-jun	3	30-jun	5		
13	25-jun	4					30-jun	5	01-jul	6		
14	25-jun	4	26-jun	1	27-jun	2	28-jun	3	30-jun	5		
15	25-jun	4	26-jun	1	27-jun	2	28-jun	3	30-jun	5		
16	25-jun	4	26-jun	1	27-jun	2	28-jun	3	30-jun	5		
17	25-jun	4	26-jun	1	27-jun	2	28-jun	3	30-jun	5		
18	25-jun	4	26-jun	1	27-jun	2	28-jun	3	30-jun	5		
19	25-jun	4	26-jun	1	28-jun	2	29-jun	3	30-jun	4		
media		3.1		1.7		2.7		4.2		6.1		

ANEXO 2. PRUEBA DE PATOGENICIDAD DE LA CEPA NATIVA DE LA *Isaria* sp., SOBRE LA BROCA DEL CAFÉ.
COLÓN.

Tratamiento	REPETICIÓN 1				REPETICIÓN 2				REPETICIÓN 3				Σ				MEDIA				(δ) D.E.	total
	EP		OC		EP		OC		EP		OC		EP		OC		EP		OC			
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%		
4.66E+09	18	90	2	10	19	95	1	5	19	100	0	0	56	94.92	3	15	18.67	95.0	1	5	0.58	59
7.85E+09	21	100	0	0	18	90	3	15	18	94.74	1	5.26	57	93.44	4	20.26	19	94.9	1.333	6.753	1.73	61
1.01E+10	20	95.2	1	4.76	19	95	1	5	6	66.67	3	33.33	45	90.00	5	43.09	19.5	85.6	1.667	14.36	7.81	50
1.71E+10	20	95.24	1	4.76	19	100	0	5.26	17	89.47	1	10.53	56	96.55	2	20.55	18.67	94.9	0.667	6.85	1.53	58
1.57E+10	17	90	2	10	17	85.0	3	19.05	16	88.89	2	11.11	50	87.72	7	40.16	16.67	88.0	2.333	13.39	0.58	57
EP = ENTOMOPATÓGENO			OC = OTRAS CAUSAS																			

ANEXO 3. CALCULO DE EFICACIA DE *Isaria* sp. SEGÚN TRATAMIENTOS, UTILIZANDO FORMULA DE HENDERSON Y TILTON.

Trat	Rep	Brocados		MICOSADOS		Vivas	Re infestación	MORTALIDAD			Td*Ca	Ta*Cd	(Td*Ca)/(Ta*Ca)	Eficacia
		Inicial	Final	7DÍAS	14 DÍAS			7 días	14 días					
		Ta	Ta			Td								
1.19X10 ¹⁰	1	34	46	4	6	40	12	0.12	17.65	1.00	920	1472	0.625000	37.50
1.19X10 ¹⁰	2	55	55	1	7	48	0	0.02	12.73	1.00	912	1925	0.473766	52.62
1.19X10 ¹⁰	3	49	38	9	36	2	-11	0.18	73.47	1.00	48	1748	0.027460	97.25
1.25X10 ¹⁰	1	10	20	0	10	10	10	0	100.00	1.00	230	640	0.359375	64.06
1.25X10 ¹⁰	2	54	83	0	10	73	29	0.00	18.52	1.00	1387	2905	0.477453	52.25
1.25X10 ¹⁰	3	19	26	3	4	22	7	0.16	21.05	1.00	528	1196	0.441472	55.85
1.34X10 ¹⁰	1	51	53	0	13	40	2	0.00	25.49	1.00	920	1696	0.542453	45.75
1.34X10 ¹⁰	2	51	73	0	13	60	60	0.00	25.49	1.00	1140	2555	0.446184	55.38
1.34X10 ¹⁰	3	19	21	5	8	13	2	0.26	42.11	1.00	312	966	0.322981	67.70
1.55X10 ¹⁰	1	23	38	6	16	22	15	0.26	69.57	1.00	506	1216	0.416118	58.39
1.55X10 ¹⁰	2	25	30	7	12	18	5	0.28	48.00	1.00	342	1050	0.325714	67.43
1.55X10 ¹⁰	3	69	110	22	69	41	41	0.32	100.00	1.00	984	5060	0.194466	80.55
1.94X10 ¹⁰	1	49	56	0	5	51	7	0.00	10.20	1.00	1173	1792	0.654576	34.54
1.94X10 ¹⁰	2	100	130	2	2	128	30	0.02	2.00	1.00	2432	4550	0.534505	46.55
1.94X10 ¹⁰	3	21	29	0	0	29	8	0.00	0.00	1.00	696	1334	0.521739	47.83
		Ca	Cd											
testigo abs	1	23	32	0	0	32	9	0.00	0.00			0.71875		
testigo abs	2	19	35	0	0	35	16	0.00	0.00			0.54286		
testigo abs	3	24	46	0	0	46	22	0.00	0.00			0.52174		

Nota: Calculo de la Eficacia utilizando el programa computarizado Excell.

ANEXO 4. MATRIZ DE RESULTADOS DE LA PRUEBA DE CAMPO.

Trat	Rep	BROCAS		NMICO 14 días	Vivas	Reinfestación	MORT. 14 días	EFICACIA
		INICIAL	FINAL					
1.19X10 ¹⁰	1	34	46	6	40	12	17.65	37.5
1.19X10 ¹⁰	2	55	55	7	48	0	12.73	52.62
1.19X10 ¹⁰	3	49	38	36	2	-11	73.47	97.25
1.25X10 ¹⁰	1	10	20	10	10	10	100.00	64.06
1.25X10 ¹⁰	2	54	83	10	73	29	18.52	52.25
1.25X10 ¹⁰	3	19	26	4	22	7	21.05	55.85
1.34X10 ¹⁰	1	51	53	13	40	2	25.49	45.75
1.34X10 ¹⁰	2	51	73	13	60	60	25.49	55.38
1.34X10 ¹⁰	3	19	21	8	13	2	42.11	67.7
1.55X10 ¹⁰	1	23	38	16	22	15	69.57	58.39
1.55X10 ¹⁰	2	25	30	12	18	5	48.00	67.43
1.55X10 ¹⁰	3	69	110	69	41	41	100.00	80.55
1.94X10 ¹⁰	1	49	56	5	51	7	10.20	34.54
1.94X10 ¹⁰	2	100	130	2	128	30	2.00	46.55
1.94X10 ¹⁰	3	21	29	0	29	8	0.00	47.83

ANEXO 5. FORMATO DE CAMPO DE REGISTRO DE MORTALIDAD, NUMERO DE BROCAS, INICIAL Y FINAL.

EFICACIA BIOLÓGICA DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS PARA EL CONTROL DE LA BROCA DEL CAFÉ

LOCALIDAD: BUENA VISTA,

FECHA:
20/09/2017

PRODUCTOR: FINCA IDIAP

Tratamiento	Rama	No. de Frutos			% DE Infestación	micosados		% de mortalidad		Observ.
		brocados	total Brocados	sanos		7 días	14 días	7 días	14 días	
101										
201										
301										
302										
102										
202										
103										
303										

203										
104										
304										
204										
105										
305										
205										
106										
306										
206										